

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS
FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES FITOTÓXICA, CITOGENOTÓXICA E FUNGICIDA**

FERNANDO FONTES BARCELOS

VILA VELHA
FEVEREIRO / 2022

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS
FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES FITOTÓXICA, CITOGENOTÓXICA E FUNGICIDA**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia Vegetal.

FERNANDO FONTES BARCELOS

VILA VELHA
FEVEREIRO / 2022

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

B242s

Barcelos, Fernando Fontes.

Síntese de novos compostos 1,2,3-Triazólicos Fluorados derivados do glicerol e avaliação das atividades fitotóxica, citogenotóxica e fungicida / Fernando Fontes Barcelos – 2022.
179 f. : il.

Orientador: Rodrigo Scherer.

Coorientador: Adilson Vidal Costa.

Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) –
Universidade Vila Velha, 2022.

Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia Vegetal. 2. Fungos. 3. Plantas.
4. Meio ambiente – Proteção. I. Scherer, Rodrigo. II. Costa,
Adilson Vidal. III. Universidade Vila Velha. IV. Título.

CDD: 660.603

FERNANDO FONTES BARCELOS

**SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS
FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL E AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES FITOTÓXICA, CITOGENOTÓXICA E FUNGICIDA**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2022.

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente

PEDRO ALVES BEZERRA MORAIS

Data: 22/08/2022 12:28:42-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Pedro Alves Bezerra Moraes (UFES)



Documento assinado digitalmente

CLAUDINEI ANDRADE FILOMENO

Data: 27/08/2022 13:03:31-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Claudinei Andrade Filomeno (IFES-VV)



Documento assinado digitalmente

ADILSON VIDAL COSTA

Data: 22/08/2022 10:22:21-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Adilson Vidal Costa (UFES)

Coorientador



Documento assinado digitalmente

RODRIGO SCHERER

Data: 13/09/2022 16:51:13-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Rodrigo Scherer (UVV)

Orientador

“Eu fico com a pureza
Da resposta das crianças:
É a vida! É bonita e é bonita!

Viver e não ter a vergonha
De ser feliz,
Cantar, e cantar, e cantar
A beleza de ser um eterno aprendiz...”

Dedico à minha esposa, Rosilene, e às
minhas filhas, Fernanda e Bárbara, por todo Amor e
União. Aos meus pais, Abel (*in memoriam*) e Aldete,
por Tudo. Aos meus irmãos, Adriana e Fabio, e às
minhas sobrinhas, sempre presentes. Aos meus
sogros, Wilson e Senira, por todo apoio. E à toda a
minha grande família, minha base, por forjar quem
sou.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela onipresença em minha Vida e por me permitir cumprir esta missão.

À Universidade Vila Velha (UVV-ES) e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal (PPGBV), pela oportunidade de realizar este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador, professor Dr. Rodrigo Scherer, pela orientação segura, pela disponibilidade, pelo conhecimento, por acreditar em mim e pela amizade.

Ao meu coorientador, professor Dr. Adilson Vidal Costa, pela parceria produtiva, confiança, disponibilidade e amizade.

Aos professores Dr. Pedro Alves Bezerra Moraes e Dr. Claudinei Andrade Filomeno, que prontamente aceitaram participar da banca de defesa e pelas valiosas sugestões.

Aos meus amigos do Lab. 30/LabCrom, pela companheirismo e carinho, em especial à Leandra, à Karlinha, à Camile, à Dani, à Lian, à Júlia, ao Arthur, ao Thiago e ao Matheus.

Aos grandes professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal (PPGBV), os quais tive a honra e o prazer de ser aluno durante o Doutorado, na UVV e na UENF.

À toda a minha família e aos meus amigos, de ontem, de hoje e de sempre, que sempre fizeram com que eu superasse os desafios de cada dia, tornando leve este trabalho.

E, finalmente, a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização e a melhoria deste trabalho. Incluo aqui um agradecimento à Alexandra Elbakyan, criadora do *Sci-Hub*, ferramenta fundamental, apesar de polêmica, para quem luta para fazer pesquisa em nosso País.

Palavras não serão capazes de expressar minha eterna GRATIDÃO a tantas pessoas. O meu sincero e amoroso: *Muito obrigado!*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO	3
1.3 OBJETIVOS	4
1.3.1 Objetivo Geral	4
1.3.2 Objetivos Específicos	4
1.4 REFERÊNCIAS	5
 CAPÍTULO 2 - SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL	 11
2.1 INTRODUÇÃO	11
2.2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.2.1 Síntese de Compostos 1,2,3-Triazólicos	13
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	18
2.3.1 Generalidades Metodológicas	18
2.3.2 Procedimentos Sintéticos	19
2.3.2.1 Síntese do (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (1)	19
2.3.2.2 Síntese do <i>p</i> -toluenossulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metila (2)	20
2.3.2.3 Síntese de 4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (3)	21
2.3.2.4 Síntese dos compostos 1,2,3-triazólicos fluorados derivados do glicerol 4a a 4k - reações de cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (I)	22
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
2.4.1 Síntese e caracterização dos novos compostos 1,2,3-triazólicos fluorados 4a a 4k derivados do glicerol	33
2.4.1.1 Síntese e caracterização de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (1)	34
2.4.1.2 Síntese e caracterização do <i>p</i> -toluenossulfonato de (2,2-dimetil-1,3- dioxolan-4-il)metila (2)	39
2.4.1.3 Síntese e caracterização de 4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (3)	44
2.4.1.4 Síntese e caracterização dos triazóis 4a a 4k	49
2.4.1.4.1 Síntese e caracterização de 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4- (3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (4b)	51
2.5 REFERÊNCIAS	58
 CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES FITOTÓXICA E CITOGENOTÓXICA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL	 62
3.1 INTRODUÇÃO	62
3.2 REVISÃO DE LITERATURA	63
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	68
3.3.1 Material Vegetal	68
3.3.2 Ensaio de Avaliação da Atividade Fitotóxica	68

3.3.3 Ensaio de Avaliação da Atividade Citogenotóxica	68
3.3.4 Análise Estatística	69
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
3.4.1 Avaliação da Atividade Fitotóxica	69
3.4.2 Avaliação da Atividade Citogenotóxica	73
3.5 REFERÊNCIAS	77
 CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL	82
4.1 INTRODUÇÃO	82
4.2 REVISÃO DE LITERATURA	83
4.2.1 Fungos Fitopatogênicos - <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	83
4.2.2 Característica da Membrana Celular dos Fungos - Ergosterol	84
4.2.3 Compostos Antifúngicos - Triazóis	87
4.2.4 Mecanismo de Ação dos Triazóis	88
4.2.5 Trabalhos Envolvendo Atividade Antifúngica de Compostos 1,2,3-Triazólicos	90
4.2.6 Cálculos Computacionais - Estudo de Parâmetros Eletrônicos e Físico-Químicos	95
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	97
4.3.1 Replicação do fungo	97
4.3.2 Ensaio de Avaliação da Atividade Fungicida	97
4.3.3 Análises Estatísticas	98
4.3.4 Cálculos das Propriedades Eletrônicas e Físico-Químicas dos Compostos 4a a 4k	98
4.3.4.1 Procedimentos computacionais para os cálculos utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	98
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
4.4.1 Avaliação da Atividade Fungicida	99
4.4.2 Cálculos Computacionais	103
4.5 REFERÊNCIAS	112
 CONCLUSÕES GERAIS	119
ANEXOS	120

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 - SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

Figura 2.1 -	Exemplos de heterociclos nitrogenados farmacologicamente ativos. 1) Anti-hipertensiva (losartan); 2) Antiviral (ribavirina); 3) Antitumoral (carbamato de fluorouracila); 4) Antifúngica (fluconazol); 5) Anti-inflamatória e analgésica (dipirona); 6) Antiprotozoária (metronidazol); 7) Inibidora da β -lactamase (tazobactama sódica); 8) Antimicrobiana (benzilpenicilina).	12
Figura 2.2 -	Estrutura dos 1,2,3- e 1,2,4-triazóis.	13
Figura 2.3 -	1ª Síntese de 1,2,3-triazóis: Síntese de Pechmann a partir de <i>bis</i> -fenil-hidrazonas.	14
Figura 2.4 -	Regioisômeros obtidos via cicloadição térmica [3+2] clássica de Huisgen.	14
Figura 2.5 -	Comparação de reações de cicloadição entre alquinos e azidas terminais. (A) cicloadição de Huisgen - sob condições térmicas: produz misturas de isômeros; (B) Catálise com Cu (I): resulta na formação exclusiva de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos.	15
Figura 2.6 -	A reação “click”.	15
Figura 2.7 -	Mecanismo da cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (CuAAC) - reação <i>click</i> .	17
Figura 2.8 -	Estrutura do glicerol (propano-1,2,3-triol).	18
Figura 2.9 -	Rota sintética de obtenção dos compostos triazólicos 4a-4k derivados do glicerol.	33
Figura 2.10 -	Reação de obtenção do acetonido 1 .	34
Figura 2.11 -	Proposta mecanística para a reação de cetalização da síntese do acetonido 1 a partir do glicerol. .	35
Figura 2.12 -	Espectro no IV do composto 1 .	36
Figura 2.13 -	Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 1 .	37
Figura 2.14 -	Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto 1 .	38
Figura 2.15 -	Espectro de massas do composto 1 .	38
Figura 2.16 -	Fragmentações associadas ao anel de cinco membros do acetonido 1 .	39
Figura 2.17 -	Esquema da obtenção do tosilato 2 a partir do acetonido 1 .	39
Figura 2.18 -	Proposta mecanística para a reação de formação do tosilato 2 a partir do acetonido 1 .	40
Figura 2.19 -	Espectro no IV do tosilato 2 .	41
Figura 2.20 -	Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto 2 .	42
Figura 2.21 -	Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do tosilato 2 .	43

Figura 2.22 -	Espectro de massas do tosilato 2 .	43
Figura 2.23 -	Fragmentações associadas ao espectro de massas do composto 2 : a) perda do grupo metila a partir do íon molecular; b) rearranjo do íon benzílico com a formação do íon tropílio.	44
Figura 2.24 -	Esquema da obtenção da azida orgânica 3 a partir do tosilato 2 .	44
Figura 2.25 -	Proposta mecanística da azidólise, síntese do azido 3 a partir do tosilato 2 .	45
Figura 2.26 -	Espectro no IV do azido 3 .	46
Figura 2.27 -	Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do azido 3 .	47
Figura 2.28 -	Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do azido 3 .	48
Figura 2.29 -	Espectro de massas do azido 3 .	49
Figura 2.30 -	Fragmentações do azido 3 , associadas à perda do grupo metila a partir do íon molecular e à fragmentação de grupo ligado ao anel de cinco átomos.	49
Figura 2.31 -	Esquema da síntese geral dos derivados 1,2,3-triazólicos derivados do glicerol a partir do azido 3 , por meio de reação de cicloadição.	50
Figura 2.32 -	Estruturas dos 11 dos compostos triazólicos 4a-4k derivados do glicerol. Destaca-se que o único não fluorado é o composto 4a .	50
Figura 2.33 -	Proposta mecanística para a síntese do triazol 4b por meio da reação de cicloadição catalisada por Cu(I) (CuAAC ou reação <i>click</i>).	52
Figura 2.34 -	Espectro no IV do triazol 4b .	53
Figura 2.35 -	Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do triazol 4b .	55
Figura 2.36 -	Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do triazol 4b .	57
Figura 2.37 -	Espectro de massas do triazol 4b .	57

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES FITOTÓXICA E CITOGENOTÓXICA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

Figura 3.1 -	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, o 1º herbicida amplamente utilizado.	63
Figura 3.2 -	Estrutura dos 13 compostos 1,2,3-triazólicos sintetizados por Borgati e colaboradores (1 a 13), sendo 11 halogenados.	65
Figura 3.3 -	Estrutura dos oito compostos 1,2,3-triazólicos derivados do glicerol (14 a 21) sintetizados por Costa e colaboradores.	65
Figura 3.4 -	Estrutura do ácido malínico e dos sete derivados 1,2,3-triazóis (22 a 28) semissintetizados por Nejma e colaboradores.	66

Figura 3.5 -	Estrutura dos nove compostos 1,2,3-triazólicos 4-alkil-substituídos derivados do glicerol (29 a 37) sintetizados por Costa e colaboradores.	67
Figura 3.6 -	Avaliação da fitotoxicidade em <i>L. sativa</i> dos compostos 1,2,3-triazólicos 4a a 4k , em cinco concentrações, e com controle positivo (Picloram a 0,1%) e controles negativos (água e diclorometano).	71
Figura 3.7 -	Avaliação das variáveis citogenotóxicas em células meristemáticas de <i>L. sativa</i> tratadas com os compostos 1,2,3-triazólicos 4a a 4k , em cinco concentrações, e com controle positivo (picloram a 0,1%) e controles negativos (água e diclorometano) (I).	74
Figura 3.8 -	Frequência de alterações cromossômicas (perda de cromossomos, aderência cromossômica, C-metáfase, ponte cromossômica, atraso cromossômico e quebra cromossômica) observadas em células meristemáticas de <i>L. sativa</i> tratadas com os compostos 1,2,3-triazólicos 4a a 4k , em cinco concentrações, e com controle positivo (picloram 0,1%) e controles negativos (água e diclorometano) (I).	76
Figura 3.9 -	Alterações do ciclo celular observadas em células meristemáticas de <i>L. sativa</i> tratadas com os compostos 1,2,3-triazólicos 4a a 4k , em cinco concentrações, e controle positivo (picloram 0,1%) e controles negativos (água e diclorometano).	77

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

Figura 4.1 -	Estrutura do ergosterol, principal esterol fúngico, um dos componentes da membrana plasmática de fungos.	84
Figura 4.2 -	Biossíntese do ergosterol (14) a partir do 2,3-óxido de esqualeno, passando pelo lanosterol, mostrando o sistema de enzimas utilizado no processo.	85
Figura 4.3 -	Enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51) (Código PDB: 3K1O). Ao centro, é representado o grupamento heme.	86
Figura 4.4 -	Etapas da desmetilação do lanosterol pela ação da enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51). Em destaque, em vermelho, o carbono 14 no qual ocorre a reação de desmetilação.	86
Figura 4.5 -	Sequência de reações oxidativas catalisadas pela CYP51 e proposta de mecanismo para a conversão do aldeído β,γ -insaturado no dieno correspondente.	87
Figura 4.6 -	Estruturas dos primeiros azóis utilizados: clormidazol, na área clínica, e imazalil e triadimefon, na agricultura.	88

Figura 4.7 -	Estrutura cristalográfica da enzima lanosterol-14 α -desmetilase (CYP51), depositado no Protein Data Bank (PDB) sob o código 2WX2. Ao lado, é representado o grupamento heme.	89
Figura 4.8 -	Estruturas de dois importantes fungicidas triazólicos, tebuconazol e difenoconazol, ambos contendo núcleo 1,2,4-triazólico.	90
Figura 4.9 -	Estrutura dos quatro novo compostos 1,2,3-triazólicos contendo o grupo trifluorometil (CF ₃) derivados da mandipropamida (38 a 41) sintetizados por Su e colaboradores.	91
Figura 4.10 -	Rota sintética a partir do glicerol para obtenção dos derivados 1,2,3-triazólicos e estrutura dos compostos obtidos 4a-4q .	92
Figura 4.11 -	Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos da carbolina 5a a 5k e 9a a 9f .	93
Figura 4.12 -	Estruturas dos derivados triazólicos (4i-4q) derivados do glicerol.	94
Figura 4.13 -	Estruturas dos derivados triazólicos fluorados 4c e 4h , ambos contendo o grupo fluorado na posição <i>para</i> .	101
Figura 4.14 -	Estrutura do derivado triazólico fluorado 4d, contendo o grupo fluorado na posição <i>orto</i> .	101
Figura 4.15 -	Estrutura do derivado triazólico fluorado 4k, contendo dois grupos trifluorometil, grupos com alto caráter elétron atraente.	104
Figura 4.16 -	Orbitais HOMO e LUMO e <i>gap</i> de energia (ΔE) do triazol 4d , composto com maior atividade fungicida, usando o software Gaussview5.0.	107
Figura 4.17 -	Mapa de potencial eletrostático calculado na superfície de densidade eletrônica (ρ) do composto triazólico 4d , usando o software Gaussview5.0.	108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

Tabela 2.1 - Grupos substituintes (“Grupo X”) utilizados nas sínteses dos compostos 4a a 4k e respectivos rendimentos.	34
---	----

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

Tabela 4.1 - Equação de regressão e valores de ED ₅₀ e ED ₉₀ dos compostos triazólicos 4a a 4k frente a <i>C. gloeosporioides</i>	100
Tabela 4.2 - Valores calculados das energias HOMO (E _{HOMO}), LUMO (E _{LUMO}), do <i>gap</i> de energia (E _{HOMO-LUMO}) e do momento dipolar dos triazóis 4a a 4k , usando o software Gaussian 09.	103
Tabela 4.3 - Valores calculados da eletronegatividade (χ), da energia de ionização (<i>E</i> _I), da afinidade eletrônica (<i>E</i> _A), do potencial químico eletrônico (μ_{cp}), da dureza química (η), da suavidade molecular (<i>S</i>) e do índice de eletrofilicidade (ω) dos triazóis 4a a 4k , por meio do modelo funcional B3LYP/6-31G (d) (todos em eV).	105
Tabela 4.4 - Valores calculados das propriedades físico-químicas massa molecular (MM), Log P calculado (CLog P), área de superfície polar topológica (TPSA), número de aceptores de ligações de hidrogênio (n-O/N), número de doadores de ligações de hidrogênio (n-OH/NH) e número de ligações com livre rotação (n-Rot) dos triazóis 4a a 4k , usando o pacote Molinspiration. ..	109
Tabela 4.5 - Comparação das propriedades físico-químicas dos triazóis 4a a 4k com os cinco parâmetros definidos por Tice (2001).	111

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CuAAC - Cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (do inglês *copper-catalyzed alkyne-azide cycloaddition*)

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

UV - Luz ultravioleta

IV - Infravermelho

FTIR - Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

ATR - Reflectância total atenuada (do inglês *attenuated total reflectance*)

RMN de ^{13}C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

RMN de ^1H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

MHz - Megahertz

CDCl_3 - Clorofórmio deuterado

TMS - Tetrametilsilano

eV - Elétron-volt

ppm - Partes por milhão

δ - Deslocamento químico

J - Constante de acoplamento escalar

Hz - Hertz

s - Simpleto

sap - Simpleto aparente

d - Duplete

dap - Duplete aparente

dd - Duplo de dupletos

t - Tripleto

td - Tripleto de dupletos

tdd - tripleto de duplo de dupletos

tap - Tripleto aparente

tt - Tripleto de tripletos

q - Quarteto

dqap - Duplete aparente de quartetos

quint - Quinteto

ddtap - Duplo duplo tripleto aparente

sept - Septeto

m - Multipleteo

v v⁻¹ (ou v/v) - Volume/volume

DCM - Diclorometano

DMSO-*d*₆ - Dimetilsulfóxido deuterado

$\bar{\nu}$ - Número de onda

EM - Espectrometria de massas

DMF - Dimetilformamida

P.A. - Para Análise

R_f - Fator de retenção

P.F. - Ponto de Fusão

NOE - Efeito nuclear overhauser

2,4-D - Ácido 2,4-diclorofenoxiacético

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

DIC - Delineamento inteiramente casualizado

GSI - Índice de velocidade de germinação

GR - Porcentagem de sementes germinadas

RG - Comprimento radicular

AG - Crescimento aéreo

MI - Índice mitótico

IGS - Índice de velocidade de germinação

G% - Porcentagem de germinação final

CA - Alterações cromossômicas

NA - Alterações nucleares

MNC - Micronúcleo

CN - Núcleo condensado

HOMO - Orbital molecular mais alto ocupado (do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*)

LUMO - Orbital molecular mais baixo desocupado (do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)

DFT - Teoria do funcional da densidade (do inglês *Density Functional Theory*)

BDA - Meio batata-dextrose-ágar

DMSO - Dimetilsulfóxido

ED₅₀ - Concentração do ingrediente ativo necessária para inibir o crescimento micelial do patógeno em 50%

ED₉₀ - Concentração do ingrediente ativo necessária para inibir o crescimento micelial do patógeno em 90%

MEP - Potencial eletrostático molecular (do inglês *Molecular Electrostatic Potential*)

ρ - Densidade eletrônica

*E*I - Energia de ionização

*E*A - Afinidade eletrônica

χ - Eletronegatividade

μ_{cp} - Potencial químico eletrônico

η - Dureza química

ω - Índice de eletrofilicidade

S - Suavidade molecular

MM - Massa molecular

CLog P - Log P calculado (coeficiente de partição octanol/água calculado)

TPSA - Área de superfície polar topológica (do inglês *Topological Polar Surface Area*)

n-O/N - Número de aceptores de ligações de hidrogênio

n-OH/NH - Número de doadores de ligações de hidrogênio

n-Rot - Número de ligações com livre rotação

RESUMO

BARCELOS, F. F., D.Sc, Universidade Vila Velha - ES, fevereiro de 2022. **Síntese de Novos Compostos 1,2,3-Triazólicos Fluorados Derivados do Glicerol e Avaliação das Atividades Fitotóxica, Citogenotóxica e Fungicida.** Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Scherer. Coorientador: Prof. Dr. Adilson Vidal Costa.

O controle de espécies fúngicas e plantas daninhas na agricultura é realizado principalmente com o uso de fungicidas e herbicidas de contato ou sistêmicos. No entanto, as preocupações ambientais e de saúde humana e o aumento da resistência das espécies aos agroquímicos existentes aumentaram a pressão sobre os pesquisadores para encontrar novos compostos ativos, para o controle de fungos e plantas daninhas, que apresentem baixa toxicidade para organismos não-alvo, sejam ambientalmente seguros e possam ser aplicados em baixas concentrações. Descreve-se aqui a síntese de novos compostos 1,2,3-triazólicos fluorados derivados do glicerol e a avaliação de suas atividades fitotóxica, citogenotóxica e fungicida. Cálculos teóricos também foram realizados e os resultados discutidos. A partir do glicerol, foram sintetizados em quatro etapas, por meio da reação *click*, 10 derivados 1,2,3-triazólicos fluorados (**4b** a **4k**) e um não fluorado (**4a**), com bons rendimentos (58 a 85%). A avaliação destes compostos sobre a planta modelo *Lactuca sativa* revelou que apresentam efeitos sobre parâmetros fitotóxicos e citogenotóxicos com diferentes graus de eficiência. Os parâmetros citogenotóxicos corroboraram os dados fitotóxicos, com observação de ações clastogênica, aneugênica e epigenética dos compostos triazólicos nas células meristemáticas das raízes de *L. sativa*. Já a avaliação dos derivados contra o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* mostrou que o composto 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (**4d**) apresentou atividade semelhante ($ED_{50} = 59,14 \mu\text{g mL}^{-1}$) ao fungicida comercial, usado como padrão, o tebuconazol ($61,35 \mu\text{g mL}^{-1}$). Conforme revelado pelos parâmetros físico-químicos calculados, todos os derivados sintetizados, incluindo o triazol **4d** e destacando-se o triazol **4k**, apresentaram características físico-químicas interessantes para fins agroquímicos. A avaliação da atividade fungicida desses derivados identificou o composto triazólico fluorado **4d** sendo capaz de reduzir o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em taxas comparáveis ao tebuconazol. Acredita-se que tais compostos triazólicos fluorados derivados do glicerol possam ser considerados promissores como compostos líderes a serem explorados para o desenvolvimento de novos agentes agroquímicos, principalmente, no controle do fungo testado, objetivando compostos com maior atividade e menor impacto ambiental e para a saúde.

Palavras chaves: triazol, triazóis fluorados, reação *click*, cicloadição, *Colletotrichum gloeosporioides*.

ABSTRACT

BARCELOS, F. F., D.Sc, University of Vila Velha - ES, february, 2022. **Synthesis of Novel 1,2,3-Fluorinated Triazole Compounds Derived from Glycerol and Evaluation of Phytotoxic, Cytogenotoxic, and Fungicide Activities.** Advisor: Prof. Dr. Rodrigo Scherer. Co-advisor: Prof. Dr. Adilson Vidal Costa.

The control of fungal species in agriculture is mainly conducted with the use of contact or systemic fungicides and herbicides. However, environmental, and human health concerns and increased resistance of fungal species to existing agrochemicals have increased the pressure on researchers to find new active compounds for fungal and weed control which present low toxicity to non-target organisms, are environmentally safe, and can be applied at very low concentrations. It is herein described the synthesis of new glycerol-fluorinated 1,2,3-triazole derivatives and evaluation of their phytotoxic, cytogenotoxic, and fungicide activities. Theoretical calculations were also carried out and the results are discussed. Starting from glycerol, 10 fluorinated 1,2,3-triazole derivatives (**4b-4k**) and one non-fluorinated derivative (**4a**) were synthesized in four steps, through the click reaction, with good yields (58 to 85%). The assessment of them on *Lactuca sativa* revealed that they present effects on phytotoxic and cytogenotoxic parameters with different degrees of efficiency. The cytogenotoxic parameters corroborated the phytotoxic data, with observation of clastogenic, aneugenic and epigenetic actions of triazole compounds on meristematic cells of *L. sativa* roots. Evaluation of the derivatives against the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* showed that compound 1-((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl)-4-(2-fluorophenyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**4d**) showed similar activity ($ED_{50} = 59.14 \mu\text{g mL}^{-1}$) to the standard commercial fungicide tebuconazole ($61.35 \mu\text{g mL}^{-1}$). As revealed by the calculated physicochemical parameters, all synthesized derivatives, including triazole **4d** and highlighting triazole **4k**, showed interesting physicochemical characteristics for agrochemical purposes. The evaluation of the fungicidal activity of these derivatives identified the fluorinated triazole **4d** being able to reduce the mycelial growth of *C. gloeosporioides* at rates comparable to tebuconazole. It is believed that glycerol-fluorinated 1,2,3-triazole derivatives can be considered promising as leading compounds to be explored for the development of new agrochemicals, mainly in the control of the tested fungus, aiming at compounds with greater activity and less environmental and health impact.

Keywords: triazole, fluorinated triazoles, click chemistry, cycloaddition, *Colletotrichum gloeosporioides*.

CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

O aumento da demanda global por alimentos, associado à limitada possibilidade de incremento das áreas agrícolas, pode levar a uma crise alimentar que, muito provavelmente, se intensificará no futuro (SAATH, FACHINELLO, 2018; VIEIRA et al., 2020). Aliado a isto, as chamadas pragas agrícolas (plantas daninhas, fungos, insetos e outras doenças) reduzem a produtividade e trazem elevados prejuízos aos agricultores (DUKE, 2012; PINTO-ZEVALLOS, ZARBIN, 2013; LI et al., 2018).

Com relação às plantas daninhas, tais espécies competem com as plantas por luz, espaço e nutrientes, afetando a qualidade das sementes, levando à redução no rendimento das culturas e a perdas consideráveis nas colheitas. Desse modo, o controle de plantas daninhas torna-se um fator-chave na busca de bons rendimentos das culturas (DUKE, 2012; BORGATI et al., 2013; BARI et al., 2020).

Neste cenário de pragas agrícolas, atualmente, estão identificadas, aproximadamente, 120.000 espécies de fungos. Deste universo, pode-se apontar que, aproximadamente, mil espécies demonstram ter um impacto negativo na saúde humana, na segurança alimentar, em florestas, campos ou solos. Deste modo, a necessidade de controle destes fungos é premente (BATISTA et al., 2006; FISHER et al., 2012; HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017; MONK et al., 2019). A suscetibilidade às doenças fúngicas é um problema muito significativo na agricultura moderna. Estima-se que os fungos são responsáveis por cerca de 65% das doenças das plantas (FISHER et al., 2012).

Com base nisto, a síntese de compostos agroquímicos, que buscam o controle destas pragas, com consequente aumento da produtividade agrícola, se faz necessária. Um desafio que se apresenta é a ocorrência de resistência destas pragas frente aos diferentes herbicidas e fungicidas disponíveis, fazendo com que o controle de plantas daninhas e fungos ainda seja um desafio para os pesquisadores (PARREIRA, NEVES, ZAMBOLIM, 2009; VENCILL et al., 2012). Castroagudín e colaboradores (2015) relataram, por exemplo, uma ampla distribuição de resistência aos fungicidas inibidores da quinona externa (as estrobilurinas) em populações de *Magnaporthe oryzae*, fungo causador da brusone, doença importante nas culturas de arroz e trigo, no centro-oeste e no sul do Brasil. Portanto, a inovação é essencial para

manter a eficácia no manejo de tais pragas (DUKE, 2012; LI et al., 2016; VIEIRA et al., 2020). A busca por novos compostos que atuem eficientemente, com alta seletividade, em baixas dosagens, com segurança ambiental, facilidade de uso e viabilidade econômica torna-se uma importante iniciativa (JESCHKE, 2004, 2010; WANG et al., 2010).

Para este fim, a síntese de novos compostos orgânicos que atuem como herbicidas e/ou fungicidas é essencial no ramo da agroquímica. Compostos heterocíclicos têm desempenhado um importante papel na indústria de agroquímicos (QUIN, TYRELL, 2010; LAMBERTH, DINGES, 2012; LAMBERTH et al., 2013), com anéis do tipo 1,2,3-triazólicos recebendo considerável atenção de grupos de pesquisa (COSTA et al., 2017, 2020; MARZI et al., 2022). Esta classe de compostos se caracteriza por um anel aromático heterocíclico de cinco membros, com três átomos de nitrogênio (MELO et al., 2006). Tais ciclos vêm sendo amplamente utilizados como estruturas de conexão para a síntese de novos derivados triazólicos, por serem estáveis, quer seja sob condições de oxidação, redução, degradação enzimática ou hidrólise (STRUTHERS, MINDT, SCHIBLI, 2010; MARZI et al., 2022).

Além da estabilidade, os derivados 1,2,3-triazólicos apresentam variadas atividades biológicas relatadas: fitotóxica, citotóxica, antifúngica, antibacteriana, antitumoral, antiprotozoária, antimalárica, leishmanicida e antitripanossomal (AHER et al., 2009; DOS ANJOS et al., 2009; WANG et al., 2011; AGALAVE, MAUJAN, PORE, 2011; LIMA-NETO et al., 2012; BORGATI et al., 2013; COSTA et al., 2017, 2020; DHEER, SINGH, SHANKAR, 2017; PORTA et al., 2017; GAZOLLA et al., 2018; LOPES et al., 2018; TEIXEIRA et al., 2018; DOS SANTOS et al., 2019; LIMA et al., 2019; SOUSA et al., 2021; MARZI et al., 2022).

Na busca por novos produtos agroquímicos comerciais, observa-se um aumento no número de compostos que contêm halogênios (flúor, cloro e bromo) em suas estruturas. Destaca-se em tais moléculas a tendência da presença do átomo de flúor, mas com diferentes quantidades de átomos. Por exemplo, fungicidas, geralmente, têm dois átomos de flúor e os compostos herbicidas, frequentemente, contêm três ou mais átomos de flúor (JESCHKE, 2010). Tal fato não se trata de mera coincidência, pois novos herbicidas que possuem átomos de flúor em sua estrutura têm se mostrado promissores, visto que a presença deste halogênio interfere diretamente nas propriedades físico-químicas e nas potenciais atividades biológicas (JESCHKE, 2004, 2010; MOTORNOV et al., 2017).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a síntese de novos compostos com potenciais atividades herbicida e fungicida, pela junção entre o bloco de construção glicerol e substratos fluorados, por meio de reação *click*, utilizando o núcleo 1,2,3-triazólico como o elo de ligação entre os substituintes, avaliando seu potencial uso para esses fins.

1.2 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

Com o contínuo aumento da população mundial, a busca por tecnologias para o aumento da produção de alimentos se faz necessária. Estas tecnologias almejam minimizar ou eliminar fatores limitantes à produção agrícola, como doenças, pragas e plantas daninhas. Embora se preveja que o controle integrado usando controles biológicos e abordagens biotecnológicas começarão a dominar, o uso de produtos agroquímicos ainda é a tecnologia mais difundida no mundo (RUSSELL, 2005; VIEIRA et al., 2020).

Segundo relatório da ONU, divulgado em 2017, estima-se que 200 mil pessoas morrem anualmente no mundo, vítimas de envenenamento agudo por pesticidas (ONU, 2017). No Brasil, entre 2007 e 2015, 84 mil pessoas sofreram intoxicação após exposição a pesticidas (VASCONCELOS, 2018). Vários trabalhos publicados relacionam os efeitos agudos da exposição a essas substâncias e ao tipo de exposição ocupacional acerca do tema “agrotóxicos” no Brasil (JOBIM et al., 2010; SOUZA et al., 2011; SANTANA, MOURA, NOGUEIRA, 2013; SIQUEIRA et al., 2013; MENDEZ et al., 2016; LOPES, ALBUQUERQUE, 2018; FERNANDES et al., 2020; RÓDIO, ROSSET, BRANDALIZE, 2021).

Devido a esses fatores (necessidade do uso de novos agroquímicos, ocorrência de resistência e impacto ambiental/saúde da população), há uma demanda crescente para a pesquisa e o desenvolvimento de novos compostos. Neste contexto, os “inibidores de biossíntese de esteróis” constituem o maior e mais importante grupo de compostos já desenvolvidos para o controle de doenças fúngicas, sendo os triazóis os mais importantes (PACHECO et al., 2013; MARZI et al., 2022). Associado a isto, a reação *click chemistry* (“reação *click*”) oferece uma abordagem única para a síntese de moléculas contendo anéis 1,2,3-triazólicos, compostos heterocíclicos que têm se destacado com relação às suas atividades biológicas. Esta reação deve-se, em parte, à facilidade com a qual as azidas e alquinos podem ser introduzidos numa molécula e a sua relativa estabilidade sob uma variedade de condições (MELO et al., 2006;

AGALAVE, MAUJAN, PORE, 2011; FREITAS et al., 2011; COSTA et al., 2017, 2020; PICKENS et al., 2018).

Ademais, a escolha do glicerol (propano-1,2,3-triol) como álcool de partida, para a produção dos derivados triazólicos, se deu pela facilidade de obtenção deste material, um subproduto abundante no processo de produção do biodiesel, material cada vez mais necessário no Brasil (BEATRIZ, ARAÚJO, DE LIMA, 2011). O glicerol é indispensável como matéria-prima para a produção de vários produtos, tendo uma variedade de aplicações: fármacos, dinamite, pasta de dente, cosméticos, tintas, etc. (COPINI et al., 2020).

Em face ao exposto, justifica-se a busca de novas moléculas fluoradas derivadas do glicerol contendo anel 1,2,3-triazólico, com potenciais atividades herbicida e fungicida, a serem produzidas por meio da estratégia da reação *click*.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Sintetizar uma série de derivados triazólicos do glicerol, sendo oito triazóis fluorados inéditos, avaliar seus potenciais efeitos fitotóxico, citogenotóxico e fungicida e realizar cálculos computacionais para determinar as propriedades eletrônicas e físico-químicas dos triazóis.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar, por meio de reação *click*, 11 compostos 1,2,3-triazólicos derivados do glicerol (**4a** a **4k**), sendo 10 fluorados (**4b** a **4k**), com oito inéditos (**4b**, **4d** a **4g** e **4i** a **4k**);
- Caracterizar, por meio de métodos espectroscópicos, os 11 compostos sintetizados;
- Testar, por meio de ensaios biológicos, os compostos triazólicos para avaliação das potenciais atividades fitotóxica, citogenotóxica e fungicida;
- Realizar, por meio de DFT (Teoria do Funcional da Densidade, do inglês *Density Functional Theory*), a análise conformacional dos compostos triazólicos **4a** a **4k** e calcular as energias dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO, além do *gap* (diferença) de energia entre os orbitais, e do momento dipolar (μ);
- Calcular, por meio de softwares, as propriedades eletrônicas: mapas de potencial eletrostático molecular (MEP), densidade eletrônica (ρ), energia de

ionização (EI), afinidade eletrônica (EA), eletronegatividade (χ), potencial químico eletrônico (μ_{cp}), dureza química (η), índice de eletrofilicidade (ω) e suavidade molecular (S), para estudo de estabilidade e reatividade química dos triazóis;

- Determinar, por meio de pacote computacional, os valores das propriedades físico-químicas: massa molecular (MM), Log P calculado (CLog P), área de superfície polar topológica (TPSA), número de aceptores de ligações de hidrogênio (n-O/N), número de doadores de ligações de hidrogênio (n-OH/NH) e número de ligações com livre rotação (n-Rot), para buscar uma possível correlação estrutura química dos triazóis x atividade fungicida.

1.4 REFERÊNCIAS

AGALAVE, S. G., MAUJAN, S. R., PORE, V. S. Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as pharmacophores. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 6, n. 10, p. 2696-2718, 2011.

AHER, N. G., PORE, V. S., MISHRA, N. N., KUMAR, A., SHUKLA, P. K., SHARMA, A., BHAT, M. K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 3, p. 759-763, 2009.

BARI, A., BALOCH, M. S., SHAH, A. N., KHAKWANI, A. A. HUSSAIN, I., IQBAL, J., ALI, A., BUKHARI, M. A. Application of various herbicides on controlling large and narrow leaf weeds and their effects on physiological and agronomic traits of wheat. **Planta Daninha**, v. 38, p. e020202353, 2020. DOI: 10.1590/S0100-83582020380100009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pd/a/LQfwFVSWmcVKXH7CLZWC4qB/abstract/?lang=en#>. Acesso em: 10 fev. 2021.

BATISTA, D. C., LIMA, M. A., HADDAD, F., MAFFIA, L. A., MIZUBUTI, E. S. G. Validation of decision support systems for tomato early blight and potato late blight, under Brazilian conditions. **Crop Protection**, v. 25, n. 7, p. 664-670, 2006.

BEATRIZ, A., ARAÚJO, Y. J. K., LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estéreas seletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 306-319, 2011.

BORGATI, T. F., ALVES, R. B., TEIXEIRA, R. R., FREITAS, R. P., PERDIGÃO, T. G., SILVA, S. F., SANTOS, A. A., BASTIDAS, A. J. O. Synthesis and phytotoxic activity of 1,2,3-triazole derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 6, p. 953-961, 2013.

CASTROAGUDÍN, V. L., CERESINI, P. C., DE OLIVEIRA, S. C., REGES, J. T. A., MACIEL, J. L. N., BONATO, A. L. V., DORIGAN, A. F., MCDONALD, B. A. Resistance to QoI fungicides is widespread in brazilian populations of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 3, p. 284-294, 2015.

COPINI, S., MICHELETTI, A. C., LIMA, D. P., GOMES, R. S., MEZA, A., BEATRIZ, A. Synthesis and antioxidant and antimicrobial properties of β -hydroxy sulfides, sulfoxides, and sulfones derived from cardanol and glycerol derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 12, p. 2569-2582, 2020.

COSTA, A. V., MOREIRA, L. C., PINTO, R. T., ALVES, T. A., SCHWAN, V. V., DE QUEIROZ, V. T., PRAÇA-FONTES, M. M., TEIXEIRA, R. R., MORAIS, P. A. B., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 4, p. 821-832, 2020.

COSTA, A. V., OLIVEIRA, M. V. L., PINTO, R. T., MOREIRA, L. C., GOMES, E. M. C., ALVES, T. A., PINHEIRO, P. F., QUEIROZ, V. T., VIEIRA, L. F. A., TEIXEIRA, R. R., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.

DHEER, D., SINGH, V., SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments, **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 30-54, 2017.

DOS ANJOS, J. V., FILHO, R. A. W. N., NASCIMENTO, S. C., SRIVASTAVA, R. M., MELO, S. J., SINOUE, D. Synthesis and cytotoxic profile of glycosyl-triazole linked to 1,2,4-oxadiazole moiety at C-5 through a straight-chain carbon and oxygen atoms. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 3571-3576, 2009.

DOS SANTOS, T., COELHO, C. M., ELIAS, T. C., SIQUEIRA, F. S., NORA, E. S. S. D., DE CAMPOS, M. M. A., DE SOUZA, G. A. P., COELHO, L. F. L., CARVALHO, D. T. Synthesis and biological evaluation of new eugenol-derived 1,2,3-triazoles as antimycobacterial agents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 7, p. 1425-1436, 2019.

DUKE, S.O. Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years? **Pest Management Science**, v. 68, p. 505-512, 2012.

FERNANDES, C. L. F., RAMIRES, P. F., DE MOURA, R. R., POHREN, R. S., VOLÇÃO, L. M., JUNIOR, F. M. R. S. Quais agrotóxicos estão contaminando os solos brasileiros? **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 9, n. 3, pág. e114932569, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i3.2569. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/2569>. Acesso em: 17 nov. 2021.

FISHER, M. C., HENK, D. A., BRIGGS, C. J., BROWNSTEIN, J. S., MADOFF, L. C., MCCRAW, S. L., GURR, S. J. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. **Nature**, v. 484, p. 186-194, 2012.

FREITAS, L. B. O., RUELA, F. A., PEREIRA, G. A., ALVES, R. B., FREITAS, R. P., SANTOS, L. J. A reação "click" na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.

GAZOLLA, P. A. R., TEIXEIRA, R. R., DA SILVA, A. M., VAZ, B. G., VASCONCELOS, G. A., SIQUEIRA, R. P., GONÇALVES, V. H. S., PEREIRA, H. S., BRESSAN, G. C. Síntese e avaliação da atividade citotóxica de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 497-506, 2018.

HAWKSWORTH, D. L., LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, FUNK-0052-2016. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>, 2017.

JESCHKE, P. The unique role of fluorine in the design of active ingredients for 474 modern crop protection. **ChemBioChem**, v. 5, n. 5, p. 570-589, 2004.

JESCHKE, P. The unique role of halogen substituents in the design of modern agrochemicals. **Pest Management Science**, v. 66, p. 10-27, 2010.

JOBIM, P. F. C., NUNES, L. N., GIUGLIANI, R., CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 15, n. 1, p. 277-288, 2010.

LAMBERTH, C.; DINGES, J. The significance of heterocycles for pharmaceuticals and agrochemicals. In: LAMBERTH, C.; DINGES, J. (Eds.) **Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Agrochemicals**. Weinheim: Wiley-VCH, 2012. p. 3-20.

LAMBERTH, C., JEANMART, S., LUKSCH, T., PLANT, A. Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals. **Science**, v. 341, n. 6147, p. 742-746, 2013.

LI, Q., TAN, W., ZHANG, C., GU, G., GUO, Z. Synthesis of water soluble chitosan derivatives with halogeno-1,2,3-triazole and their antifungal activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 623-629, 2016.

LIMA, Â., TEIXEIRA, R., SILVA, B., SIQUEIRA, R., SILVA, Í., SANTOS, E., FERNANDES, M. C., GONÇALVES, V., BRESSAN, G., MENDES, T., PAULA, S., COSTA, A., SANTOS, M. Síntese e avaliação das atividades fotoprotetora, citotóxica e antiviral contra o zika vírus de derivados triazólicos da benzofenona. **Química Nova**, v. 42, n. 5, p. 473-484, 2019.

LIMA-NETO, R. G., CAVALCANTE, N. N. M., SRIVASTAVA, R. M., MENDONÇA JUNIOR, F. J. B., WANDERLEY, A. G., NEVES, R. P., DOS ANJOS, J. V. Synthesis of 1,2,3-triazole derivatives and *in vitro* antifungal evaluation on *Candida* Strains. **Molecules**, v. 17, p. 5882-5892, 2012.

LOPES, C. V. A., ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 518-534, 2018.

LOPES, S. M. M., NOVAIS, J. S., COSTA, D. C. S., CASTRO, H. C, FIGUEIREDO, M. S., FERREIRA, V. F., PINHO E MELO, T. M. V. D., SILVA, F. C. Hetero-Diels-Alder reactions of novel 3-triazolyl-nitrosoalkenes as an approach to functionalized 1,2,3-triazoles with antibacterial profile. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1010-1020, 2018.

MARZI, M., FARJAM, M., KAZEMINEJAD, Z., SHIROUDI, A., KOUHPAYEH A., ZARENEZHAD, E. A Recent overview of 1,2,3-triazole-containing hybrids as novel antifungal agents: focusing on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationship (SAR). **Journal of Chemistry**, v. 2022, Article ID 7884316, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/7884316>. Acesso em: 13 jan. 2022.

MELO, J. O. F., DONNICI, C. L., AUGUSTI, R., FERREIRA, V. F., SOUZA, M. C. B. V., FERREIRA, M. L. G., CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 569-579, 2006.

MENDEZ, A., NG C. A., TORRES, J. P. M., BASTOS, W., BOGDAL, C., REIS, G. A., HUNGERBUEHLER, K. Modeling the dynamics of DDT in a remote tropical floodplain: indications of post-ban use? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 11, p. 10317-10334, 2015.

MONK, B. C., SAGATOVA, A. A., HOSSEINI, P., RUMA, Y. N., WILSON, R. K., KENIYA, M. V. Fungal lanosterol 14 α -demethylase: A target for next-generation antifungal design. **Biochim Biophys Acta, Proteins Proteomics**, 1868:140206, 2019.

MOTORNOV, V. A., TABOLIN, A. A., NOVIKOV, R. A., NELYUBINA, Y. V., IOFFE, S. L., SMOLYAR, I. V., NENAJDENKO, V. G. Synthesis and regioselective N-2 functionalization of 4-fluoro-5-aryl-1,2,3-NH-triazoles. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2017, n. 46, p. 6851-6860, 2017.

ONU - United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2017). **World Population Prospects: The 2017 Revision, Key Findings and Advance Tables**. Working Paper No. ESA/P/WP/248, 2017.

PACHECO, A. G. M., CASTILHO, M. S., LUCCHESI, A. M., PEREIRA, G., TARANTO, A. G. Comparative modeling studies of lanosterol 14- α demethylase of *Moniliophthora perniciosa*. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 4, p. 8-14, 2013.

PARREIRA, D. F., NEVES, W. S., ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009.

PICKENS, C. J., JOHNSON, S. N., PRESSNALL, M. M., LEON, M. A., BERKLAND, C. J. Practical considerations, challenges, and limitations of bioconjugation via azide-alkyne cycloaddition. **Bioconjugate Chemistry**, v. 29, p. 3, p. 686-701, 2018.

PINTO-ZEVALLOS, D. M., ZARBIN, P. H. G. A Química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1509-1513, 2013.

PORTA, E. O. J., JÄGER, S. N., NOCITO, I., LEPESHEVA, G. I., SERRA, E. C., TEKWANI, B. L., LABADIE, G. R. Antitrypanosomal and antileishmanial activity of prenyl-1,2,3-triazoles. **MedChemComm**, v. 8, n. 5, p. 1015-1021, 2017.

QUIN, D. L., TYRELL, J. A. **Fundamentals of Heterocyclic Chemistry** - importance in nature and in the synthesis of pharmaceuticals. Nova Jersey: John Wiley & Sons, EUA, 2010. 344p.

RÓDIO, G. R., ROSSET, I. G., BRANDALIZE, A. P. C. Pesticides exposure and consequences to human health. **Research, Society and Development**, [S.l.], v. 10,

- n. 8, pág. e43010817526, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i8.17526. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17526>. Acesso em: 05 out. 2021.
- RUSSELL, P. E. A century of fungicide evolution. **Journal of Agricultural Science**, v. 143, p. 11-25, 2005.
- SAATH, K. C. O., FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195-212, 2018.
- SANTANA, V. S., MOURA, M. C. P., NOGUEIRA, F. F. Mortalidade por intoxicação ocupacional relacionada a agrotóxicos, 2000-2009, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 3, p. 598-606, 2013.
- SIQUEIRA, D. F., MOURA, R. M., CARNEIRO, G. E., DE ARAÚJO, A. J., CRUZ, S. L. Análise da exposição de trabalhadores rurais a agrotóxicos. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 26, n. 2, p. 182-191, 2013.
- SOUSA, S. M. R., TEIXEIRA, R. R., COSTA, A. V., AGUIAR, A. R., FONSECA, V. R., LACERDA JR., V., ROMÃO, W., OLIVEIRA, L. A. M., RIBEIRO, I. M. L., NOGUEIRA, K. O. P. C., NASCIMENTO, C. J., JUNKER, J. Síntese de novos 1,2,3-triazóis inspirados no SRPIN340 e avaliação de seus efeitos em linhagem celular de glioblastoma humano. **Química Nova**, v. 44, n. 10, p. 1268-1279, 2021.
- SOUZA, A., MEDEIROS, A. R., SOUZA, A. C., WINK, M., SIQUEIRA, I. R., FERREIRA, M. B. C., FERNANDES, L., HIDALGO, M. P. L., TORRES, I. L. S. Avaliação do impacto da exposição a agrotóxicos sobre a saúde de população rural: Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 16, n. 8, p. 3519- 3528, 2011.
- STRUTHERS, H., MINDT, T. L., SCHIBLI, R. Metal chelating systems synthesized using the copper(I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **Dalton Transactions**, v. 39, p. 675-696, 2010.
- TEIXEIRA, R. R., GAZOLLA, P. A. R., DA SILVA, A. M., BORSODI, M. P. G., BERGMANN, B. R., FERREIRA, R. S., VAZ, B. G., VASCONCELOS, G. A., LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 146, p. 274-286, 2018.
- VASCONCELOS, Y. Agrotóxicos na berlinda. **Pesquisa FAPESP**, Ano 19, n. 271, p. 18-24, 2018.
- VENCILL, W. K., NICHOLS, R. L.; WEBSTER, T. M.; SOTERES, J. K.; MALLORY-SMITH, C.; BURGOS, N. R. Herbicide resistance: toward an understanding of resistance development and the impact of herbicide-resistant crops. **Weed Science**, v. 60, p. 2-30, 2012.
- VIEIRA, M. S. T. C., DORNELLES, R. J., ARAÚJO, J. F., OLIVEIRA, L. M. S. R., SANTOS, V. M. L.; SILVA, M. A. V. Cap. 1 - A revolução agrícola do século XIX até meados do século XX. In: REIS, A. H., ARAÚJO, J. F., OLIVEIRA, L. M. S. R. (Orgs.) **Agroecologia e Territorialidades: do estado da arte aos desafios do século XXI**. Juazeiro - BA: UNIVASF, 2020. p. 19-33.

WANG, W., WANG, S., LIU, Y., DONG, G., CAO, Y., MIAO, Z., SHENG, C. Novel conformationally restricted triazole derivatives with potent antifungal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 6020-6026, 2010.

WANG, J., TAN, H., LI, Y., MA, Y., LI, Z., GUDDAT, L. W. Chemical synthesis, *in vitro* acetohydroxyacid synthase (AHAS) inhibition, herbicidal activity, and computational studies of isatin derivatives, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 59, n. 18, p. 9892-9900, 2011.

CAPÍTULO 2 - SÍNTESE DE NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

2.1 INTRODUÇÃO

Os compostos heterocíclicos, ou seja, compostos que possuem átomos diferentes de carbono em estruturas cíclicas (anéis), são abundantes, ocupando lugar de destaque nos produtos naturais, por exemplo. Mais de 67% dos compostos listados no *Comprehensive Medicinal Chemistry* (CMC) contém anéis heterocíclicos, quer de origem natural, quer sintéticos, e tais compostos, muitas vezes, apresentam importantes atividades biológicas (BUR, PADWA, 2004).

Na busca por novos compostos com potenciais atividades biológicas, os heterociclos nitrogenados, contendo um ou mais átomos de nitrogênio, tem-se destacado, apresentando ampla aplicabilidade tanto na área de fármacos, quanto de agroquímicos e de materiais (MELO et al., 2006; POLSHETTIWAR, VARMA, 2008). Dentre os heterociclos nitrogenados, destacam-se os núcleos 1,2,3-triazólicos, anéis de cinco membros, contendo três átomos de nitrogênio ligados entre si. Este tipo de heterociclo é exclusivamente de origem sintética (MELO et al., 2006; FREITAS et al., 2011) e tem sido estudado para variadas atividades biológicas.

O principal método sintético para a formação destes esqueletos 1,2,3-triazólicos é a reação de cicloadição 1,3-dipolar envolvendo azidas orgânicas e alquinos, em uma reação denominada de “química click”, ou reação *click* (STRUTHERS, MINDT, SCHIBLI, 2010; FREITAS et al., 2011).

Deste modo, neste capítulo faz-se a revisão de literatura e descreve-se a síntese e a caracterização de 11 compostos 1,2,3-triazólicos fluorados, sendo oito inéditos, utilizando a reação *click*, tendo como material de partida o glicerol (propano-1-2,3-triol).

2.2 REVISÃO DE LITERATURA

Na pesquisa e no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos e/ou agroquímicos, a utilização de compostos heterocíclicos tem papel destacado (LAMBERTH, DINGES, 2012; LAMBERTH et al., 2013; HAQUE et al., 2017). A porção heterocíclica de uma molécula pode produzir efeito benéfico em termos das suas propriedades físico-químicas, conferindo lipofilicidade e solubilidade, ideais para

absorção e biodisponibilidade. Adicionalmente, a inserção de halogênios (Flúor, Cloro ou Bromo) nos heterociclos, gerando compostos heterocíclicos halogenados, tem sido amplamente utilizada para a fabricação de produtos farmacêuticos, pesticidas e corantes (JESCHKE, 2004, 2010). Estes compostos são, geralmente, mais polares e, conseqüentemente, se dispersam mais facilmente (WANG et al., 2010; BORGATI et al., 2013).

Na natureza, destacam-se os heterociclos nitrogenados, tanto em termos de abundância, quanto em termos de relevância biológica, pois compõem as estruturas de diversos produtos naturais, como vitaminas, alcaloides, hormônios e antibióticos, além de estarem presentes em fármacos e herbicidas. Algumas das atividades biológicas relatadas na literatura para esses compostos são: antitumoral, antifúngica, antibacteriana, antiparasitária, antimalárica, inibidora da HIV integrase, antituberculose e herbicida, conforme mostra a Figura 2.1 (MELO et al., 2006; BORGATI et al., 2013; DHEER, SINGH, SHANKAR, 2017).

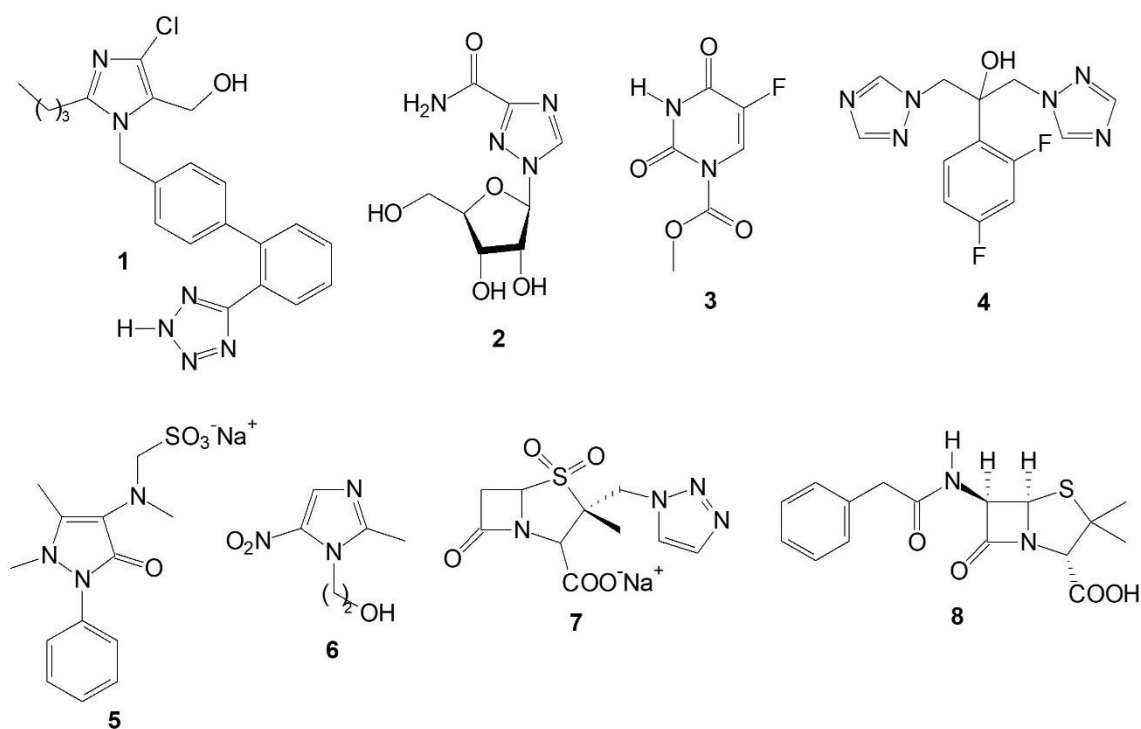


Figura 2.1 - Exemplos de heterociclos nitrogenados farmacologicamente ativos. 1) Anti-hipertensiva (losartan); 2) Antiviral (ribavirina); 3) Antitumoral (carbamato de fluorouracila); 4) Antifúngica (fluconazol); 5) Anti-inflamatória e analgésica (dipirona); 6) Antiprotzoária (metronidazol); 7) Inibidora da β -lactamase (tazobactama sódica); 8) Antimicrobiana (benzilpenicilina).
(Fonte: MELO et al., 2006).

Os compostos triazólicos encontram-se entre os sistemas heterocíclicos mais estudados e se constituem em estruturas que contém três átomos de Nitrogênio (daí o prefixo “tri”) em um ciclo. Os triazóis são substâncias heteroaromáticas (apresentam seis elétrons π) e podem apresentar dois arranjos envolvendo os átomos de Nitrogênio, existindo o anel 1,2,3-triazólico e o anel 1,2,4-triazólico (Figura 2.2) (MELO et al., 2006).

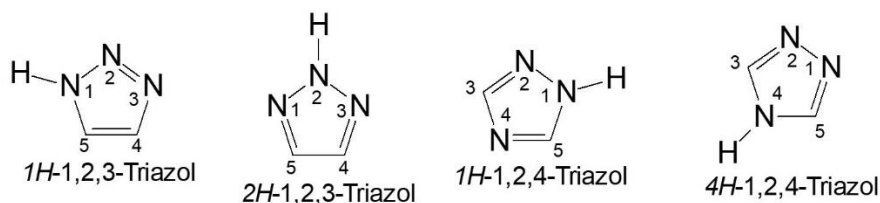


Figura 2.2 - Estrutura dos 1,2,3- e 1,2,4-triazóis.
(Fonte: MELO et al., 2006).

Os triazóis possuem um vasto campo de aplicações, incluindo o uso como explosivos, fármacos e agroquímicos. Inúmeras atividades biológicas têm sido relatadas, principalmente, contendo o anel 1,2,4-triazólico, considerado um grupo farmacofórico: atividades antibacteriana, antifúngica, antitumoral, sedativa e estimulante do sistema nervoso central (AHER et al., 2009; BORGATI et al., 2013). Os compostos contendo o anel 1,2,3-triazólico também têm se destacado em estudos de química medicinal (LESSA, 2021), apresentando bioisosterismo com o grupo amida, ou seja, é capaz de apresentar propriedades físico-químicas semelhantes ao grupo amida e, deste modo, apresentar atividades biológicas similares, podendo melhorar alguns aspectos de solubilidade e toxicidade, por exemplo, e otimizar uma possível interação com um sítio específico (KOLB, FINN, SHARPLESS, 2001; LESSA, 2021).

2.2.1 Síntese de Compostos 1,2,3-Triazólicos

O heterociclo 1,2,3-triazol é de origem exclusivamente sintética, não ocorrendo na natureza. A primeira síntese deste tipo de heterociclo foi proposta por Pechmann, um assistente da Bayer, em 1888, que tratou *bis*-fenil-hidrazonas com ácido nítrico, a quente, produzindo 2-aryl-1,2,3-2H-triazóis (Figura 2.3) (MELO et al., 2006).

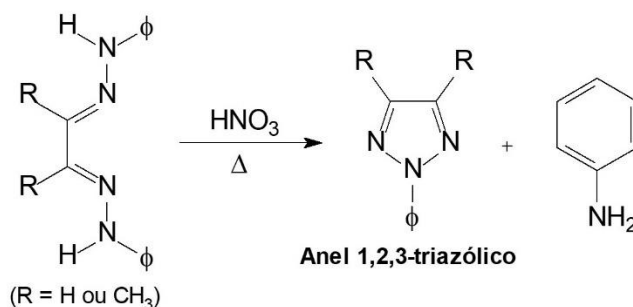


Figura 2.3 - 1ª Síntese de 1,2,3-triazóis: Síntese de Pechmann a partir de *bis*-fenil-hidrazonas.
(Fonte: MELO et al., 2006).

Os derivados 1,2,3-triazólicos, atualmente, podem ser sintetizados por diversas rotas sintéticas clássicas ou mais recentes. Para a obtenção deste heterociclo, um dos métodos clássicos foi o desenvolvido em 1967, por Huisgen, que é a chamada cicloadição térmica 1,3-dipolar, reação que envolve azidas orgânicas e alquinos terminais ou internos (HUISGEN, 1963a; 1963b). Esta reação, quando foi criada, apesar de bem-sucedida, apresentava dois problemas principais: necessidade de longos tempos reacionais e de altas temperaturas. Além disso, de maneira geral, apresentava baixos rendimentos e ocorria a formação de mistura de regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos, caso fossem utilizados alquinos assimétricos (Figura 2.4) (AHER et al., 2009; FREITAS et al., 2011).

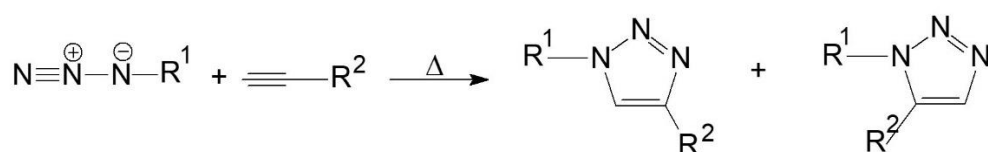


Figura 2.4 - Regioisômeros obtidos via cicloadição térmica [3+2] clássica de Huisgen.
(Fonte: FREITAS et al., 2011).

Em 2002, dois grupos independentes, um chefiado por Sharpless e outro por Meldal, relataram uma proposta de cicloadição, também envolvendo azidas e alquinos terminais, mas catalisada por Cobre (I), estratégia que levou a uma melhora dramática no resultado da reação, tanto no tempo quanto na regioseletividade, além de ser efetuada em condições brandas, fornecendo, com bons rendimentos, anéis 1,2,3-triazólicos 1,4-dissubstituídos (STRUTHERS, MINDT, SCHIBLI, 2010). A Figura 2.5 faz uma comparação entre as condições reacionais e os resultados obtidos.

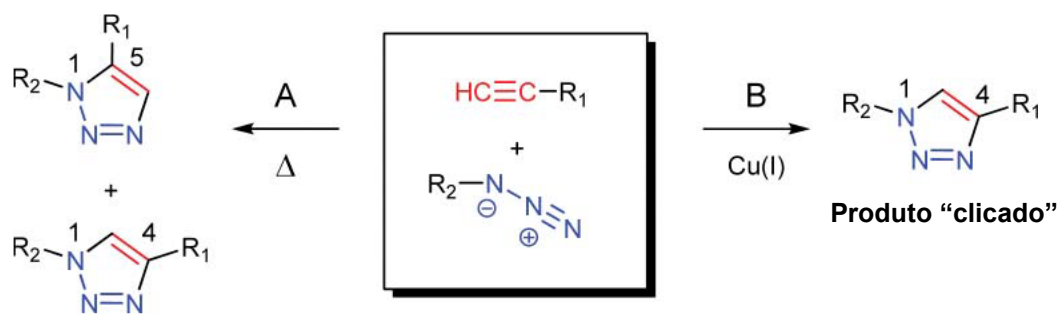


Figura 2.5 - Comparação de reações de cicloadição entre alquinos e azidas terminais. (A) cicloadição de Huisgen - sob condições térmicas: produz misturas de isômeros; (B) Catálise com Cu (I): resulta na formação exclusiva de 1,2,3-triazóis 1,4-disubstituídos. (R1 e R2 representam dois componentes químicos ou bioquímicos de interesse a serem conectados por um ligante triazol estável). (Fonte: STRUTHERS, MINDT, SCHIBLI, 2010)

Estas mudanças nas características desta cicloadição alquino/azida, catalisada pela presença de cobre (I), associada à sua versatilidade, tornaram-na uma das reações mais utilizadas por grupos de pesquisa em estratégias de síntese de 1,2,3-triazóis 1,4-disubstituídos (COSTA et al., 2017; 2020), e fez desta reação o protótipo da chamada química “click”, gerando uma nova denominação, uma “classe”, para esta reação, que passou a ser chamada de reação “click” (Figura 2.6) (STRUTHERS; MINDT; SCHIBLI, 2010; FREITAS et al., 2011; DUBEY et al., 2015).

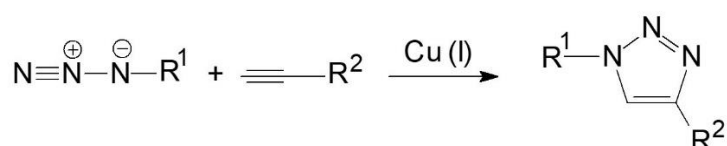


Figura 2.6 - A reação “click”. (Fonte: FREITAS et al., 2011).

Existem características para que uma reação possa ser definida como reação *click*. A reação deve ser rápida, estereoespecífica e produzir produtos secundários inofensivos, do ponto de vista de saúde e ambiental (KOLB, FINN, SHARPLESS, 2001; FREITAS et al., 2011). Desta forma, segundo Kolb, Finn e Sharpless, uma reação *click* deve ser realizada sem solventes ou que estes sejam atóxicos e inofensivos, utilizar materiais de partida estáveis e de simples obtenção e não necessitar, por exemplo, de cuidados especiais, como, por exemplo, a reação pode ser realizada em meio aquoso, o que é um grande diferencial. O objetivo da proposição destas características, por parte dos autores, estava associado ao uso de

reações simples como estratégia para a obtenção de bibliotecas de compostos a serem testados, tanto na área farmacêutica, quanto na de materiais (KOLB, FINN, SHARPLESS, 2001). No artigo original, os autores descrevem uma série de reações clássicas em química orgânica que poderiam se enquadrar nesta categoria de reação *click*.

Uma outra vantagem desta reação é que alquinos e azidas são geralmente fáceis de se adquirir e tendem a ser pouco reativos com a maioria dos outros grupos funcionais comuns em química orgânica, eliminando a necessidade de proteger a química do grupo. Além disso, esta reação é eficiente em uma gama de solventes, tanto em água, quanto em solventes orgânicos, com seletividade e rendimentos muito bons, facilitando o isolamento e a purificação do produto 1,2,3-triazólico obtido. E, em adição, o próprio derivado 1,2,3-triazólico é bastante estável e praticamente inerte à oxidação, redução e hidrólise (STRUTHERS; MINDT; SCHIBLI, 2010; FREITAS et al., 2011).

Com todas estas características, a reação *click* apresenta alta versatilidade e uma infinidade de aplicações em síntese, química medicinal, biologia molecular e ciência dos materiais. Inúmeros trabalhos buscando a síntese de novos compostos 1,2,3-triazólicos têm utilizado a reação *click* com sucesso (COSTA et al., 2017, 2020; GAZOLLA et al., 2018; TEIXEIRA et al., 2018; DE OLIVEIRA et al., 2019),

Na reação *click* não há a adição direta de uma espécie de cobre (I). Na verdade, o sulfato de cobre penta-hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) é utilizado como fonte de cobre (II) e o sal ascorbato de sódio é utilizado como agente redutor. Desta forma, a espécie catalítica Cu (I) é gerada *in situ* (DÍEZ-GONZALES, 2011). Por isto, este esquema reacional também é chamado de cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (CuAAC, do inglês *Copper-catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition*) (FREITAS et al., 2011).

Mecanismos envolvendo metais, de maneira geral, apresentam dificuldade para elucidação e isto ocorre com o mecanismo dessa reação CuAAC. Vários estudos teóricos e experimentais (RODIONOV, FOKIN, FINN et al., 2005; LUNDBERG et al., 2008; MELDAL, TORNØE, 2008; HEIN, FOKIN, 2010; ARAGÃO-LEONETI et al., 2010; WORRELL, MALIK, FOKIN, 2013) têm buscado uma proposta mecanística. Marzi e colaboradores (2022), recentemente, propuseram um mecanismo para esta reação *click*-CuAAC, no qual se observa a necessidade da presença de dois átomos de cobre nesta cicloadição catalítica (Figura 2.7).

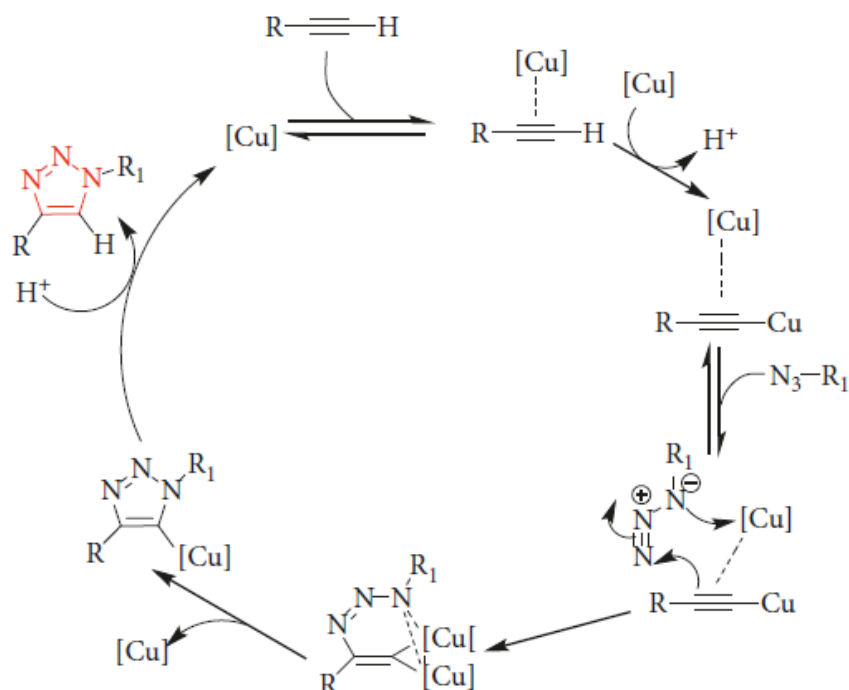


Figura 2.7 - Mecanismo da cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (CuAAC) - reação *click*.
(Fonte: MARZI et al., 2022)

Com base nesta versatilidade e relativa facilidade da reação *click*, associado ao sucesso do uso em inúmeros trabalhos objetivando a síntese de compostos 1,2,3-triazólicos 1,4-disubstituídos, esta metodologia foi utilizada neste trabalho.

Por fim, para a síntese dos triazóis, definiu-se o glicerol como material de partida. Este composto é um álcool que contém três carbonos e três hidroxilas vizinhas, sendo denominado oficialmente como propano-1,2,3-triol (Figura 2.8) e tendo o nome comercial de glicerina (PEITER et al., 2016). Esta substância é obtida em larga escala, no Brasil, na produção do biodiesel, sendo muito utilizado nas indústrias química e farmacêutica (BEATRIZ, ARAÚJO, LIMA, 2011). Esta alta produção de glicerol acaba gerando um problema para a produção de biodiesel, pois este volume “extra” de glicerol tem que ser destinado para algum setor ou ser armazenado. Nesse cenário, tem-se buscado desenvolver usos alternativos para consumir esta quantidade adicional de glicerol produzida (MONTEIRO et al., 2018). Neste contexto, vários trabalhos têm aproveitado a abundância de glicerol e utilizado como material de partida para a produção de compostos triazólicos, o que enfatiza a escolha do glicerol como material de partida (BEATRIZ, ARAÚJO, LIMA, 2011; COSTA et al., 2017, 2020; COPINI et al., 2020; SILVA et al., 2020).

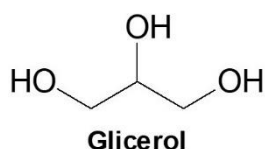


Figura 2.8 - Estrutura do glicerol (propano-1,2,3-triol).

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Generalidades Metodológicas

Os solventes e reagentes de grau de pureza (sulfato de cobre pentahidratado, ascorbato de sódio, azida de sódio, ácido *p*-toluenossulfônico e piridina) foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), sendo utilizados conforme recebidos do fornecedor. Já os alquinos terminais foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e usados conforme recebidos do fornecedor. O progresso das reações foi monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de alumínio pré-revestidas de sílica-gel (Macherey-Nagel), usando diferentes sistemas de solventes. As placas de CCD foram visualizadas usando solução de permanganato de potássio, solução de ácido fosfomolibdico e/ou luz ultravioleta (UV) ($\lambda = 254$ nm). Para a purificação, realizou-se cromatografia em coluna, usando sílica gel 60 (63-200 μm). Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos por transformada de Fourier (FTIR) em espectrômetro Bruker modelo Tensor 27 (Bruker, Karlsruhe, Alemanha), utilizando reflectância total atenuada (ATR), com varredura de 4.000 a 500 cm^{-1} . Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados em um instrumento Varian Mercury 400 (Varian, Palo Alto, CA, EUA), a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C , usando clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. As atribuições dos sinais presentes nos espectros de RMN foram realizadas com base na literatura. Os espectros de massa foram registrados em um aparelho Shimadzu GCMS-QPPlus 2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão), sob condições de ionização eletrônica (70 eV), no modo de íon positivo. Os pontos de fusão foram determinados com o equipamento Marconi MA 381 (Marconi, São Paulo, Brasil) e não foram corrigidos.

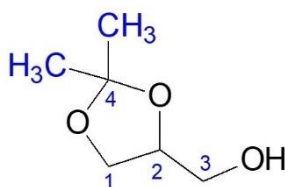
Os dados dos espectros de RMN de ^1H são apresentados da seguinte forma: deslocamento químico (δ), em ppm, multiplicidade, número de hidrogênios e valores constantes de acoplamento escalar (J), em Hertz (Hz). As multiplicidades são

indicadas pelas seguintes abreviaturas: s (simpleto), sap (simpleto aparente), d (duplete), dap (duplete aparente), dd (duplo de dupletos), td (triplete de dupletos), tdd (triplete de duplo de dupletos), t (triplete), tap (triplete aparente), tt (triplete de tripletos), q (quarteto), dqap (duplete aparente de quartetos), quint (quinteto), sept (septeto) e m (multiplete).

2.3.2 Procedimentos Sintéticos

2.3.2.1 Síntese do (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (**1**)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 100 mL de glicerol (1,36 mol), 100 mL de acetona (1,36 mol), 0,2 g de ácido *p*-toluenossulfônico (1,16 mmol) e 10 g de sulfato de cobre penta-hidratado (62,65 mmol). A mistura foi mantida sob agitação magnética, durante dois dias. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/éter etílico 2:1 v/v; revelador: ácido fosfomolibdico em etanol). Após o término da reação, filtrou-se a mistura reacional e obteve-se um líquido viscoso. Esta solução foi concentrada em rotaevaporador e, em seguida, o produto foi purificado em coluna de sílica (eluente: hexano/acetato de etila 3:1 v/v), sendo o solvente removido em rotaevaporador, obtendo-se 20,0 g do (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (composto **1**), um rendimento de 63%.



Composto (1)

Característica: líquido incolor.

CCD: $R_f = 0,35$ (hexano/acetato de etila 3:1 v/v).

FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.385 (OH), 2.937 (C-H, sp^3), 1.372 (C-O), 1.213 (C-O), 1.156 (C-O). O espectro é apresentado na Figura 2.12 (p. 36).

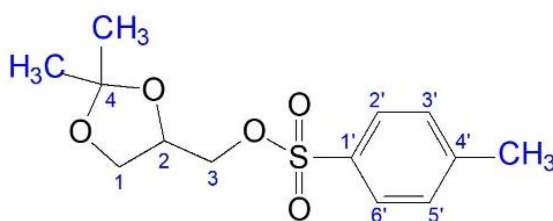
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,27 (s, 3H, CH_3), 1,33 (s, 3H, CH_3), 2,99 (sl, 1H, OH), 3,49 (dd, 1H, $J_1 = 11,5$ Hz; $J_2 = 5,2$ Hz, H-3a ou H-3b), 3,58 (dd, 1H, $J_1 = 11,5$ Hz; $J_2 = 4,2$ Hz, H-3a ou H-3b), 3,66 (dd, 1H, $J_1 = 8,2$ Hz; $J_2 = 6,6$ Hz, H-1a ou H-1b), 3,94 (dd, 1H, $J_1 = 8,2$ Hz; $J_2 = 6,6$ Hz, H-1a ou H-1b), 4,09-4,16 (quint, 1H, H2). O espectro é apresentado na Figura 2.13 (p. 37).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (CH_3), 26,4 (CH_3), 62,8 (C-3), 65,6 (C-1), 76,0 (C-2), 109,1 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 2.14 (p. 38).

EM (m/z, %): 117 ([M-15]⁺, 38), 101 (22), 72 (10), 57 (25), 43 (100), 31 (12). O espectro é apresentado na Figura 2.15 (p. 38).

2.3.2.2 Síntese do *p*-toluenossulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metila (**2**)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 12,52 g do composto **1** (98,48 mmol) e 50 mL de piridina (640 mmol). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 20 minutos e, em seguida, foram adicionados 27,0 g de cloreto de tosilato (142,2 mmol) dissolvido em 10 mL de diclorometano seco, tornando a solução amarelada. Esta solução foi mantida sob agitação magnética, em banho de gelo, por duas horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 3:1 v/v; revelador: ácido fosfomolibdico em etanol). Acrescentou-se diclorometano e água à mistura reacional e as fases foram separadas. Lavou-se a fase orgânica várias vezes com HCl 1,0 mol L⁻¹, secou-se com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se o material em rotaevaporador. O produto foi purificado em coluna de sílica (eluente: hexano/acetato de etila 3:1 v/v) e o solvente foi removido em rotaevaporador, fornecendo o *p*-toluenossulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metila (composto **2**), com rendimento de 75%.



Composto (2)

Característica: líquido incolor.

CCD: R_f = 0,89 (hexano/acetato de etila 3:1 v/v).

FTIR ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 2.995 (C-H sp³), 2.985 (C-H sp³), 1.600 (C=C), 1.365 (C-O), 1.265 (C-O), 1.176 (S=O), 978 (S-O). O espectro é apresentado na Figura 2.19 (p. 41).

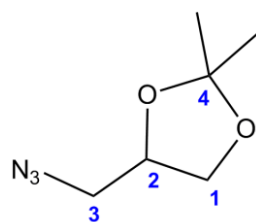
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 1,30 (s, 3H, CH₃), 1,33 (s, 3H, CH₃), 2,45 (s, 3H, tosil-CH₃), 3,76 (dd, 1H, J_1 = 8,8 Hz; J_2 = 5,2 Hz, H-1a ou H-1b), 3,93 - 4,04 (m, 3H, H-1a/H-1b/H-3b ou H3a), 4,23 - 4,31 (quint, 1H, H2), 7,34 (d, 2H, J_{orto} = 8,2 Hz, H-3'/H-5'), 7,79 (d, 2H, J_{orto} = 8,2 Hz, H-2'/H-6'); O espectro é apresentado na Figura 2.20 (p. 42).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 21,6 (CH₃-tosil), 25,1 (CH₃), 26,6 (CH₃), 66,1 (C-1), 69,4 (C-3), 72,8 (C-2), 110,0 (C-4), 127,9 (C-3'/C-5'), 129,8 (C-2'/C-6'), 132,4 (C-4'), 145,0 (C-1'). O espectro é apresentado na Figura 2.21 (pg. 43).

EM (*m/z*, %): 271 ([M-15]⁺, 90), 173 (10), 155 (76), 101 (86), 91 (89), 65 (24), 59 (10), 43 (100), 31 (4). O espectro é apresentado na Figura 2.22 (p. 43).

2.3.2.3 Síntese de 4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**3**)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,9 g do composto **2** (3,15 mmol), 1,0 g de azida de sódio (NaN₃ - 15,73 mmol) e 3,0 mL de dimetilformamida (DMF). A mistura reacional foi mantida sob refluxo (120 °C), em agitação magnética, por oito horas. Após o termino da reação, o material foi filtrado, fornecendo um líquido amarelado. Em seguida, adicionou-se acetato de etila e água e fez-se a extração. Este procedimento foi repetido três vezes. As fases orgânicas foram reunidas, secou-se com sulfato de sódio anidro e filtrou-se, obtendo-se um líquido amarelo. Esta solução foi concentrada em rotaevaporador e, em seguida, o produto foi purificado em coluna de sílica (eluente: éter etílico/diclorometano 10:1 v/v), sendo o solvente removido em rotaevaporador, fornecendo o 4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (composto **3**), com rendimento de 93%.



Composto (3)

Característica: líquido amarelo.

CCD: R_f = 0,51 (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

FTIR ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 2.932 (C-H sp³), 2.102 (N=N), 1.662 (C=O, DMF), 1.386 (C-N), 1.244 (C-O), 1.091 (C-O). O espectro é apresentado na Figura 2.26 (p. 46).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 1,32 (s, 3H, CH₃), 1,42 (s, 3H, CH₃), 3,24 (dd, 1H, J₁ = 12,6 Hz; J₂ = 5,4 Hz, H-3a ou H-3b), 3,35 (dd, 1H, J₁ = 12,6 Hz; J₂ = 4,7 Hz, H-3a ou H-3b), 3,72 (dd, 1H, J₁ = 8,5 Hz; J₂ = 5,7 Hz, H-1a ou H-1b), 4,00 (dd, 1H, J₁ = 8,5 Hz; J₂ = 6,3 Hz, H-1a ou H-1b), 4,19 - 4,26 (quint, 1H, H₂). O espectro é apresentado na Figura 2.27 (p. 47).

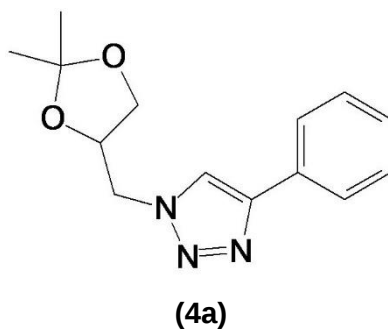
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 25,4 (CH₃), 26,6 (CH₃), 53,0 (C-3), 66,7 (C-1), 74,7 (C-2), 110,2 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 2.28 (p. 48).

EM (*m/z*, %): 142 ([M-15]⁺, 39), 101 (61), 83 (4), 72 (10), 59 (12), 43 (100), 31 (5). O espectro é apresentado na Figura 2.29 (p. 49).

2.3.2.4 Síntese dos compostos 1,2,3-triazólicos fluorados 4a a 4k derivados do glicerol - reações de cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (I)

O seguinte procedimento geral foi utilizado na preparação dos compostos 1,2,3-triazólicos fluorados **4a** a **4k** derivados do glicerol. Em um balão de fundo redondo foram adicionados o composto **3** (azida orgânica - 1,50 equivalente), o alquino terminal (1,00 equivalente de cada), 1 mL de solução de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,1 mol L^{-1} (0,096 mmol), 0,060 g de ascorbato de sódio (0,288 mmol) e 12 mL de solução aquosa de álcool *terc*-butílico (1:1 v/v). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética a 50 °C, por oito horas. Após o término da reação, verificado via CCD, foram adicionados 10 mL de água destilada e fez-se extração com diclorometano (3 x 20 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e a solução produzida foi concentrada em rotaevaporador. Os produtos brutos foram purificados em coluna de sílica gel eluída com acetato de etila-metanol (9:1 v/v) e o solvente foi removido em rotaevaporador, produzindo os triazóis (**4a** - **4k**), com rendimentos de 58 a 85% (Tabela 2.1, p. 34). As estruturas dos 11 compostos triazólicos (**4a** a **4k**) foram confirmadas pelos dados a seguir.

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol (**4a**)



Sólido branco, preparado com 83% de rendimento a partir da reação entre o fenilacetileno (1,50 g, 14,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 120-123 °C.

CCD: R_f = 0,57 (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.145, 2.992, 2.923, 2.853, 1.607, 1.484, 1.461, 1.438, 1.373, 1.262, 1.224, 1.202, 1.166, 1.115, 1.063, 1.041, 970, 883, 833, 767, 699.

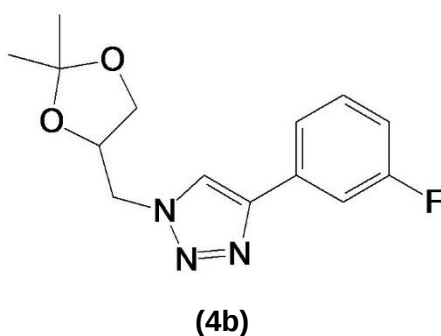
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,32 (s, 3H, CH_3'), 1,36 (s, 3H, CH_3''), 3,74 (dd, 1H, J_1 = 8,8 Hz; J_2 = 6,0 Hz, Ha-11), 4,09 (dd, 1H, J_1 = 8,8 Hz; J_2 = 6,4 Hz, Hb-11), 4,40-4,50 (m, 2H, Ha-9/H-10), 4,55 (dd, 1H, J_1 = 12,8 Hz; J_2 = 2,8, Hb-9), 7,29 (tt, 1H, J_1 =

8,0 Hz; $J_2 = 1,2$ Hz, H-4), 7,37-7,41 (m, 2H, H-3/H-5), 7,80 (dd, 2H, $J_1 = 8,0$ Hz; $J_2 = 1,2$ Hz, H-2/H-6), 7,87 (s, 1H, H-8).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,1 (CH_3'), 26,6 (CH_3''), 52,2 (C-9), 66,3 (C-11), 74,0 (C-10), 110,2 (C-12), 120,9 (C-8), 125,6 (C-2/C-6), 128,0 (C-4), 128,8 (C-3/C-5), 130,5 (C-1), 147,7 (C-7).

EM (m/z , %): 259 ($[\text{M}]^+$, 19), 244 ($[\text{M}-15]^+$, 16), 144 (18), 127 (18), 116 (25), 99 (33), 85 (56), 71 (70), 57 (100), 43 (79), 41 (29), 32 (11).

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (4b)



Sólido branco, preparado com 70% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-3-fluorobenzeno (1,70 g, 14,2 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 88-91 °C.

CCD: $R_f = 0,60$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

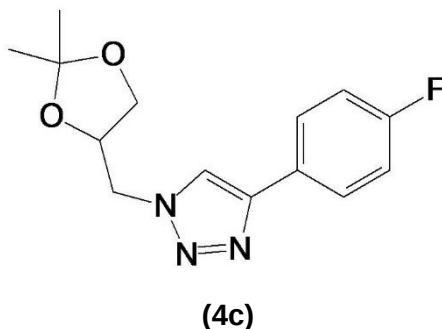
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.099, 2.992, 1.620, 1.590, 1.484, 1.465, 1.444, 1.372, 1.293, 1.225, 1.202, 1.149, 1.115, 1.055, 1.026, 969, 865, 835, 755, 687.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,33 (s, 3H, CH_3'), 1,38 (s, 3H, CH_3''), 3,75 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 6,0$ Hz, Ha-11), 4,12 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz ; $J_2 = 6,4$ Hz, Hb-11), 4,42-4,51 (m, 2H, Ha-9/H-10), 4,58 (dd, 1H, $J_1 = 12,6$ Hz ; $J_2 = 2,6$, Hb-9), 6,99 (tdd, 1H, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 2,5$ Hz; $J_3 = 0,8$ Hz, H-4), 7,33-7,38 (m, 1H, H-6), 7,51-7,59 (m, 2H, H-2/H-5), 7,90 (s, 1H, H-8).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,1 (CH_3'), 26,6 (CH_3''), 52,3 (C-9), 66,3 (C-11), 74,0 (C-10), 110,2 (C-12), 112,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 22,0$ Hz, C-2), 114,9 (d, $J_{\text{C-F}} = 21,0$ Hz, C-4), 121,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-6), 121,3 (C-8), 130,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 8,0$ Hz, C-5), 132,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,0$ Hz, C-1), 146,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-7), 163,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 253,0$ Hz, C-3).

EM (m/z, %): 277 ([M]⁺, 34), 262 ([M-15]⁺, 32), 248 (10), 219 (21), 206 (11), 190 (10), 177 (9), 162 (37), 148 (28), 134 (40), 120 (24), 101 (33), 83 (10), 73 (20), 57 (44), 43 (100), 41 (48), 31 (10).

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (4c)



Sólido branco, preparado com 81% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-4-fluorobenzeno (2,00 g, 16,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,75 g, 11,1 mmol).

P.F. 100-103 °C.

CCD: R_f = 0,57 (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

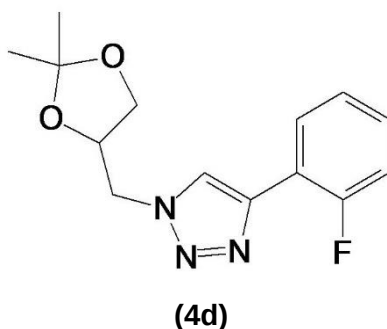
FTIR ($\bar{\nu}$, cm⁻¹): 3.295, 2.986, 2.886, 1.706, 1.590, 1.568, 1.470, 1.431, 1.372, 1.256, 1.226, 1.147, 1.051, 1.034, 971, 879, 831, 755, 676.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 1,33 (s, 3H, CH₃'), 1,37 (s, 3H, CH₃''), 3,75 (dd, 1H, J₁ = 8,8 Hz ; J₂ = 6,0 Hz, H a-11), 4,11 (dd, 1H, J₁ = 8,8 Hz ; J₂ = 6,4 Hz, H b-11), 4,41-4,50 (m, 2H, H a-9/H-10), 4,57 (dd, 1H, J₁ = 13,2 Hz ; J₂ = 3,2, H b-9), 7,08 (t, 2H, J₁ = 8,6 Hz, H-3/H-5), 7,76-7,79 (dd, 2H, H-2/H-6), 7,84 (s, 1H, H-8).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 25,0 (CH₃'), 26,6 (CH₃''), 52,2 (C-9), 66,2 (C-11), 73,9 (C-10), 110,1 (C12), 115,7 (d, J_{C-F} = 21,0 Hz, (C-3/C-5), 120,6 (C-8), 126,7 (d, J_{C-F} = 3,0 Hz, C-1), 127,4 (d, J_{C-F} = 9,0 Hz, C-2/C-6), 146,7 (C-7), 162,6 (d, J_{C-F} = 253,0 Hz, C-4).

EM (m/z, %): 277 ([M]⁺, 35), 262 ([M-15]⁺, 35), 248 (16), 206 (12), 190 (7), 176 (9), 162 (25), 148 (29), 134 (47), 120 (29), 101 (29), 83 (9), 73 (21), 68 (32), 59 (33), 57 (46), 43 (100), 41 (44), 31 (10).

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (4d)



Sólido amarelo, preparado com 85% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-2-fluorobenzeno (2,00 g, 16,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,75 g, 11,1 mmol).

P.F. 69-72 °C.

CCD: $R_f = 0,72$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

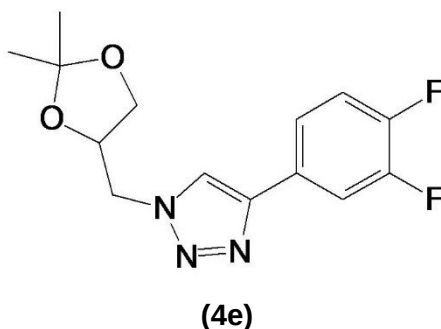
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.172, 2.994, 2.976, 2.958, 2.926, 1.579, 1.553, 1.485, 1.466, 1.437, 1.370, 1.260, 1.233, 1.217, 1.164, 1.142, 1.107, 1.044, 967, 944, 906, 841, 819, 757, 670.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,33 (s, 3H, CH_3'), 1,37 (s, 3H, CH_3''), 3,75 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 5,2$ Hz, H a-11), 4,10 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz ; $J_2 = 6,0$ Hz, H b-11), 4,47-4,52 (m, 2H, H a-9/H-10), 4,58 (dd, 1H, $J_1 = 15,8$ Hz; $J_2 = 6,2$, H b-9), 7,08-7,13 (m, 1H, H-4), 7,20-7,31 (m, 2H, H-3/H-5), 8,04 (sap, 1H, $J = 3,6$ Hz, H-8), 8,26 (td, 1H, $J_1 = 7,6$ Hz; $J_2 = 2,0$, H-6).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,1 (CH_3'), 26,7 (CH_3''), 51,9 (C-9), 66,1 (C-11), 73,9 (C-10), 110,2 (C-12), 115,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 21,0$ Hz, C-3), 118,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 16,0$ Hz, C-8), 124,0 (d, $J_{\text{C-F}} = 12,0$ Hz, C-1), 124,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-5), 127,7 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-4), 129,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,0$ Hz, C-6), 141,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-7), 159,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 242,0$ Hz, C-2).

EM (m/z , %): 277 ($[\text{M}]^+$, 52), 262 ($[\text{M}-15]^+$, 52), 248 (7), 219 (21), 206 (14), 190 (12), 177 (14), 162 (50), 148 (36), 134 (46), 120 (27), 107 (24), 101 (36), 83 (9), 68 (20), 59 (35), 57 (48), 43 (100), 41 (47), 31 (12).

- Síntese do 4-(3,4-difluorofenil)-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-1H-1,2,3-triazol (4e)



Sólido marrom, preparado com 78% de rendimento a partir da reação entre o 3,4-difluoroacetileno (2,00 g, 14,5 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 73-75 °C.

CCD: $R_f = 0,53$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

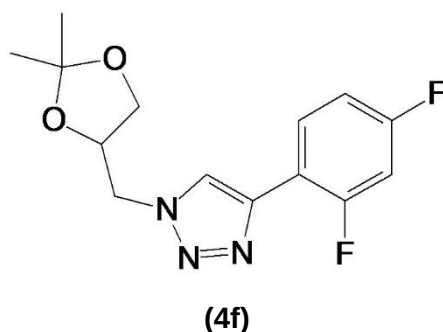
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.138, 3.114, 2.990, 2.927, 1.608, 1.566, 1.509, 1.462, 1.440, 1.370, 1.366, 1.273, 1.239, 1.186, 1.151, 1.117, 1.072, 1.052, 1.005, 968, 882, 822, 773, 718, 628, 603.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,33 (s, 3H, CH_3'), 1,37 (s, 3H, CH_3''), 3,75 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 5,6$ Hz, Ha11), 4,12 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 6,4$ Hz, Hb-11), 4,41-4,50 (m, 2H, Ha-9/H-10), 4,58 (dd, 1H, $J_1 = 13,4$ Hz; $J_2 = 3,0$ Hz, Hb-9), 7,17 (td, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz; $J_2 = 7,8$ Hz; $J_3 = 1,6$, H-5), 7,49- 7,53 (m, 1H, H-6), 7,61-7,66 (m, 1H, H-2), 7,86 (s, 1H, H-8).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (CH_3'), 26,3 (CH_3''), 52,3 (C-9), 66,1 (C-11), 74,0 (C-10), 110,1 (C-12), 114,7 (d, $J_{\text{C-F}} = 19,0$ Hz, C5), 117,6 (dap, $J_{\text{C-F}} = 17,0$ Hz, C-2), 121,0 (C-8), 121,7 (dd, $J_{\text{C-F}} = 6,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, C-6), 127,7 (dd, $J_{\text{C-F}} = 6,5$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 3,5$ Hz, C-1), 145,9 (C-7), 150,1 (dd, $J_{\text{C-F}} = 247,5$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 12,5$ Hz, C-3), 150,6 (dd, $J_{\text{C-F}} = 247,5$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 11,5$ Hz, C-4).

EM (m/z , %): 295 ($[\text{M}]^+$, 35), 280 ($[\text{M}-15]^+$, 37), 266 (12), 237 (17), 224 (12), 208 (9), 180 (28), 166 (22), 152 (36), 138 (23), 125 (18), 119 (10), 101 (21), 83 (7), 73 (20), 68 (19), 57 (32), 43 (100), 41 (47), 31 (10).

- Síntese do 4-(2,4-difluorofenil)-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-1H-1,2,3-triazol (4f)



Sólido branco, preparado com 68% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-2,4-difluorobenzeno (2,00 g, 14,5 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 95-97 °C.

CCD: $R_f = 0,68$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

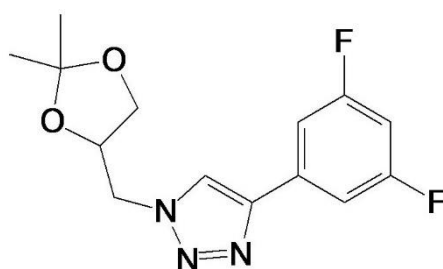
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.178, 3.072, 2.998, 2.960, 1.628, 1.602, 1.559, 1.493, 1.462, 1.416, 1.382, 1.358, 1.266, 1.244, 1.211, 1.165, 1.142, 1.117, 1.068, 1.045, 980, 905, 869, 841, 804, 732, 662, 611.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,32 (s, 3H, CH_3'), 1,36 (s, 3H, CH_3''), 3,74 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 5,6$ Hz, Ha-11), 4,10 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz ; $J_2 = 6,0$ Hz, Hb-11), 4,45-4,51 (m, 2H, Ha-9/H-10), 4,57 (dd, 1H, $J_1 = 15,8$ Hz; $J_2 = 6,2$, Hb-9), 6,83-6,89 (m, 1H, H-5), 6,93-6,98 (m, 1H, H-3), 7,99 (sap, 1H, $J = 3,6$ Hz, H-8), 8,20-8,26 (1H, m, H-6).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,1(CH_3'), 26,3 (CH_3''), 51,9 (C-9), 66,1 (C-11), 73,9 (C-10), 104,0 (t, $J_{\text{C-F}} = 25,5$ Hz, C-3), 110,1 (C-12), 111,9 (dd, $J_{\text{C-F}} = 21,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-5), 114,9 (dd, $J_{\text{C-F}} = 13,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, C-1), 123,5 (dap, $J_{\text{C-F}} = 12,0$ Hz, C-8), 128,7 (dd, $J_{\text{C-F}} = 9,5$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 6,5$ Hz, C-6), 140,4 (dap, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-7), 159,1 (dd, $J_{\text{C-F}} = 249,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 12,0$ Hz, C-2), 162,4 (dd, $J_{\text{C-F}} = 249,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 12,0$ Hz, C-4).

EM (m/z , %): 295 ($[\text{M}]^+$, 30), 280 ($[\text{M}-15]^+$, 37), 237 (15), 220 (11), 208 (8), 195 (8), 180 (29), 166 (21), 152 (36), 138 (24), 125 (19), 119 (11), 101 (18), 83 (7), 73 (19), 68 (21), 57 (33), 43 (100), 41 (44), 31 (9).

- Síntese do 4-(3,5-difluorofenil)-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-1H-1,2,3-triazol (4g)



(4g)

Sólido branco, preparado com 65% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-3,5-difluorobenzeno (2,00 g, 14,5 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 100-102 °C.

CCD: $R_f = 0,60$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

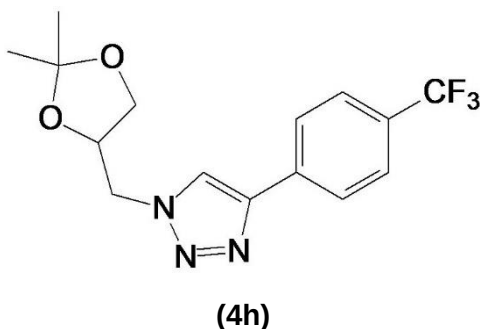
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.081, 2.992, 1.626, 1.594, 1.470, 1.434, 1.373, 1.265, 1.227, 1.203, 1.150, 1.117, 1.056, 1.027, 984, 923, 881, 858, 834, 749, 680, 664.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,33 (s, 3H, CH_3'), 1,38 (s, 3H, CH_3''), 3,75 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 5,8$ Hz, H a-11), 4,13 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 6,2$ Hz, H b-11), 4,41-4,50 (m, 2H, H a-9/H-10), 4,59 (dd, 1H, $J_1 = 13,0$ Hz; $J_2 = 2,6$, H b-9), 6,74 (tt, 1H, $J_1 = 9,0$ Hz; $J_2 = 2,3$ Hz, H-4), 7,32-7,35 (m, 2H, H-2/H6), 7,91 (s, 1H, H-8).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (CH_3'), 26,7 (CH_3''), 52,3 (C-9), 66,4 (C11), 74,0 (C-10), 103,2 (t, $J_{\text{C-F}} = 25,5$ Hz, C-4), 108,4 (dd, $J_{\text{C-F}} = 19,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 8,0$ Hz, C-2/C6), 110,2 (C-12), 121,5 (C-8), 133,6 (t, $J_{\text{C-F}} = 10,5$ Hz, C-1), 145,8 (t, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz, C-7), 163,3 (dd, $J_{\text{C-F}} = 247,0$ Hz; $J_{\text{C-F}} = 13,0$ Hz, C-3/C-5).

EM (m/z , %): 295 ($[\text{M}]^+$, 18), 280 ($[\text{M}-15]^+$, 31), 237 (8), 220 (11), 208 (8), 180 (24), 166 (16), 152 (28), 138 (16), 125 (16), 119 (9), 101 (23), 83 (7), 73 (18), 57 (28), 43 (100), 41 (50), 31 (9).

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,3-triazol (4h)



Sólido branco, preparado com 73% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-4-(trifluorometil)benzeno (2,50 g, 14,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 125-127 °C.

CCD: $R_f = 0,80$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

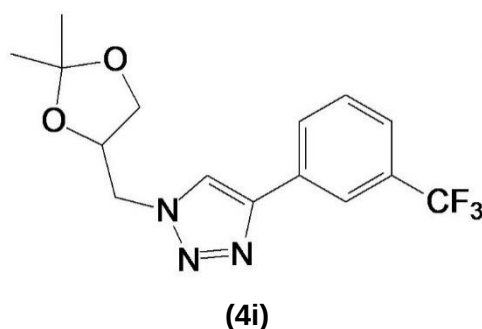
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.096, 2.990, 1.621, 1.457, 1.414, 1.384, 1.325, 1.261, 1.230, 1.203, 1.161, 1.115, 1.063, 1.041, 1.015, 970, 913, 881, 833, 782, 687, 658.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,33 (s, 3H, CH_3'), 1,38 (s, 3H, CH_3''), 3,76 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 5,6$ Hz, H a-11), 4,13 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 6,4$ Hz, H b-11), 4,43-4,52 (m, 2H, H a-9/H-10), 4,60 (dd, 1H, $J_1 = 12,6$ Hz; $J_2 = 2,6$, H b-9), 7,65 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, C-2/C-6), 7,92 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, C-3/C-5), 7,97 (s, 1H, H-8).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (CH_3'), 26,7 (CH_3''), 52,3 (C-9), 66,4 (C-11), 73,9 (C-10), 110,1 (C-12), 121,8 (C-10), 124,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,3$ Hz, CF_3), 125,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,6$ Hz, C-2/C3/C-5/C-6), 129,97 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,6$ Hz, C-4), 134,0 (C-1), 146,3 (C-7).

EM (m/z , %): 327 ($[\text{M}]^+$, 21), 312 ($[\text{M}-15]^+$, 37), 298 (7), 269 (34), 256 (13), 240 (12), 227 (7), 212 (33), 198 (17), 185 (24), 170 (7), 151 (11), 134 (11), 116 (7), 101 (25), 83 (7), 73 (20), 68 (13), 59 (29), 57 (36), 43 (100), 41 (52), 31 (10).

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(3-(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,3-triazol (**4i**)



Sólido branco, preparado com 61% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-3-(trifluorometil)benzeno (2,50 g, 14,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).
P.F. 63-65 °C.

CCD: $R_f = 0,51$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

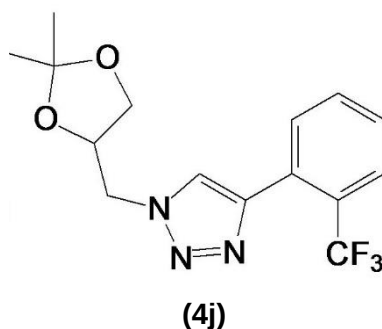
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 3.155, 2.991, 2.945, 1.621, 1.459, 1.419, 1.382, 1.346, 1.309, 1.263, 1.228, 1.206, 1.164, 1.124, 1.096, 1.067, 1.040, 1.000, 985, 892, 831, 800, 717, 693, 649.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,34 (s, 3H, CH_3'), 1,39 (s, 3H, CH_3''), 3,77 (dd, 1H, $J_1 = 8,7$ Hz; $J_2 = 5,8$ Hz, Ha-11), 4,12 (dd, 1H, $J_1 = 8,7$ Hz; $J_2 = 6,0$ Hz, Hb-11), 4,43-4,52 (m, 2H, Ha-9/H-10), 4,61 (dd, 1H, $J_1 = 12,8$ Hz; $J_2 = 2,8$, Hb-9), 7,52 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H-5), 7,56 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6), 7,96 (s, 1H, H-8), 8,01 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, H-4), 8,06 (sap, 1H, H-2).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (CH_3'), 26,6 (CH_3''), 52,3 (C-9), 66,3 (C-11), 74,0 (C-10), 110,3 (C-12), 121,2 (C-8), 122,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, C-5), 123,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,6$ Hz, CF_3), 124,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,6$ Hz, C-6), 128,8 (C-1), 129,4 (C-2/C-4), 131,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,0$ Hz, C-3), 146,2 (C-7).

EM (m/z , %): 327 ($[\text{M}]^+$, 17), 312 ($[\text{M}-15]^+$, 31), 298 (6), 269 (29), 256 (11), 240 (10), 227 (7), 212 (30), 198 (15), 184 (24), 170 (7), 151 (10), 134 (8), 116 (5), 101 (22), 83 (7), 73 (19), 68 (13), 59 (23), 57 (33), 43 (100), 41 (51), 31 (8).

- Síntese do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(2-(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,3-triazol (4j)



Sólido vermelho, preparado com 58% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-2-(trifluorometil)benzeno (2,50 g, 14,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).
P.F. 51-53 °C.

CCD: $R_f = 0,73$ (éter etílico/diclorometano 10:1 v/v).

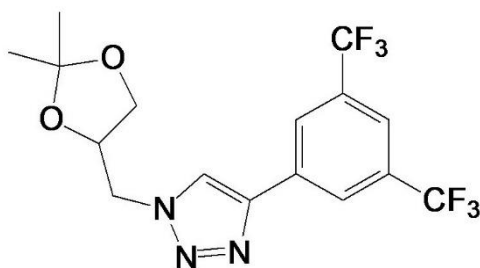
FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 2.999, 2.933, 1.609, 1.579, 1.441, 1.383, 1.374, 1.315, 1.254, 1.214, 1.167, 1.127, 1.110, 1.085, 1.067, 1.056, 1.035, 995, 966, 879, 822, 773, 713, 683, 665, 645.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,33 (s, 3H, CH_3'), 1,36 (s, 3H, CH_3''), 3,76 (dd, 1H, $J_1 = 8,9$ Hz; $J_2 = 5,4$ Hz, Ha-11), 4,12 (dd, 1H, $J_1 = 8,9$ Hz; $J_2 = 5,8$ Hz, Hb-11), 4,46-4,52 (m, 2H, Ha-9/H-10), 4,60 (dd, 1H, $J_1 = 16,0$ Hz ; $J_2 = 6,4$, Hb-9), 7,46 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, H-4), 7,61 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H-5), 7,73 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6), 7,89 (s, 1H, H-8), 7,96 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (CH_3'), 26,3 (CH_3''), 51,9 (C-9), 66,1 (C-11), 73,9 (C-10), 110,2 (C-12), 124,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 256,0$ Hz, CF_3), 124,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 5,6$ Hz, C-3), 126,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 5,6$ Hz, C-1), 127,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 28,0$ Hz, C-2), 128,1 (C-8), 129,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 2,0$ Hz, C-4), 131,6 (C-5), 131,9 (C-6), 144,0 (C-7).

EM (m/z , %): 327 ($[\text{M}]^+$, 11), 312 ($[\text{M}-15]^+$, 42), 269 (38), 256 (20), 240 (13), 212 (29), 198 (16), 184 (20), 165 (19), 151 (17), 134 (11), 115 (7), 101 (26), 83 (8), 73 (21), 59 (32), 57 (41), 43 (100), 41 (50), 31 (10).

- Síntese do 4-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-1H-1,2,3-triazol (**4k**)



(**4k**)

Sólido branco, preparado com 74% de rendimento a partir da reação entre o 1-etinil-3,5-bis(trifluorometil)benzeno (3,50 g, 14,7 mmol) e a azida orgânica **3** (1,50 g, 9,60 mmol).

P.F. 60-63 °C.

CCD: $R_f = 0,17$ (hexano/diclorometano 1:1 v/v).

FTIR ($\bar{\nu}$, cm^{-1}): 2.933, 1.465, 1.383, 1.321, 1.276, 1.234, 1.210, 1.173, 1.130, 1.107, 1.079, 1.045, 997, 966, 894, 828, 810, 749, 699, 680.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,34 (s, 3H, CH_3'), 1,40 (s, 3H, CH_3''), 3,78 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 6,0$ Hz, H a - 11), 4,16 (dd, 1H, $J_1 = 8,8$ Hz; $J_2 = 6,4$ Hz, H b-11), 4,44-4,53 (m, 2H, H a-9/H-10), 4,64 (dd, 1H, $J_1 = 13,0$ Hz; $J_2 = 2,6$, H b-9), 7,80 (s, 1H, H-8), 8,05 (s, 1H, H-4), 8,26 (s, 2H, H-2/H-6).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 25,1 (CH_3'), 26,6 (CH_3''), 52,7 (C-9), 66,2 (C-11), 73,8 (C-10), 110,2 (C-12), 121,5 (dqap, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-4), 121,9 (C-8), 123,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 271,3$ Hz, CF_3), 125,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 2,6$ Hz, C-1), 132,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 33,3$ Hz, C-3/C-5), 132,7 (C-2/C-6), 144,9 (C-7).

EM (m/z , %): 395 ($[\text{M}]^+$, 11), 380 ($[\text{M}15]^+$, 65), 376 (19), 337 (89), 320 (17), 308 (11), 280 (28), 266 (16), 252 (25), 240 (12), 219 (7), 169 (8), 101 (41), 83 (7), 73 (19), 57 (27), 43 (100), 41 (52), 31 (8).

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Síntese e caracterização dos novos compostos 1,2,3-triazólicos fluorados 4a a 4k derivados do glicerol

Os novos compostos triazólicos fluorados derivados do glicerol (compostos **4a-4k**) foram sintetizados de acordo com a rota sintética apresentada na Figura 2.9.

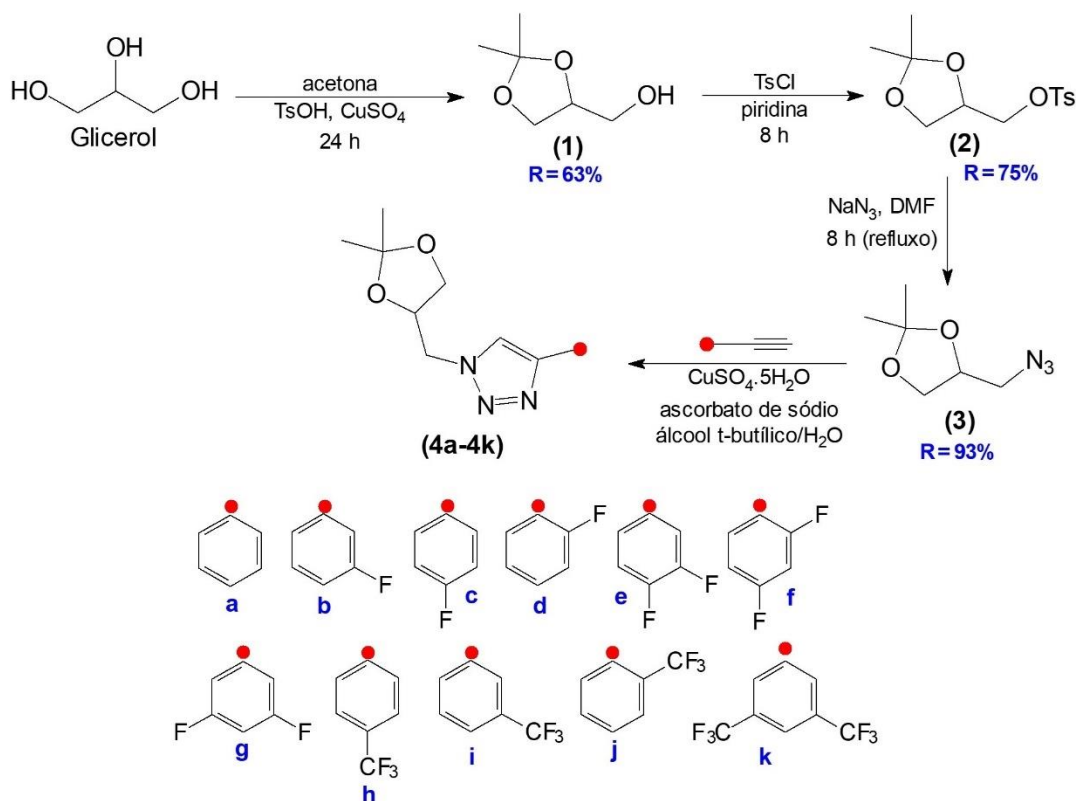


Figura 2.9 - Rota sintética de obtenção dos compostos triazólicos **4a-4k** derivados do glicerol.

Esta rota sintética foi utilizada com êxito para a síntese de vários compostos derivados do glicerol, via azido **3** (COSTA et al., 2017, 2020). Tais resultados, com bons rendimentos, direcionaram para o uso desta rota sintética (Figura 2.9) neste trabalho.

O glicerol foi convertido em acetonido **1**, com rendimento de 63%. Já a reação do acetonido **1** com cloreto de *p*-toluenossulfonila produziu o éster sulfonato (tosilato) correspondente **2**, com 75% de rendimento. A reação entre **2** e a azida de sódio resultou na formação do azido **3**, com 93% de rendimento. Finalmente, por meio de reação de cicloadição entre **3** e diferentes alquinos terminais aromáticos fluorados, comercialmente disponíveis, catalisada por Cu (I) (Reação CuAAC), também

conhecida como reação *click* (AGALAVE, MAUJAN, PORE, 2011; AHER et al., 2009; BORGATI et al., 2013; COSTA et al., 2017, 2020; FREITAS et al., 2011), foram obtidos os derivados triazólicos do glicerol **4a-4k**, com rendimentos de 58 a 85% (Tabela 2.1). As estruturas destes 11 compostos foram confirmadas por espectroscopia no IV e de RMN de ^1H e de ^{13}C , bem como pelas análises por espectrometria de massas, utilizando como referência principal as tabelas e dados espectroscópicos de Pavia e colaboradores (2010).

Tabela 2.1 - Grupos substituintes (“Grupo •”) utilizados nas sínteses dos compostos 4a a 4k e respectivos rendimentos

Composto	Grupo •	Rendimento (%)
4a	fenil	83
4b	3-fluorofenil	70
4c	4-fluorofenil	81
4d	2-fluorofenil	85
4e	3,4-difluorofenil	78
4f	2,4-difluorofenil	68
4g	3,5-difluorofenil	65
4h	4-trifluorometilfenil	73
4i	3-trifluorometilfenil	61
4j	2-trifluorometilfenil	58
4k	3,5-difluorometilfenil	74

2.4.1.1 Síntese e caracterização de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (**1**)

Para a síntese dos derivados triazólicos, a primeira etapa (Figura 2.10) foi a reação de cetalização entre o glicerol e a acetona, na presença de ácido *p*-toluenossulfônico e sulfato de cobre anidro, para obtenção do acetonido **1** ((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol).

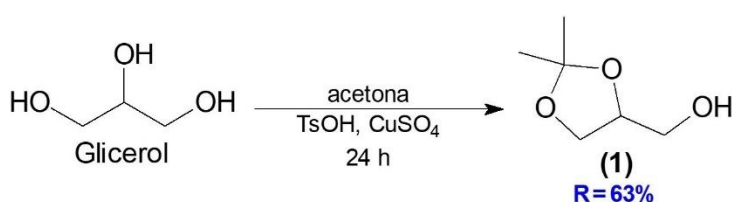


Figura 2.10 - Reação de obtenção do acetonido **1**.

A reação entre o glicerol e a acetona, na presença de ácido *p*-toluenossulfônico e sulfato de cobre anidro, é uma reação clássica de cetalização, que se inicia pelo ataque preferencial da hidroxila primária do glicerol, passa pela formação do hemiacetal e a ciclização se dá pelo ataque da hidroxila secundária, gerando o anel 1,3-dioxolano (KAUTZ et al., 2015). A Figura 2.11 ilustra uma proposta mecanística para esta reação.

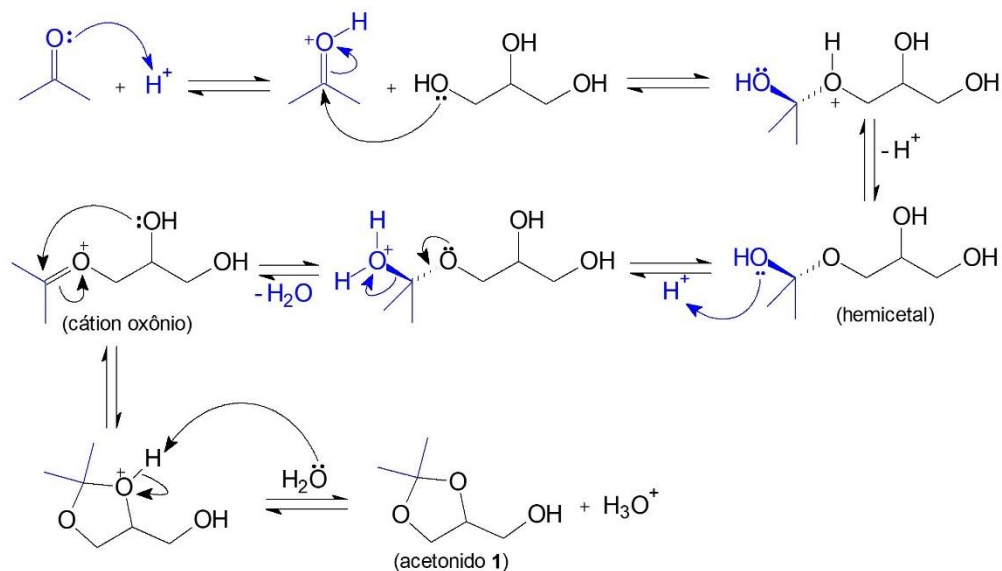


Figura 2.11 - Proposta mecanística para a reação de cetalização da síntese do acetonido **1** a partir do glicerol.

Após a purificação do produto, por meio de cromatografia em coluna utilizando sílica-gel e uma mistura de hexano/acetato de etila (3:1 v/v) como eluente ($R_f = 0,35$), o rendimento da reação foi de 63%. A confirmação do acetonido **1** se deu pelas análises dos espectros no IV, de RMN de 1H , de RMN de ^{13}C e da espectrometria de massas.

O espectro no IV deste composto **1** (Figura 2.12) mostra uma banda com frequência de absorção intensa e alargada, na região próxima de 3.385 cm^{-1} , característica de estiramento da ligação O-H (que ocorre entre 3.650 e 3.200 cm^{-1}), indicando a presença de hidroxila alcoólica. Já as absorções na faixa de 1.400 a 1.000 cm^{-1} (1.372 , 1.213 , 1.056 e 1.043 cm^{-1}) indicam vibrações de dobramento de C-O-H e de estiramento de C-O (PAVIA et al., 2010).

O espectro de RMN de 1H do composto **1** (Figura 2.13) apresentou dois singletos em δ 1,27 e 1,33 ppm, com integral de três hidrogênios cada, caracterizando

os hidrogênios dos dois grupos metila ligados ao anel dioxolânico, os mais blindados. Além disto, apresentou um sinal alargado em δ 2,99 ppm, característico de hidrogênio de grupo hidroxila. Os sinais dos hidrogênios metilênicos, denominados H-3a, com δ entre 3,46-3,52 ppm, e H-3b, com δ entre 3,55-3,60 ppm, aparecem como duplos dupletos, com integral para um hidrogênio e constantes de acoplamento iguais a $J_1 = 11,5$ Hz e $J_2 = 4,2$ Hz. Esta multiplicidade e estes valores das constantes de acoplamento indicam acoplamento geminal (H-3a/H-3b) e acoplamento com H-2. A multiplicidade dos sinais dos dois hidrogênios metilênicos (H-1), duplos dupletos, se deve também ao acoplamento geminal (H-1a/H-1b) e acoplamento com H-2, ressonando em frequências entre δ 3,94-3,91 ppm, para H-1a, e δ 3,66-3,64 ppm, para H-1b, ambos integrados para um hidrogênio, com constantes de acoplamento iguais a $J_1 = 8,2$ Hz e $J_2 = 4,2$ Hz. O hidrogênio metínico H-2, com sinal em δ 4,09-4,16 ppm e integrado para um hidrogênio, aparece como um quinteto, devido aos acoplamentos com os quatro hidrogênios vizinhos supracitados (H-1a, H-1b, H-3a e H-3b).

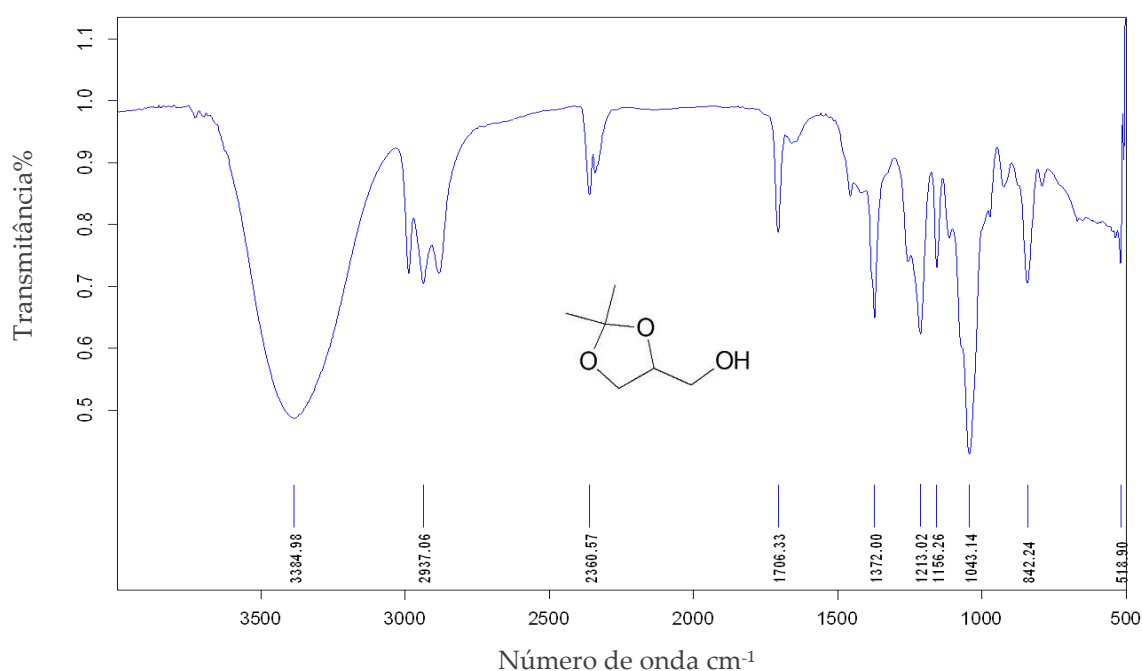


Figura 2.12 - Espectro no IV do composto **1**.

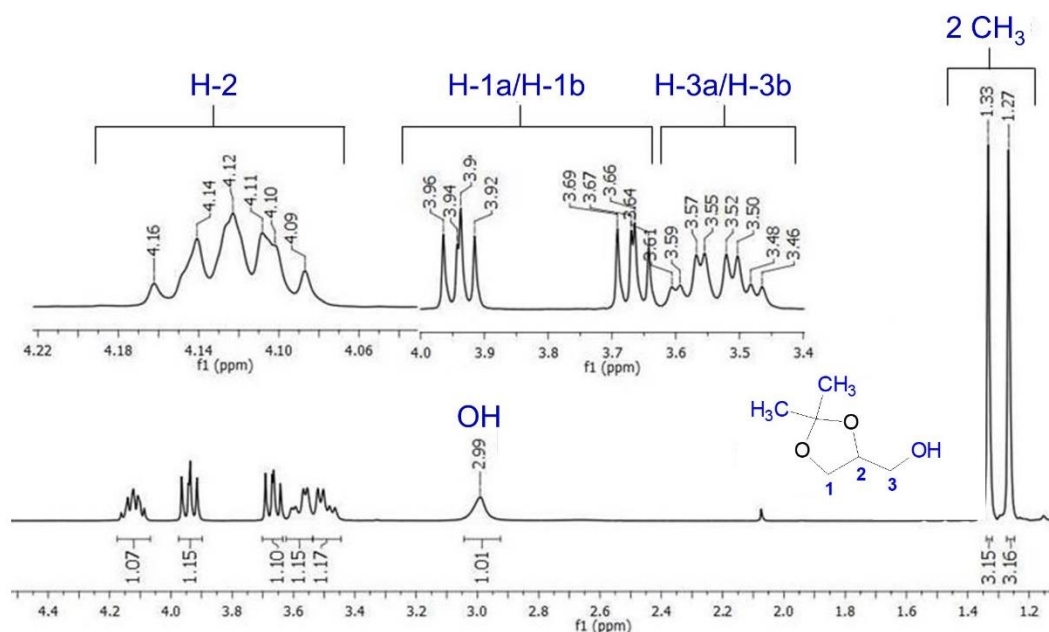


Figura 2.13 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **1**.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.14) apresentou seis sinais relativos aos carbonos do acetônido **1**. Os sinais em δ 26,4 ppm e δ 25,0 ppm foram atribuídos aos carbonos metílicos ligados ao carbono 4. O sinal observado em δ 62,7 ppm foi atribuído ao carbono 3, ligado ao grupo OH. Já o sinal em δ 65,6 ppm, foi atribuído ao carbono 1, ligado diretamente a um dos oxigênios do ciclo, um pouco mais desblindado que o carbono 3. O sinal em δ 76,0 ppm foi atribuído ao carbono secundário 2, mais desblindado devido ao efeito indutivo retirador de um oxigênio em α e dois oxigênios em β . E, por fim, o sinal em δ 109,1 ppm foi atribuído ao carbono 4, ligado aos dois grupos metila e aos dois oxigênios, sendo, por isto, altamente desblindado pelo efeito indutivo retirador dos átomos de oxigênio.

Analisando o espectro de massas do acetônido **1** (Figura 2.15), o pico m/z 133 é referente ao $[\text{M}+1]$ e está de acordo com a fórmula molecular $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_3$ (Massa molar: 132,08 g/mol). Segundo Kautz e colaboradores (2015), a fragmentação do anel de cinco átomos (Figura 2.16) justifica a formação dos fragmentos em m/z 117 e 101. Um dos oxigênios do anel dioxolânico é ionizado e as ligações dos carbonos adjacentes são quebradas. Tais fragmentos correspondem a estruturas estáveis, estabilizadas pelos átomos de oxigênio.

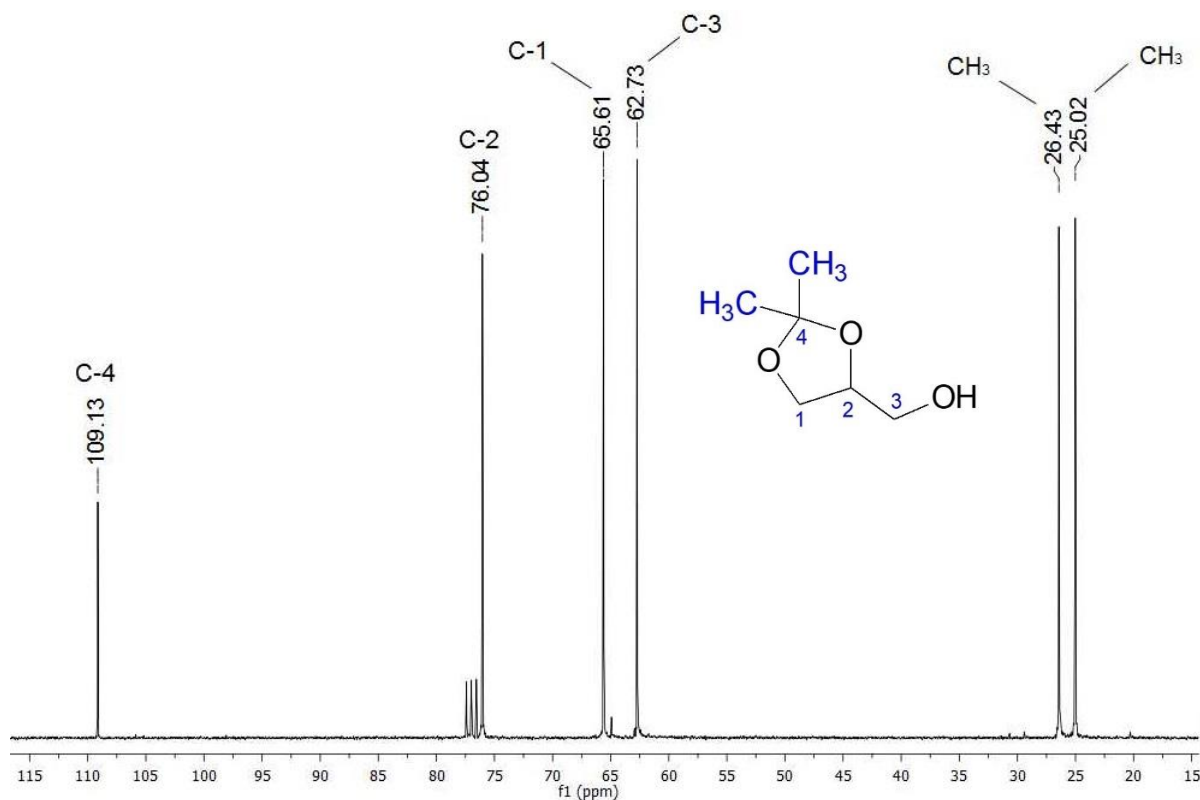


Figura 2.14 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do composto **1**.

Já a fragmentação correspondente ao pico base, em m/z 43, é associada ao íon acetil (H_3CCO^+), característica de anéis dioxolânicos derivados da acetona (KAUTZ et al., 2015).

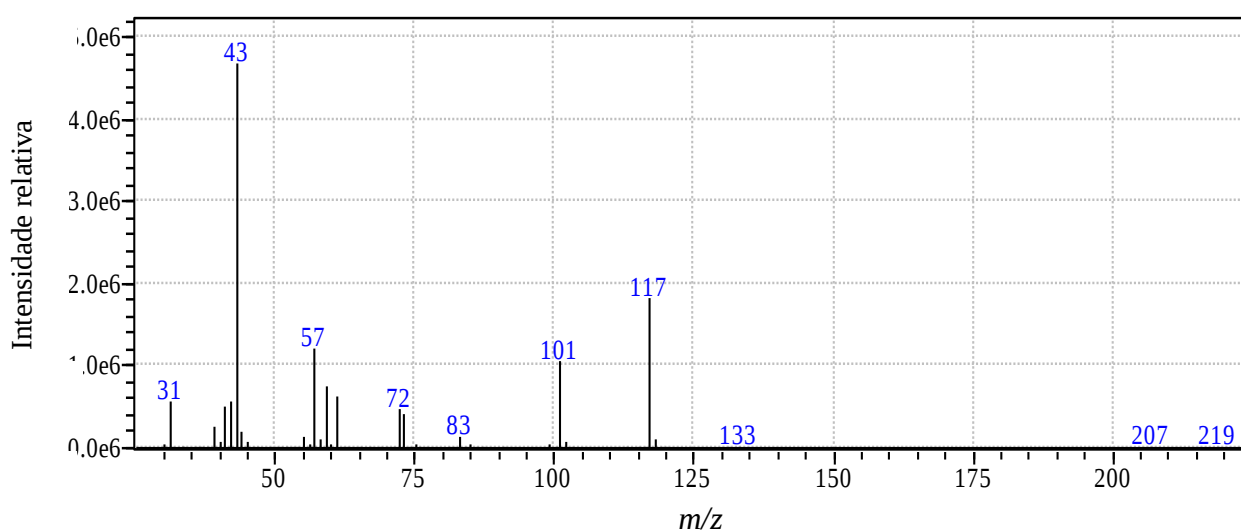


Figura 2.15 - Espectro de massas do composto **1**.

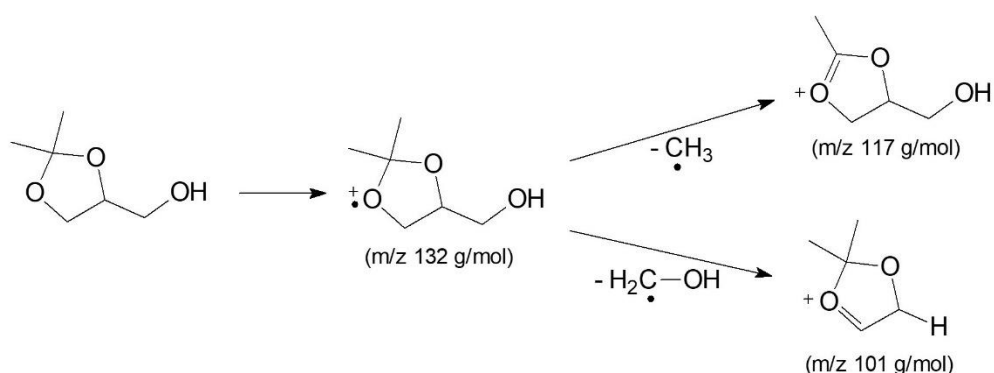


Figura 2.16 - Fragmentações associadas ao anel de cinco membros do acetônido **1**.

2.4.1.2 Síntese e caracterização do *p*-toluenossulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metila (**2**)

A segunda etapa da rota sintética consistiu na conversão do acetônido **1** no tosionato **2** (*p*-toluenossulfonato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metila) (Figura 2.17).

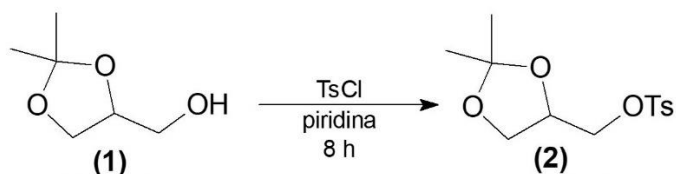


Figura 2.17 - Esquema da obtenção do tosionato **2** a partir do acetônido **1**.

Com o objetivo de preparar a azida orgânica **3**, na sequência reacional, buscou-se um método clássico de inserção de um bom grupo abandonador na molécula, neste caso, um grupo tosionato (*p*-toluenossulfonato), para que se procedesse, em seguida, uma reação de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$).

Para a realização desta síntese, utilizou-se o cloreto de tosi, tendo a piridina como solvente, pois esta atua como base, neutralizando o ácido clorídrico formado na reação. Esta reação é iniciada com o ataque nucleofílico da hidroxila alcoólica ao polo positivo do cloreto de tosi, o átomo de enxofre. O intermediário formado na reação perde o íon cloreto, que ataca o próton e leva à formação do tosionato **2**, conforme a proposta mecanística descrita na Figura 2.18.

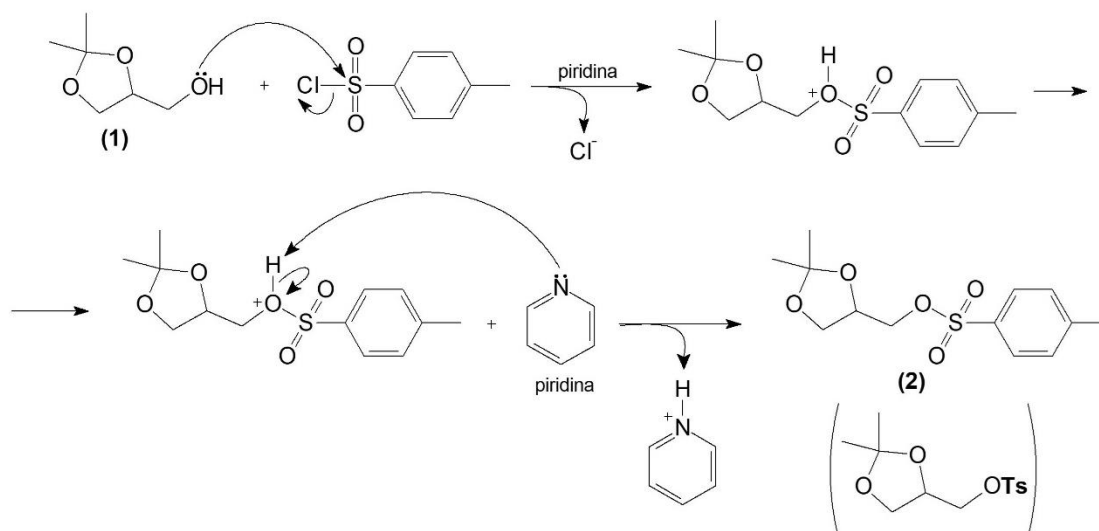


Figura 2.18 - Proposta mecanística para a reação de formação do tosilato **2** a partir do acetonido **1**.

O tosilato **2** obtido foi isolado por cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando-se como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (3:1 v/v) ($R_f = 0,89$), obtendo-se rendimento de 75%.

A confirmação da formação do tosilato **2** foi feita mediante análise dos espectros no infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e massas. No espectro no IV (Figura 2.19) observou-se a ausência da banda forte na região acima de 3.000 cm^{-1} , atribuída à hidroxila alcoólica (presente no material de partida **1**), indicando que a reação ocorreu satisfatoriamente. Foram observadas absorções em 1.365 e 1.265 cm^{-1} , associadas a estiramento C-O do acetal. Já em 1.176 cm^{-1} apareceu uma banda de absorção intensa, sinal característico a estiramento simétrico forte da ligação S=O, presente no grupo tosilato. Além disto, a banda de absorção em 968 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação S-O. Por fim, tem-se os sinais característicos das ligações do anel aromático, na região próxima a 800 cm^{-1} . O sinal em 814 cm^{-1} foi atribuído às vibrações de dobramento $=\text{C-H}$ fora do plano do anel aromático. Outro indicativo da presença de anel aromático foi a banda de absorção em 664 cm^{-1} , referente a vibrações de dobramento do anel $\text{C}=\text{C}$ fora do plano. Vale salientar que o sinal fraco pouco acima de 3.000 cm^{-1} também pode ser atribuído à presença do anel aromático do grupo toсила, pois está associado a estiramento da ligação C-H de anel aromático.

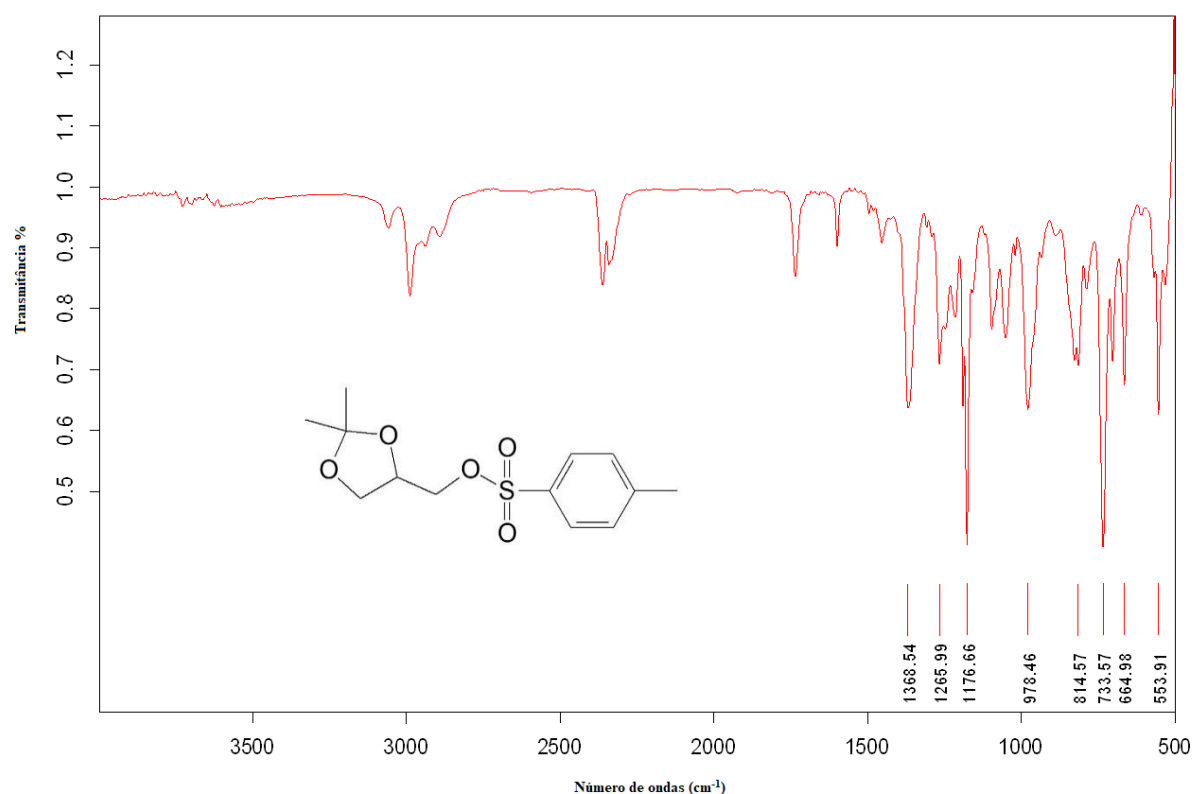


Figura 2.19 - Espectro no IV do tosilato **2**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **2** (Figura 2.20), em comparação com o espectro de RMN de ^1H do composto **1**, constatou-se o desaparecimento do sinal alargado em δ 2,99 ppm, atribuído ao hidrogênio da hidroxila do composto **1**. Ainda em campo alto, verificou-se a presença de um simpleto em δ 2,45 ppm, integrado para três hidrogênios, referente aos hidrogênios do grupo metila ligado ao anel aromático do grupo tosilato. Em campo baixo, observou-se dois dupletos, ambos integrados para dois hidrogênios, entre δ 7,3 ppm e δ 7,8 ppm, região característica de hidrogênios aromáticos, confirmando o anel aromático do grupo tosilato com substituintes em *para* (H2'/H6' e H3'/H5'), apresentando constante de acoplamento $J_{orto} = 8,2$ Hz, com os hidrogênios H2' e H6' mais desblindados pela proximidade do grupo sulfonato.

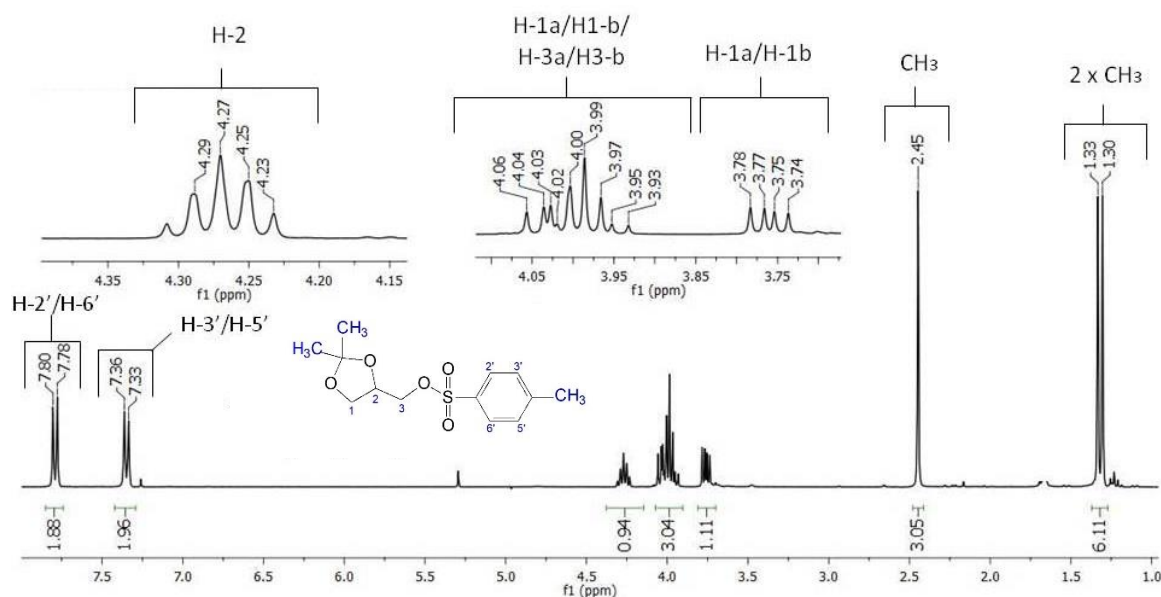


Figura 2.20 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **2**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.21), mais uma vez em comparação com o espectro de RMN de ^{13}C do composto **1**, observou-se a ausência do sinal em δ 62,8 ppm, atribuído ao carbono da hidroxila do composto **1**. O sinal observado em δ 21,6 ppm indica a presença do grupo metila do anel aromático, próximo aos dois sinais dos outros dois grupos metila, do anel dioxolânico, em δ 26,6 e 25,1 ppm. Na região de deslocamento químico de carbono aromático (110-175 ppm), observou-se quatro sinais, característico de anel substituído em *para*. Os dois carbonos *orto* do anel ($\text{C}2'$ e $\text{C}6'$), mais desblindados pela proximidade do grupo sulfonato, são observados em δ 129,9 ppm, já os dois carbonos *meta* ($\text{C}3'$ e $\text{C}5'$) aparecem em δ 128,0 ppm. Os picos dos carbonos aromáticos *ipso* ($\text{C}1'$ e $\text{C}4'$), ou seja, sem hidrogênios ligados, aparecem em δ 145,0 e 132,4 ppm, respectivamente. Estes carbonos *ipso* tem como característica sinais de baixa intensidade, devido ao maior tempo de relaxação e fraco efeito nuclear overhauser (NOE) de intensificação. Essas observações nos espectros de RMN confirmam a estrutura do composto **2**.

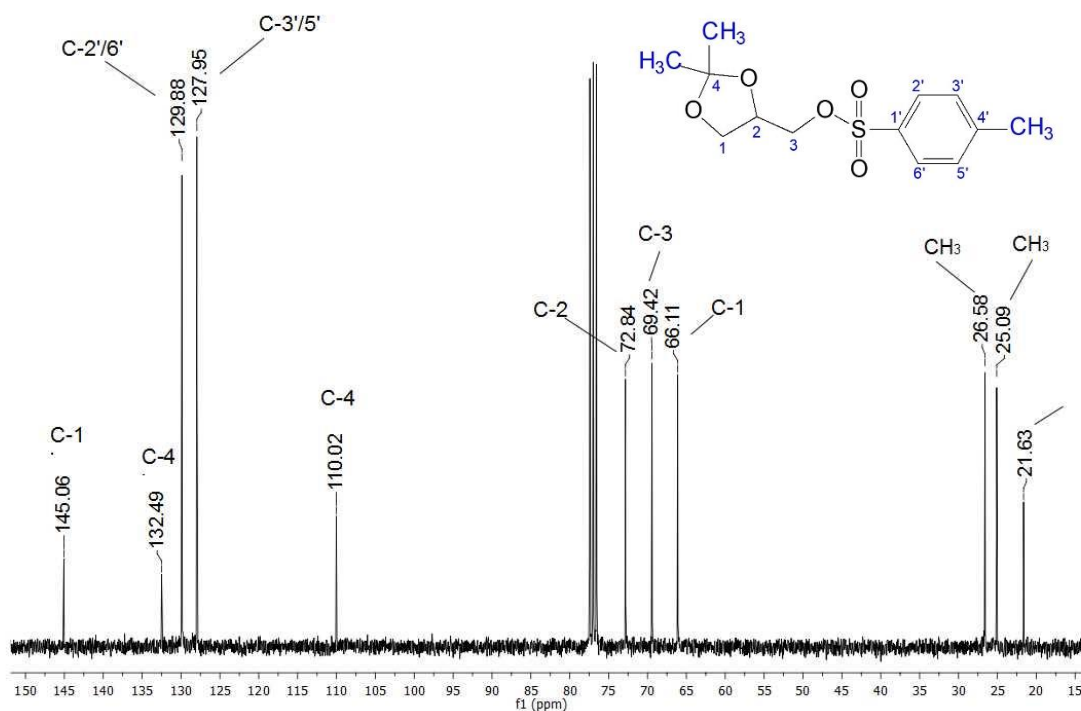


Figura 2.21 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do tosilato **2**.

Por fim, analisando o espectro de massas do tosilato **2** (Figura 2.22), o pico em m/z 287 $[\text{M}+1]$ está de acordo com a fórmula molecular: $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$ (Massa molar: 286,09 g/mol). Já o pico em m/z 271 é referente ao fragmento associado à perda do grupo metila a partir do íon molecular (Figura 2.23).

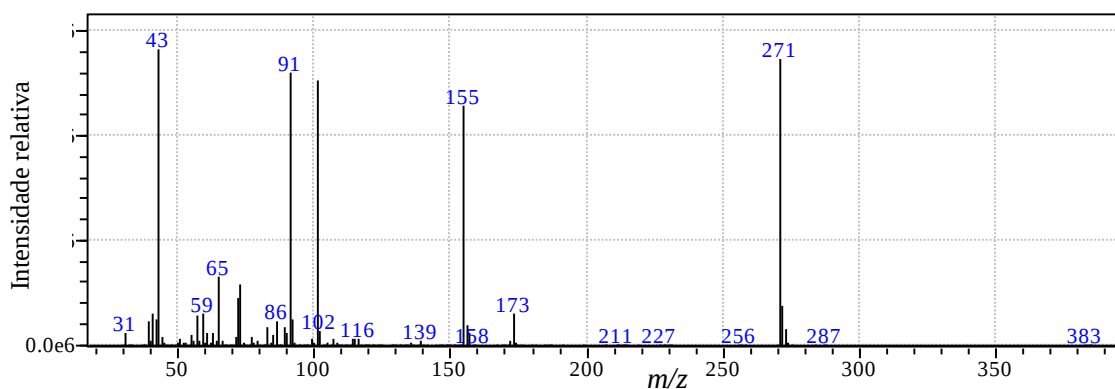


Figura 2.22 - Espectro de massas do tosilato **2**.

Observou-se ainda, em m/z 91, um pico típico da fragmentação de anel aromático, referente ao cátion benzílico ($\phi\text{-CH}_2^+$). Este cátion, por sua vez, se rearranja, formando o íon tropílio (C_7H_7^+), mais estável que o cátion benzílico (Figura 2.23), acarretando um pico mais intenso.

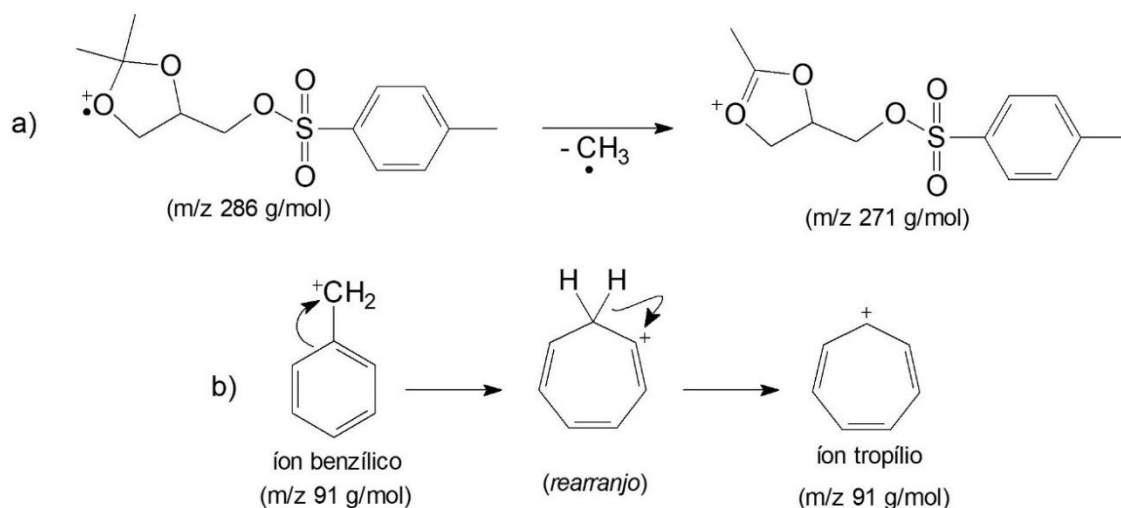


Figura 2.23 - Fragmentações associadas ao espectro de massas do composto **2**: a) perda do grupo metila a partir do íon molecular; b) rearranjo do íon benzílico com a formação do íon tropílio.

2.4.1.3 Síntese e caracterização de 4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (**3**)

Na sequência da rota sintética, objetivando a obtenção dos compostos triazólicos na etapa seguinte, preparou-se a azida orgânica **3** (4-(azidometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano), por meio de reação de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) do composto **2** com azida de sódio e dimetilformamida (DMF), uma azidólise, sob refluxo (Figura 2.24).

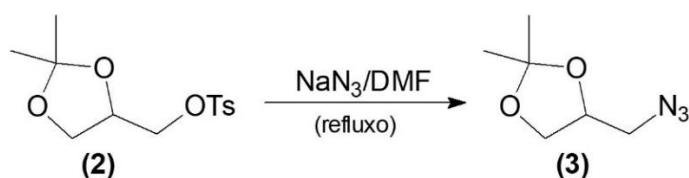


Figura 2.24 - Esquema da obtenção da azida orgânica **3** a partir do tosilato **2**.

Vale destacar que a escolha do solvente, a dimetilformamida (DMF), para esta reação foi fundamental. Solventes menos polares e apróticos (sem hidrogênio ligado a átomo eletronegativo) são a melhor opção para a maioria das reações com mecanismo S_N2. Solventes polares prejudicariam o ataque nucleofílico da reação, pois iriam solvatar o nucleófilo, fazendo com que a reação fosse mais lenta. Ressalta-se que o solvente deve ser polar o suficiente para solubilizar os reagentes. E um solvente aprótico vai dificultar a solvatação do nucleófilo, favorecendo e acelerando a reação. Já um solvente prótico irá interagir com o nucleófilo, solvatando-o e diminuindo a reatividade dele. Os solventes apolares (ou menos polares) e apróticos mais utilizados são a acetona, o éter etílico, o benzeno e o tetracloreto de carbono. Para a reação de formação do azido **3**, a escolha foi a dimetilformamida, um solvente aprótico, porém polar. Tal escolha se deu porque o material de partida é neutro e o produto, a azida orgânica, possui cargas, sendo necessário um solvente mais polar para esta reação.

O mecanismo desta reação de substituição bimolecular envolve o ataque nucleofílico de um átomo de nitrogênio da azida de sódio, levando à saída do grupo tosilato (Figura 2.25), gerando o azido **3**.

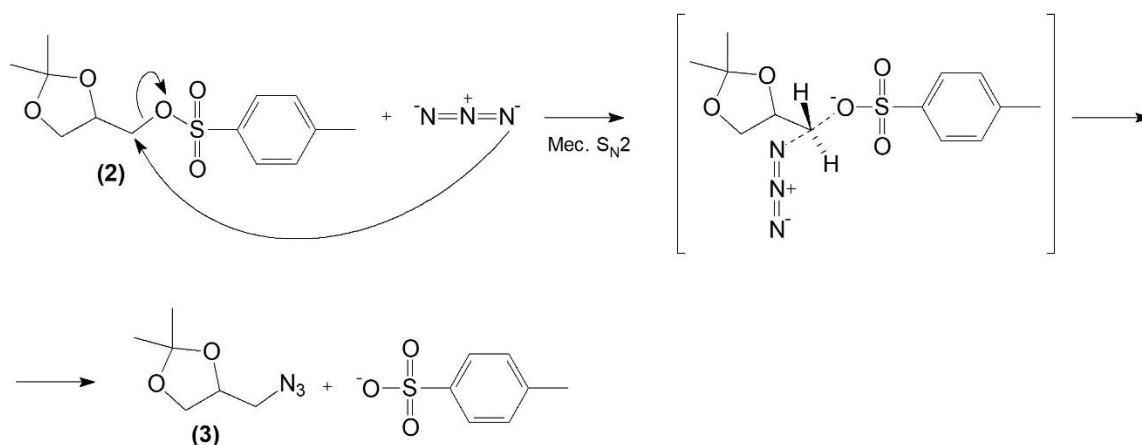


Figura 2.25 - Proposta mecanística da azidólise, síntese do azido **3** a partir do tosilato **2**.

A obtenção da azida orgânica foi acompanhada por cromatografia em camada delgada, sendo necessária filtração para a remoção de impurezas. O produto foi isolado por cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando-se uma mistura de éter/diclorometano (10:1 v/v), apresentando R_f de 0,51. O rendimento da reação foi de

93% e a confirmação deste azido foi feita pelas análises dos espectros no IV, de RMN de ^1H , de RMN de ^{13}C e da espectrometria de massas.

No espectro no IV do produto **3** (Figura 2.26) observou-se a ausência dos sinais de absorção característicos de anel aromático, como o sinal pouco acima de 3.000 cm^{-1} e o sinal na região próxima a 800 cm^{-1} . Além disto, as ausências de banda de absorção intensa, relativa à ligação $\text{S}=\text{O}$, em 1.176 cm^{-1} , e de banda de absorção em 968 cm^{-1} , associada a estiramento da ligação $\text{S}-\text{O}$, indicaram o êxito da reação e a formação do produto **3**. A confirmação se deu pela observação da banda de absorção em 2.102 cm^{-1} , referente ao estiramento $\text{N}=\text{N}$ da azida orgânica. Neste espectro, desconsiderou-se a banda de absorção intensa em 1.662 cm^{-1} , pois trata-se do sinal da carbonila presente no solvente utilizado na reação, a dimetilformamida (DMF).

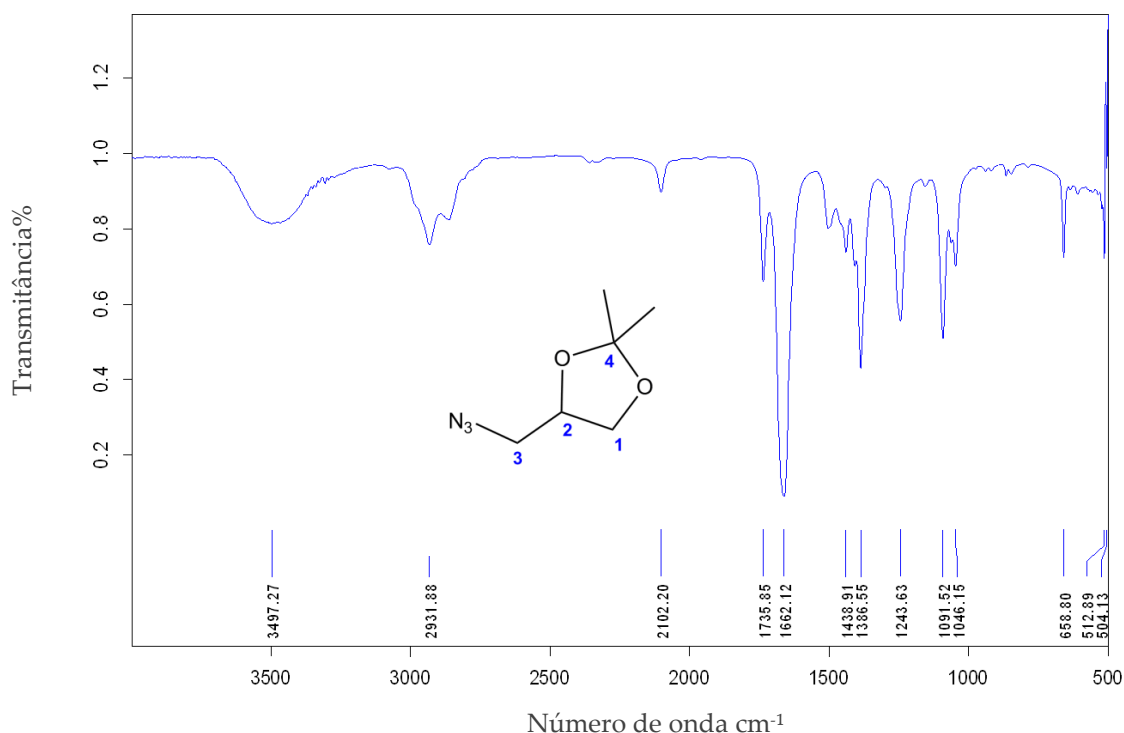


Figura 2.26 - Espectro no IV do azido **3**.

Na análise do espectro de RMN de ^1H do azido **3** (Figura 2.27), em comparação com o espectro de RMN de ^1H do composto **2**, notou-se o desaparecimento dos sinais relativos aos hidrogênios aromáticos do tosilato, os dupletos em $\delta 7,34\text{ ppm}$ e $\delta 7,79\text{ ppm}$, indicando o sucesso da reação de substituição. Neste espectro, observou-se dois duplos dupletos, integrados para um hidrogênio

cada um. Estes sinais foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos 3a, δ 3,33-3,39 ppm, e 3b, δ 3,22-3,28, com constantes de acoplamento J_1 de 12,6 Hz (acoplamento geminal) e J_2 igual a 5,4 Hz (acoplamento vicinal com o hidrogênio metínico H-2). Como estes hidrogênios do carbono 3 estão próximos aos nitrogênios do grupo azida, eles são desblindados por efeito indutivo, aparecendo em campo mais baixo.

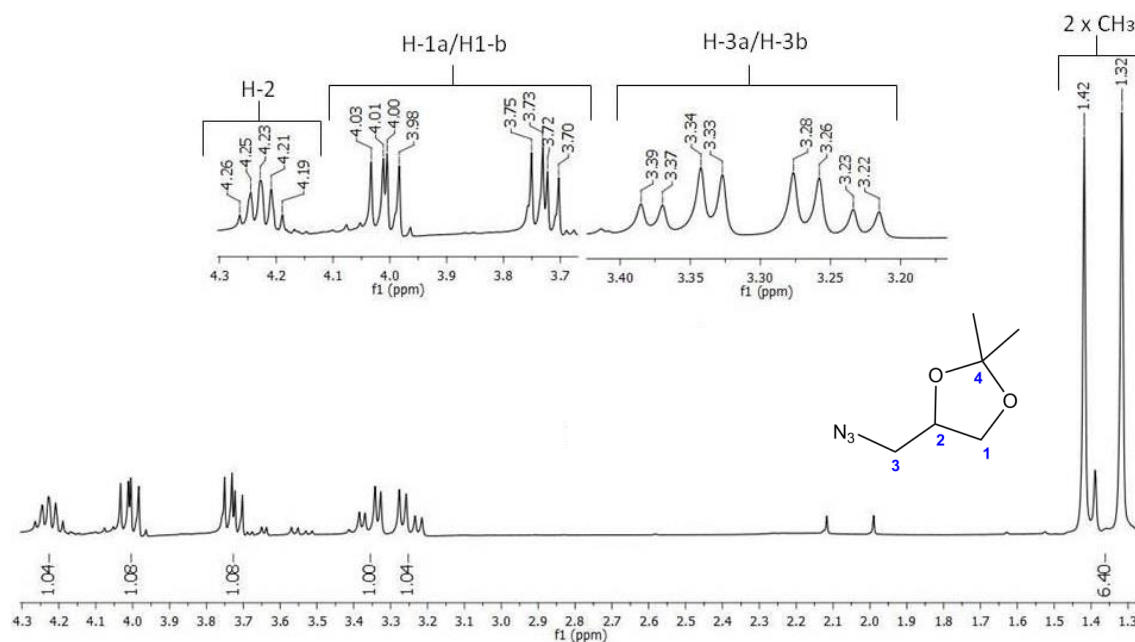


Figura 2.27 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do azido **3**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.28), a ausência dos sinais relativos ao núcleo aromático (deslocamentos químicos entre 110 e 175 ppm), comparando com o espectro de RMN de ^{13}C do tosilato **2**, foi relevante para a confirmação do êxito da reação de azidólise. Além disto, o número de sinais no espectro (seis carbonos) é compatível com a estrutura do azido **3**. O sinal em campo baixo em δ 110,1 ppm foi atribuído ao carbono 4, fortemente desblindado pelo efeito indutivo dos dois átomos de oxigênio ligados diretamente a este carbono. O sinal atribuído ao carbono 2 apareceu em δ 74,8 ppm. Esta posição pode ser explicada porque este carbono está ligado diretamente a um oxigênio, tendo um outro oxigênio e um nitrogênio em posições β , desblindando este carbono. Já o carbono 1, com δ 66,7 ppm, tem também a desblindagem de um oxigênio em α e de outro oxigênio em β . E o carbono 3 (δ 53,0 ppm) é desblindado pelo grupo azido em α e por um oxigênio em β . Por fim, os dois sinais em campo alto, δ 26,8 ppm e δ 25,4 ppm, foram atribuídos aos carbonos metílicos, com menor desblindagem dos oxigênios em β .

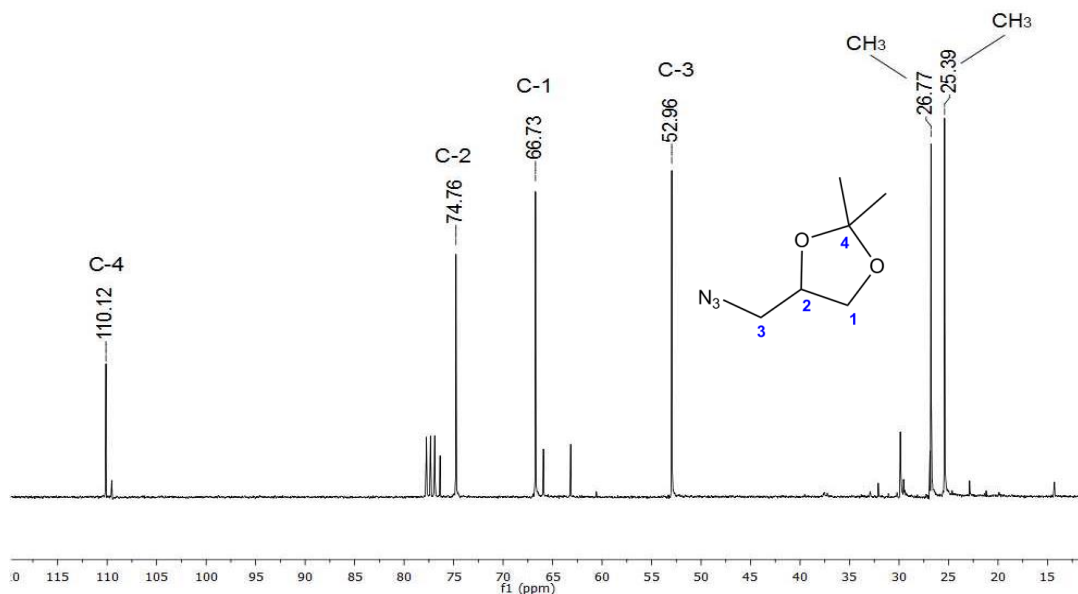


Figura 2.28 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) do azido **3**.

Na análise do espectro de massas do azido **3** (Figura 2.29), houve uma situação na qual não se observou o pico do íon molecular relativo à molécula (m/z 157 - $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2$). Uma possível hipótese está associada ao método utilizado para a obtenção do espectro (método de ionização por elétrons (EI)), pois, nas condições utilizadas no processo, alguns compostos, como, provavelmente, o azido **3**, têm dificuldade para a fragmentação, levando à formação de um íon molecular com tempo de vida muito curto, acarretando a não detecção do sinal pelo analisador de massas. Mas vale ressaltar que, no espectro de massas, foi observado o pico em m/z 142, indicativo do fragmento associado à perda do grupo metila a partir do íon molecular, e o pico em m/z 101, associado à fragmentação de grupo ligado ao anel de cinco átomos (KAUTZ et al., 2015), estável em função da presença do átomo de oxigênio (Figura 2.30). Além disto, observou-se o pico em m/z 43, correspondente ao pico base, e associado ao fragmento do íon acetil (H_3CCO^+), característico de anéis dioxolânicos derivados da acetona (KAUTZ et al., 2015).

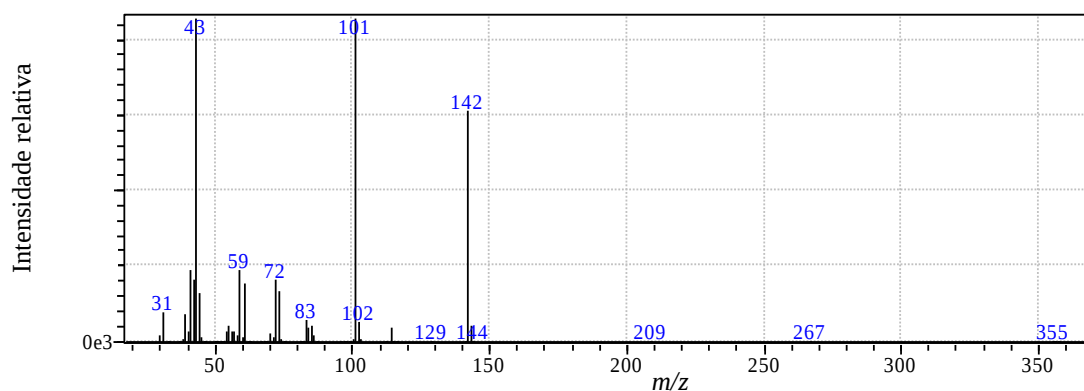


Figura 2.29 - Espectro de massas do azido **3**.

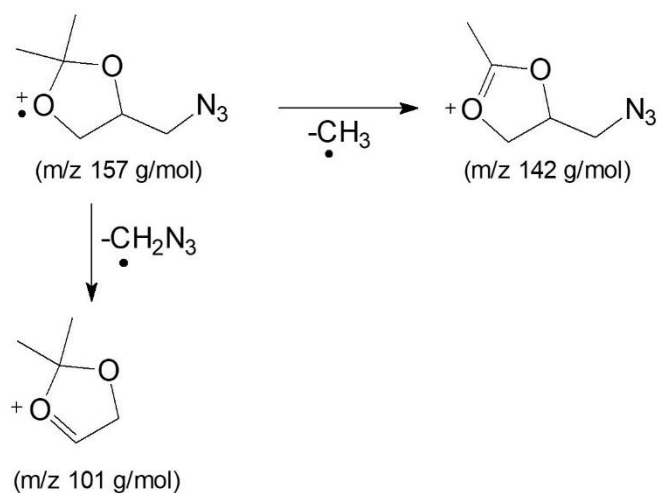


Figura 2.30 - Fragmentações do azido **3**, associadas à perda do grupo metila a partir do íon molecular e à fragmentação de grupo ligado ao anel de cinco átomos.

2.4.1.4 Síntese e caracterização dos triazóis **4a** a **4k**

Após a etapa fundamental de formação do azido **3**, procederam-se as reações para a obtenção dos derivados 1,2,3-triazólicos do glicerol, por meio de reação de cicloadição do tipo química *click*. Para estas reações, o azido **3** foi colocado para reagir com 11 diferentes alquinos terminais, obtidos comercialmente, na presença de quantidade catalítica de sulfato de cobre e ascorbato de sódio, tendo álcool *terc*-butílico e água como solventes (Figura 2.31).

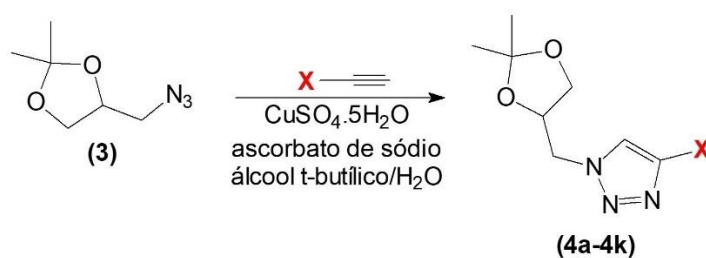


Figura 2.31 - Esquema da síntese geral dos derivados 1,2,3-triazólicos derivados do glicerol a partir do azido **3**, por meio de reação de cicloadição.

Por meio das reações de química *click* foram sintetizados 11 triazóis (**4a** a **4k**), sendo 10 deles fluorados (Figura 2.32). Os compostos obtidos foram isolados e purificados por meio de cromatografia em coluna de sílica-gel, apresentando bons rendimentos, variando de 58 a 85%. Após a purificação dos produtos, as estruturas dos triazóis **4a** a **4k** foram confirmadas pelas análises dos espectros no IV, de RMN de ¹H, de RMN de ¹³C e da espectrometria de massas.

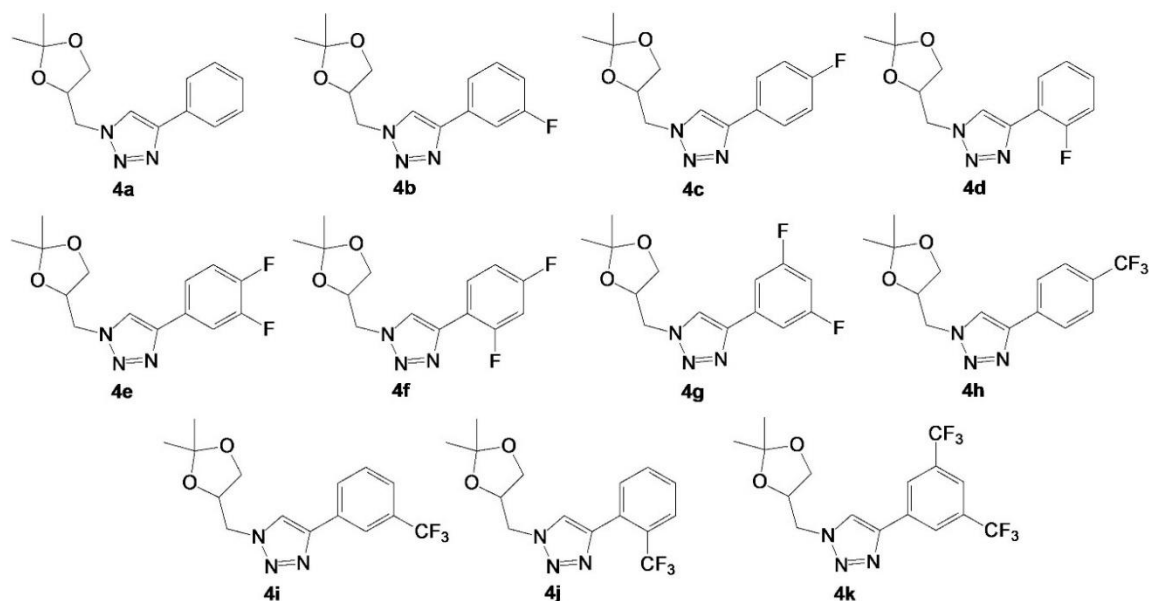


Figura 2.32 - Estruturas dos 11 dos compostos triazólicos **4a** a **4k** derivados do glicerol. Destaca-se que o único não fluorado é o composto **4a**.

A seguir, serão discutidas, com detalhes, a síntese e a caracterização do composto triazólico fluorado **4b**, pois, conforme esperado, todos os compostos apresentaram dados espectroscópicos semelhantes a este triazol, uma vez que possuem a mesma estrutura básica, diferindo apenas no(s) grupo(s) e na(s) posição(ões) do(s) substituinte(s) fluorado(s) no anel aromático (F ou CF₃),

excetuando o composto **4a**, o único aromático não fluorado (Figura 2.32). Os espectros dos outros 10 derivados triazólicos se encontram no ANEXO I.

2.4.1.4.1 Síntese e caracterização de 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (**4b**)

A reação de cicloadição entre o alquino terminal 1-etinil-3-fluorobenzeno e o azido **3** levou à obtenção do 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (triazol **4b**), um sólido branco.

Para reações de cicloadição, objetivando a síntese de compostos 1,2,3-triazólicos, existem diversas metodologias (FREITAS et al., 2011). Neste trabalho, para a obtenção dos triazóis **4a** a **4k**, empregou-se a metodologia descrita por Sharpless e colaboradores (KOLB, FINN, SHARPLESS, 2001), que apresentou o uso de sais de Cobre (I) como catalisadores nessas reações de cicloadição 1,3-dipolar entre azidos e alquinos terminais. Nesta metodologia, o sulfato de cobre pentahidratado é utilizado como fonte de cobre (II) e o ascorbato de sódio é utilizado como agente redutor. Desta forma, a espécie catalítica Cu (I) é gerada *in situ* (DÍEZ-GONZALES, 2011). Este esquema reacional foi chamado de *Copper-catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition* (CuAAC) e ficou conhecido como reação *click* (FREITAS et al., 2011). Este tipo de reação é interessante pela versatilidade, simplicidade e rapidez. Inúmeros trabalhos buscando a síntese de novos compostos triazólicos têm utilizado a reação *click* com sucesso (COSTA et al., 2017, 2020; GAZOLLA et al., 2018; TEIXEIRA et al., 2018; DE OLIVEIRA et al., 2019), o que direcionou o uso desta metodologia neste trabalho.

Mecanismos envolvendo metais, de maneira geral, apresentam dificuldade para elucidação e isto ocorre com o mecanismo dessa reação CuAAC. Estudos teóricos e experimentais citados por Freitas e colaboradores (2011) buscaram propostas mecanísticas para esta reação. Recentemente, Marzi e colaboradores propuseram um mecanismo (Figura 2.7 - p. 31) no qual se observa a necessidade da presença de dois átomos de cobre nesta cicloadição catalítica (MARZI et al., 2022).

Nesta reação, a primeira parte é a mistura de sulfato de cobre pentahidratado e ascorbato de sódio, para a formação do espécie catalítica Cu (I). Na sequência, tem-se a complexação entre o Cu (I) e o alquino terminal 1-etinil-3-fluorobenzeno. Vale ressaltar que alquinos terminais apresentam caráter ácido e com a formação do complexo alquino-cobre, o pKa da espécie ainda diminui, facilitando a sua desprotonação em meio aquoso e a formação do acetileto de cobre, com o

segundo átomo de cobre (Cu (I)) (HIMO et al., 2005). Na etapa subsequente, há a complexação do acetileto de cobre com o azido **3**, gerando o complexo acetileto-azido. O papel do Cu (I) é fundamental nesta etapa, pois ele apresenta efeito sinérgico, tornando o nitrogênio terminal da porção azida mais eletrofílico (caráter ácido) e, ao mesmo tempo, tornando o carbono 2, do alquino, mais nucleofílico (caráter básico). Este sinergismo favorece o ataque e a formação da primeira ligação C-N, levando à formação do intermediário metalociclo, um anel de seis membros. Esta etapa, endotérmica, define a regioespecificidade da reação (MELDAL, TORNØE, 2008).

Na sequência do ciclo catalítico, tem-se a contração do anel, ou seja, a formação de um anel menor, de cinco membros, por meio de uma associação transanular do nitrogênio, ligado ao metildioxolano, com o carbono terminal ligado aos átomos de cobre, gerando a segunda ligação C-N (neste caso, "N-C"), a saída de um átomo de cobre e a consequente obtenção da espécie triazolila de cobre (FREITAS et al., 2011). Na etapa final desta reação de cicloadição, ocorre a protonação do triazolila de cobre, com a saída do segundo átomo de cobre, que irá retomar o ciclo catalítico, e a formação do produto, neste caso, o 1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-4-(3-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol (triazol **4b**). Esta proposta mecanística é ilustrada na Figura 2.33.

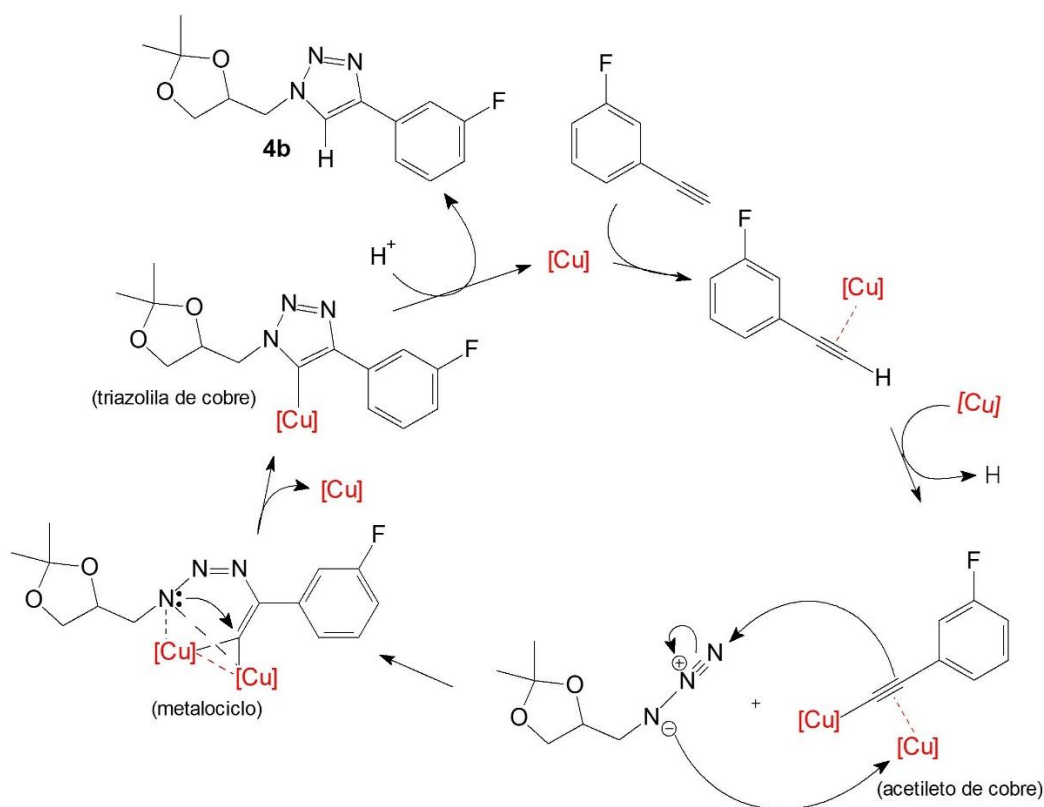


Figura 2.33 - Proposta mecanística para a síntese do triazol **4b** por meio da reação de cicloadição catalisada por Cu(I) (CuAAC ou reação click).

Após a purificação do produto, por meio de cromatografia em coluna, utilizando sílica-gel e uma mistura de éter/diclorometano (10:1 v/v) como eluente ($R_f = 0,60$), o rendimento da reação foi de 70%. A confirmação da formação do composto triazólico **4b** foi feita com base nas análises dos espectros no IV, de RMN de ^1H , de RMN de ^{13}C e da espectrometria de massas.

O espectro no IV do triazol **4b** (Figura 2.34) apresentou sinais característicos das ligações do anel aromático, na região entre 900 e 650 cm^{-1} . Os sinais em 865 , 755 , 687 cm^{-1} (relativos às vibrações de dobramento $=\text{C-H}$ fora do plano do anel aromático e às vibrações de dobramento do anel $\text{C}=\text{C}$ fora do plano) são características de anel aromático substituído em *meta*. Vale salientar que o sinal fraco próximo a 3.100 cm^{-1} também pode ser atribuído à presença do anel aromático, pois está associado a estiramento da ligação C-H de anel aromático. Além disto, observou-se uma banda de absorção intensa em 1.202 cm^{-1} , característica da deformação axial da ligação $\text{N}=\text{N}$ do anel triazólico. Também foram observadas bandas de dobramento fora do plano $=\text{C-H}$ do anel triazólico em 910 cm^{-1} e 835 cm^{-1} . Já as absorções na faixa de 1.300 a 1.000 cm^{-1} indicam sinais de estiramento de C-O do anel dioxolânico (1.293 e 1.149 cm^{-1}) e estiramento da ligação C-F (1.225 cm^{-1}) (PAVIA et al., 2010).

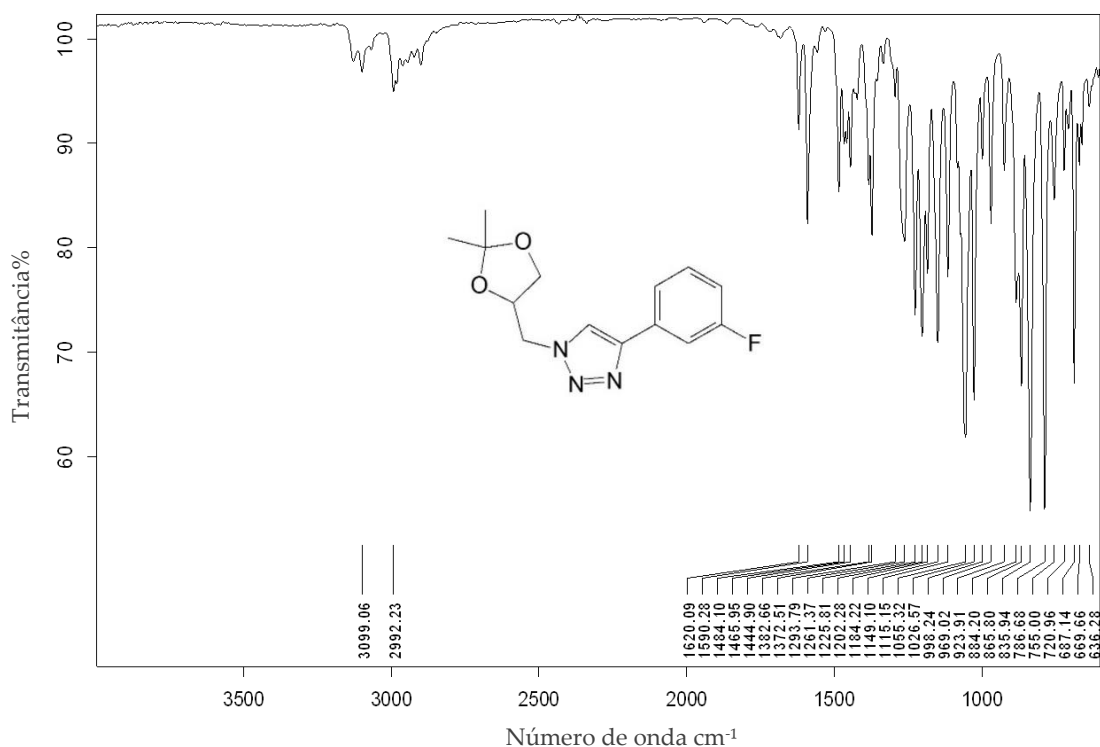


Figura 2.34 - Espectro no IV do triazol **4b**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **4b** (Figura 2.35), em campo alto, verificou-se a presença de dois simpletos, em δ 1,33 ppm e δ 1,38 ppm, ambos integrados para três hidrogênios, referentes aos hidrogênios dos grupos metila ligados ao anel dioxolânico ($\text{H}_3\text{C-C-O}$). Em δ 3,75 ppm ($J_1 = 8,8$ Hz e $J_2 = 6,0$ Hz) e δ 4,12 ppm ($J_1 = 8,8$ Hz e $J_2 = 6,4$ Hz), observaram-se dois duplos dupletos, ambos integrados para um hidrogênio, atribuídos aos hidrogênios ligados ao carbono-1', desblindados pela presença do átomo de oxigênio do anel dioxolânico. Esta multiplicidade e estes valores das constantes de acoplamento indicam acoplamento geminal (H-1'a/H-1'b) e acoplamento vicinal com H-2'. O sinal observado como um duplo duplete em δ 4,58 ppm, integrado para 1H ($J_1 = 12,6$ Hz e $J_2 = 2,6$ Hz) é referente a um dos hidrogênios ligados ao carbono-3' (H-3'a), desblindado pela vizinhança do anel triazólico (ligado a um dos átomos de nitrogênio), que possui acoplamento geminal com o hidrogênio H-3'b e acoplamento vicinal com o H-2'. E o sinal inicialmente caracterizado como um multiplete em δ 4,42-4,51 ppm (integral para 2H), trata-se, na verdade, da sobreposição de dois sinais: um duplo duplete (para 1H), referente ao H-3'b, que acopla com os hidrogênios H-3'a (geminal) e H-2' (vicinal), e um quinteto (para 1H), atribuído ao hidrogênio metínico H-2', devido aos acoplamentos com os quatro hidrogênios vizinhos (H-1a, H-1b, H-3a e H-3b), desblindado pela ligação com um átomo de oxigênio e pela proximidade do anel triazólico.

Ainda no espectro de RMN ^1H do triazol **4b** (Figura 2.35), por fim, em campo baixo, tem-se cinco sinais. O simpleto observado em campo mais baixo, δ 7,90 ppm (integrado para 1H), foi atribuído ao hidrogênio do anel triazólico (H-5), altamente desblindado pelo efeito retirador de elétrons dos átomos de nitrogênio, pelo efeito anisotrópico associado ao anel triazólico e pela presença do anel aromático, em conjugação com o anel triazólico. Nesta região, característica de hidrogênios aromáticos, os sinais entre δ 6,99 ppm e δ 7,59 ppm, confirmam o anel aromático com substituintes em *meta*, com os quatro hidrogênios não equivalentes. O sinal caracterizado como em triplo duplo duplete, em δ 6,99 ppm (integral para 1H), apresenta as constantes de acoplamento 8,5, 2,5 e 0,8 Hz, sendo atribuído ao hidrogênio H-4'', menos desblindado pela posição em relação aos grupos substituintes (Flúor em *orto* e o anel triazólico em *para*). O tripleto duplo em δ 7,35 ppm (integrado para 1H), com constantes de acoplamento 8,2, 7,8 e 5,7 Hz, indicou que não há acoplamento em *meta*. Deste modo, este sinal foi atribuído ao hidrogênio H-5'' (*orto* em relação a H-4'' e H-6'' e *para* em relação ao H-2''). E o sinal caracterizado como

um multipeto em δ 7,51-7,59 ppm (integrado para 2H) se trata de sobreposição de dois sinais referentes aos hidrogênios H-2'' e H-6'', ambos em *orto* em relação ao anel triazólico. O hidrogênio H-2'' acopla em *meta* com H-4'' e H-6'' e *para* em relação ao H-5'' e o hidrogênio H-6'' acopla em *orto* com H-5'' e em *meta* com H-2'' e H-4''.

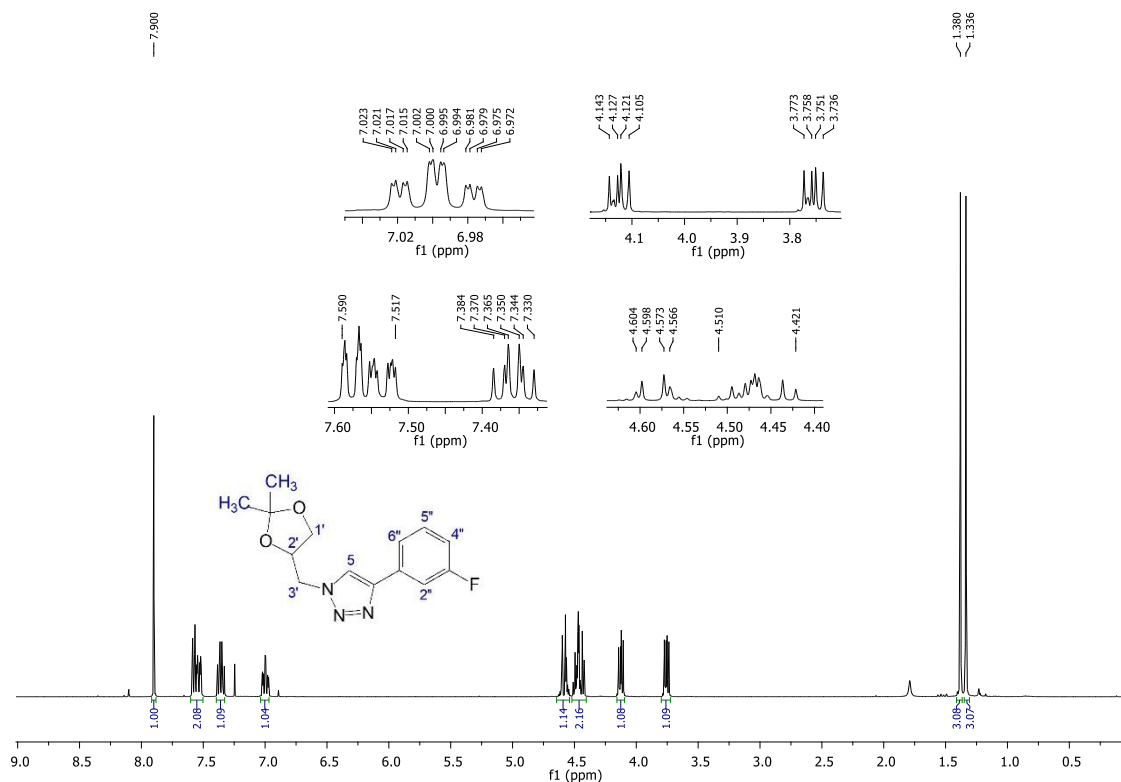


Figura 2.35 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do triazol **4b**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.35), os sinais observados em δ 25,2 e 26,7 ppm são referentes aos dois grupos metila ligados ao anel dioxolânico. Os sinais em δ 52,4, 66,4 e 74,0 ppm correspondem aos carbonos da porção dioxolânica da molécula, C-3', C-1' e C-2', respectivamente. O carbono C-2' em campo mais baixo é desblindado pelo efeito indutivo de um oxigênio em α e pelo efeito anisotrópico do anel triazólico em β , além de outro oxigênio também em β . O sinal em δ 110,2 ppm foi atribuído ao carbono C-4' do anel dioxolano, ligado aos dois grupos metila e aos dois oxigênios, sendo, por isto, altamente desblindado pelo efeito indutivo retirador dos átomos de oxigênio. Os carbonos vinílicos C-4 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz) e C-5 do anel triazólico foram observados em δ 146,6 e 121,3 ppm, respectivamente. Vale salientar que o carbono C-4 apresenta pequeno acoplamento com o átomo de flúor presente no anel aromático, daí o duplete observado e o valor baixo da constante de acoplamento ($J_{\text{C-}}$

$J_{C-F} = 3,0$ Hz) e a maior desblindagem deste carbono, ligado diretamente ao nitrogênio e ao anel aromático. Pode-se observar ainda que o sinal do carbono C-4 (δ 146,6 ppm) tem baixa intensidade, quando comparado ao pico do carbono C-5, típico de carbonos *ipso*.

Observou-se neste espectro de RMN ^{13}C (Figura 2.36) que os seis sinais dos carbonos aromáticos do triazol **4b** aparecem como dupletos, pois acoplam com o átomo de flúor presente. As constantes de acoplamentos entre carbono e flúor são altas, podendo chegar a 290 Hz. Em núcleos aromáticos, a constante de acoplamento C-F diminui com o aumento do número de ligações (com a distância em relação ao flúor), podendo alcançar valores maiores do que 230 Hz para grupos em *orto* e da ordem de 4,0 Hz para grupos em *para* (BRANCO et al., 2015). Deste modo, tendo a posição do átomo de flúor como referencial, foram feitas as atribuições. O carbono C-4'' apresentou sinal em δ 112,6 ppm (d, $J_{C-F} = 22,0$ Hz - constante *orto* em relação ao átomo de flúor). Já o carbono C-2'' apresentou sinal em δ 114,9 ppm (d, $J_{C-F} = 21,0$ Hz - constante *orto*). O carbono C-6'' apresentou sinal em δ 121,2 ppm (d, $J_{C-F} = 3,0$ Hz - constante *para*) e o carbono C-5'' apresentou sinal em δ 130,3 ppm (d, $J_{C-F} = 8,0$ Hz - constante *meta*). Os dois carbonos *ipso* C-1'' e C-3'' (sinais de menor intensidade) apareceram em δ 132,6 ppm (d, $J_{C-F} = 9,0$ Hz - constante *meta*) e δ 163,1 ppm (d, $J_{C-F} = 253,0$ Hz - constante *ipso* - ligado diretamente ao átomo de flúor), respectivamente. Destaca-se a desblindagem do carbono C-3'', por efeito indutivo retirador de elétrons, ligado diretamente ao átomo de flúor.

Por fim, analisando o espectro de massas do triazol **4b** (Figura 2.37), o pico em m/z 277 $[\text{M}^+]$ está de acordo com a fórmula molecular: $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_2$ (Massa molar: 277,29 g/mol). Já o pico em m/z 262 é referente ao fragmento associado à perda de um dos grupos metila do anel dioxolânico a partir do íon molecular. Observou-se ainda o pico base em m/z 43, referente ao íon acetil $[\text{CH}_3\text{CO}^+]$, proveniente da fragmentação do anel dioxolano.

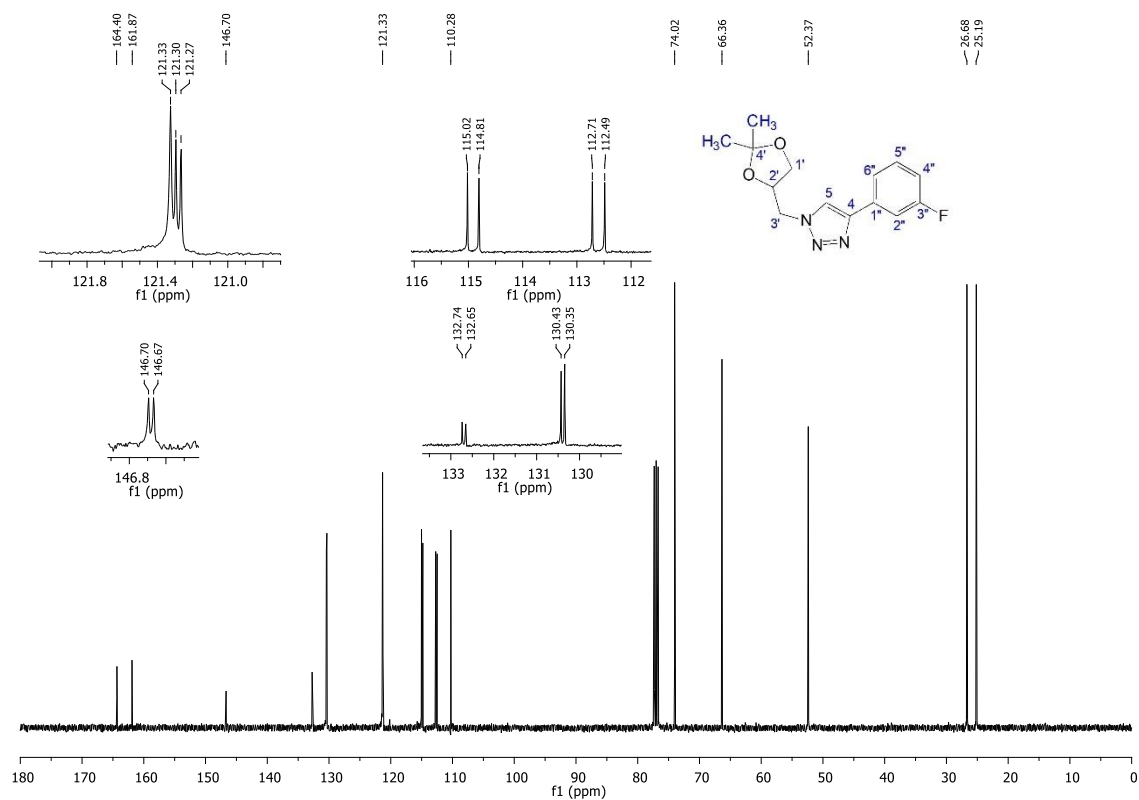


Figura 2.36 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do triazol **4b**.

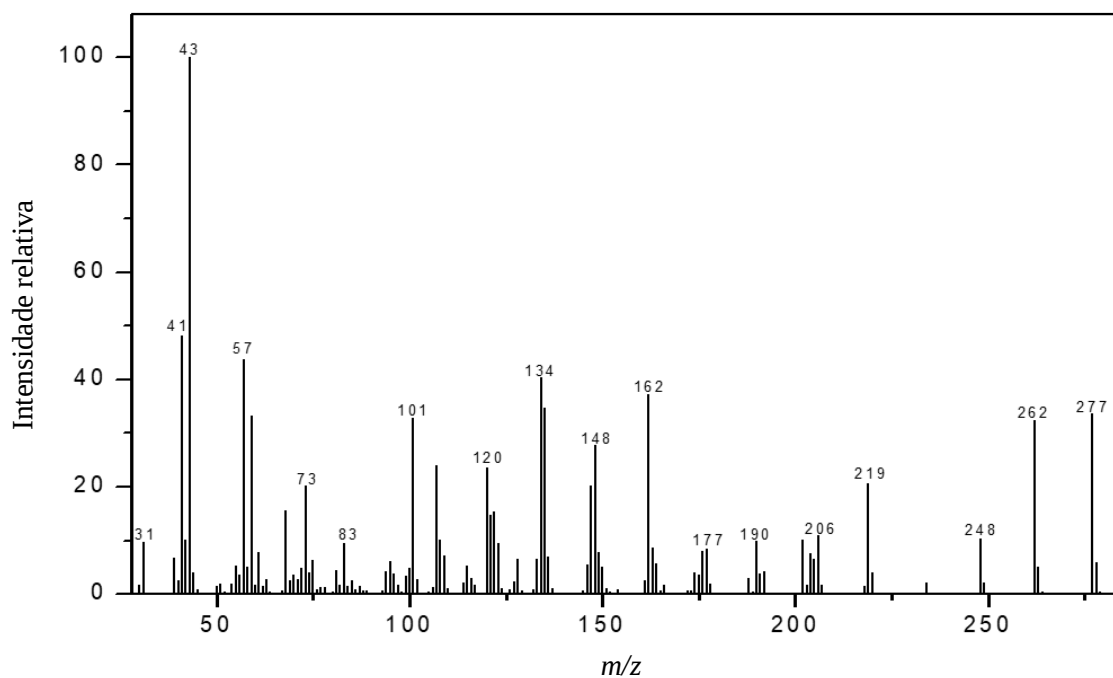


Figura 2.37 - Espectro de massas do triazol **4b**.

Com base no exposto, por meio das análises dos espectros no IV, de RMN de ^1H , de RMN de ^{13}C e da espectrometria de massas, fez-se a confirmação estrutural

inequívoca do triazol **4b**. A confirmação das estruturas dos triazóis **4a** e **4c** a **4k** foi feita de modo semelhante. Os dados espectroscópicos dos compostos foram apresentados no trabalho e os espectros dos compostos triazólicos são apresentados no ANEXO I.

2.5 REFERÊNCIAS

AGALAVE, S. G., MAUJAN, S. R., PORE, V. S. Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 6, n. 10, p. 2696-2718, 2011.

AHER, N. G., PORE, V. S., MISHRA, N. N., KUMAR, A., SHUKLA, P. K., SHARMA, A., BHAT, M. K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 3, p. 759-763, 2009.

ARAGÃO-LEONETI, V., CAMPO, V. L., GOMES, A. S., FIELD, R. A., CARVALHO, I. Application of copper(I)-catalysed azide/alkyne cycloaddition (CuAAC) 'click chemistry' in carbohydrate drug and neoglycopolymer synthesis. **Tetrahedron**, v. 66, n. 926, p. 9475-9492, 2010.

BEATRIZ, A., ARAÚJO, Y. J. K., LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estéreas seletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 306-319, 2011.

BORGATI, T. F., ALVES, R. B., TEIXEIRA, R. R., FREITAS, R. P., PERDIGÃO, T. G., SILVA, S. F., SANTOS, A. A., BASTIDAS, A. J. O. Synthesis and phytotoxic activity of 1,2,3-triazole derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 6, p. 953-961, 2013.

BRANCO, F. S. C., SILVA, B. V., RIO, G. F., SANTANA, M. J., QUEIROZ JÚNIOR, L. H. K., PINTO, A. C., BOECHAT, N., LIÃO, L. M. Ressonância magnética nuclear de substâncias organofluoradas: um desafio no ensino de espectroscopia. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1237-1246, 2015.

BUR, S. K., PADWA, A. The Pummerer reaction: methodology and strategy for the synthesis of heterocyclic compounds. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 5, p. 2401-2432, 2004.

COPINI, S., MICHELETTI, A. C., LIMA, D. P., GOMES, R. S., MEZA, A., BEATRIZ, A. Synthesis and antioxidant and antimicrobial properties of β -hydroxy sulfides, sulfoxides, and sulfones derived from cardanol and glycerol derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 12, p. 2569-2582, 2020.

COSTA, A. V., MOREIRA, L. C., PINTO, R. T., ALVES, T. A., SCHWAN, V. V., DE QUEIROZ, V. T., PRAÇA-FONTES, M. M., TEIXEIRA, R. R., MORAIS, P. A. B., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 4, p. 821-832, 2020.

COSTA, A. V., OLIVEIRA, M. V. L., PINTO, R. T., MOREIRA, L. C., GOMES, E. M. C., ALVES, T. A., PINHEIRO, P. F., QUEIROZ, V. T., VIEIRA, L. F. A., TEIXEIRA, R. R., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.

DE OLIVEIRA, A. S., GAZOLLA, P. A. R., OLIVEIRA, A. F. C. S., PEREIRA, W. L., VIOL, L. C. S., MAIA, A. F. S., SANTOS, E. G., DA SILVA, I. E. P., MENDES, T. A. O., DA SILVA, A. M., DIAS, R. S., DA SILVA, C. C., POLÊTO, M. D., TEIXEIRA, R. R., DE PAULA, S. O. Discovery of novel West Nile Virus protease inhibitor based on isobenzonafuranone and triazolic derivatives of eugenol and indan-1,3-dione scaffolds. **PLoS One**, v. 14, n. 9, e0223017, 2019. doi: 10.1371/journal.pone.0223017. PMID: 31557229; PMCID: PMC6762200.

DHEER, D., SINGH, V., SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 30-54, 2017.

DÍEZ-GONZÁLEZ, S. Well-defined copper(I) complexes for click azide–alkyne cycloaddition reactions: one click beyond. **Catalysis Science & Technology**, v. 1, p. 166-178, 2011.

DUBEY, N., SHARMA, M. C., KUMAR, A., SHARMA, P. A click chemistry strategy to synthesize geraniol-couple 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles and exploration of their microbicidal and antioxidant potential with molecular docking profile. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, p. 2717-2731, 2015.

FREITAS, L. B. O., RUELA, F. A., PEREIRA, G. A., ALVES, R. B., FREITAS, R. P., SANTOS, L. J. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.

GAZOLLA, P. A. R., TEIXEIRA, R. R., DA SILVA, A. M., VAZ, B. G., VASCONCELOS, G. A., SIQUEIRA, R. P., GONÇALVES, V. H. S., PEREIRA, H. S., BRESSAN, G. C. Síntese e avaliação da atividade citotóxica de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. **Química Nova**, v. 41, n. 5, p. 497-506, 2018.

HAQUE, A., HSIEH, M., HASSAN, S. I., FAIZI, MD. S. H., SAHA, A., DEGE, N., RATHER, J. A., KHAN, M. S. Synthesis, characterization, and pharmacological studies of ferrocene-1H-1,2,3-triazole hybrids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1146, p. 536-545, 2017

HEIN, J. E., FOKIN, V. V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 1302-1315, 2010.

HIMO, F., LOVELL, T., HILGRAF, R., ROSTOVTSEV, V. V., NOODLEMAN, L., SHARPLESS, K. B., FOKIN, V. V. Copper (I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 1, p. 210-216, 2005.

HUISGEN, R. 1,3-dipolar cycloadditions. Past and future. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 2, n. 10, p. 565-598, 1963a.

HUISGEN, R. Kinetics and mechanism of 1,3-dipolar cycloadditions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 2, n. 11, p. 633-645, 1963b.

JESCHKE, P. The unique role of fluorine in the design of active ingredients for 474 modern crop protection. **ChemBioChem**, v. 5, n. 5, p. 570-589, 2004.

JESCHKE, P. The unique role of halogen substituents in the design of modern agrochemicals. **Pest Management Science**, v. 66, p. 10-27, 2010.

KAUTZ, J., FELTRIN, W., SALES, E. S., EIFLER-LIMA, V. L., MERLO, A. A. Reação de condensação do glicerol com compostos carbonílicos. síntese, caracterização e aplicação em cristais líquidos. **Química Nova**, v. 38, n. 8, p. 1053-1062, 2015.

KOLB, H. C., FINN, M. G., SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 11, p. 2004-2021, 2001.

LAMBERTH, C., DINGES, J. The significance of heterocycles for pharmaceuticals and agrochemicals. In: Ed. LAMBERTH, C.; DINGES, J. (Eds.) **Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Agrochemicals**. Weinheim: Wiley-VCH, 2012. p. 3-20.

LAMBERTH, C., JEANMART, S., LUKSCH, T., PLANT, A. Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals. **Science**, v. 341, n. 6147, p. 742-746, 2013.

LESSA, R. C. S. Núcleos 1,2,3-Triazólicos como uma Versátil Ferramenta para a Obtenção de Novos Compostos Bioativos: uma Visão Geral. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 74-89, 2021.

LUNDBERG, P., HAWKER, C. J., HULT, A., MALKOCH, M. Click assisted one-pot multi-step reactions in polymer science: accelerated synthetic protocols. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 29, p. 998-1015, 2008.

MARZI, M., FARJAM, M., KAZEMINEJAD, Z., SHIROUDI, A., KOUHPAYEH A., ZARENEZHAD, E. A Recent overview of 1,2,3-triazole-containing hybrids as novel antifungal agents: focusing on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationship (SAR). **Journal of Chemistry**, v. 2022, Article ID 7884316, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/7884316>. Acesso em: 13 jan. 2022.

MELDAL, M., TORNØE, C. W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **Chemical Reviews**, v. 108, p. 2952-3015, 2008.

MELO, J. O. F., DONNICI, C. L., AUGUSTI, R., FERREIRA, V. F., SOUZA, M. C. B. V., FERREIRA, M. L. G., CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 569-579, 2006.

MONTEIRO, M. R., KUGELMEIER, C. L., PINHEIRO, R. S., BATALHA, M. O., CÉSAR, A. S. Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 88, p. 109-122, 2018.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4^a ed (Trad.). São Paulo: Cengage Learning, 2010. 716p.

PEITER, G. C., ALVES, H. J., SEQUINEL, R., BAUTITZ, I. R. Alternativas para o uso do glicerol produzido a partir do biodiesel. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 5, n. 4, 2016. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/rber/article/view/46501>. Acesso em 01 dez. 2020.

PHOLSHETTIWAR, V.; VARMA, R. S. Greener and expeditious synthesis of bioactive heterocycles using microwave irradiation. **Pure and Applied Chemistry**, v. 80, n. 4, p. 777-790, 2008.

RODIONOV, V. O., FOKIN, V. V., FINN, M. G. Mechanism of the ligand-free Cu^I-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 15, p. 2210-2215, 2005.

SILVA, F. P. N. R., SANTOS, P. F., SILVA, S. R. B., PEREIRA, V. L. P. Expeditious syntheses to pharmachemicals 1,3-dihydroxyacetone, 1,3-dichloro-, 1,3-dibromo- and 1,3-diiodoacetone from glycerol 1,3-dichlorohydrin using homogenous and heterogenous medium. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 8, p. 1725-1731, 2020.

STRUTHERS, H., MINDT, T. L., SCHIBLI, R. Metal chelating systems synthesized using the copper(I) catalyzed azide-alkyne cycloaddition. **Dalton Transactions**, v. 39, p. 675-696, 2010.

TEIXEIRA, R. R., GAZOLLA, P. A. R., DA SILVA, A. M., BORSODI, M. P. G., BERGMANN, B. R., FERREIRA, R. S., VAZ, B. G., VASCONCELOS, G. A., LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 146, p. 274-286, 2018.

WANG, W., WANG, S., LIU, Y., DONG, G., CAO, Y., MIAO, Z., SHENG, C. Novel conformationally restricted triazole derivatives with potent antifungal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 6020-6026, 2010.

WORRELL, B. T., MALIK, J. A., FOKIN, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne. **Science**, v. 340, n. 6131, p. 457-460, 2013.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES FITOTÓXICA E CITOGENOTÓXICA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

3.1 INTRODUÇÃO

O uso de herbicidas objetivando o controle de plantas daninhas é uma importante ferramenta na agricultura moderna, pois o controle químico é, de maneira geral, rápido, eficiente e de baixo custo. Mas, por outro lado, o uso indiscriminado destes mesmos herbicidas exerce uma alta pressão de seleção sobre as populações de plantas daninhas, o que tem levado ao surgimento de espécies resistentes a esses produtos agroquímicos (ALVES et al., 2021; HAN et al., 2021). Neste cenário, a indústria agroquímica vem desenvolvendo constantemente novas metodologias de síntese orgânica, com o objetivo de fornecer substâncias cada vez mais seletivas, eficientes e ambientalmente seguras (OGAWA et al., 2020).

Dentre as classes de compostos orgânicos utilizadas para a síntese de produtos agroquímicos e farmacêuticos estão os compostos heterocíclicos, destacadamente os heterociclos contendo nitrogênio. E nesta classe de sistemas heterocíclicos nitrogenados, os compostos 1,2,3-triazólicos têm grande importância devido ao seu amplo espectro de aplicações em produtos agroquímicos, farmacêuticos e medicinais (AVULA et al., 2019; COSTA et al., 2017, 2020).

Atualmente, mais de 1.200 compostos agroquímicos são conhecidos e muitos deles são usados regularmente na busca de produtividade, objetivando sustentar a população global em constante expansão. Neste contexto, nas últimas duas décadas, os compostos contendo átomos de flúor, os chamados fluoroquímicos, foram associados a avanços significativos no processo de desenvolvimento de novos agroquímicos (JESCHKE, 2010; OGAWA et al., 2020). Entre os herbicidas licenciados atualmente em todo o mundo, cerca de 25% contêm pelo menos um átomo de flúor, e vários contêm mais de um átomo de flúor, na forma de grupos difluoro e trifluorometil ($-CF_2$ e $-CF_3$, respectivamente). Os compostos contendo flúor contribuíram significativamente para o desenvolvimento de produtos para esta indústria agroquímica e muitas moléculas organofluoradas encontraram posições de mercado estáveis (FUJIWARA, O'HAGAN, 2014; OGAWA et al., 2020).

3.2 REVISÃO DE LITERATURA

Plantas daninhas são espécies indesejáveis que afetam a produtividade das culturas de interesse por variadas formas, quer seja pela competição por água, por nutrientes, pela luz ou pelo espaço (AHMAD et al., 2018). Neste cenário, os herbicidas surgem como principal ferramenta de controle das plantas daninhas, desempenhando importante papel na agricultura moderna. Desde a descoberta do herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Figura 3.1), na década de 40 do século passado, a indústria agroquímica busca desenvolver uma ampla gama de herbicidas com variadas estruturas químicas. No entanto, um grande problema associado ao uso de herbicidas é a ocorrência da resistência por parte das plantas daninhas (QADEER et al., 2007; GISZTER et al., 2016).

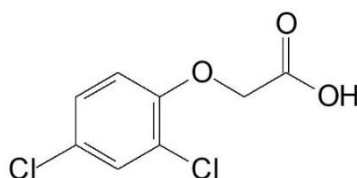


Figura 3.1 - Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, o 1º herbicida amplamente utilizado.

A resistência de planta daninhas aos herbicidas é um grande desafio da agricultura. Isto gera uma necessidade premente de novas moléculas com potencial atividade herbicida e o avanço da incorporação de novos produtos no mercado. Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), existem 945 herbicidas registrados no Brasil. Nos últimos dois anos (2020 e 2021) foram registrados 241 novos produtos herbicidas (BRASIL, 2022). Em relação a todos os agrotóxicos registrados no Brasil, os herbicidas são maioria (29,9%) e, na sequência, tem-se os inseticidas (21,5%) e os fungicidas (20,8%) (BRASIL, 2022).

No desenvolvimento de novos herbicidas, compostos heterocíclicos têm se destacado, com os núcleos heterocíclicos se mostrando parte do grupo farmacofórico responsável pela atividade biológica (LAMBERTH, DINGES, 2012). Dentre os heterociclos, enfatiza-se os que contém átomo(s) de nitrogênio, principalmente, os compostos 1,2,3-triazólicos, devido à sua gama de aplicações em produtos agroquímicos (COSTA et al., 2017, 2020). Algumas das atividades biológicas relatadas para os derivados 1,2,3-triazólicos são: antibacteriana, citotóxica, antitumoral, antiprotozoária, antifúngica, antimalárica, leishmanicida e

Antitripanossomal (AGALAVE, MAUJAN, PORE, 2011; LIMA-NETO et al., 2012; BORGATI, 2013; COSTA et al., 2017; DHEER, SINGH, SHANKAR, 2017; PORTA et al., 2017). Até o ano de 2003 foram publicados mais de 10.500 artigos sobre a química dos triazóis, sendo que destes, 4.200 versavam sobre síntese e 2.400 sobre atividade biológica (MELO et al., 2006). Porém ainda são poucos os estudos destes 1,2,3-triazóis com relação à atividade herbicida.

Güell e colaboradores (2012) prepararam 15 peptideotriazóis a partir do peptídeo antimicrobiano BP100, pela adição de um anel 1,2,3-triazólico, e testaram os efeitos citotóxicos em células eucarióticas das folhas de tabaco. A toxicidade dos peptideotriazóis foi avaliada por infiltração de 100 µL de solução de 25 e 50 µM de cada peptideotriazol nas mesófilas das folhas. Após 48 horas de infiltração, não foi observada nenhuma necrose nas mesófilas das folhas, indicando que estes compostos não foram citotóxicos para as folhas de tabaco.

Borgati e colaboradores (2013) sintetizaram 13 compostos 1,2,3-triazólicos contendo grupos benzila-halogenados (compostos **1** a **13**) (Figura 3.2). A fitotoxicidade destes compostos foi avaliada contra duas espécies de dicotiledôneas, *Lactuca sativa* (alface) e *Cucumis sativus* (pepino) e uma espécie de monocotiledônea, *Allium cepa* (cebola). Verificou-se que estes compostos triazólicos interferiram na germinação e no crescimento radicular (brotos e raízes) das três espécies. Os compostos apresentaram atividade predominantemente inibitória com relação às espécies avaliadas, principalmente na concentração de 10^{-4} mol L⁻¹, sendo que alguns deles foram tão ativos quanto o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), herbicida usado como controle positivo. Vale ressaltar que, conforme os resultados obtidos, observou-se que os produtos halogenados foram mais ativos.

Costa e colaboradores (2017) sintetizaram e investigaram a atividade fitotóxica de oito novos compostos 1,2,3-triazólicos (**14** a **21**) derivados do glicerol (Figura 3.3), frente a *Lactuca sativa* (alface). Os resultados mostraram que estes compostos 1,2,3-triazólicos não interferiram na germinação das sementes. Além disto, os oito triazóis foram pouco efetivos na inibição do crescimento radicular de *L. sativa*, com inibição máxima de 10% em relação ao controle.

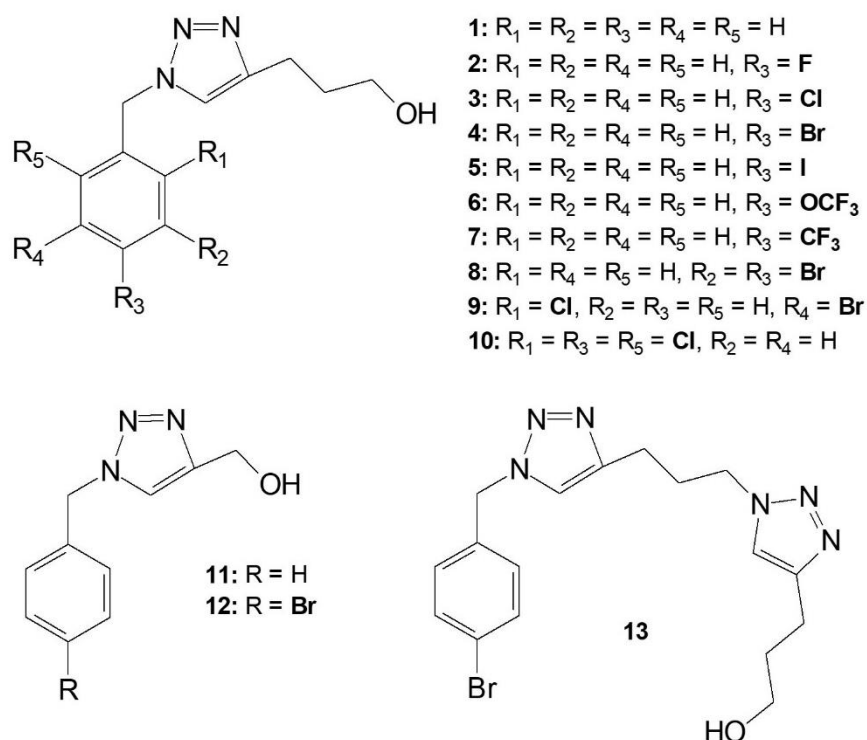


Figura 3.2 - Estrutura dos 13 compostos 1,2,3-triazólicos sintetizados por Borgati e colaboradores (**1 a 13**), sendo 11 halogenados.
 (Fonte: BORGATI et al., 2013)

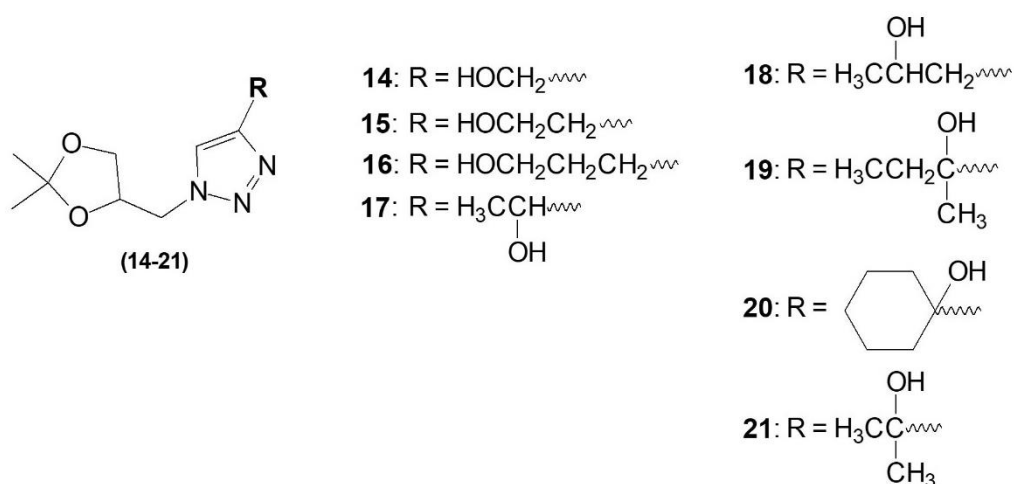


Figura 3.3 - Estrutura dos oito compostos 1,2,3-triazólicos derivados do glicerol (**14 a 21**) sintetizados por Costa e colaboradores.
 (Fonte: COSTA et al., 2017)

Nejma e colaboradores (2018) relataram a semissíntese de novos compostos híbridos 1,2,3-triazólicos derivados do ácido maslínico (compostos **22 a 28**) (Figura 3.4), extraído do bagaço de oliveiras, via reação de cicloadição 1,3-dipolar (reação *click*), e testaram a potencial atividade herbicida de tais compostos na

germinação de sementes e no estágio inicial de crescimento de *Lactuca sativa* L. (alface). Os resultados foram bem interessantes, com os derivados 1,2,3-triazólicos do ácido maslínico apresentando alto potencial de inibição da germinação de sementes, acima de 90%, destacando-se o composto **26**, que inibiu completamente a germinação (100% de inibição). Estes resultados, segundo os autores, corroboram a importância da porção 1,2,3-triazólica na atividade observada e constitui um possível primeiro passo no desenvolvimento de herbicidas potentes, uma vez que uma das estruturas semissintetizadas pode servir como um candidato para estudos posteriores.

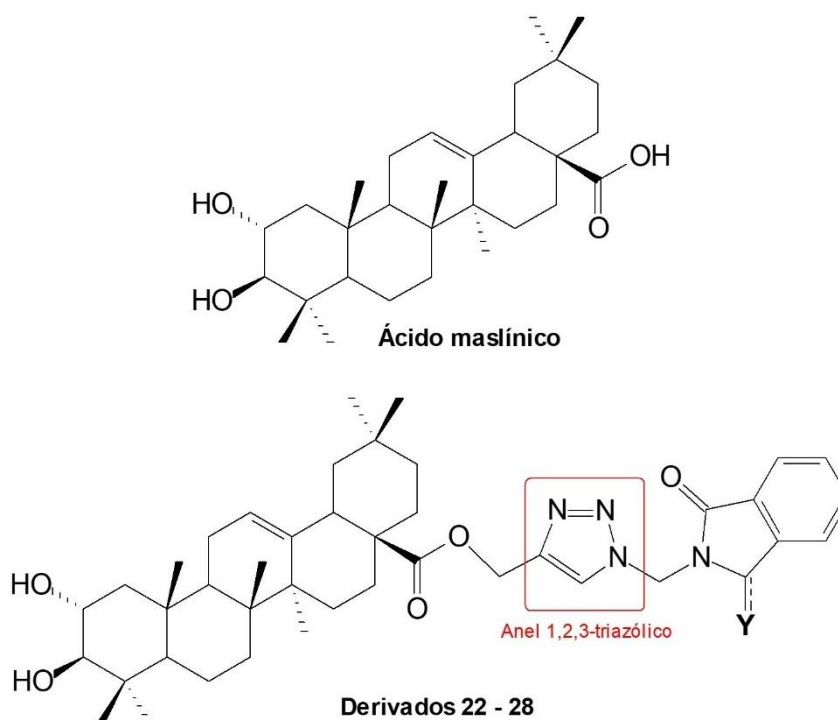


Figura 3.4 - Estrutura do ácido maslínico e dos sete derivados 1,2,3-triazóis (**22 a 28**) semissintetizados por Nejma e colaboradores.
(Fonte: NEJMA et al., 2018)

Costa e colaboradores (2020) sintetizaram nove compostos 1,2,3-triazólicos 4-alkil-substituídos derivados do glicerol (Figura 3.5), por meio da reação de cicloadição de alquino-azida, catalisada por CuI como etapa chave. Avaliou-se a fitotoxicidade destes nove compostos frente à *Lactuca sativa* (alface) e observou-se que tais compostos interferiram pouco na germinação, com resultados semelhantes ao controle negativo (água e diclorometano), exceto o composto **31**, que apresentou 35% de inibição da germinação, em uma concentração de $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$. Porém, tiveram efeitos pronunciados sobre o índice de velocidade de germinação e do crescimento radicular das plântulas de *L. sativa*, destacando-se os triazóis **29**, **30**, **31**,

32, **34** e **36**, que reduziram tais parâmetros em concentrações mais altas (500 e 1.000 µg mL⁻¹). Vale ressaltar que o derivado 1,2,3-triazólico **31**, na concentração de 1.000 µg mL⁻¹, reduziu 68,53% do índice de velocidade de germinação e 85,78% do crescimento radicular das plântulas de *L. sativa*, resultados similares ao controle positivo utilizado, o herbicida comercial picloram.

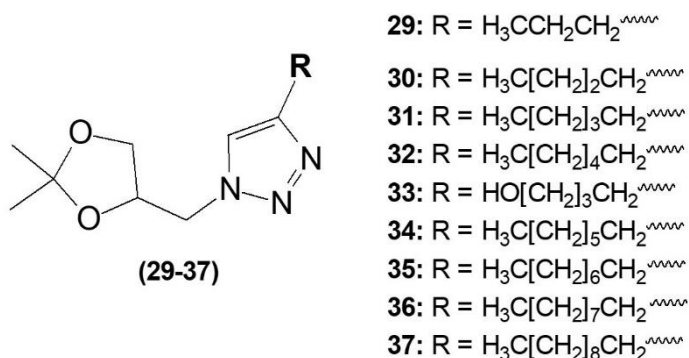


Figura 3.5 - Estrutura dos nove compostos 1,2,3-triazólicos 4-alkil-substituídos derivados do glicerol (**29** a **37**) sintetizados por Costa e colaboradores. (Fonte: COSTA et al., 2020)

Ensaio para avaliação de citotoxicidade e de genotoxicidade de novos compostos têm grande relevância, pois permitem indicar respostas de um dado organismo a um possível efeito tóxico por parte do(s) composto(s). Deste modo, é possível avaliar o impacto da substância sobre células, tecidos e/ou órgãos de organismos alvos e verificar possíveis perturbações metabólicas ou efeitos sobre o material genético (FRENZILLI, NIGRO, LYONS, 2009). Estes teste podem ser feitos *in vitro* ou *in vivo*, utilizando plantas modelo, como *Allium cepa* e *Lactuca sativa*. Essa última espécie (a alface) é utilizada por possuir grande número de sementes, pequeno tamanho, ser facilmente encontrada em casas rurais para aquisição, além de apresentar germinação padronizada e em poucas horas (ALVES et al., 2022). Os testes, no caso de potenciais agroquímicos, permitem a avaliação da segurança com relação a possíveis efeitos citogenotóxicos destas substâncias (DOS SANTOS et al., 2019).

Considerando a importância dos compostos heterocíclicos contendo nitrogênio e dos compostos fluoroquímicos no desenvolvimento de novos agroquímicos, associado à busca de compostos bioativos que possam ser usados como novos ingredientes ativos no controle de plantas daninhas, descreve-se neste

capítulo a avaliação de atividade fitotóxica e citogenotóxica dos 11 compostos fluorados 1,2,3-triazólicos sintetizados a partir do glicerol.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Material Vegetal

As avaliações da fitotoxicidade e da citogenotoxicidade dos compostos 1,2,3-triazólicos **4a** a **4k** foram realizadas utilizando sementes comerciais da planta modelo *Lactuca sativa* L. (alface) “Crespa Grand Rapids - TBR” (ISLA).

3.3.2 Ensaio de Avaliação da Atividade Fitotóxica

A avaliação da fitotoxicidade dos compostos **4a** a **4k** foi realizada utilizando cinco concentrações diferentes (1.000, 500, 250, 100 e 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) de cada composto. 25 sementes de alface foram colocadas em cada placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel de filtro umedecido com 2,5 mL da solução de cada tratamento (usando diclorometano como solvente). Os experimentos seguiram um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por tratamento. As placas foram vedadas com filme plástico transparente para evitar a evaporação e mantidas em incubadora BOD a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, sem luz durante 120 h (cinco dias). Como controle negativo, foram utilizados água destilada e diclorometano, e como controle positivo foi utilizado o herbicida comercial picloram, na concentração de 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O processo de germinação foi avaliado em intervalos de oito em oito horas até completar 48h. Os parâmetros macroscópicos avaliados foram o índice de velocidade de germinação (GSI), a porcentagem de sementes germinadas (GR), o comprimento radicular após 48 h (RG) e o crescimento aéreo (AG) após 120 h, com o auxílio de paquímetro digital, conforme previamente descrito por Pinheiro e colaboradores (2015).

3.3.3 Ensaio de Avaliação da Atividade Citogenotóxica

Após 48h de exposição aos tratamentos, para análise microscópica, dez raízes de *L. sativa* de cada placa de Petri foram coletadas e fixadas em etanol-ácido acético (3:1 v/v). As trocas do fixador foram feitas em 10 minutos e 24 h após a primeira fixação, sendo armazenadas a -20°C durante todo o processo. Após 24 h, lâminas dos meristemas radiculares foram preparadas pela técnica de *squash* e coradas com orceína acética a 2% (ANDRADE-VIEIRA, CAMPOS, DAVIDE, 2012).

Aproximadamente, 4.000 células meristemáticas foram avaliadas por tratamento, observando e quantificando as diferentes fases da divisão mitótica, possíveis alterações cromossômicas e nucleares. O índice mitótico (MI) foi obtido pela divisão do número de células em divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase) pelo número total de células avaliadas em cada tratamento. As frequências de alterações cromossômicas e nucleares foram obtidas dividindo-se o número de alterações, cromossômicas e nucleares, respectivamente, pelo número total de células avaliadas (ANDRADE-VIEIRA, CAMPOS, DAVIDE, 2012). A frequência de alterações, que representa a ocorrência de cada alteração individualmente, foi avaliada com base na razão entre o número de alterações individuais (C-metáfase, ponte, pegajoso, atraso, freio e perdido) e o número de células por divisão (ANDRADE-VIEIRA, CAMPOS, DAVIDE, 2012).

3.3.4 Análise Estatística

Para as análises de fitotoxicidade e citogenotoxicidade, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), por ser o mais indicado para experimentos que buscam comparar tratamentos com controles (MCHUGH, 2011). Todas as análises foram realizadas utilizando o programa de análise estatística GENES VS 2015.5.0 (CRUZ, 2013).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Avaliação da Atividade Fitotóxica

A análise dos dados de avaliação da fitotoxicidade (Figura 3.6) revelou que os compostos **4a**, **4b**, **4d** e **4i** foram os que apresentaram efeitos na germinação das sementes. O derivado **4a** (triazol não fluorado), em uma concentração de $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$, inibiu, aproximadamente, 25% da germinação de sementes de *L. sativa*, um efeito semelhante ao do controle positivo, o herbicida picloram. Os compostos **4b** e **4d** (a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$) e o **4i** (a 1.000 e $500 \mu\text{g mL}^{-1}$), todos fluorados, também inibiram a germinação quando comparados aos controles negativos (Figura 3.6).

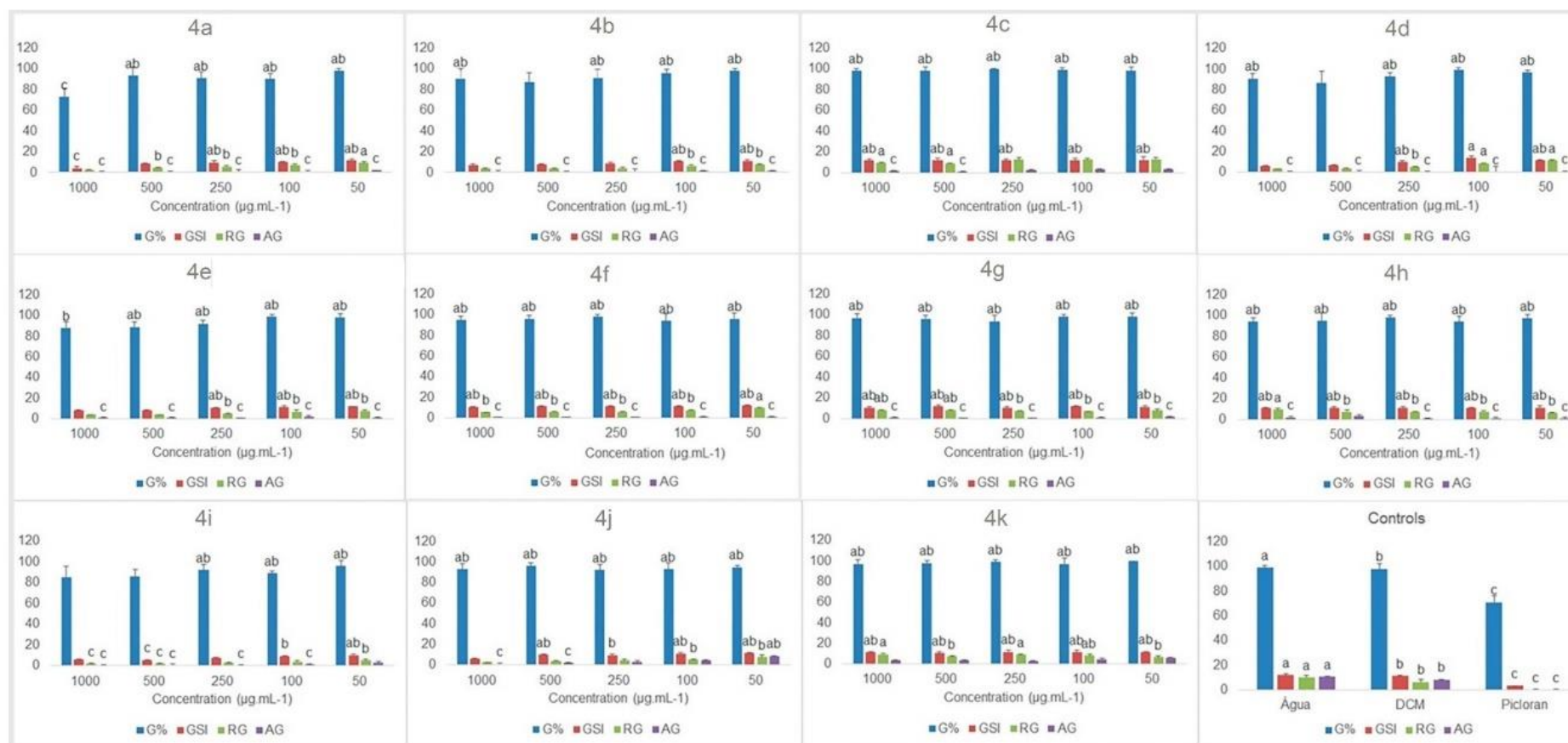
O composto **4a**, na concentração mais alta ($1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$), apresentou o maior efeito no índice de velocidade de germinação (IGS), semelhante ao picloram, inibindo em 65% em relação aos controles negativos. O mesmo composto **4a** (a $500 \mu\text{g mL}^{-1}$) e os derivados **4b** (a 1.000 , 500 e $250 \mu\text{g mL}^{-1}$), **4d**, **4e** (a 1.000 e

500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), **4i** e **4j** (a 1.000 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) promoveram inibição no IGS, quando comparados aos controles negativos (Figura 3.6). Os compostos triazólicos **4b**, **4d**, **4e**, **4i** e **4j** (todos fluorados) apresentaram efeitos inibitórios apenas neste parâmetro de germinação (IGS), não apresentando diferença quando comparados com a porcentagem de germinação final (G%). Esta é uma característica encontrada em compostos classificados como biocidas (IGANCI et al., 2006).

Em relação ao crescimento radicular (RG), o triazol **4i** (nas concentrações de 1.000 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi equipotente ao herbicida picloram, inibindo, aproximadamente, 80% do desenvolvimento da raiz de *L. sativa* em relação aos controles negativos (Figura 3.6). Já os compostos **4b** e **4j** (a 1.000, 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), **4d** e **4e** (a 1.000 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), **4a** (a 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e **4i** (a 250 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) inibiram o crescimento radicular em relação aos controles negativos (Figura 3.6). Por outro lado, o composto **4c** (em 250, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) estimulou o crescimento radicular de *L. sativa*.

O parâmetro de crescimento radicular é considerado o mais sensível dentre os analisados nos ensaios de avaliação de fitotoxicidade, sendo responsivo mesmo para compostos com toxicidade leve a moderada (ARAGÃO et al., 2017). Além disso, quando se inicia o processo de germinação da planta, ocorre a embebição do líquido antes da germinação e ocorre a maior absorção do composto. Por esse motivo, o RG é um dos parâmetros mais afetados, pois as raízes são as primeiras a ter contato direto com a substância testada, sendo as maiores consumidoras de nutrientes e líquidos retidos na semente (ARAGÃO et al., 2017).

Nas análises de crescimento aéreo (AG), os compostos **4a**, **4b**, **4d**, **4e**, **4f**, **4g** e **4h** apresentaram diferença estatística em todas as concentrações, quando comparados aos controles negativos (água e diclorometano), não ocorrendo diferença significativa quando comparado ao controle positivo (herbicida picloram). A inibição do AG foi superior a 80% quando comparada aos controles negativos (Figura 3.6).



G% = Porcentagem de Germinação; IGS = Índice de Velocidade de Germinação;
RG = Crescimento Radicular; AG = Crescimento Aéreo.

As médias seguidas da letra a foram iguais ao controle negativo água e as seguidas da letra b foram iguais ao controle negativo diclorometano. Já as médias seguidas da letra c foram iguais ao controle positivo picloram (1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$), segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Figura 3.6 - Avaliação da fitotoxicidade em *L. sativa* dos compostos 1,2,3-triazólicos **4a** a **4k**, em cinco concentrações, e com controle positivo (Picloram a 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e controles negativos (água e diclorometano).

Os triazóis **4i**, **4c** e **4j**, em concentrações específicas (**4i**: em 1.000, 500, 250 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$; **4c** e **4j**: em 1.000 e 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), também apresentaram inibição do crescimento aéreo (AG), não apresentando diferença significativa quando comparados ao controle positivo, o herbicida picloram (Figura 3.6). Estes resultados envolvendo os três compostos 1,2,3-triazólicos fluorados (**4c**: 1F; **4i**: 1CF₃; **4j**: 1CF₃) confirmam o que foi descrito por Jeschke (2010), que afirma que compostos contendo um ou mais átomos de flúor são potencialmente fitotóxicos. Uma hipótese é que tais compostos podem estar agindo na mesma via metabólica do herbicida comercial à base de triazol Front®, que tem caráter pré-emergente e atua inibindo a fotossíntese através do fotossistema II. Com o consumo da energia retida na semente pelo crescimento da raiz, a semente perde vigor para o crescimento aéreo, que por sua vez é impedido de realizar a fotossíntese para recuperar a planta, levando a uma taxa de crescimento mais lenta e, posteriormente, causando a morte da mesma (TOLEDO et al., 2010).

Ainda considerando o crescimento aéreo (AG), embora menos eficaz que o controle positivo (picloram), o triazol **4k** em todas as concentrações testadas, e mais uma vez os triazóis **4i** (em 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e **4j** (em 250 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) inibiram o AG, quando comparados aos controles negativos (Figura 3.6). Por outro lado, o composto **4c** (em 250, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) induziu o crescimento aéreo, diferindo significativamente dos controles (Figura 3.6). Vale ressaltar que algumas moléculas apresentam potencial indutor quando utilizadas em baixas concentrações, comportando-se, provavelmente, como uma auxina (hormônio vegetal que atua regulando o crescimento e desenvolvimento da planta) sintética. Esse aumento pode estar relacionado ao alongamento das células que ocorre durante o processo de crescimento e derivação celular (ARAGÃO et al., 2017).

A análise dos parâmetros fitotóxicos, como a porcentagem de germinação (G%) e o índice de velocidade de germinação (IGS) podem indicar se um composto apresenta comportamento de inibição pré-emergente, enquanto a investigação do crescimento radicular (RG) e aéreo (AG) pode fornecer informações sobre o efeito de inibição pós-emergente (VARGAS, ROMAN, 2006). Desta forma, os compostos **4a**, **4b**, **4d**, **4e**, **4i** e **4j** apresentam comportamento de inibição pré-emergente, enquanto todos os compostos investigados apresentaram efeito pós-emergente (Figura 3.6). O conhecimento da ação dos compostos na emergência de uma planta é uma característica importante a ser considerada. Um composto pré-emergente não permite a germinação de sementes; diretamente relacionado aos plantios a serem

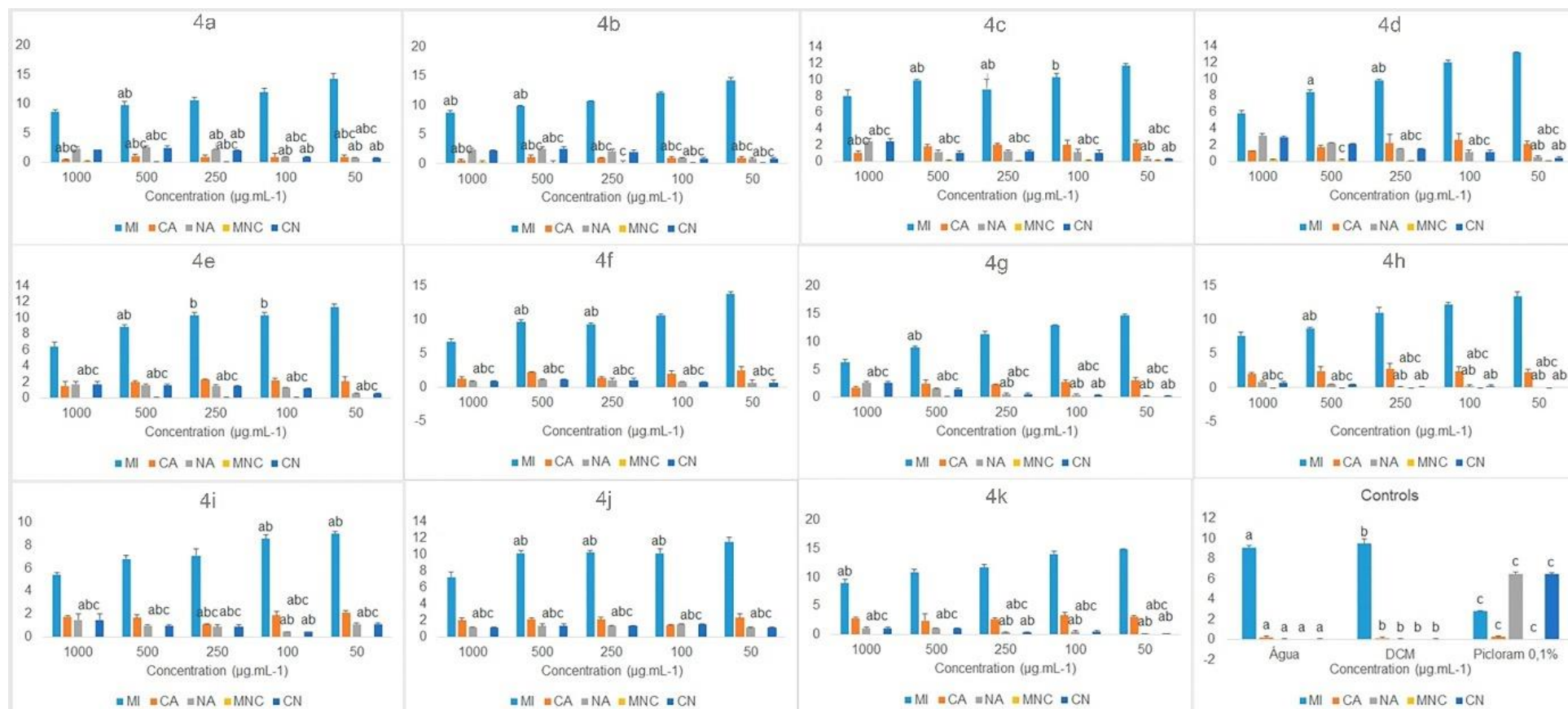
implantados, podendo atuar sobre as plantas invasoras antes que elas comecem a competir com a cultura de interesse. Por outro lado, um composto com comportamento pós-emergente pode ser recomendado para culturas já instaladas (VARGAS, ROMAN, 2006).

3.4.2 Avaliação da Atividade Citogenotóxica

Na avaliação citogenotóxica utilizando as células meristemáticas de *L. sativa*, houve variação nos resultados, com alguns compostos 1,2,3-triazólicos promovendo aumento do índice mitótico (MI) e outros levando à diminuição do MI. O aumento foi observado no tratamento com os triazóis **4k** (em 500, 250, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), **4a**, **4b**, **4g**, **4h** (em 250, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), **4d**, **4f** (em 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), e **4c**, **4e** e **4j** (a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 3.7). Vale destacar que Kalhor-Monfared e colaboradores (2016) sintetizaram e testaram 72 derivados aril 1,2,3-triazólicos contra células da linhagem de melanoma B16. Dentre os compostos sintetizados e testados havia o triazol **4k** (denominado *a2b5*) e os autores observaram baixa atividade deste triazol contra o melanoma B16, afirmando que a “troca” do grupo 4-trifluorometilfenil no Carbono-4 no lugar do grupo 2-naftil (do composto *a4b5* - composto não fluorado) seria a responsável por esta redução na atividade.

O aumento do índice mitótico pode ocorrer quando uma planta tenta se desenvolver para sair de um local estressado (IGANCI et al., 2006). Já a diminuição do índice mitótico foi observada em células meristemáticas de *L. sativa* tratadas com os triazóis **4i** (a 1.000, 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), e **4a**, **4c**, **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4h** e **4i** (a 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 3.7). A diminuição do índice mitótico pode ocorrer devido à morte celular (IGANCI et al., 2006).

Todos os compostos 1,2,3-triazólicos avaliados causaram aumento nas alterações nucleares (NA) em determinadas concentrações. Alterações como micronúcleos (MNC) ou núcleos condensados (CN) foram observadas nas células tratadas com os compostos **4a**, **4b** e **4d** (Figura 3.7). Para os demais derivados, observou-se apenas um núcleo condensado (CN), que é a evidência citológica da ocorrência de morte celular (ANDRADE-VIEIRA, CAMPOS, DAVIDE, 2012).



MI = índice mitótico; CA = Alterações cromossômicas; NA = Alterações nucleares; MNC = Micronúcleo; CN = Núcleo condensado.

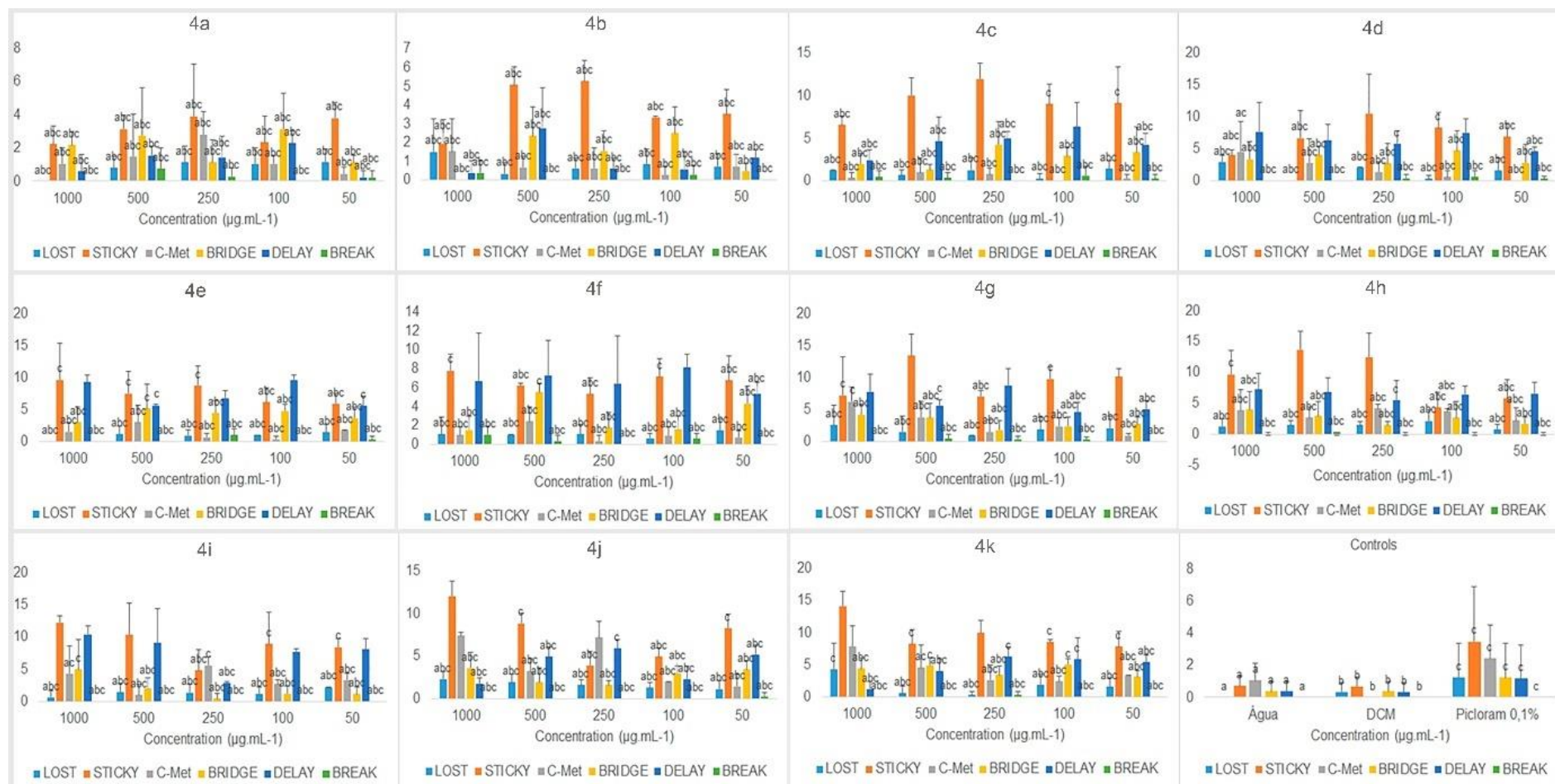
As médias seguidas da letra a foram iguais ao controle negativo água e as seguidas da letra b foram iguais ao controle negativo diclorometano. Já as médias seguidas da letra c foram iguais ao controle positivo picloram (1.000 µg mL⁻¹), segundo o teste de Dunnett ($p < 0,05$).

Figura 3.7 - Avaliação das variáveis citogenotóxicas em células meristemáticas de *L. sativa* tratadas com os compostos 1,2,3-triazólicos **4a** a **4k**, em cinco concentrações, e com controle positivo (picloram 1.000 µg mL⁻¹) e controles negativos (água e diclorometano) (I).

Um aumento nas alterações cromossômicas (CA) foi observado para os compostos **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4h**, **4j** e **4k**, em todas as cinco concentrações. No caso dos triazóis **4a** (a 250, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), **4c** (a 500, 250, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e **4i** (a 1.000, 500, 100 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$), observou-se também aumento nas alterações cromossômicas nestas concentrações específicas (Figura 3.7).

As alterações cromossômicas são determinadas pelo número de cromossomos em anormalidades, sejam estruturais ou numéricas. Essas alterações podem ser classificadas de acordo com o mecanismo de ação, em clastogênicas, aneugênicas e/ou epigenéticas (BERNARDES et al., 2015; FREITAS et al., 2016). Uma das alterações encontradas foi a aderência cromossômica, que foi observada para quase todos os compostos, exceto os triazóis **4a** e **4b** (Figura 3.8). Essa alteração é classificada como clastogênica, aneugênica e epigenética (FREITAS et al., 2016; SILVEIRA et al., 2017; DOS SANTOS et al., 2019). Outra alteração observada para os derivados triazólicos **4e**, **4f**, **4i** e **4k** foi a ponte cromossômica (Figura 3.8), que é classificada como uma alteração clastogênica (DOS SANTOS et al., 2019).

As alterações aneugênicas observadas corresponderam a atraso cromossômico, C-metáfase e perda de cromossomos (Figura 3.8). O atraso cromossômico foi observado para a maioria dos compostos, não sendo encontrado apenas para os triazóis **4a-4c** (Figura 3.8). A C-metáfase foi observada para os compostos triazólicos **4g**, **4i**, **4j** e **4k** (Figura 3.8), que é resultante da inativação do fuso (FERNANDES MAZZEO, MARIN-MORALES, 2009). Uma alteração observada apenas no tratamento do derivado triazólico **4k** foi a perda de cromossomos (Figura 3.8), que ocorre devido ao funcionamento anormal dos microtúbulos, levando ao não alinhamento dos cromossomos durante a divisão mitótica (DOS SANTOS et al., 2019). A Figura 3.9 apresenta alterações cromossômicas observadas nas células meristemáticas de *L. sativa*.



As médias seguidas da letra a foram iguais ao controle negativo água e as seguidas da letra b foram iguais ao controle negativo diclorometano. Já as médias seguidas da letra c foram iguais ao controle positivo picloram (1.000 µg mL⁻¹), segundo o teste de Dunnett (p<0,05).

Figura 3.8 - Frequência de alterações cromossômicas (perda de cromossomos, aderência cromossômica, C-metáfase, ponte cromossômica, atraso cromossômico e quebra cromossômica) observadas em células meristemáticas de *L. sativa* tratadas com os compostos 1,2,3-triazólicos **4a** a **4k**, em cinco concentrações, e com controle positivo (picloram 1.000 µg mL⁻¹) e controles negativos (água e diclorometano) (I).

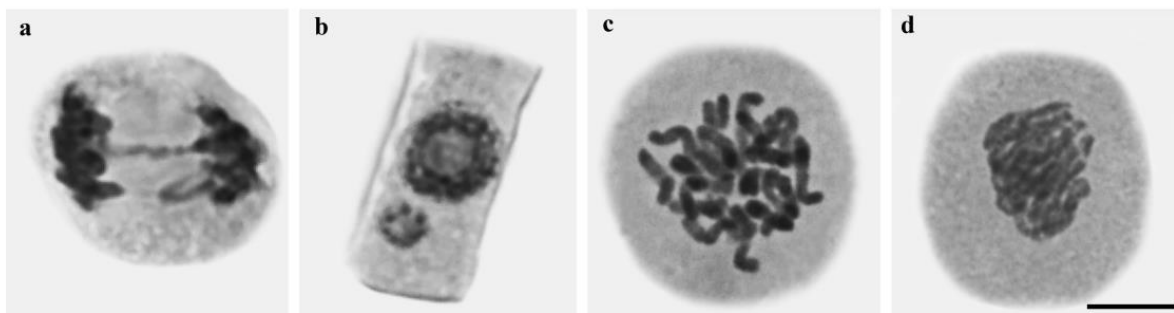


Figura 3.9 - Alterações do ciclo celular observadas em células meristemáticas de *L. sativa* tratadas com os compostos 1,2,3-triazólicos **4a** a **4k**, em cinco concentrações, e controle positivo (picloram 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e controles negativos (água e diclorometano). (a) ponte em anáfase; (b) interfase com micronúcleos; (c) C-metáfase; (d) cromossomos pegajosos. (Barra = 10 μm).

Com base nos resultados discutidos neste capítulo, observou-se que os 11 derivados 1,2,3-triazólicos do glicerol (**4a** a **4k**) apresentaram efeitos sobre os parâmetros fitotóxicos e citogenotóxicos com diferentes graus de eficiência sobre *Lactuca sativa* (alface). Os compostos **4a**, **4b**, **4d**, **4e**, **4i** e **4j** apresentaram comportamento de inibição pré-emergente. Já os compostos **4f**, **4g** e **4h**, em conjunto com os compostos **4a**, **4b**, **4d**, **4e** e **4i**, apresentaram efeito pós-emergente em todas as concentrações testadas, evidenciando a eficiência de baixas concentrações na inibição do crescimento da parte aérea das plantas. Os parâmetros citogenotóxicos corroboraram os dados fitotóxicos, com observação de ações clastogênica, aneugênica e epigenética dos compostos triazólicos nas células meristemáticas das raízes de *L. sativa*.

3.5 REFERÊNCIAS

AGALAVE, S. G.; MAUJAN, S. R.; PORE, V. S. Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 6, n. 10, p. 2696-2718, 2011.

AHER, N.G.; PORE, V.S.; MISHRA, N.N.; KUMAR, A.; SHUKLA, P.K.; SHARMA, A.; BHAT, M.K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 759–763, 2009.

AHMAD, J., MUHAMMAD, K., AHMAD, I., AHMAD, W., SMITH, M. L., SMITH, L. N., JAIN, D. K., WANG, H., MEHMOOD, I. Visual features based boosted classification of weeds for real-time selective herbicide sprayer systems. **Computers in Industry**. v. 98, p. 23-33, 2018.

ALVES, T. A., ROBERTO, C. E. O., PINHEIRO, P. F., ALVES, T. A., HENRIQUE, M. K. C., FERREIRA, A., CLARINDO, W. R., PRAÇA-FONTES, M. M. Searching an

auxinic herbicide to use as positive control in toxicity assays. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 1, e20181262, 2021. DOI 10.1590/0001-3765202120181262.

ALVES, T. A., SPADETO, M. S., VASCONCELOS, L. C., SOUZA, J. R. C. L., MENINI, L., FERREIRA, M. F. S., PRAÇA-FONTES, M. M. Phytotoxicity and cytogenetic action mechanism of leaf extracts of *Psidium cattleianum* Sabine in plant bioassays. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. 1-10, 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.260985>.

ANDRADE-VIEIRA, L. F., CAMPOS, J. M. S., DAVIDE, L. C. Effects of spent pot liner on mitotic activity and nuclear dna content in meristematic cells of *Allium cepa*. **Journal of Environmental Management**. v. 107, p. 140-146, 2012.

ARAGÃO, F. B., QUEIROZ, V. T., FERREIRA, A., COSTA, A. V., PINHEIRO, P. F., CARRIJO, T. T., ANDRADE-VIEIRA, L. F. Phytotoxicity and cytotoxicity of *Lepidaploa rufogrisea* (Asteraceae) extracts in the plant model *Lactuca sativa* (Asteraceae). *Revista de Biologia Tropica*, San José, v. 65, n. 2, p. 435-443, 2017.

AVULA, S. K., KHAN, A., HALIM, S. A., AL-ABRI, Z., ANWAR, M. U., AL-RAWAHI, A., CSUK, R., AL-HARRASI, A. Synthesis of novel (*R*)-4-fluorophenyl-1*H*-1,2,3-triazoles: A new class of α -glucosidase inhibitors, **Bioorganic Chemistry**, v. 91, e103182, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103182>.

BERNARDES, P. M., ANDRADE-VIEIRA, L. F., ARAGÃO, F. B., FERREIRA, A., FERREIRA, M. F. S. Toxicity of difenoconazole and tebuconazole in *Allium cepa*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 7, p. 207-218, 2015.

BORGATI, T. F., ALVES, R. B., TEIXEIRA, R. R., FREITAS, R. P., PERDIGÃO, T. G., SILVA, S. F., SANTOS, A. A., BASTIDAS, A. J. O. Synthesis and phytotoxic activity of 1,2,3-triazole derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 6, p. 953-961, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Informações Técnicas** - registro de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. Acesso em: 10 jan. 2022.

COSTA, A. V., MOREIRA, L. C., PINTO, R. T., ALVES, T. A., SCHWAN, V. V., DE QUEIROZ, V. T., PRAÇA-FONTES, M. M., TEIXEIRA, R. R., MORAIS, P. A. B., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 4, p. 821-832, 2020.

COSTA, A. V., OLIVEIRA, M. V. L., PINTO, R. T., MOREIRA, L. C., GOMES, E. M. C., ALVES, T. A., PINHEIRO, P. F., QUEIROZ, V. T., VIEIRA, L. F. A., TEIXEIRA, R. R., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DHEER, D., SINGH, V., SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments, **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 30-54, 2017.

DOS SANTOS, F. E., CARVALHO, M. S. S., SILVEIRA, G. L., CORREA, F. F., CARDOSO, M. G., ANDRADE-VIEIRA, L. F. VILELA, L. R. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of hydroalcoholic extracts from *Solanum muricatum* Ait. and *Solanum betaceum* Cav. (Solanaceae) in the plant model *Lactuca sativa*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 27, p. 27558-27568, 2019. DOI: 10.1007/s11356-017-1015-x.

FERNANDES, T. C. C., MAZZEO, D. E. C., MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent-Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1680-1686, 2009.

FREITAS, A.S., FONTES CUNHA, I. M., ANDRADE-VIEIRA, L. F., TECHIO, V. H. Effect of SPL (Spent Pot Liner) and its main components on root growth, mitotic activity and phosphorylation of Histone H3 in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 124, p. 426-434, 2016.

FRENZILLI, G., NIGRO, M., LYONS, B. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. **Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 80-92, 2009.

FUJIWARA, T., O'HAGAN, D. Successful fluorine-containing herbicide agrochemicals. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 167, p. 16-29, 2014.

GISZTER, R., FRYDER, M., MARCINKOWSKA, K., SZNAJDROWSKA, A. Synthesis, surface properties and biological activity of long chain ammonium herbicidal ionic liquids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 10, p. 1774-1781, 2016.

GÜELL, I., MICALÓ, L., CANO, L., BADOSA, E., FERRE, R., MONTESINOS, E., BARDAJÍ, E., FELIU, L., PLANAS, M. Peptidotriazoles with antimicrobial activity against bacterial and fungal plant pathogens. **Peptides**, v. 33, n. 1, p. 9-17, 2012.

HAN, C., SHAO, H., ZHOU, S., MEI, Y., CHENG, Z., HUANG, L., LV, G. Chemical composition and phytotoxicity of essential oil from invasive plant, *Ambrosia artemisiifolia* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211: 111879. 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111879

IGANCI, J. R. V., BOBROWSKI, V. L., HEIDEN, G., STEIN, V. C., ROCHA, B. H. G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 79-82, 2006.

JESCHKE, P. The unique role of halogen substituents in the design of modern agrochemicals. **Pest Management Science**, v. 66, p. 10-27, 2010.

KALHOR-MONFARED, S., BEAUVINEAU, C., SCHERMAN, D., GIRARD, C. Synthesis and cytotoxicity evaluation of aryl triazolic derivatives and their hydroxymethine homologues against B16 melanoma cell line. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 122, p. 436-441, 2016.

LAMBERTH, C., DINGES, J. The significance of heterocycles for pharmaceuticals and agrochemicals. In: Ed. LAMBERTH, C.; DINGES, J. (Eds.) **Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Agrochemicals**. Weinheim: Wiley-VCH, 2012. p. 3-20.

LIMA-NETO, R. G., CAVALCANTE, N. N. M., SRIVASTAVA, R. M., MENDONÇA JUNIOR, F. J. B., WANDERLEY, A. G., NEVES, R. P., DOS ANJOS, J. V. Synthesis of 1,2,3-triazole derivatives and *in vitro* antifungal evaluation on *Candida* Strains **Molecules**, v. 17, p. 5882-5892, 2012.

MCHUGH, M. L. Multiple comparison analysis testing in ANOVA. **Biochemia Medica (Zagreb)**, v. 21, n. 3, p. 203-209, 2011. DOI: 10.11613/bm.2011.029.

MELO, J. O. F., DONNICI, C. L., AUGUSTI, R., FERREIRA, V. F., SOUZA, M. C. B. V., FERREIRA, M. L. G., CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 569-579, 2006.

NEJMA, A. B., ZNATI, M., DAICH, A., OTHMAN, M., LAWSON, A. M., JANNET, H. B. Design and semisynthesis of new herbicide as 1,2,3-triazole derivatives of the natural maslinic acid. **Steroids**, v. 138, p. 102-107, 2018.

OGAWA, Y., TOKUNAGA, E., KOBAYASHI, O., HIRAI, K., SHIBATA, N. Current contributions of organofluorine compounds to the agrochemical industry. **iScience**, v. 23, e101467, 2020. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101467.

PINHEIRO, P. F., COSTA, A. V., ALVES, T. A., GALTER, I. N., PINHEIRO, C. A., PEREIRA, A. F., OLIVEIRA, C. M. R., FONTES, M. M. P. Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, carvacrol and thymol in plant bioassays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 41, p. 8981-8990, 2015.

PORTA, E. O. J., JÄGER, S. N., NOCITO, I., LEPESHEVA, G. I., SERRA, E. C., TEKWANI, B. L., LABADIE, G. R. Antitrypanosomal and antileishmanial activity of prenyl-1,2,3-triazoles. **MedChemComm**, v. 8, n. 5, p. 1015-1021, 2017.

QADEER, G., RAMA, N. H., FAN, Z. J., LIU, B., LIU, X. F. Synthesis, herbicidal, fungicidal and insecticidal evaluation of 3-(dichlorophenyl)-isocoumarins and (±)-3-(dichlorophenyl)-3,4-dihydroisocoumarins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 1176-1182, 2007.

SILVEIRA, G. L., LIMA, M. G. F., REIS, G. B. DOS, PALMIERI, M. J., ANDRADE-VIERIA, L. F. Toxic effects of environmental pollutants: comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, n. 178, p. 359-367, 2017.

TOLEDO, R. E. B., MACIEL, C. D. G., CASON, J. B., CORRÊA, M. R., NEGRISOLI, E., VELINI, E. D. Manejo de corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*) no sistema de cana crua com herbicidas Front, Velpar K e associações de Velpar K e outros herbicidas. In: XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIAS DAS PLANTAS DANINHAS, 2010, Ribeirão Preto-SP. **Anais** do XXVII Congresso Brasileiro da Ciências das Plantas Daninhas. Londrina-PR: SBCPD, 2010. p. 2407-2409.

VARGAS, L., ROMAN, E. S. **Manejo e controle de plantas daninhas na cultura de soja**, Passo Fundo: Embrapa trigo, 2006, 23 p. html. Embrapa trigo. Documentos Online, 62). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do62.pdf. Acesso em: 20 jul 2021.

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS NOVOS COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS FLUORADOS DERIVADOS DO GLICEROL

4.1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional contínuo resultou em vários desafios a serem enfrentados pelo ser humano, como o aumento da demanda por alimentos, tanto em quantidade, quanto em qualidade (FAO, 2020). Ao longo dos anos, grandes avanços na agricultura aumentaram a qualidade e a produtividade das culturas (REDDY, 2013; TZOUNIS et al., 2017). Nesse contexto, os pesticidas têm desempenhado um papel importante no manejo de inúmeras pragas (WARE, WHITACRE, 2004; TUNER, 2018), as quais diminuem significativamente a produtividade das culturas, bem como a qualidade dos alimentos (STETTER, LIEB, 2000; JINDAL, DHALIWAL, 2013; NISHIMOTO, 2019).

Dentre as principais pragas agrícolas, os fungos representam um importante problema na agricultura. Eles são difundidos na natureza e são vitais para a reciclagem de nutrientes presentes na matéria orgânica. No entanto, entre as 120.000 espécies de fungos descritas, cerca de 20.000 causam uma ou mais patogêneses às culturas, levando a perdas em todo o mundo (SAVARY et al., 2012; JAMPILEK, 2016).

O método mais comum utilizado para o controle de espécies fúngicas é o emprego de fungicidas (WARE, WHITACRE, 2004; TUNER, 2018). Embora, atualmente, existam diversos fungicidas disponíveis para o controle de um amplo espectro de doenças infecciosas de plantas (FRAC, 2021), as preocupações ambientais e com a saúde humana, associadas ao aumento da resistência das espécies fúngicas aos fungicidas existentes (HOLLOMON, 2015), têm pressionado pesquisadores a encontrar novos ingredientes ativos para o controle de fungos, que apresentem baixa toxicidade para organismos não-alvos, tenham segurança ambiental e possam ser aplicados em concentrações muito baixas. Deste modo, o desenvolvimento de novos fungicidas é uma demanda constante e um desafio (BATISTA et al., 2006; MONK et al., 2020).

4.2 REVISÃO DE LITERATURA

Os fungos são organismos pertencentes ao reino *Fungi*, constituídos por células eucarióticas, sendo heterotróficos (não realizam a fotossíntese), e têm importante papel na manutenção da vida do planeta, pois são os principais decompositores da natureza, sendo capazes de metabolizar e reciclar a matéria orgânica (FISHER et al., 2012; SHARMA et al., 2019; ZHENG e WANG, 2019). Apesar deste importante papel, inúmeras espécies de fungos causam grandes prejuízos na agricultura, prejudicando o rendimento de importantes culturas e a qualidade dos produtos agrícolas (PARKER et al., 2014). Estima-se que os fungos sejam responsáveis por, aproximadamente, 65% de todas as doenças infecciosas em plantas (FISHER et al., 2012; ALMEIDA, RODRIGUES, COELHO, 2019).

Os fungos que acometem plantações são chamados de fungos fitopatogênicos, ou, de maneira geral, fitopatógenos, sendo responsáveis por uma série de doenças que impactam o setor agrícola (PARKER et al., 2014).

4.2.1 Fungos Fitopatogênicos - *Colletotrichum Gloeosporioides*

Os fungos patogênicos de plantas, ou fungos fitopatogênicos, podem ter efeito devastador em uma ampla gama de culturas. São responsáveis por uma série de doenças, incluindo a antracnose, a mancha foliar, o míldio e a ferrugem, que podem causar grandes perdas na produtividade das culturas e, por sua vez, resultar em severos prejuízos na economia agrícola (PARKER et al., 2014; PRICE et al., 2015). Além disto, alguns fungos, como os da espécie *Fusarium*, são capazes de sintetizar micotoxinas, compostos tóxicos que, se ingeridos, podem ter efeito maléfico na saúde. Portanto, o controle desses fitopatógenos é fundamental para garantir a produtividade de culturas, a diminuição de perdas econômicas e para a segurança alimentar (PRICE et al., 2012; SPOLTI et al., 2014).

Dentre os fungos fitopatogênicos, um dos importantes gêneros é o *Colletotrichum spp.* (família *Glomerellaceae*; divisão *Ascomycota*), causador da antracnose (pontos mortos afundados) dos tecidos aéreos. Quase todas as culturas, em todo o mundo, são suscetíveis a uma ou mais espécies de *Colletotrichum spp.* (BODDY, 2016). Este tipo de fungo também pode estar presente de forma latente, infectando tecidos pré-colheita e causando podridões pós-colheita (MORAES, TANAKA, MASSOLA JÚNIOR, 2013; FISCHER et al., 2017).

As inúmeras espécies de *Colletotrichum* apresentam características morfológicas variadas, destacando-se a espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, cuja primeira identificação ocorreu em 1984. Atualmente são conhecidas em torno de 22 espécies pertencentes ao complexo *C. gloeosporioides*, sendo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc a espécie patogênica predominante da antracnose (WEIR, JHONSTON, DAMM, 2012). Esta espécie pode contaminar frutos ainda bastante imaturos e permanecer no estado adormecido até o fruto atingir a fase pós-colheita, podendo ocorrer uma podridão mole, prejudicando a comercialização dos frutos e, deste modo, levar a grandes perdas econômicas em culturas de importância comercial, como a banana e o mamão (DIAS, PINHEIRO, CAFÉ-FILHO, 2016; MENDES et al., 2020).

4.2.2 Característica da Membrana Celular dos Fungos - Ergosterol

Os fungos são organismos eucariontes e as suas células são formadas pelos mesmos tipos de organelas que outros eucariotos, possuindo núcleo, citoplasma, membrana plasmática, sistema endomembranoso e parede celular, além de algumas organelas que não são encontradas em outros reinos (MONEY, 2016). A membrana plasmática cumpre sua função principal, de manter a integridade da célula, e outras importantes funções biológicas, como a captação seletiva de substâncias, a transdução de sinal e a modulação da polaridade. Ela é constituída por uma estrutura de proteínas em uma camada dupla de fosfolipídeos, além de carboidratos e proteínas de superfície, que se ligam fracamente à membrana (MONEY, 2016).

Um dos principais componentes da membrana fúngica é o lipídeo ergosterol (Figura 4.1), um esterol responsável pela permeabilidade e fluidez da estrutura. Duas atividades fundamentais da membrana, a difusão e o transporte intermembrana, são diretamente dependentes da porção lipoproteica, da qual o ergosterol faz parte (LOGUERCIO-LEITE et al., 2006; MONEY, 2016).

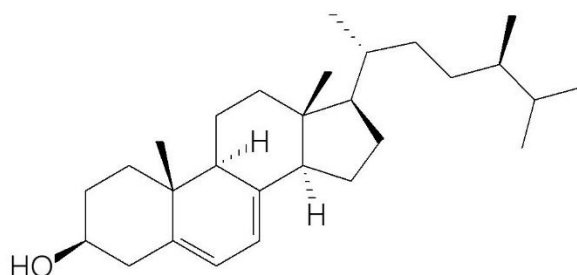


Figura 4.1 - Estrutura do ergosterol, principal esterol fúngico, um dos componentes da membrana plasmática de fungos.

A biossíntese do ergosterol (Figura 4.2) na membrana fúngica é realizada por um complexo de enzimas que inclui a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51) (Figura 4.3), enzima que faz parte do citocromo P450, uma superfamília de hemoproteínas, cuja função é a de realizar processos de transferência de elétrons. A CYP51 está localizada na membrana externa do retículo endoplasmático e catalisa a retirada do grupo metil (desmetilação) no carbono 14 da molécula do lanosterol, gerando a formação de uma ligação dupla nesta posição (Figura 4.4), uma das etapas para a formação do ergosterol (FRANÇA et al., 2014; SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

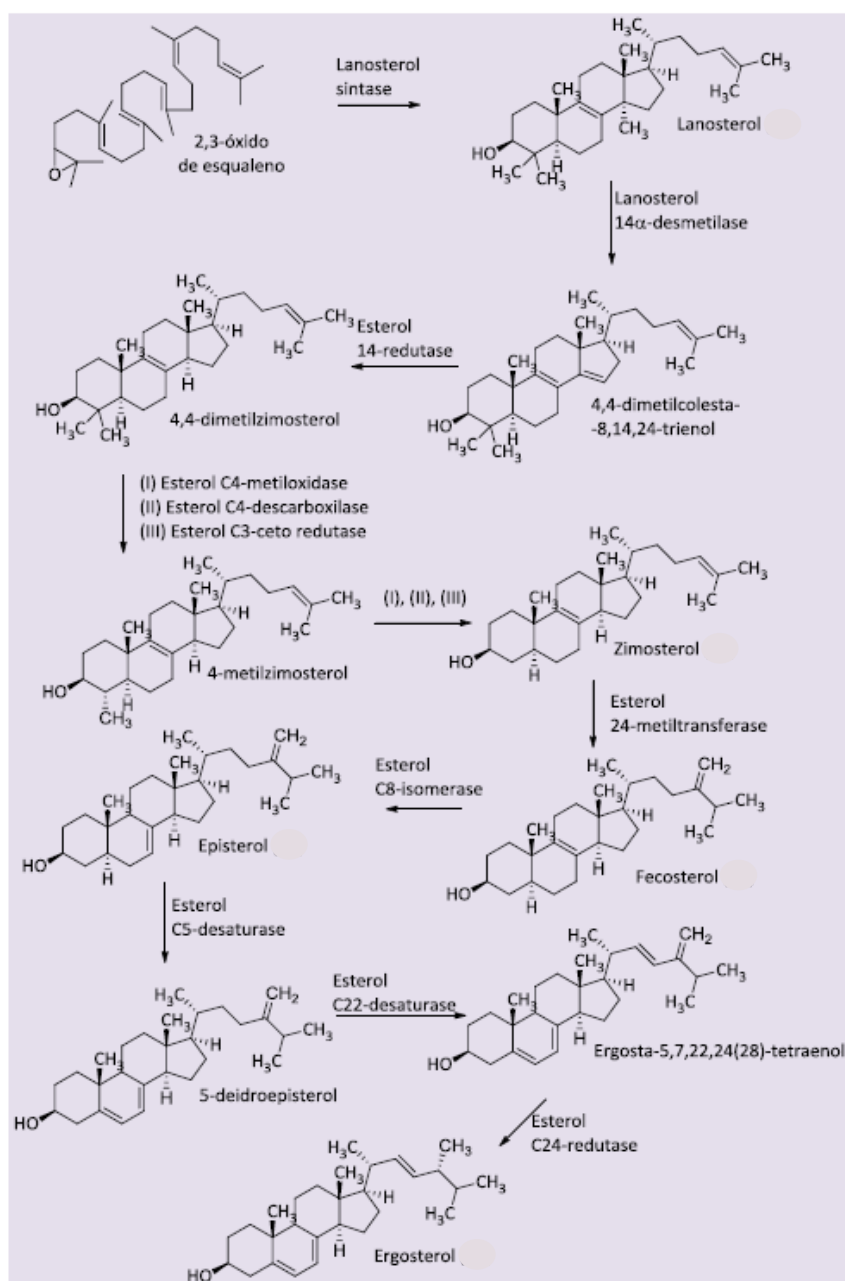


Figura 4.2 - Biossíntese do ergosterol a partir do 2,3-óxido de esqualeno, passando pelo lanosterol, mostrando o sistema de enzimas utilizado no processo. (Fonte: SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

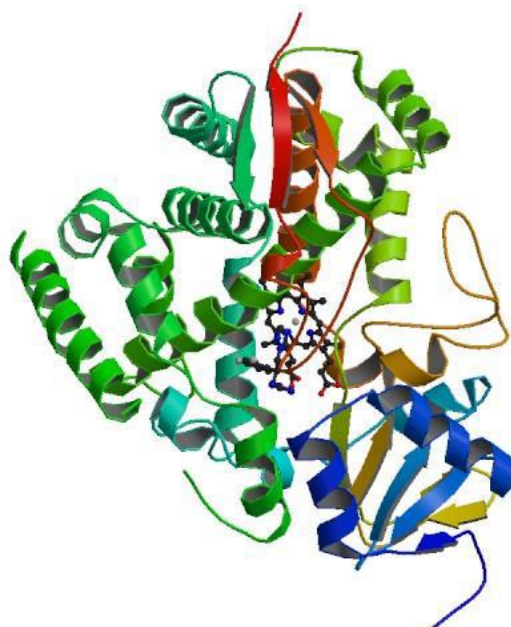


Figura 4.3 - Enzima estero 14 α -desmetilase (CYP51) (Código PDB: 3K1O). Ao centro, é representado o grupamento heme.
(FONTE: FRANÇA et al., 2014).

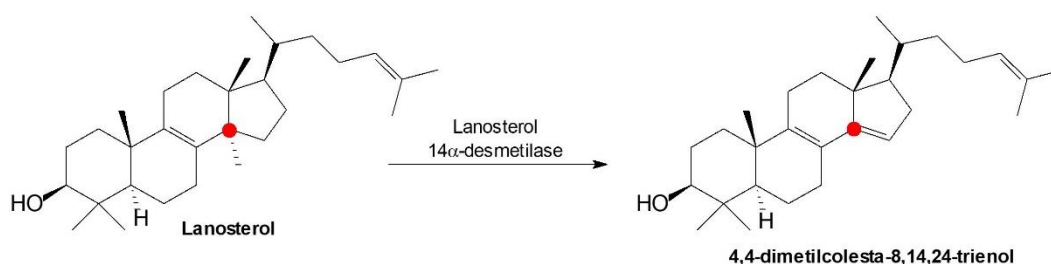


Figura 4.4 - Etapa da desmetilação do lanosterol pela ação da enzima estero 14 α -desmetilase (CYP51). Em destaque, em vermelho, o carbono 14 no qual ocorre a reação de desmetilação.

O mecanismo da desmetilação do lanosterol, que ocorre no carbono 14, começa com a monooxigenação régio e estereosseletiva do grupo metila, seguida da oxidação da hidroxila alcóolica a um grupo aldeídico (Figura 4.5). Devido ao mecanismo radicalar envolvido no processo, não ocorre a formação de um intermediário ácido carboxílico para a conversão do intermediário carbonilado ao produto insaturado. E o ferro, do grupo heme porfirínico, é o responsável por promover uma série de oxidações radicalares, que levam à saída de ácido fórmico e a consequente formação da ligação dupla no carbono 14 (SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

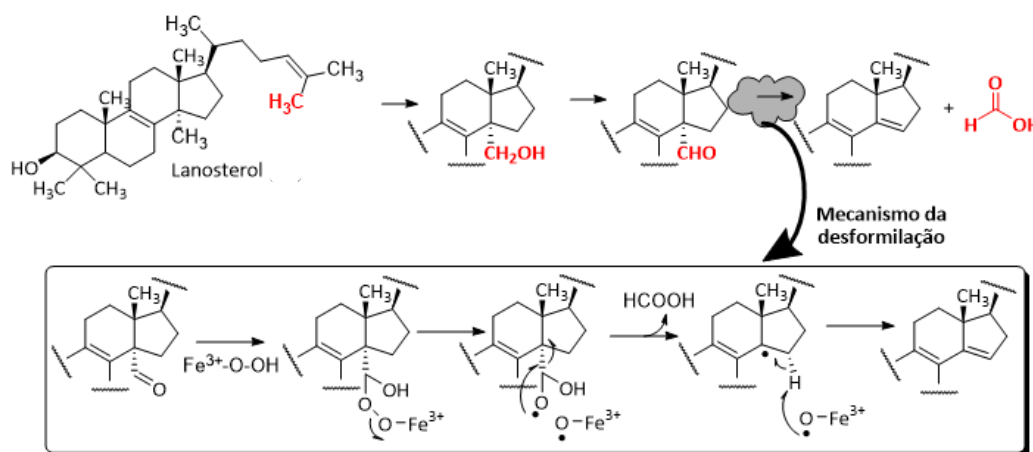


Figura 4.5 - Sequência de reações oxidativas catalisadas pela CYP51 e proposta de mecanismo para a conversão do aldeído β,γ-insaturado no dieno correspondente. (Fonte: SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

Embora existam várias classes de compostos com atividade fungicida para a busca do controle da disseminação dos fungos fitopatogênicos, como os benzimidazóis, as fenilamidas, as dicarboximidas, as anilino pirimidinas, os inibidores de quinona externa (QoIs) e as amidas ácidas (CAAs)), são os antifúngicos azólicos preferencialmente utilizados, devido ao menor custo e à eficácia contra uma ampla gama de fungos (PRICE et al., 2012).

4.2.3 Compostos Antifúngicos - Triazóis

Do ponto de vista histórico, até 1940, os fungicidas utilizados na agricultura eram de natureza inorgânica, como o arsênico, o sulfato de cobre, o pó de enxofre, a cal sulfurosa e a calda bordalesa, entre outros. De maneira geral, esses primeiros fungicidas apresentavam baixa seletividade e alta toxicidade, sendo utilizados, principalmente, no controle de fungos na cultura de frutas e hortaliças (MORTON, STAUB, 2008). Nesta época, não havia maiores preocupações sobre o impacto desses compostos no meio ambiente, bem como na saúde humana.

De 1940 a 1970, com o avanço das pesquisas e um melhor conhecimento do mecanismo de ação dos fungos, surgiram os fungicidas orgânicos, sendo desenvolvidas várias classes de compostos, dentre as quais destacaram-se os ditiocarbamatos e as ftalimidas. Esses novos fungicidas representaram um grande avanço em relação aos fungicidas inorgânicos, pois eram mais ativos e fáceis de manusear pelos agricultores (MORTON, STAUB, 2008). Nas décadas seguintes este desenvolvimento de novas classes de fungicidas acelerou e outras classes de fungicidas se destacaram, como os benzimidazóis, as morfolinás, as piperazinas, os

imidazóis, as pirimidinas, os triazóis e as anilidas (KNIGHT et al., 1997; RUSSELL, 2005). Neste contexto de desenvolvimento de novos compostos com atividade fungicida, a natureza e suas moléculas têm sido utilizadas como fonte de inspiração, com destaque para a descoberta das estrobirulinas (SAUTER, STEGLICH, ANKE, 1999; RUSSELL, 2005).

Os compostos azólicos, ou azóis, foram introduzidos primeiramente na área clínica, em 1958, com o uso do clormidazol, como agente tópico (Figura 4.6). Somente na década de 1970 que os fungicidas azólicos foram usados pela primeira vez na agricultura, com o introdução dos compostos imazalil e triadimefon (este foi o primeiro triazol utilizado, contendo um núcleo 1,2,4-triazólico) (Figura 4.6) (PRICE et al., 2012).

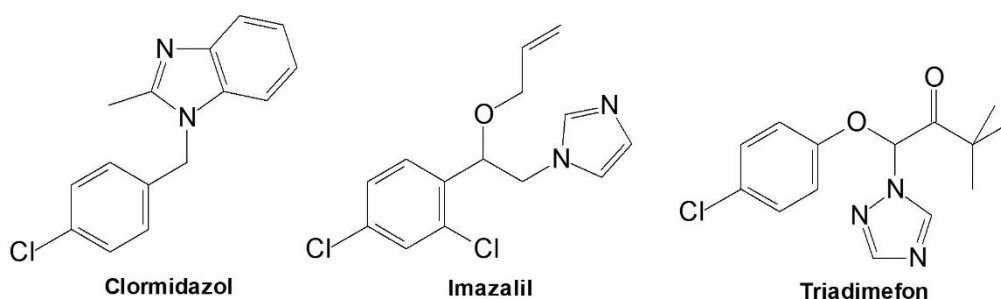


Figura 4.6 - Estruturas dos primeiros azóis utilizados: clormidazol, na área clínica, e imazalil e triadimefon, na agricultura.

A evolução das pesquisas dos compostos azólicos levou ao desenvolvimento dos compostos triazólicos, atualmente a classe de fungicidas mais comercializada no mundo, pois são altamente eficazes no controle de fungos (HIROOKA, ISHII, 2013). Dentre os fungicidas sistêmicos, os triazóis respondem por 20% da participação no mercado (PRICE et al., 2012). Estes compostos atuam inibindo uma enzima essencial na rota de biossíntese do ergosterol, a lanosterol 14 α -desmetilase.

4.2.4 Mecanismo de Ação dos Triazóis

A classe dos triazóis (compostos contendo os núcleos 1,2,3- ou 1,2,4-triazólicos) é empregada no controle de uma ampla variedade de fungos patogênicos, com bons efeitos e relativamente baixa toxicidade (CAMPOY, ADRIIO, 2017). Para exercer sua ação antifúngica, os azóis inibem a enzima lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51). A CYP51 contém uma unidade de protoporfirina férrica em seu sítio ativo e a principal interação relatada na literatura é uma ligação coordenada direta entre os

nitrogênios (que não possuem substituintes) presente no anel triazólico e o átomo de ferro da porfirina. O nitrogênio atua como uma base de Lewis e doa seu par de elétrons ao ferro, que atua como um ácido de Lewis, recebendo o par de elétrons, formando, deste modo, uma ligação covalente coordenada (Figura 4.7). Consequentemente, o triazol inibe a CYP51, impedindo a biossíntese do ergosterol, principal componente da membrana celular fúngica, levando o fungo à morte (FRANÇA et al., 2014). Com base neste mecanismo de ação, os triazóis pertencem à classe dos fungicidas “inibidores da biossíntese do ergosterol”. Os compostos 1,2,3 e 1,2,4-triazólicos têm representado uma das classes mais estudadas e mais promissoras para o desenvolvimento de novos agroquímicos antifúngicos (LEADBEATER, 2015; CAMPOY, ADRIO, 2017).

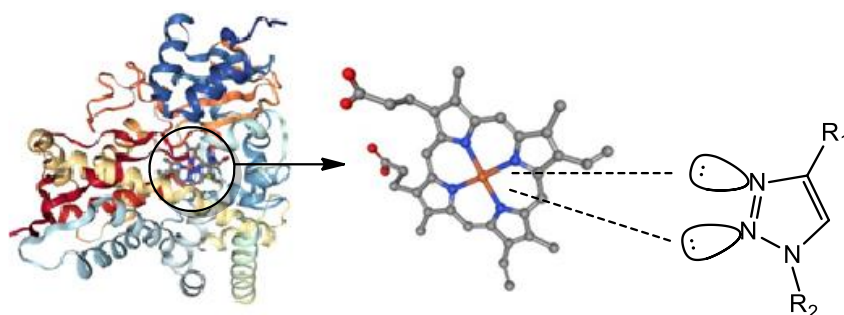


Figura 4.7 - Estrutura cristalográfica da enzima lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), depositado no Protein Data Bank (PDB) sob o código 2WX2. Ao lado, é representado o grupamento heme.
(FONTE: FRANÇA et al., 2014).

Na busca de controlar as pragas agrícolas, dentre as quais, destacadamente, a antracnose ocasionada pelo *Colletotrichum spp.*, diversos produtos fungicidas como o tebuconazol e o difenoconazol (Figura 4.8), têm sido aplicados de forma consistente (LEADBEATER, 2015). Entretanto, o uso irrestrito de agroquímicos, muitas vezes em altas dosagens, tem levado ao desenvolvimento de resistência dos fungos aos fungicidas, além de gerar problemas de resíduos e poluição do solo (XIE et al., 2017). Este aparecimento da resistência dos fungos aos triazóis já existentes torna urgente o desenvolvimento de novos antifúngicos, visando a maior eficácia, menor toxicidade e maior espectro (PARKER et al., 2014). Spolti e colaboradores (2014) observaram que cepas de *Fusarium graminearum*, isoladas de uma amostragem representativa da população contemporânea infectando espigas de trigo em Nova York são sensíveis aos triazóis testados, mas documentaram a presença de um isolado que foi significativamente menos sensível ao tebuconazol,

que deveria ser altamente eficiente, demonstrando o surgimento de resistência deste isolado. Em face a estes fatos, há a necessidade de se desenvolver novas moléculas com potencial atividade antifúngica e propriedades ecologicamente corretas (OGAWA et al., 2020; MARZI et al., 2022).

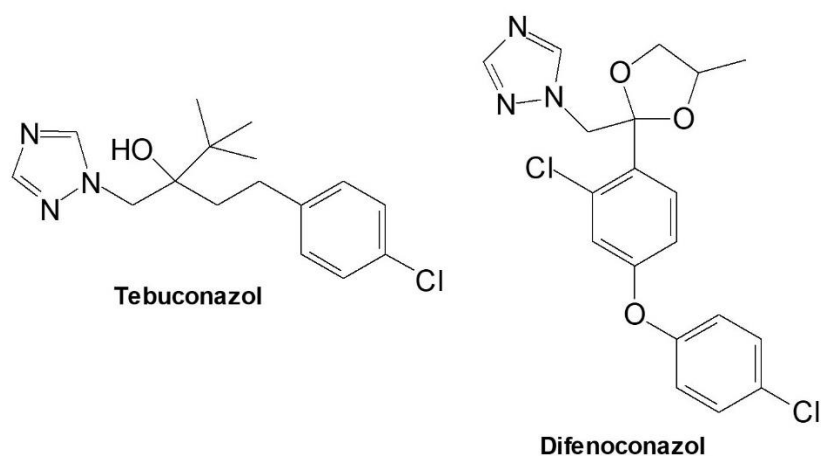


Figura 4.8 - Estruturas de dois importantes fungicidas triazólicos, tebuconazol e difenoconazol, ambos contendo núcleo 1,2,4-triazólico.

4.2.5 Trabalhos Envolvendo Atividade Antifúngica de Compostos 1,2,3-Triazólicos

Na busca de novos agroquímicos com potencial atividade fungicida, trabalhos envolvendo compostos contendo núcleo 1,2,3-triazólicos têm se destacado, com este núcleo heterocíclico se mostrando parte essencial do grupo responsável pela atividade biológica. Güell e colaboradores (2012) prepararam 15 peptidotriazóis a partir do peptídeo antimicrobiano BP100, pela adição de um anel 1,2,3-triazólico, e testaram a atividade antifúngica frente aos fungos *Penicillium expansum* e *Fusarium oxysporum* nas concentrações de 6,2, 12,5, 25 e 50 μM . Os peptidotriazóis sintetizados foram pouco ativos contra *P. expansum*. Apenas oito sequências incorporando um resíduo de lisina (Lys) modificado com um triazol mostrou MIC's variando de 25 a 50 μM . Já observando o fungo *F. oxysporum*, este foi particularmente sensível aos peptidotriazóis. Sete sequências exibiram MIC's menor que 6,2 μM e seis exibiram atividade antifúngica dentro de 6,2 e 12,5 μM . Os melhores peptídeos também foram do conjunto contendo um triazol em uma cadeia lateral de Lys e exibindo atividade semelhante ao referencial BP100.

Su e colaboradores (2012) substituíram o anel aromático da mandipropamida por um anel 1,2,3-triazólico, sintetizando quatro novos derivados (**38** a **41**), todos contendo um grupo trifluorometil (CF_3) ligado a um dos nitrogênios do anel triazólico (Figura 4.9), e testaram a atividade fungicida *in vitro* dos compostos

frente aos fungos *Alternaria solani*, *Gibberella zea*, *Botryosphaeria berengeriana*, *Botrytis cinerea*, *Cercospora arachidicola*, *Phytophthora capsici* Leonian e *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Os resultados dos bioensaios mostraram baixa atividade inibitória dos triazóis contra os fungos testados. A exceção foi o composto **40**, que apresentou atividade moderada (38,5%) contra *B. berengeriana* a $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ (SU et al., 2012).

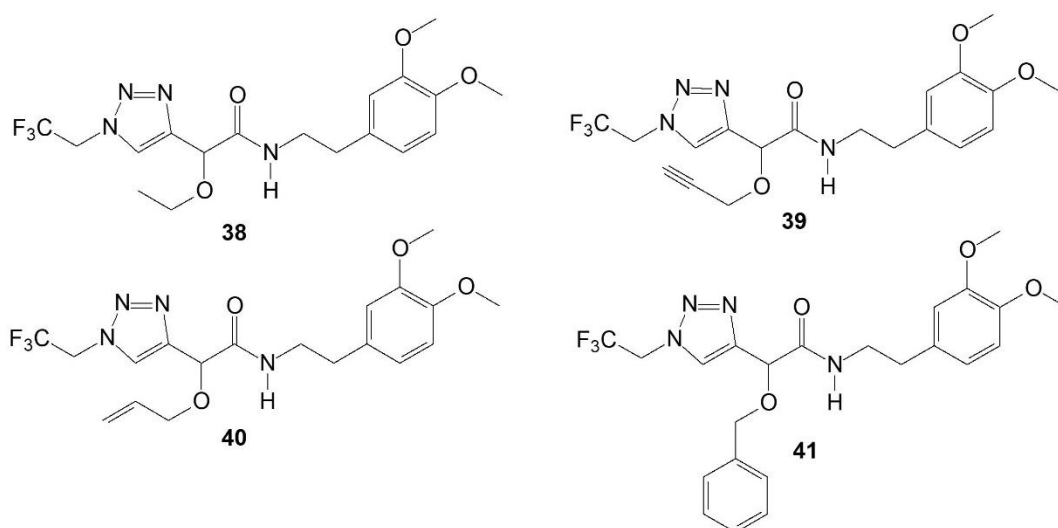


Figura 4.9 - Estrutura dos quatro novo compostos 1,2,3-triazólicos contendo o grupo trifluorometil (CF_3) derivados da mandipropamida (**38** a **41**) sintetizados por Su e colaboradores.

(Fonte: SU et al., 2012)

Li e colaboradores (2016) sintetizaram três derivados 1,2,3-triazólicos da quitosana, sendo dois halogenados, e avaliaram a atividade contra três fungos fitopatogênicos (*F. oxysporum* f.sp.*niveum*, *C. lagenarium* e *F. oxysporum* f. sp. *cucumebrium* Owen). Os compostos sintetizados apresentaram inibição do crescimento dos fungos maior que a da quitosana e sugeriram um efeito sinérgico dos halogênios com o anel triazólico nesta atividade antifúngica. Além disto, os triazóis apresentaram boa solubilidade em água, fato que pode contribuir nesta atividade observada.

Tendo em vista a atividade antifúngica dos triazóis e sua aplicabilidade em compostos biologicamente ativos, Costa et al. (2017), utilizando a rota apresentada na Figura 4.10, sintetizaram novos derivados 1,2,3-triazólicos (**14** a **21**, cap. 3 - p. 65) a partir do glicerol via reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por Cu (I).

Os compostos sintetizados foram avaliados na esporulação e crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Os triazóis **4g** e **4h** foram os mais eficientes, quando

comparado ao fungicida comercial tebuconazol, na inibição da esporulação de *C. gloeosporioides*, com valores de ED₅₀ de 0,44 e 0,83 µg mL⁻¹, respectivamente. Em contraste, os triazóis **4a** e **4b** foram os menos eficientes, com valores de ED₅₀ de 21,48 e 14,45 µg mL⁻¹, respectivamente. Esses resultados indicam que a presença de grupamentos volumosos, ligado na posição 4 do anel triazólico, resultaram em maior inibição da CYP51. Os triazóis **4a-4h** apresentaram maior efeito sobre a esporulação, com valores de ED₅₀ e ED₁₀₀ menores, em comparação com o crescimento micelial. Esse resultado é atraente no que tange ao fato dos compostos sintetizados serem mais eficientes nas estruturas reprodutivas (esporos), pois afeta a propagação do fungo e seus mecanismos de resistência (COSTA et al., 2017).

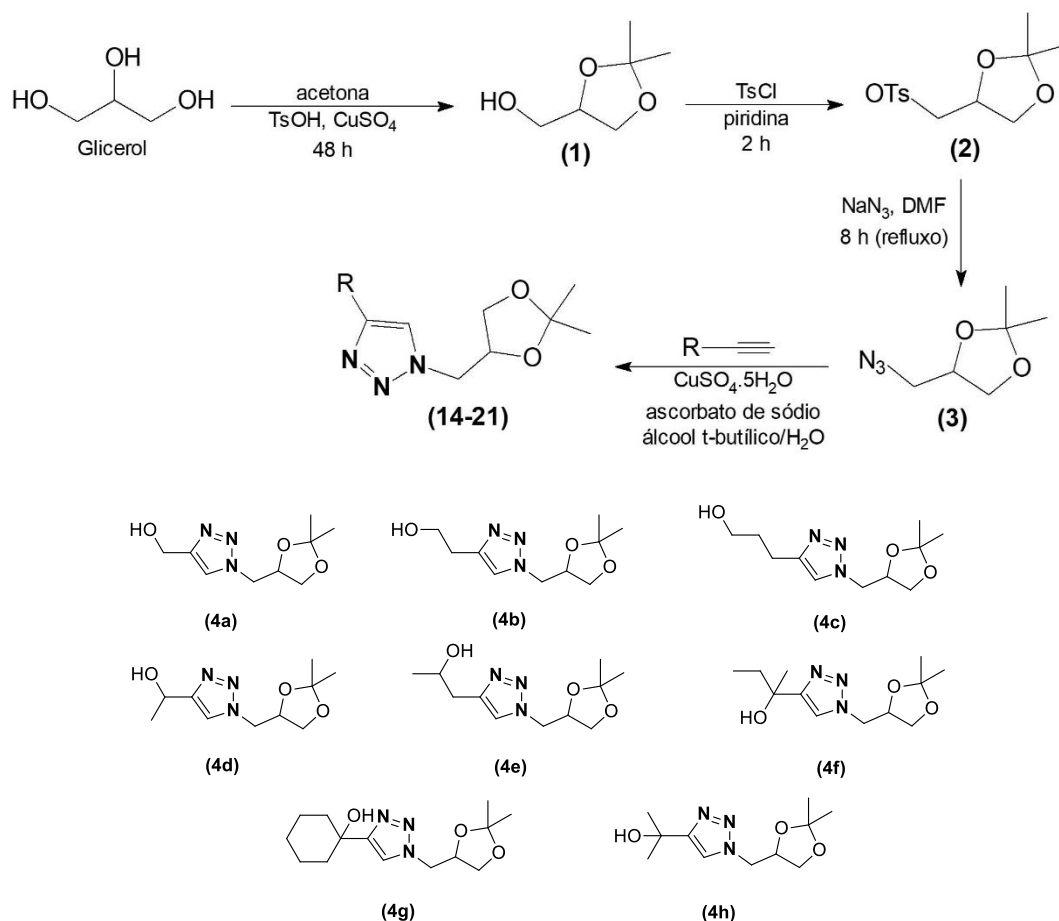


Figura 4.10 - Rota sintética a partir do glicerol para obtenção dos derivados 1,2,3-triazólicos e estrutura dos compostos obtidos (**14 a 21**). (COSTA et al., 2017)

Huo e colaboradores (2018) sintetizaram 17 compostos 1,2,3-triazólicos derivados aromáticos da carbolina, sendo oito fluorados (Figura 4.11), e avaliaram a taxa de inibição do crescimento micelial frente a quatro fungos fitopatogênicos (*F. oxysporum*, *Botrytis cinerea* Pers., *Sclerotinia sunflower rot* e *Sclerotinia rape rot*).

Os resultados mostraram que os triazóis **5a**, **5b**, **5c** e **9b** mostraram boa atividade antifúngica contra a *S. sunflower rot*. Especificamente, o composto **9b** também exibiu atividade fungicida contra todos os fungos testados com taxas de inibição de 58,3%, 18,5%, 63,0%, 84,5% e 81,2%. No entanto, para *F. oxysporum*, nenhum dos derivados apresentou atividade antifúngica, com taxas de inibição inferior a 20%. Segundo os autores, esses resultados são encorajadores, pois podem levar ao desenvolvimento de novos potentes agentes antifúngicos (HUO et al., 2018).

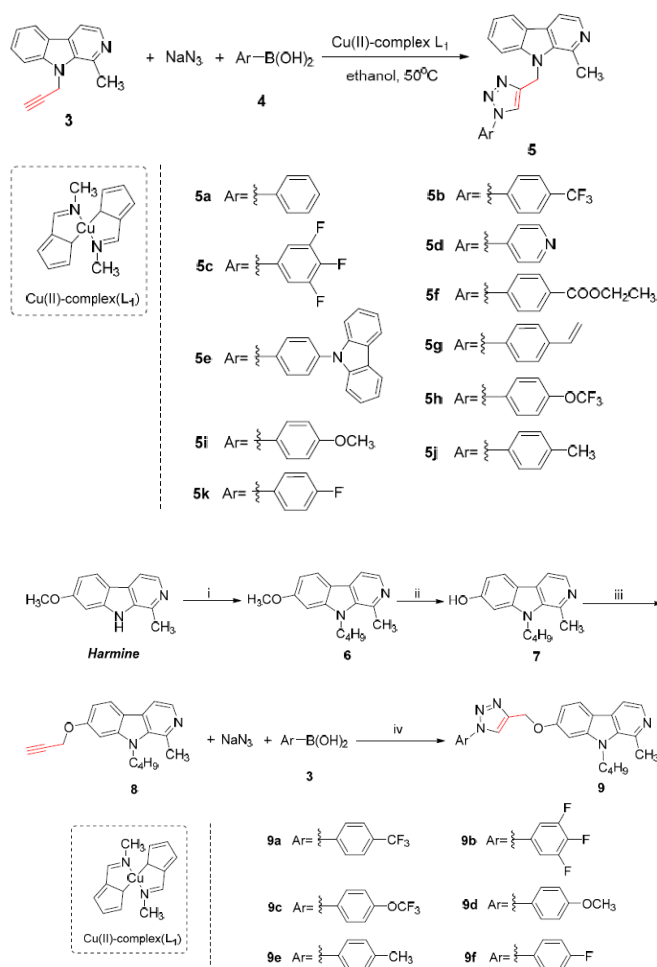


Figura 4.11 - Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos da carbolina **5a** a **5k** e **9a** a **9f**.

Tendo em vista os bons resultados encontrados anteriormente, Costa e colaboradores (2020) deram continuidade à pesquisa, sintetizando novos derivados triazólicos (**4i-4q**) a partir do glicerol (Figura 4.12), utilizando a rota descrita na Figura 4.9 (p. 104).

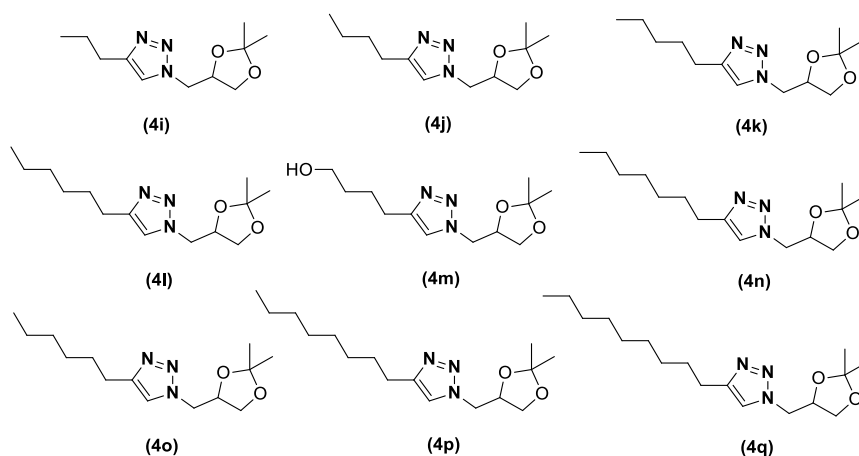


Figura 4.12 - Estruturas dos derivados triazólicos (**4i-4q**) derivados do glicerol. (COSTA et al., 2020)

Todos os compostos sintetizados foram eficientes em inibir a esporulação de *C. gloeosporioides*, com valores de ED_{50} inferiores a $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Em destaque, o composto **4m** foi o mais ativo, com valor de ED_{50} $0,00002 \mu\text{g mL}^{-1}$. A substituição com cadeias lineares, na posição 4 do anel triazólico, demonstrou alta afinidade entre os compostos com o sítio ativo da enzima, sendo o **4m** o único que apresenta uma hidroxila em sua estrutura. Com isso, acredita-se que devido à capacidade de fazer fortes interações moleculares, como ligação de hidrogênio e dipolo-dipolo, a presença da hidroxila contribuiu com a eficiência do composto **4m** (COSTA et al., 2020).

Utilizando os valores de ED_{50} , realizou-se uma classificação dos compostos. A eficiência (E) está relacionada a ação fungicida dos tratamentos. Já a sensibilidade (S) define sobre a resistência patogênica de *C. gloeosporioides* ao estresse causado pelos fungicidas. Os compostos **4i-4q** apresentaram nenhuma ou baixa sensibilidade e efetividade no crescimento micelial. Em contrapartida, todos os compostos obtiveram alta eficiência (AE) e alta sensibilidade (AS) na esporulação (COSTA et al., 2020). Os resultados mostraram que os compostos-alvo exibiram atividade antifúngica significativa. Os autores indicam que os derivados 1,2,3-triazólicos do glicerol podem representar um novo precursor a ser explorado, visando o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos contra *C. gloeosporioides*.

Vale destacar que a maioria dos trabalhos analisados têm em comum a síntese de compostos halogenados. A justificativa para a preparação destes derivados, principalmente, os fluorados, reside na importância dos halogênios na busca e desenvolvimento de novos agroquímicos (JESCHKE, 2010). Ao longo dos anos, o uso de halogênios no projeto de novos agroquímicos aumentou substancialmente, bem como presença desses átomos nos ingredientes ativos de

novos produtos comerciais. Jeschke (2010) afirmou que “a introdução de halogênios em ingredientes ativos tornou-se um conceito importante na busca por um agroquímico moderno com ótima eficácia, segurança ambiental, facilidade de uso e viabilidade econômica”. Levando em consideração o flúor, seu raio de van der Waals é semelhante ao do hidrogênio. Deste modo, pode mimetizar átomos de hidrogênio ou grupos hidroxila em compostos bioativos. Tais modificações (substituição de um H ou OH por um flúor) podem resultar, por exemplo, em seletividade melhorada. Além disso, devido à alta eletronegatividade associada ao flúor, a introdução desse átomo em uma molécula cria um alto momento dipolo, podendo alterar a acidez de grupos funcionais. A lipofilicidade dos compostos é outra propriedade que pode ser alterada pela introdução de átomos de flúor. Essas características, entre outras (JESCHKE, 2004), relacionadas à introdução de átomos de flúor em compostos bioativos, podem resultar em alterações nas propriedades físico-químicas das moléculas que, por sua vez, podem resultar em melhores respostas biológicas.

4.2.6 Cálculos Computacionais - Estudo de Parâmetros Eletrônicos e Físico-Químicos

Os métodos computacionais, ou cálculos computacionais, são importantes ferramentas que podem ser usados para o planejamento racional de compostos bioativos. Este termo é utilizado porque o planejamento é orientado por uma hipótese racional sobre as moléculas, que têm sua atividade associada a algum tipo de interação com uma biomacromolécula cujo modelo é conhecido (SANT'ANNA, 2009). Para lançar mão desta teoria, utilizam-se conceitos dos orbitais moleculares HOMO (orbital molecular mais alto ocupado - do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (orbital molecular mais baixo desocupado - do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) (BATISTA, GRANATO, ANGELOTTI, 2016).

O orbital molecular é um conceito importante em Química e a teoria dos orbitais moleculares é amplamente empregada para descrever o comportamento químico de substâncias (ZHANG, MUSGRAVE, 2007). A teoria do orbital molecular deixou de ser “apenas” teoria e se transformou em um conjunto de ferramentas utilizado para buscar explicar o comportamento químico dos compostos, como reatividade e cinética, além de fornecer uma construção conceitual para a descrição de outros fenômenos que envolvam estrutura eletrônica molecular, incluindo processos de transferência de carga, fotoexcitação, magnetismo e densidade eletrônica (SANTOS et al., 2014).

É possível buscar a previsão de tendências de comportamento molecular com base em simples propriedades dos orbitais moleculares. Por exemplo, moléculas com grandes diferenças ("gap") nas energias dos orbitais HOMO-LUMO, são geralmente mais estáveis e menos reativas; enquanto aquelas com pequenos *gaps* geralmente são mais reativas (ZHANG, MUSGRAVE, 2007).

Além do uso da teoria das energias dos orbitais moleculares, um modelo alternativo, ou complementar, é o modelo do funcional de densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*). Neste modelo, considera-se que a energia de um conjunto de elétrons sob influência de um campo externo é um funcional único da densidade eletrônica. Esta dependência aparece em dois termos da energia eletrônica, chamados funcional de troca e funcional de correlação (SANT'ANNA, 2009). Estes funcionais DFT são comumente usados para calcular, mais rapidamente, a estrutura eletrônica das moléculas, mas não é capaz de prever com precisão as energias dos orbitais moleculares (ZHANG, MUSGRAVE, 2007).

Em estudos de modelagem molecular, duas aproximações matemáticas têm sido usadas predominantemente: a aproximação clássica, que inclui os métodos da mecânica molecular e da dinâmica molecular, e a aproximação quântica, que inclui os métodos *ab initio* e semiempíricos. De modo geral, a escolha entre estas aproximações depende das propriedades que se deseja avaliar, da precisão desejada e da capacidade computacional disponível para a realização dos cálculos (SANT'ANNA, 2009).

A grande aplicação dos métodos teóricos e computacionais envolve a descoberta de novos fármacos e agroquímicos. Antes de serem colocados no mercado, novos medicamentos e agroquímicos devem ser exaustivamente testados, o que demanda tempo e custo. Uma possibilidade de diminuir o tempo e reduzir o custo é fazer uso de estudos computacionais na tentativa de prever propriedades físico-químicas que desvendem os possíveis mecanismos de uma reação, a potencial atividade biológica e outras interações moleculares (BATISTA, GRANATO, ANGELOTTI, 2016).

Com base no exposto, buscou-se, neste capítulo, explorar os derivados híbridos resultantes da combinação das funcionalidades glicerol e 1,2,3-triazol. Considerando as premissas, objetivou-se encontrar novos agentes para o controle dos fungos fitopatogênicos (COSTA et al., 2017, 2020) na presente investigação. Desta forma, avaliou-se a atividade antifúngica de onze derivados 1,2,3-triazólicos do glicerol, sendo dez destes contendo grupos aromáticos fluorados, frente ao fungo da

antracnose do mamão, *Colletotrichum gloeosporioides*. Além da avaliação desta atividade, foram feitos cálculos teóricos para obtenção dos parâmetros eletrônicos e físico-químicos, objetivando análise e discussão da estabilidade estrutural e reatividade dos compostos sintetizados.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Replicação do fungo

Para a realização do ensaio foram isoladas cepas do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, obtidas a partir do fruto de mamão *papaya* com sintomas típicos de antracnose. Este isolado foi cultivado em meio batata-dextrose-ágar (BDA), por sete dias, a 25 °C, e com fotoperíodo de 12 horas.

4.3.2 Ensaio de Avaliação da Atividade Fungicida

O experimento *in vitro* para avaliar o efeito fungicida dos compostos triazólicos foi realizado usando delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 11 tratamentos (triazóis **4a** a **4k**) e o controle positivo, fungicida comercial tebuconazol (Folicur® 200 EC - Bayer), cinco concentrações (65, 125, 250, 500 e 750 µg mL⁻¹) e quatro repetições.

As soluções dos compostos triazólicos foram preparadas dissolvendo cada composto com 320 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e 320 µL de Tween 80 e o volume da solução foi completado para 32 mL com água destilada, sendo as misturas homogeneizadas. As diluições foram realizadas para se obter as concentrações definidas. Em seguida, para quatro placas de Petri (60 x 15 mm cada) foram transferidos 8 mL de solução de cada triazol, sendo homogeneizados em meio BDA. O controle negativo utilizado foi uma mistura contendo água destilada, solução de DMSO (1% v/v) e Tween 80 (1% v/v). Para a montagem do experimento, no centro de cada uma das placas de Petri, foi colocado um disco de micélio do fungo e as placas foram mantidas no escuro, a 25 °C. As avaliações do crescimento micelial foram realizadas a cada 24 horas, por meio de paquímetro digital (medidas em milímetros), até o controle preencher todo o diâmetro do prato. Todo o experimento durou 120 h (DIAS et al., 2012; RAMPERSAD, TEELUCKSINGH, 2012).

4.3.3 Análises Estatísticas

Para a avaliação da atividade fungicida dos compostos triazólicos **4a** a **4k**, fez-se análise de variância dos resultados obtidos. A razão de inibição relativa (%) foi calculada usando a seguinte equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{(D_c - D_t) \times 100}{D_c}$$

Na qual:

D_c é a média do diâmetro de crescimento do fungo na placa do controle;

D_t é a média do diâmetro de crescimento do fungo na placa do tratamento.

Os dados foram submetidos ao modelo de regressão não linear logística, utilizando concentração vs percentual de inibição, para obtenção dos parâmetros ED₅₀ e ED₉₀ (as concentrações do ingrediente ativo necessárias para inibir o crescimento micelial do patógeno em 50% e 90%, respectivamente) (SAUTER, STEGLICH, ANKE, 1999). As médias foram comparadas pelo teste de Dunnett (p<0,05). As análises estatísticas foram feitas usando o Pacotes DRC e Asbio, do ambiente de software R (RITZ, STREIBIG, 2005; R CORE TEAM, 2020).

4.3.4 Cálculos das Propriedades Eletrônicas e Físico-Químicas dos Compostos **4a** a **4k**

4.3.4.1 Procedimentos computacionais para os cálculos utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Inicialmente, utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*), foi realizada a análise conformacional dos compostos triazólicos **4a** a **4k**, por meio do algoritmo de busca de Monte Carlo, combinado com o método semiempírico AM1 (*Austin Model 1*), disponível no software SPARTAN 14 (SPARTAN, 2014). Este procedimento selecionou, para cada composto, o melhor conformero adequado para otimização. Na sequência, os menores valores de energia de cada conformero foram levados para cálculos adicionais com as geometrias dos compostos **4a** a **4k** sendo otimizadas com o modelo funcional de densidade B3LYP (*Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr*), usando o conjunto de base 6-31G(d) (ALIZADEH, MIRJAFARY, SAEIDIAN, 2020). Todas as otimizações das geometrias dos triazóis foram realizadas usando o Software Gaussian 09 (FRISCH et al., 2016).

Na sequência, utilizando o funcional B3LYP/6-31G(d), foram calculadas as energias dos orbitais de fronteira HOMO (orbital molecular mais alto ocupado - do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (orbital molecular mais baixo desocupado - do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), a partir das geometrias

otimizadas, bem como o *gap* (a diferença) de energia entre eles e o momento dipolar das moléculas (μ). Utilizando esse mesmo modelo, foram calculados os seguintes parâmetros eletrônicos: mapas de potencial eletrostático molecular (MEP - do inglês *Molecular Electrostatic Potential*) e densidade eletrônica (ρ), energia de ionização (E_I), afinidade eletrônica (EA), eletronegatividade (χ), potencial químico eletrônico (μ_{cp}), dureza química (η), índice de eletrofilicidade (ω) e suavidade molecular (S) (RACHEDI et al., 2019; ALIZADEH, MIRJAFARY, SAEIDIAN, 2020).

Na etapa final dos cálculos computacionais, foram determinados os valores das propriedades físico-químicas massa molecular (MM), Log P calculado (CLog P - coeficiente de partição octanol/água calculado), área de superfície polar topológica (TPSA, do inglês *Topological Polar Surface Area*), número de aceptores de ligações de hidrogênio (n-O/N), número de doadores de ligações de hidrogênio (n-OH/NH) e número de ligações com livre rotação (n-Rot), usando o pacote Molinspiration, disponível on-line (JARRAHPOUR et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2013). Estes parâmetros estão associados à regra de Tice (TICE, 2001; PICCIRILLO, AMARAL, 2018), que pode ser considerada uma adaptação da regra de Lipinski (LIPINSKI et al., 1997), para avaliação de possíveis novos agroquímicos.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Avaliação da Atividade Fungicida

Os derivados 1,2,3-triazólicos de glicerol **4a** a **4k** foram avaliados quanto à sua eficácia *in vitro* na inibição do crescimento micelial do fungo *C. gloesporioides* em comparação com o tebuconazol, fungicida comercial utilizado como referência. Uma curva de regressão logística sigmoidal foi ajustada para estudar os possíveis efeitos inibitórios. A Tabela 4.1 mostra os resultados obtidos para cada triazol.

Analisando os resultados obtidos (Tabela 4.1), pode-se observar que os coeficientes de regressão para os compostos **4c** e **4h** não foram, estatisticamente, diferentes de zero, pelo teste F a 5% de probabilidade, ou seja, estes dois triazóis não foram capazes de inibir o fungo *C. gloesporioides* nas concentrações testadas. Vale destacar que ambos os derivados (**4c** e **4h**) possuem átomo de flúor nas suas moléculas, ligados na posição *para* do anel benzênico (o triazol **4c** possui um flúor e o triazol **4h** possui um grupo trifluorometil) (Figura 4.13). Com base nesta observação, pode-se inferir que esta característica estrutural (grupo fluorado na posição *para*) parece, neste caso, não contribuir para potencializar a atividade fungicida frente ao

fungo *C. gloeosporioides*. Segundo Jeschke (2010), o uso, em potenciais moléculas bioativas, de átomos de flúor na posição *para* em anéis benzênicos tornou-se uma prática comum nas pesquisas, objetivando aumentar a estabilidade das substâncias, o que levaria a uma melhora em uma possível atividade. Porém, não foi o observado neste estudo.

Tabela 4.1 - Equação de regressão e valores de ED₅₀ e ED₉₀ dos compostos triazólicos **4a** a **4k** frente a *C. gloeosporioides*

Triazol	Equação de Regressão	ED ₅₀ (μg mL ⁻¹)	ED ₉₀ (μg mL ⁻¹)
4a	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-1,14(\log(X) - 705,50)))$ R ² = 0,83	280,26 d	607,39 e
4b	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-1,13(\log(X) - 745,22)))$ R ² = 0,91	198,32 c	527,03 d
4c	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,17(\log(X) - 786,50)))$ * n	n	n
4d	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,75(\log(X) - 742,82)))$ R ² = 0,91	59,14 a	384,85 b
4e	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,70(\log(X) - 708,12)))$ R ² = 0,87	228,84 c	499,11 c
4f	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,97(\log(X) - 505,42)))$ R ² = 0,92	246,45 c	454,22 c
4g	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,51(\log(X) - 725,21)))$ R ² = 0,97	134,49 b	612,35 e
4h	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,15(\log(X) - 615,68)))$ * n	n	n
4i	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-1,50(\log(X) - 499,43)))$ R ² = 0,93	192,82 c	491,94 c
4j	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-0,62(\log(X) - 558,91)))$ R ² = 0,83	154,17 b	515,24 c
4k	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-1,20(\log(X) - 720,09)))$ R ² = 0,98	230,45 c	735,43 e
Tubeconazol	$f(x) = 1 / (1 + \exp(-1,49(\log(X) - 61,35)))$ R ² = 0,96	61,35 a	265,49 a

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. *Os coeficientes de regressão $f(x) = 1 / (1 + \exp(b(\log(X) - e)))$ não são diferentes de 0 pelo teste F a 5% de probabilidade.

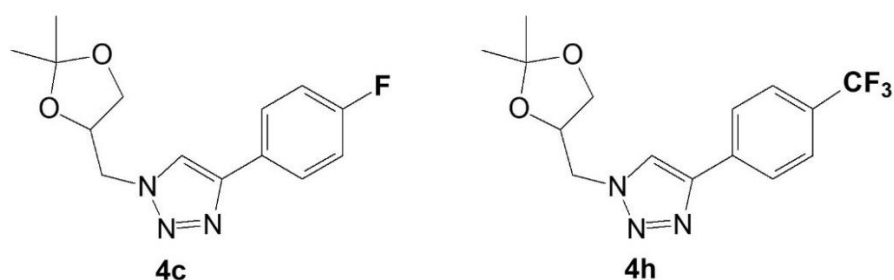


Figura 4.13 - Estruturas dos derivados triazólicos fluorados **4c** e **4h**, ambos contendo o grupo fluorado na posição *para*.

Observou-se ainda que oito dos 11 novos triazóis (**4a**, **4b**, **4e**, **4f**, **4g**, **4i**, **4j** e **4k**) apresentaram baixa inibição do crescimento micelial do fungo, mais fracas que o controle, o fungicida tebuconazol, com o triazol não fluorado **4a** apresentando o maior valor de ED_{50} ($280,26 \mu\text{g mL}^{-1}$), indicando a importância deste grupo na atividade biológica (JESCHKE, 2010; OGAWA et al., 2020). Já para o derivado triazólico **4d** (Figura 4.14), o valor de ED_{50} ($59,14 \mu\text{g mL}^{-1}$) mostrou que este composto apresenta maior atividade inibição do crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, em relação aos outros compostos 1,2,3-triazólicos testados, não havendo diferença significativa comparado ao controle tebuconazol ($61,35 \mu\text{g mL}^{-1}$), segundo o teste de Dunnett a 5% de probabilidade, indicando potencial atividade. Vale destacar que o triazol **4d** apresenta um átomo de flúor na sua estrutura, ligado na posição *orto* do anel benzênico. O outro derivado com grupo fluorado (grupo trifluorometil - CF_3) na posição *orto*, o triazol **4j**, não apresentou atividade de inibição interessante ($ED_{50} = 154,17 \mu\text{g mL}^{-1}$). Jescke (2004) afirma que a presença do grupo CF_3 na posição *meta* do anel benzênico, e não na *orto*, reflete as propriedades essenciais desta porção: alta lipofilicidade e natureza retiradora de elétrons. Este autor ressalta a importância da presença de grupos halogenados, como cloro e flúor, na melhora da resposta biológica de potenciais candidatos a compostos bioativos.

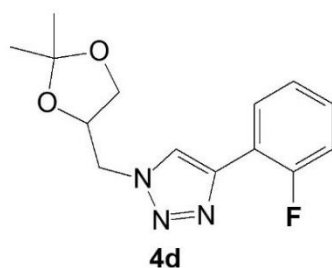


Figura 4.14 - Estrutura do derivado triazólico fluorado **4d**, contendo o grupo fluorado na posição *orto*.

Por outro lado, analisando os valores de ED₉₀, dos 11 compostos triazólicos testados, percebeu-se que foram significativamente diferentes quando comparados ao controle tebuconazol (265,49 µg mL⁻¹), indicando que tais compostos não apresentaram atividade de inibição considerável. Observando estritamente os triazóis com um átomo de flúor (**4b** (flúor em *meta*), **4c** (flúor em *para*) e **4d** (flúor em *orto*)), pode-se notar que a atividade biológica aumenta na sequência **4c** < **4b** < **4d**. Vale ressaltar que o composto **4d** foi o mais ativo dos triazóis considerando o valor de ED₅₀. Utilizando como referencial este composto mais ativo, triazol **4d**, a introdução de um segundo átomo de flúor no anel benzênico (compostos **4e**, **4f** e **4g**) não melhorou a atividade biológica. Ao observar os compostos triazólicos que possuem um grupo trifluorometil (CF₃) (**4h**, **4i** e **4j**), o triazol substituído *para*-trifluorometil **4h** não apresentou atividade. Já os derivados **4i** (*meta* substituído) e **4j** (*orto* substituído) se mostraram equipotentes. Por último, observando a introdução de um segundo grupo CF₃ no anel benzênico (composto **4k**) não houve melhora na atividade inibitória ao fungo.

As diferenças observadas nos valores de ED₅₀ e de ED₉₀ entre os triazóis testados e o fungicida comercial tebuconazol podem estar relacionadas a fatores inerentes à fisiologia e à genética do fungo. Possíveis interações hidrofóbicas entre compostos triazólicos e a estrutura de aminoácidos presentes nos sítios da enzima lanosterol 14α-desmetilase (CYP51), um possível alvo para os compostos 1,2,3-triazólicos, podem afetar a biossíntese de esteróis e a integridade das membranas fúngicas (PRICE et al., 2015; QIAN et al., 2018). Por outro lado, o estresse resultante dessas interações pode causar alteração do sítio alvo, superexpressão da CYP51, que poderia aumentar o alvo com maior presença de moléculas de fungicidas no citosol, efluxo de fungicidas do sítio alvo e até mesmo a desintoxicação do fungicida (KRETSCHMER et al., 2009).

A atividade inibitória dos triazóis observada neste estudo, destacadamente o triazol **4d**, sugere uma rápida penetração e translocação da molécula para as hifas do fungo. Vale destacar que a eficácia dos compostos 1,2,3-triazólicos na inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos foi demonstrada por Huo e colaboradores (2018). Estes autores sintetizaram 14 compostos 1,2,3-triazólicos capazes de inibir em mais de 50%, na dose de 50 µg mL⁻¹, o crescimento micelial dos fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Botrytis cinerea*, importantes fungos fitopatogênicos ascomicetos, como o *Colletotrichum gloeosporioides*. Em um estudo, Bassyouni e colaboradores (2012) sintetizaram uma série de compostos, incluindo triazóis

aromáticos, que foram capazes de inibir o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Já Costa e colaboradores (2020) sintetizaram nove 1,2,3-triazóis 4-alkil-substituídos derivados do glicerol, que apresentaram alta eficiência em inibir a esporulação deste mesmo fungo. Estes resultados corroboram os apresentados neste trabalho.

4.4.2 Cálculos Computacionais

Foram realizados cálculos computacionais para determinar as propriedades dos derivados 1,2,3-triazóis fluorados derivados do glicerol e buscar uma possível correlação estrutura x atividade fungicida. A otimização das geometrias dos triazóis foi realizada utilizando o modelo funcional de densidade B3LYP/6-31G(d) no software Gaussian 09. Os valores de energia de HOMO e LUMO, bem como o *gap* de energia entre esses orbitais ($E_{\text{HOMO-LUMO}}$) e o momento dipolo, foram calculados a partir das geometrias otimizadas (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 - Valores calculados das energias HOMO (E_{HOMO}), LUMO (E_{LUMO}), do *gap* de energia ($E_{\text{HOMO-LUMO}}$) e do momento dipolar dos triazóis **4a** a **4k**, usando o software Gaussian 09

Triazol	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	$E_{\text{HOMO-LUMO}}$ (<i>gap</i>) (eV)	Momento Dipolar (D)
4a	-6,04	-0,63	5,41	3,45
4b	-6,21	-0,86	5,35	2,68
4c	-6,04	-0,66	5,38	3,92
4d	-6,13	-0,75	5,38	2,70
4e	-6,00	-0,71	5,29	5,21
4f	-6,17	-0,77	5,40	2,76
4g	-6,22	-0,85	5,37	5,71
4h	-6,26	-1,04	5,22	6,63
4i	-6,21	-0,87	5,34	4,24
4j	-6,38	-1,08	5,30	1,66
4k	-6,53	-1,28	5,25	6,78

De acordo com a teoria do orbital molecular de fronteira, as características dos orbitais HOMO e LUMO são fatores importantes que afetam a bioatividade (KARELSON, LOBANOV, KATRITZKY, 1996; WANG et al., 2011). Enquanto o orbital

HOMO funciona como doador de elétrons (nucleófilo) para orbitais receptores desocupados, o orbital LUMO atua como aceitor de elétrons (eletrófilo). A energia HOMO (E_{HOMO}) do triazol **4k** foi a menor (-6,53 eV), o que sugere sua capacidade de doar elétrons. Este mesmo triazol também apresentou a menor energia para o orbital LUMO (E_{LUMO}) (-1,28 eV), tendo, junto com o triazol **4h**, o menor *gap* de energia HOMO-LUMO (**4h** = 5,22 eV; **4k** = 5,25 eV) (Tabela 4.2). Moléculas com menores *gaps* de energia, de maneira geral, são mais polarizáveis e tendem a apresentar maior reatividade química (FLEMING, 2010). Vale salientar que ambas as moléculas possuem o grupo trifluorometil (**4h** = 1 CF_3 e **4k** = 2 CF_3), grupo bem polar.

O triazol **4k** também apresentou o maior valor de momento dipolar (6,78 D) dentre os 11 compostos triazólicos sintetizados (Tabela 4.2). Este parâmetro mede a magnitude da carga deslocada devido à diferença na eletronegatividade entre átomos diferentes diretamente ligados, sendo considerado um importante descritor molecular (ARROIO, HONÓRIO, DA SILVA, 2010). A formação de dipolos, gerando o momento dipolar, é capaz de alterar propriedades moleculares, como a acidez e a basicidade de um composto. Deste modo, o momento dipolar pode esclarecer dúvidas sobre a reatividade de um composto (FLEMING, 2010). O maior valor do momento dipolar calculado para o triazol **4k**, muito provavelmente, está associado à presença dos dois grupos trifluorometil na molécula (Figura 4.15), ou seja, existem seis átomos de flúor, altamente eletronegativos, além dos dois anéis heterocíclicos contendo nitrogênio (anel triazólico) e oxigênio (anel dioxolânico), mas estas duas estruturas são comuns a todos os 11 triazóis estudados. Vale ressaltar que este triazol não apresentou atividade fungicida significativa (Tabela 4.1).

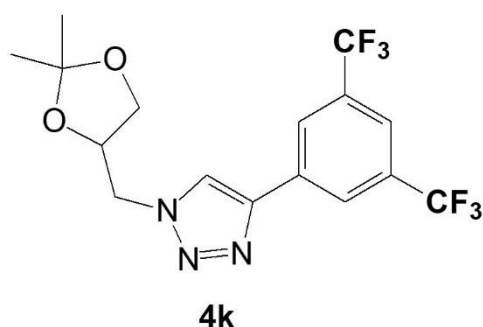


Figura 4.15 - Estrutura do derivado triazólico fluorado **4k**, contendo dois grupos trifluorometil, grupos com alto caráter elétron atraente.

As energias dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO são úteis para o cálculo de outras propriedades eletrônicas: eletronegatividade (χ), energia de

ionização (EI), afinidade eletrônica (EA), potencial químico eletrônico (μ_{cp}), dureza química (η), índice de eletrofilicidade (ω) e suavidade molecular (S) (SENET, 1997; BOUFAS et al., 2014; RACHEDI et al., 2019). Assim, com base nos níveis de energia dos pares de orbitais de fronteira dos compostos **4a** a **4k**, as propriedades acima mencionadas foram determinadas e os valores calculados estão representados na Tabela 4.3.

A eletronegatividade (χ) é uma medida da capacidade de um átomo de, em uma ligação química, atrair para si os elétrons (ou a densidade eletrônica) (IUPAC, 2021). O derivado triazólico **4k** apresentou o maior valor de eletronegatividade (3,91 eV) (Tabela 4.3). Este resultado está associado à presença dos dois grupos trifluorometil na molécula (Figura 4.14), ou seja, existem seis átomos de flúor. Por outro lado, o triazol **4a**, o único derivado não fluorado, apresentou o menor valor de eletronegatividade (3,33 eV) (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Valores calculados da eletronegatividade (χ), da energia de ionização (EI), da afinidade eletrônica (EA), do potencial químico eletrônico (μ_{cp}), da dureza química (η), da suavidade molecular (S) e do índice de eletrofilicidade (ω) dos triazóis **4a** a **4k**, por meio do modelo funcional B3LYP/6-31G (d) (todos em eV)

Triazol	χ^a	EI^b	EA^c	μ_{cp}^d	η^e	S^f	ω^g
4a	3,33	6,04	0,63	-3,33	2,71	0,37	2,05
4b	3,53	6,21	0,86	-3,53	2,67	0,37	2,33
4c	3,35	6,04	0,66	-3,35	2,69	0,37	2,09
4d	3,44	6,13	0,75	-3,44	2,69	0,37	2,19
4e	3,35	6,00	0,71	-3,35	2,64	0,38	2,12
4f	3,47	6,17	0,77	-3,47	2,70	0,37	2,23
4g	3,53	6,22	0,85	-3,53	2,69	0,37	2,32
4h	3,65	6,26	1,04	-3,65	2,61	0,38	2,56
4i	3,54	6,21	0,87	-3,54	2,67	0,37	2,35
4j	3,73	6,38	1,08	-3,73	2,65	0,38	2,63
4k	3,91	6,53	1,28	-3,91	2,63	0,38	2,90

^aEletronegatividade (χ) = $-(E_{HOMO} + E_{LUMO})/2$; ^bEnergia de Ionização (EI) = $-E_{HOMO}$; ^cAfinidade Eletrônica (EA) = $-E_{LUMO}$; ^dPotencial Químico Eletrônico (μ_{cp}) = $-\chi = (E_{HOMO} + E_{LUMO})/2$; ^eDureza Química (η) = $(E_{LUMO} - E_{HOMO})/2$; ^fSuavidade Molecular (S) = $1/2\eta$; ^gÍndice de Eletrofilicidade (ω) = $\mu^2/2\eta$.

As propriedades energia de ionização (EI), afinidade eletrônica (EA) e potencial químico eletrônico (μ_{cp}) apresentaram resultados semelhantes ao comportamento da eletronegatividade. Para a energia de ionização (EI), que indica tendência em doar elétrons, o derivado triazólico **4k** apresentou o maior valor ($EI = 6,53$ eV) (Tabela 4.3) e os triazóis **4e**, **4c** e **4a** apresentaram os menores valores ($EI_{4e} = 6,00$ eV; $EI_{4c} = EI_{4a} = 6,04$ eV) (Tabela 4.3). Vale ressaltar que esta propriedade é o oposto da energia do orbital HOMO ($EI = -E_{HOMO}$).

Para a afinidade eletrônica (EA), que indica tendência em receber elétrons, mais uma vez, o derivado triazólico **4k** apresentou o maior valor ($EA = 1,28$ eV) (Tabela 4.3) e o triazol **4a** apresentou o menor valor ($EA = 0,63$ eV) (Tabela 4.3). Proporcionalmente, esta propriedade foi a que apresentou maior variação nos valores calculados. Vale ressaltar que esta propriedade é o oposto da energia do orbital LUMO ($EA = -E_{LUMO}$).

Para o potencial químico eletrônico (μ_{cp}), que é o oposto da eletronegatividade ($\mu_{cp} = -\chi$), os destaques, mais uma vez, foram os derivados triazólicos **4k** e **4a**, com o triazol **4a** apresentando o maior valor ($\mu_{cp} = -3,33$ eV) (Tabela 4.3) e o triazol **4k** apresentando o menor valor ($\mu_{cp} = -3,91$ eV) (Tabela 4.3).

A propriedade dureza química (η) pode ser definida como a medida da resistência à mudança na distribuição de elétrons em uma coleção de núcleos e elétrons (SENET, 1997). Esta *resistência*, que está relacionada à transferência de carga e à estabilidade química, não apresentou grande variação (2,61 a 2,71 eV) entre os compostos analisados (Tabela 4.3). A suavidade molecular (S), que é o recíproco da dureza química (VASCONCELLOS, 2014), do mesmo modo, praticamente não apresentou variação (0,37 a 0,38 eV) para os 11 triazóis analisados (Tabela 4.3). Estas baixas variações podem estar associadas ao fato de as moléculas não diferirem significativamente em termos de grupos funcionais.

O índice de eletrofilicidade (ω) é considerado uma medida da capacidade eletrofílica, ou seja, a capacidade de receber elétrons, e está associado à redução de energia associada ao fluxo do elétron do orbital HOMO (doador) para o orbital LUMO (aceptor) (CHATTARAJ, SARKAR, ROY, 2006; XAVIER, PERIANDY, RAMALINGAM, 2015). Esta propriedade é considerada fundamental para os compostos orgânicos, pois envolve informações sobre estrutura, reatividade, aromaticidade e toxicidade, dentre outras (DOMINGO, PÉREZ, SÁEZ, 2013). Mais uma vez, o triazol **4k** apresentou o maior valor. O índice de eletrofilicidade deste composto foi de 2,90 eV (Tabela 4.3). Este resultado deve estar associado à presença dos dois grupos

trifluorometil na molécula do triazol **4k** (Figura 4.15), ou seja, a existência de seis átomos de flúor, altamente elétrons atraentes. Por outro lado, o triazol **4a**, o único derivado não fluorado, apresentou o menor valor de eletrofilicidade (2,05 eV) (Tabela 4.3).

Por ter apresentado a maior na inibição do crescimento micelar do fungo *C. gloeosporioides* nos ensaios, os dados calculados do triazol **4d** foram observados com detalhes. A distribuição de densidade de carga associada aos orbitais moleculares de fronteira (HOMO-LUMO) e os valores calculados para este composto triazólico são apresentados na Figura 4.16.

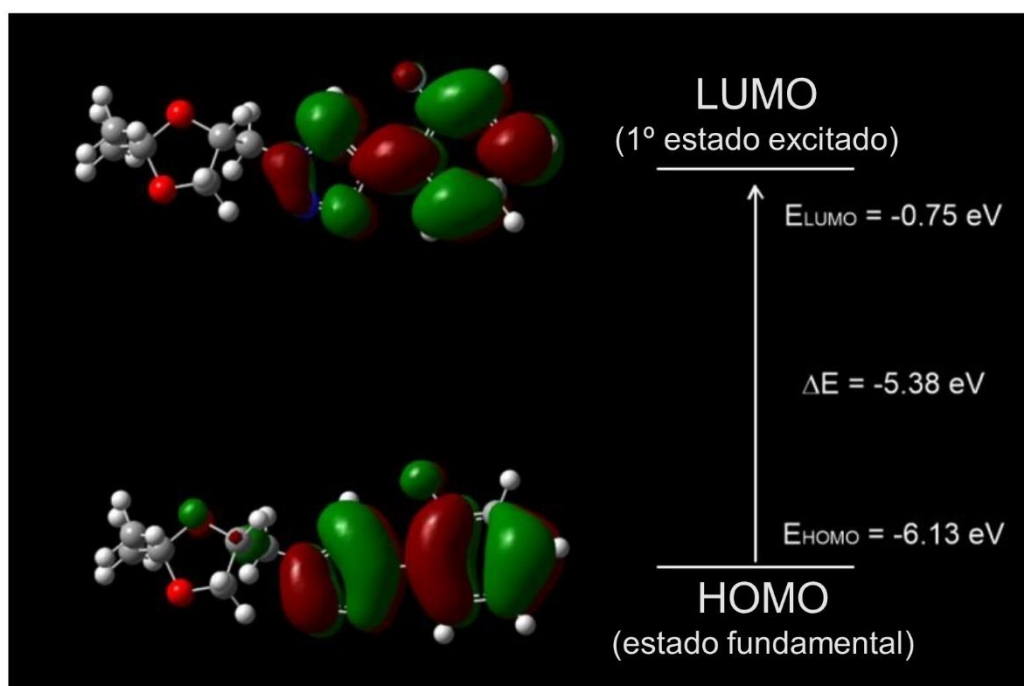


Figura 4.16 - Orbitais HOMO e LUMO e *gap* de energia (ΔE) do triazol **4d**, composto destaque na inibição do crescimento micelar do fungo *C. gloeosporioides*, usando o software Gaussview5.0.

A transferência de carga de HOMO para LUMO é a transição eletrônica mais provável dentro de um sistema molecular. Como pode ser observado na Figura 4.16, o HOMO (-6,13 eV) está localizado principalmente nos orbitais moleculares π dos anéis 1,2,3-triazólico e benzênico, enquanto o LUMO (-0,75 eV) está posicionado sobre os orbitais moleculares π^* do anel 1,2,3-triazólico. Esta localização eletrônica de HOMO e LUMO é uma transição eletrônica π/π^* . O *gap* HOMO-LUMO do triazol **4d** ($\Delta E = 5,38 \text{ eV}$) foi um dos maiores observados (o maior valor de *gap* foi 5,41 eV para o triazol **4a**) (Tabela 4.2). O *gap* de energia HOMO-LUMO é um importante parâmetro,

pois mede a transferência de carga intramolecular e a estabilidade cinética e, deste modo, tem sido utilizado para explicar resultados associados à atividade biológica (FUKUI, 1982; SANTOS et al., 2014). De maneira geral, moléculas com um maior *gap* de energia estão associadas a maior estabilidade e menor reatividade. Para o triazol **4d** esta correlação não foi observada. Além disto, o momento dipolar deste composto triazólico foi 2,70 D (Tabela 4.2), um dos menores valores observados dentre os 11 triazóis, indicando uma menor polaridade da molécula.

O método de campo autoconsistente (SCF, do inglês *Self Consistent Field*), foi utilizado para se obter o mapa de potencial eletrostático calculado na superfície de densidade eletrônica (ρ) do composto **4d** (Figura 4.17). A densidade de carga eletrônica total (medida em unidades atômicas de energia - u.a.) variou entre dois limites extremos: $-5,891 \cdot 10^{-2}$ u.a. e $+5,891 \cdot 10^{-2}$ u.a. Como pode ser observado na legenda do mapa de potencial eletrostático molecular, a região negativa está localizada principalmente nos átomos de nitrogênio, no anel triazólico. Já a região mais elétron deficiente está próxima ao anel benzênico.

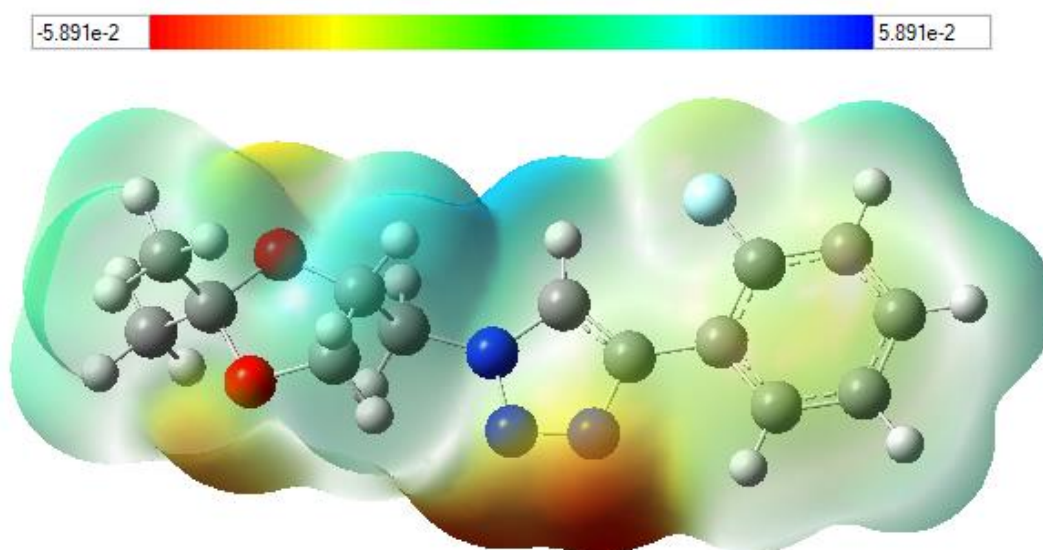


Figura 4.17 - Mapa de potencial eletrostático calculado na superfície de densidade eletrônica (ρ) do composto triazólico **4d**, usando o software Gaussview5.0.

A densidade eletrônica auxilia na definição da polaridade de uma molécula (MATTA, GILLESPIE, 2002). Observou-se uma certa homogeneidade na distribuição das cargas na superfície de densidade eletrônica (ρ) (Figura 4.17), com regiões marcadamente em tons de verde, o que indica baixa polaridade para o triazol **4d**. Este

resultado vai ao encontro do baixo valor obtido para o momento dipolar (μ) deste composto (2,70 D) (Tabela 4.2), que indica uma menor polaridade para o triazol **4d**.

Os resultados dos cálculos das propriedades físico-químicas massa molecular (MM), CLog P (Log P calculado), área de superfície polar topológica (TPSA), número de aceptores de ligações de hidrogênio (n-O/N), número de doadores de ligações de hidrogênio (n-OH/NH) e número de ligações com livre rotação (n-Rot), usando o pacote Molinspiration, são demonstrados na Tabela 4.4. A análise destas propriedades objetiva encontrar uma possível correlação entre a estrutura química dos triazóis sintetizados e a atividade fungicida observada.

Tabela 4.4 - Valores calculados das propriedades físico-químicas massa molecular (MM), Log P calculado (CLog P), área de superfície polar topológica (TPSA), número de aceptores de ligações de hidrogênio (n-O/N), número de doadores de ligações de hidrogênio (n-OH/NH) e número de ligações com livre rotação (n-Rot) dos triazóis **4a** a **4k**, usando o pacote Molinspiration

Triazol	MM ^a (Da)	CLog P ^b	TPSA ^c (Å ²)	n-O/N ^d	n-OH/NH ^e	n-Rot ^f
4a	259,31	2,14	49,19	5	0	3
4b	277,30	2,28	49,19	5	0	3
4c	277,30	2,30	49,19	5	0	3
4d	277,30	2,26	49,19	5	0	3
4e	295,29	2,40	49,19	5	0	3
4f	295,29	2,40	49,19	5	0	3
4g	295,29	2,40	49,19	5	0	3
4h	327,31	3,04	49,19	5	0	4
4i	327,31	3,01	49,19	5	0	4
4j	327,31	2,99	49,19	5	0	4
4k	395,30	3,86	49,19	5	0	5

^aMM = Massa Molecular (Da = Daltons); ^bCLog P = Log P Calculado; ^cTPSA = Área de Superfície Polar Topológica; ^dn-O/N = Número de Aceptores de Ligações de Hidrogênio; ^en-OH/NH = Número de Doadores de Ligações de Hidrogênio; ^fn-Rot = Número de Ligações com Livre Rotação.

Para discutir os resultados obtidos, utilizou-se a regra proposta por Tice (2001), que fez uma adequação da “regra dos 5” de Lipinski (LIPINSKI et al., 1997) para ajuste dos parâmetros, objetivando avaliar agroquímicos (herbicidas e inseticidas). Os valores ótimos dos parâmetros propostos por Tice (2001) são: massa molecular entre 150 e 500 ($150 \leq MM \leq 500$), Log P calculado menor ou igual a quatro

(CLog P $\leq$ 4), número de doadores de ligações de hidrogênio menor ou igual a 3 ($n\text{-OH/NH} \leq 3$), número de aceptores de ligações de hidrogênio entre 2 e 12 ($2 \leq n\text{-O/N} \leq 12$) e número de ligações com livre rotação menor ou igual a 12 ($n\text{-Rot} \leq 12$).

Conforme já previamente observado nas estruturas moleculares dos derivados, as massas moleculares dos triazóis variaram de 259,31 Da (triazol **4a**) a 395,30 Da (triazol **4k**) (Tabela 4.4), valores considerados dentro da faixa ideal, segundo Tice (2001), que calculou as massas moleculares médias de agroquímicos, encontrando 329,0 Da para herbicidas e 324,0 Da para inseticidas. Vale destacar que um possível aumento da massa molecular pode levar a uma menor solubilidade em sistema aquoso e dificultar a penetração em membranas (TICE, 2001).

O parâmetro Log P calculado (CLog P), utilizado por Lipinski e colaboradores (1997) para analisar a capacidade de assimilação de drogas de uso oral, também pode ser usado para determinar a biodisponibilidade de um determinado composto orgânico em uma planta, conforme proposto por Tice (2001), ao avaliar herbicidas. Observou-se que todos os 11 triazóis testados se enquadraram na regra de Tice (2001), pois apresentaram valores de CLog P menor que 5 (entre 2,14 e 3,86) (Tabela 4.4), com o triazol **4a** apresentando o menor valor (2,14) e o triazol **4k** apresentando o maior valor (3,86), indicando que o triazol **4k** apresenta a maior lipofilicidade.

Além de CLog P, a área total de superfície polar (TPSA) é um importante descritor para a previsão de translocação de substâncias e biodisponibilidade (TEIXEIRA et al., 2013). Compostos com TPSA maior que 140 Å² são considerados de baixa biodisponibilidade oral; já os compostos com TPSA menor que 61 Å² têm maior probabilidade de apresentar uma boa biodisponibilidade. Pelos resultados obtidos (Tabela 4.4), os 11 compostos triazólicos devem apresentar boa biodisponibilidade, pois a área de superfície polar topológica de todos foi a mesma (TPSA = 49,19 Å²), ficando abaixo de 61 Å².

Avaliando os três parâmetros subsequentes ($n\text{-OH/NH}$, $n\text{-O/N}$ e $n\text{-Rot}$), observa-se que todos os 11 triazóis seguiram a regra de Tice (2001), pois o número de doadores de ligações de hidrogênio ($n\text{-OH/NH}$) foi menor que 3 ($n\text{-OH/NH} = 0$), o número de aceptores de ligações de hidrogênio ($n\text{-O/N}$) ficou entre 2 e 12 ($n\text{-O/N} = 5$) e, por fim, o número de ligações com livre rotação foi menor que 12 ($n\text{-Rot} = 3$ a 5), com o maior valor ($n\text{-Rot} = 5$) sendo observado para o triazol **4k** (Tabela 4.4).

A Tabela 4.5 resume a comparação dos resultados das propriedades físico-químicas dos triazóis **4a** a **4k** com os parâmetros definidos por Tice (2001).

Com base nos resultados obtidos, os compostos triazólicos **4a** a **4k** satisfazem a regra de Tice (2001), tendo potencial como compostos bioativos, com a ressalva de que o estudo de Tice (2001) envolveu, fundamentalmente, herbicidas pós-emergentes.

Tabela 4.5 - Comparação das propriedades físico-químicas dos triazóis **4a** a **4k** com os cinco parâmetros definidos por Tice (2001)

Parâmetros	Regra de Tice ^a	Triazóis 4a - 4k
MM (Da)	150 a 500	259,31 a 395,30
CLog P	≤ 5	2,14 a 3,86
n-O/N	2 a 12	5
n-OH/NH	≤ 3	0
n-Rot	≤ 12	3 a 5

^aOs parâmetros da regra de Tice (2001) foram definidos com base em experimentos com herbicidas pós-emergentes.

Por fim, vale destacar um estudo recente, desenvolvido por Ogawa e colaboradores (2020), que analisou a contribuição dos compostos organofluorados para a indústria agroquímica. Os autores assumiram a tarefa de analisar 424 compostos agroquímicos e investigaram a distribuição destes agroquímicos por massa molecular e Log P. Constatou-se que 57% dos herbicidas e 55% dos fungicidas apresentam massa molecular na faixa de 300 a 400 Da. Os compostos que apresentaram massa molecular abaixo de 300 Da corresponderam a 9% dos herbicidas. Comparando os resultados (Tabela 4.4), os compostos triazólicos **4h** a **4k** têm massas moleculares dentro deste intervalo (327,31 a 395,30 Da), enquanto os compostos **4a** a **4g** têm massas moleculares menor que 300 (259,31 a 295,29 Da).

Ainda na investigação de Ogawa e colaboradores (2020), com relação ao Log P e CLogP calculados, 52% dos herbicidas e 67% dos fungicidas apresentaram valores dentro do intervalo de 3 a 5. Já 32% dos herbicidas e 10% dos fungicidas têm CLog P inferior a 3. No presente estudo (Tabela 4.4), três compostos apresentaram CLog P dentro da faixa 3 a 5, os triazóis **4h** (3,04), **4i** (3,01) e **4k** (3,86), enquanto os compostos triazólicos **4a** a **4g** e o **4j** apresentam CLog P menor que 3 (entre 2,14 e 2,99), indicando que os triazóis sintetizados, provavelmente, têm boa lipofilicidade, parâmetro importante para potencial bioatividade.

Com base nos resultados dos cálculos computacionais, pode-se observar que não foram encontradas correlações entre os parâmetros eletrônicos e físico-químicos calculados, aqui descritos, e a atividade fungicida, pois o composto mais

ativo, o triazol **4d**, não se destacou nestes resultados. Salienta-se que a regra desenvolvida por Tice (2001) não contempla fungicidas. Deste modo, o uso de tal trabalho buscou encontrar subsídios para buscar uma correlação estrutura-atividade. Apesar disto, pode-se afirmar que esse estudo foi capaz de fornecer subsídios úteis na busca de informações para o desenvolvimento de novos agroquímicos e compostos líderes (do inglês, *lead compounds*), em geral, baseado em parâmetros eletrônicos e físico-químicos, por meio de cálculos computacionais.

4.5 REFERÊNCIAS

ALIZADEH, M., MIRJAFARY, Z., SAEIDIAN, H. Straightforward synthesis, spectroscopic characterizations and comprehensive DFT calculations of novel 1-ester 4-sulfonamide-1,2,3-triazole scaffolds. **Journal of Molecular Structure**, v. 1203, p. n. 127405, 2020

ALMEIDA, F., RODRIGUES, M. L., COELHO, C. The still underestimated problem of fungal diseases worldwide. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1-5, 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00214.

ARROIO, A., HONÓRIO, K. M., DA SILVA, A. B. F. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 694-699, 2010.

BASSYOUNI, F. A., ALL, A. S. A., HAGGAG, W. M., MAHMOUD, M., SARHAN, M. M. A., ABDEL-REHIM, M. Antimicrobial, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of triazole, pyrazole, oxadiazine, oxadiazole, and sugar hydrazone-5-nitroindoline-2-one derivatives and a study of their computational chemistry (part II). **Egyptian Pharmaceutical Journal**, v. 11, p.136-143, 2012.

BATISTA, D. C., LIMA, M. A., HADDAD, F., MAFFIA, L. A., MIZUBUTI, E. S. G. Validation of decision support systems for tomato early blight and potato late blight, under Brazilian conditions. **Crop Protection**, v. 25, p. 664-670, 2006.

BATISTA, V. H. S. C., GRANATO, A. C., ANGELOTTI, W. F. D. Comparação entre funcionais de densidade no estudo de propriedades eletrônicas de derivados da artemisinina. **Química Nova**, v. 39, n. 3, p. 298-304, 2016.

BODDY, L. Pathogens of Autotrophs. In: WATKINSON, S., BODDY, L. MONEY, N. P. (Eds.) **The Fungi**, Oxford-UK: Academic Press, 2016. p. 245-292. DOI:10.1016/b978-0-12-382034-1.00008-6.

CAMPOY, S., ADRIO, J. L. Antifungals. **Biochemical Pharmacology**. n. 133, p. 86-96, 2017.

CHATTARAJ, P. K., SARKAR, U., ROY, D. R. Electrophilicity Index. **Chemical Reviews**, v. 106, p. 2065-2091, 2006.

COSTA, A. V., MOREIRA, L. C., PINTO, R. T., ALVES, T. A., SCHWAN, V. V., DE QUEIROZ, V. T., PRAÇA-FONTES, M. M., TEIXEIRA, R. R., MORAIS, P. A. B., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 4, p. 821-832, 2020.

COSTA, A. V., OLIVEIRA, M. V. L., PINTO, R. T., MOREIRA, L. C., GOMES, E. M. C., ALVES, T. A., PINHEIRO, P. F., QUEIROZ, V. T., VIEIRA, L. F. A., TEIXEIRA, R. R., JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.

DIAS, L. C., RUBINGER, M. M. M., BAROLLI, J. P., ARDISSON, J. D., MENDES, I. C., LIMA, G. M., ZAMBOLIM, L., OLIVEIRA, M. R. L. Syntheses, crystal structure, spectroscopic characterization and antifungal activity of novel dibutylbis(N-R-sulfonyldithiocarbimato)stannate(IV) complexes. **Polyhedron**, v. 47, p. 30-36, n. 2012.

DIAS, M. D., PINHEIRO, V. F., CAFÉ-FILHO, A. C. Impact of anthracnose on the yield of soybean subjected to chemical control in the north region of Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 18-23, 2016.

DOMINGO, L. R., PÉREZ, P., SÁEZ, J. A. Understanding the local reactivity in polar organic reactions through electrophilic and nucleophilic Parr functions. **RSC Advances**, v. 3, p. 1486-1494, 2013.

FAO, **Global agriculture towards 2050**, October 2009, Disponível em: http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/Issues_papers/HLEF2050_Global_Agriculture.pdf. Acesso em 7 nov. 2020.

FISCHER, I. H., MORAES, M. F., PALHARINI, M. C. A., CRUZ, J. C. S., FIRMINO, A. C. Ocorrência de antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Patos-PB, v. 13, n. 2, p. 130-137, 2017.

FISHER, M. C., HENK, D. A., BRIGGS, C. J., BROWNSTEIN, J. S., MADOFF, L. C., MCCRAW, S. L., GURR, S. J. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. **Nature**, v. 484, p. 186-194, 2012.

FLEMING, I. Molecular orbitals and the structures of organic molecules. In: _____. (org.). **Molecular orbitals and organic chemical reactions**. Cambridge, UK: John Wiley & Sons, 2010. p. 69-125.

FRAC. Fungicide Resistance Action Committee. FRAC Code List ©*2021: **Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action**. Disponível em: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2021-final.pdf?sfvrsn=f7ec499a_2. Acesso em: 18 dez. 2021.

FRANÇA, R. R. F., CARVALHO, A. S., BRANCO, F. S. C., PINTO, A. C., BOECHAT, N. Inibidores potentes da enzima esterol 14 α -desmetilase contra *Trypanosoma cruzi*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1483-1516, 2014.

FRISCH, M. J., TRUCKS, G. W., SCHLEGEL, H. B., SCUSERIA, G. E., ROBB, M. A., CHEESEMAN, J. R., SCALMANI, G., BARONE, V., PETERSSON, G. A., NAKATSUJI, H., LI, X., CARICATO, M., MARENICH, A. V., BLOINO, J., JANESKO, B. G., GOMPERTS, R., MENNUCCI, B., HRATCHIAN, H. P., ORTIZ, J. V., IZMAYLOV, A. F., SONNENBERG, J. L., WILLIAMS-YOUNG, D., DING, F., LIPPARINI, F., EGIDI, F., GOINGS, J., PENG, B., PETRONE, A., HENDERSON, T., RANASINGHE, D., ZAKRZEWSKI, V. G., GAO, J., REGA, N., ZHENG, G., LIANG, W., HADA, M., EHARA, M., TOYOTA, K., FUKUDA, R., HASEGAWA, J., ISHIDA, M., NAKAJIMA, T., HONDA, Y., KITAO, O., NAKAI, H., VREVEN, T., THROSSELL, K., MONTGOMERY, J. A., JR., PERALTA, J. E., OGILARIO, F., BEARPARK, M. J., HEYD, J. J., BROTHERS, E. N., KUDIN, K. N., STAROVEROV, V. N., KEITH, T. A., KOBAYASHI, R., NORMAND, J., RAGHAVACHARI, K., RENDELL, A. P., BURANT, J. C., IYENGAR, S. S., TOMASI, J., COSSI, M., MILLAM, J. M., KLENE, M., ADAMO, C., CAMMI, R., OCHTERSKI, J. W., MARTIN, R. L., MOROKUMA, K., FARKAS, O., FORESMAN, J. B., FOX, D. J. **GAUSSIAN 16, REVISION C.01**, GAUSSIAN, INC., WALLINGFORD CT, 2016.

FUKUI, K. Role of frontier orbitals in chemical reactions, **Science**, v. 18, p. 747-754, 1982.

GÜELL, I., MICALÓ, L., CANO, L., BADOSA, E., FERRE, R., MONTESINOS, E., BARDAJÍ, E., FELIU, L., PLANAS, M. Peptidotriazoles with antimicrobial activity against bacterial and fungal plant pathogens. **Peptides**, v. 33, n. 1, p. 9-17, 2012.

HIROOKA, T., ISHII, H. J. Chemical control of plant diseases. **General Plant Pathology**, v. 79, p. 390-401, 2013.

HOLLOMON, D. W. Fungicide resistance: Facing the challenge. **Plant Protection Science**, v. 51, p.170-176, 2015.

HUO, X. Y., GUO, L., CHEN, X. F., ZHOU, Y. T., ZHANG, J., HAN, X. Q., DAI, B. Design, synthesis, and antifungal activity of novel aryl-1,2,3-triazole- β -carboline hybrids. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1344-1354, 2018.

JAMPILEK, J. Potential of agricultural fungicides for antifungal drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 11, n. 1, p.1-9, 2016.

JARRAHPOUR, A., FATHI, J., MIMOUNI, M., HADDA, T. B., SHEIKH, J., CHOCHAN, Z., PARVEZ, A. Petra, Osiris and molinspiration (POM) together as a successful support in drug design: Antibacterial activity and biopharmaceutical characterization of some azo schiff bases. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, p. 1984-1990, 2012.

JESCHKE, P. The unique role of fluorine in the design of active ingredients for 474 modern crop protection. **ChemBioChem**, v. 5, n. 5, p. 570-589, 2004.

JESCHKE, P. The unique role of halogen substituents in the design of modern agrochemicals. **Pest Management Science**, v. 66, p. 10-27, 2010.

JINDAL, V., DHALIWAL, G. S., KOUL, O. Pest management in 21s century: Roadmap for future. **Biopesticides International**, 2013, v. 9, n. 1, p. 1-22, 2013.

KARELSON, M., LOBANOV, V. S., KATRITZKY, A. R. Quantum-chemical descriptors in QSAR/QSPR studies. **Chemical Reviews**, v. 96, p. 1027-1044, 1996.

KNIGHT, S. C., ANTHONY, U. M., BRADY, A. M., GREELAND, A. J., HEAMY, S. P., MURRAY, D. C., POWEL, K. A., SCHULZ, M. A., SPINKS, C. A., WORTHINGTON, P. A., YOULE, D. Rationale and perspectives in the development of fungicides. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 349-372, 1997.

KRETSCHMER, M., LEROCH, M., MOSBACH, A., WALKER, A., FILLINGER, S., MERNKE, D., SCHOONBEEK, H., PRADIER, J., LEROUX, P., WAARD, M. HAHN, M. Fungicide-driven evolution and molecular basis of multidrug resistance in field populations of the grey mould fungus *Botrytis cinerea*. v. 5, n. 12, **Plos Pathogens**. 2009. e1000696. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000696.

LEADBEATER, A. Recent developments and challenges in chemical disease control. **Plant Protection Science**, v. 51, n. 4, p. 163-169, 2015.

LI, Q., TAN, W., ZHANG, C., GU, G., GUO, Z. Synthesis of water soluble chitosan derivatives with halogeno-1,2,3-triazole and their antifungal activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 623-629, 2016.

LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W., FEENEY, P. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 3-26, 1997.

LOGUERCIO-LEITE, C., GROPOSO, C., DRESCHLER-SANTOS, E. R., FIGUEIREDO, N. F., GODINHO, P. S., ABRÃO, R. L. A particularidade de ser um fungo - I. Constituintes celulares. **Biotemas**, v. 16, n. 2, p. 17-27, 2006.

MARZI, M., FARJAM, M., KAZEMINEJAD, Z., SHIROUDI, A., KOUHPAYEH A., ZARENEZHAD, E. A Recent overview of 1,2,3-triazole-containing hybrids as novel antifungal agents: focusing on synthesis, mechanism of action, and structure-activity relationship (SAR). **Journal of Chemistry**, v. 2022, Article ID 7884316, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2022/7884316>. Acesso em: 13 jan. 2022.

MATTA, C. F., GILLESPIE, R. J. Understanding and interpreting molecular electron density distributions. **Journal of Chemical Education**, v. 79, n. 9, p. 1141-1152, 2002.

MENDES, H. T. A., SÃO JOSÉ, A. R. ANJOS, D. N., BOMFIM, M. P., NOVAIS, Q. S. Controle alternativo da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em frutos de mamão 'Sunrise solo'. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 30331-30346, 2020.

MONEY, N. P. Fungal Cell Biology and Development. In: WATKINSON, S., BODDY, L. MONEY, N. P. (Eds.) **The Fungi**, Oxford-UK: Academic Press, 2016. p. 37-66. DOI:10.1016/b978-0-12-382034-1.00002-5.

MONK, B. C., SAGATOVA, A. A., HOSSEINI, P., RUMA, Y. N., WILSON, R. K., KENIYA, M. V. Fungal lanosterol 14 α -demethylase: A target for next-generation antifungal design. **Biochim Biophys Acta, Proteins Proteomics**, v. 1868, n. 3, p. 140206, 2020.

MORAES, S. R. G., TANAKA, F. A. O., MASSOLA JÚNIOR, N. S. Histopathology of *Colletotrichum gloeosporioides* on guava fruits (*Psidium guajava* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 35, n. 2, p. 657-664, 2013.

MORTON, V., STAUB, T. **Short history of fungicides**. Online, APSnet Features. 2008. DOI:10.1094/APSnetFeature-2008-0308.

NISHIMOTO, R. Global trends in the crop protection industry. **Journal of Pesticide Science**, v. 44, n. 3, p. 141-147, 2019.

OGAWA, Y., TOKUNAGA, E., KOBAYASHI, O., HIRAI, K., SHIBATA, N. Current contributions of organofluorine compounds to the agrochemical industry. **iScience**, v. 23, e101467, 2020. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101467.

PARKER, J. E., WARRILOW, A. G. S., PRICE, C. L., MULLINS, J. G. L., KELLY, D. E., KELLY, S. L. Resistance to antifungals that target CYP51. **Journal of Chemical Biology**, v. 7, n. 4, p. 143-161, 2014.

PICCIRILLO, E., AMARAL, A. T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018.

PRICE, C. L., PARKER, J. E., WARRILOW, G. S., KELLY, D. E., KELLY, S. L. Azole fungicides - understanding resistance mechanisms in agricultural fungal pathogens. **Pest Management Science**, v. 71, n. 8, p. 1054-1058, 2015.

QIAN, H., DUAN, M., SUN, X., CHI, M., ZHAO, Y., LIANG, W., DU, J., HUANG, J., LI, B. The binding mechanism between azoles and FgCYP51B, sterol 14 α -demethylase of *Fusarium graminearum*. **Pest Management Science**, v. 74, p. 126-134, 2018.

R Core Team R: A language and environment for statistical computing. **The R Project for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2020. Disponível em: <https://www.r-project.org>. Acesso em: 10 jan. 2021.

RACHEDI, K., OUK, T.-S., BAHADI, R., BOUZINA, A., DJOUAD, S.-E., BECHLEM, K., ZERROUKI, R., HADDA, T. B., ALMALKI, F., BERREDJEM, M. Synthesis, DFT and POM analyses of cytotoxicity activity of α -amidophosphonates derivatives: Identification of potential antiviral O,O-pharmacophore site. **Journal of Molecular Structure**, v. 1197, p. 196-203, 2019.

RAMBERSAD, S. N., TEELUCKSINGH, L. D. Differential responses of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum* isolates from different hosts to multiple fungicides based on two assays. **Plant Disease**, v. 96, p. 1526-1536, 2012.

REDDY, P. P. **Recent advances in crop protection**, Bangalore-Índia: Springer, 2013. 268p. DOI: 10.1007/978-81-322-0723-8.

RITZ, C., STREIBIG, J. C. Bioassay analysis using R. **Journal of Statistical Software**, 2005. Disponível em: <https://www.jstatsoft.org/v012/i05>. Acesso em: 10 jan. 2021.

RUSSELL, P. E. A century of fungicide evolution. **Journal of Agricultural Science**, v. 143, p. 11-25, 2005.

SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de Modelagem Molecular para Estudo e Planejamento de Compostos Bioativos: Uma Introdução. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 1, p. 49-57, 2009.

SANTOS, C. B. R., LOBATO, C. C., BRAGA, F. S., MORAIS, S. S. S., SANTOS, C. F., FERNANDES, C. P., BRASIL, D. S. B., HAGE-MELIM, L. I. S., MACÊDO, W. J. C., CARVALHO, J. C. T. Application of Hartree-Fock method for modeling of bioactive molecules using SAR and QSPR. **Computational Molecular Bioscience**, v. 4, p. 1-24, 2014.

SAUTER, H., STEGLICH, W., ANKE, T. Strobilurins: Evolution of a New Class of Active Substances. **Angewandte. Chemie International Edition**, v. 38, p. 1328-1349, 1999.

SAVARY, S., FICKE, A., AUBERTOT, J.-N., HOLLIER, C. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. **Food Security**, v. 4, p. 519-537, 2012.

SENET, P. Chemical hardnesses of atoms and molecules from frontier orbitals. **Chemical Physics Letters**, v. 275, p. 527-532, 1997.

SHARMA, J., ROSIANA, S., RAZZAQ, I., SHAPIRO, R. Linking Cellular Morphogenesis with Antifungal Treatment and Susceptibility in Candida Pathogens. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 1, p. 17, 2019. DOI: 10.3390/jof5010017.

SPARTAN 14 (software), **Wave Function**, INC, Irvine, CA, 2015.

SPOLTI, P., DEL PONTE, E. M., DONG, Y., CUMMINGS, J. A., BERGSTROM, G. C. Triazole sensitivity in a contemporary population of *Fusarium graminearum* from New York wheat and competitiveness of a tebuconazole-resistant isolate. **Plant Disease**, v. 98, p. 607-613, 2014.

STETTER, J., LIEB, F. Innovation in crop protection: Trends in research. **Angewandte. Chemie International Edition**, v. 39, n. 10, p. 1724-1744, 2000.

SU, N.-N., LI, Y., YU, S.-J., ZHANG, X., LIU, X.-H., ZHAO, W.-G. Microwave-assisted synthesis of some novel 1,2,3- triazoles by click chemistry, and their biological activity. **Research on Chemical Intermediates**, v. 39, n. 2, p.759-766, 2012.

SUETH-SANTIAGO, V., FRANKLIN, T. N., LOPES, N. D., LIMA, M. E. F. CYP51: Uma boa ideia? **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, p. 539-575, 2015.

TEIXEIRA, R. R., BRESSAN, G. C., PEREIRA, W. L., FERREIRA, J. G., OLIVEIRA, F. M., THOMAZ, D. C. Synthesis and antiproliferative activity of C-3 functionalized isobenzofuran-1(3*H*)-ones. **Molecules**, v. 18, p.1881-1896, 2013.

TICE, C. M. **Pest Management Science**, v. 57, n. 1, p. 3-16, 2001.

TUNER, J. A. **The Pesticide Manual** - A World Compendium, 18ed., United Kingdom: British Crop Protection Council, 2018. 1408p.

TZOUNIS, A., KATSOULAS, N., BARZANAS, T., KITTAS, C. Internet of things in agriculture, recent advances and future challenges. **Biosystems Engineering**, v. 164, p. 31-48, 2017.

VASCONCELLOS, M. L. A. A. A teoria de pearson para a disciplina de química orgânica: um exercício prático e teórico aplicado em sala de aula. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 171-175, 2014.

WANG, J., TAN, H., LI, Y., MA, Y., LI, Z., GUDDAT, L. W. Chemical synthesis, in vitro acetohydroxyacid synthase (AHAS) inhibition, herbicidal activity, and computational studies of isatin derivatives, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 9892-9900, 2011.

WARE, G. W., WHITACRE, D. M. **The Pesticide Book**, 6ed., Willoughby, OH: Meister Media Publishing Company, 2004. 488p.

WEIR, B. S., JOHNSTON, P. R., DAMM, U. The Colletotrichum gloeosporioides species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 115-180, 2012.

XAVIER, S., PERIANDY, S., RAMALINGAM, S. NBO, conformational, NLO, HOMO-LUMO, NMR and electronic spectral study on 1-phenyl-1-propanol by quantum computational methods, **Spectrochimica Acta. Part A**, v. 137, p. 306-320, 2015.

XIE, F., NI, T., ZHAO, J., PANG, L., LI, R., CAI, Z., DING, Z., WANG, T., YU, S., JIN, Y., ZHANG, D., JIANG, Y. Design, synthesis, and in vitro evaluation of novel antifungal triazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 2171-2173, 2017.

ZHANG, G., MUSGRAVE, C. B. Comparison of DFT Methods for Molecular Orbital Eigenvalue Calculations, **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 111, n. 8, p. 1554-1561, 2007.

ZHENG, Y. Z., WANG, S. Advances in antifungal drug measurement by liquid chromatography-mass spectrometry. **Clinica Chimica Acta**, v. 491, p. 132-145, 2019.

CONCLUSÕES GERAIS

Usando o triol glicerol como material de partida, largamente disponível, foram sintetizados, em quatro etapas, via reação *click*, uma série de 11 derivados 1,2,3-triazólicos inéditos (**4a** a **4k**). Destes compostos, 10 eram triazóis fluorados.

A avaliação dos triazóis sobre *Lactuca sativa* revelou que eles têm efeitos sobre parâmetros fitotóxicos e citogenotóxicos com diferentes graus de eficiência. Os compostos **4a**, **4b**, **4d**, **4e**, **4i** e **4j** apresentaram comportamento de inibição pré-emergentes, enquanto os compostos **4a**, **4b**, **4d**, **4e**, **4f**, **4g**, **4h** e **4i** mostraram efeito pós-emergente, em todas as concentrações testadas, evidenciando a eficiência das concentrações na inibição do crescimento da parte aérea da planta modelo *L. sativa*. Os parâmetros citogenotóxicos corroboraram os resultados de fitotoxicidade, pois foram observadas ação clastogênica, aneugênica e epigenética dos compostos nas células meristemáticas das raízes da planta modelo *L. sativa*.

Os 11 compostos 1,2,3-triazólicos foram também avaliados frente ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, um importante patógeno agrícola, agente causador da antracnose do mamão. Entre os triazóis avaliados, o derivado **4d** (que possui um átomo de flúor na posição *orto* do anel benzênico) se destacou, inibindo o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em taxas comparáveis ao fungicida comercial tebuconazol, usado como controle positivo. Cálculos teóricos computacionais revelaram que os triazóis sintetizados apresentam parâmetros físico-químicos favoráveis para fins agroquímicos.

Em suma, os resultados apresentados neste trabalho apontam que os compostos 1,2,3-triazólicos fluorados derivados do glicerol podem ser compostos líderes (do inglês, *lead compounds*) a serem explorados para a busca e o desenvolvimento de novos agentes agroquímicos, no controle de plantas daninhas e/ou fungos, objetivando compostos com maior atividade e menor impacto ambiental e para a saúde.

ANEXOS

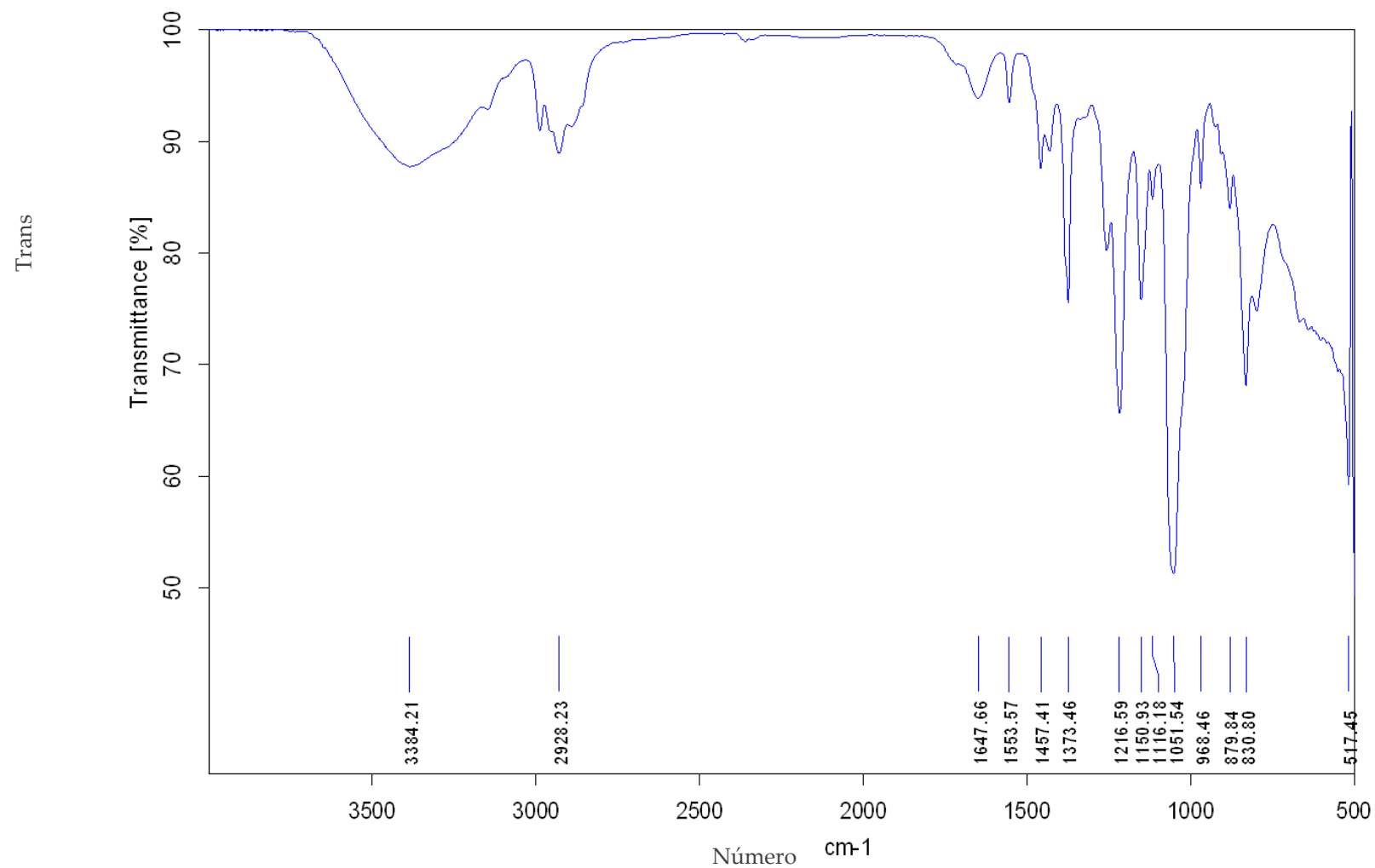


Figura A1 - Espectro no IV do composto **4a**.

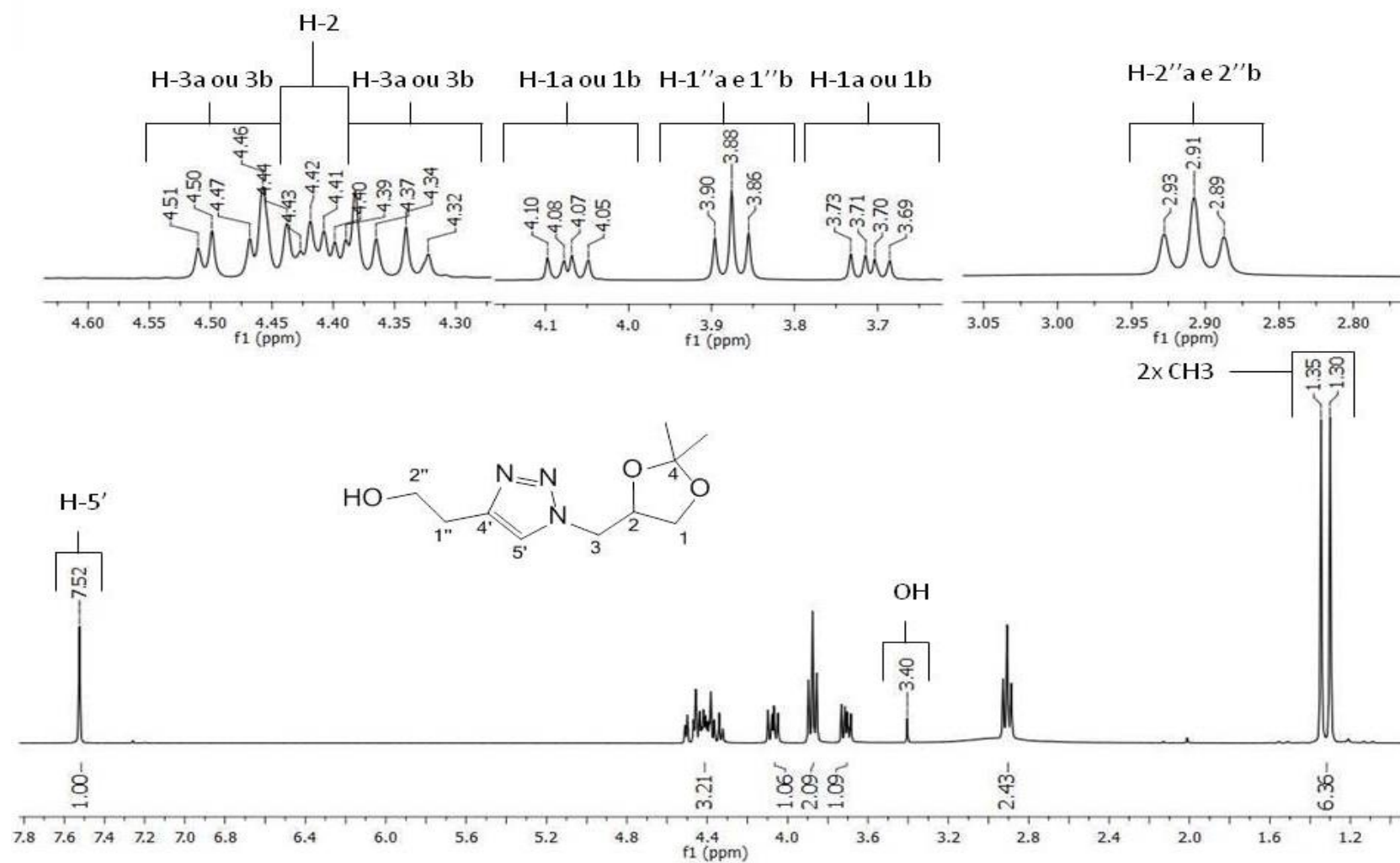


Figura A2 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 Mhz) do composto **4a**.

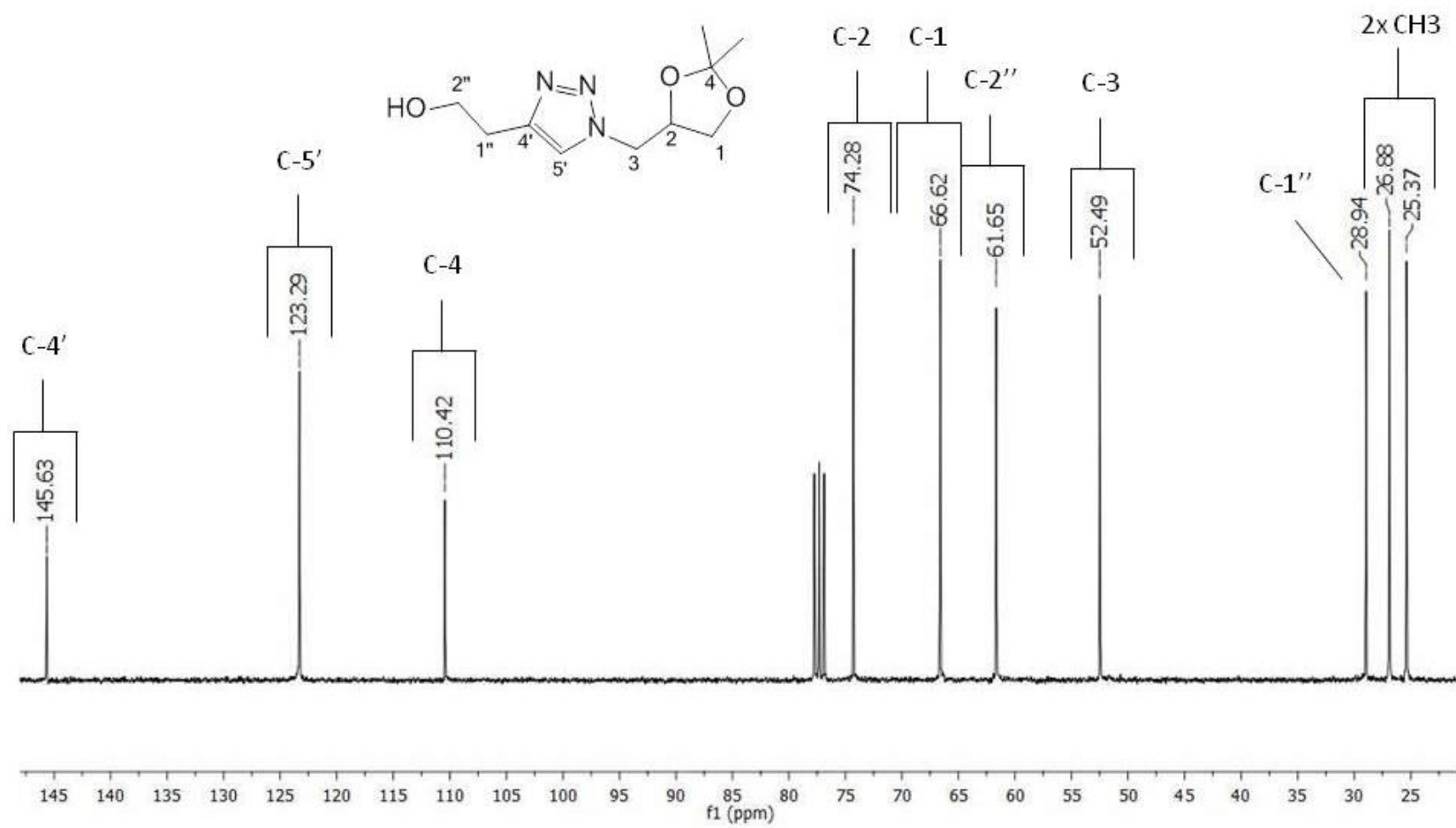


Figura A3 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 Mhz) do composto **4a**.

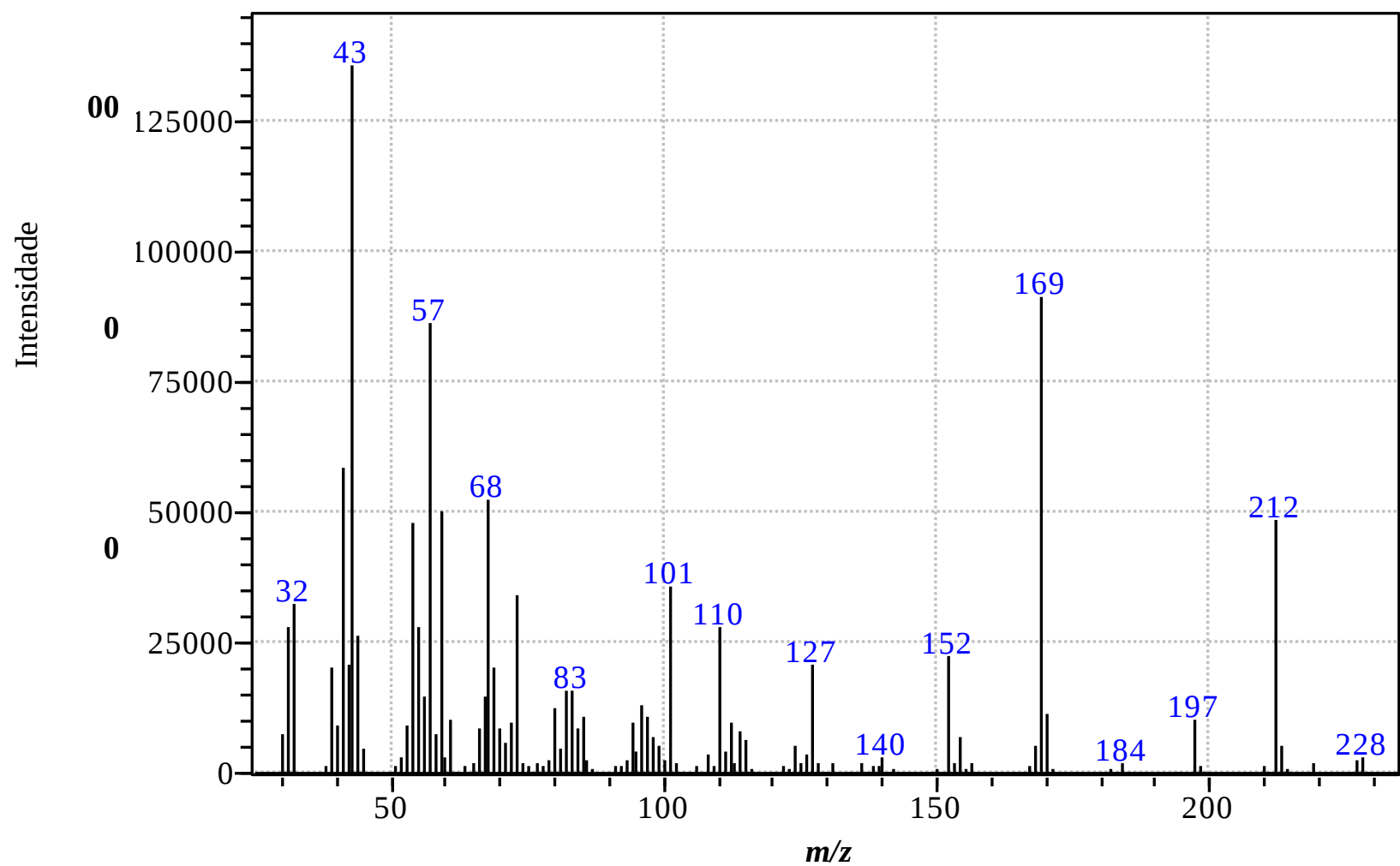


Figura A4 - Espectro de massas do composto **4a**.

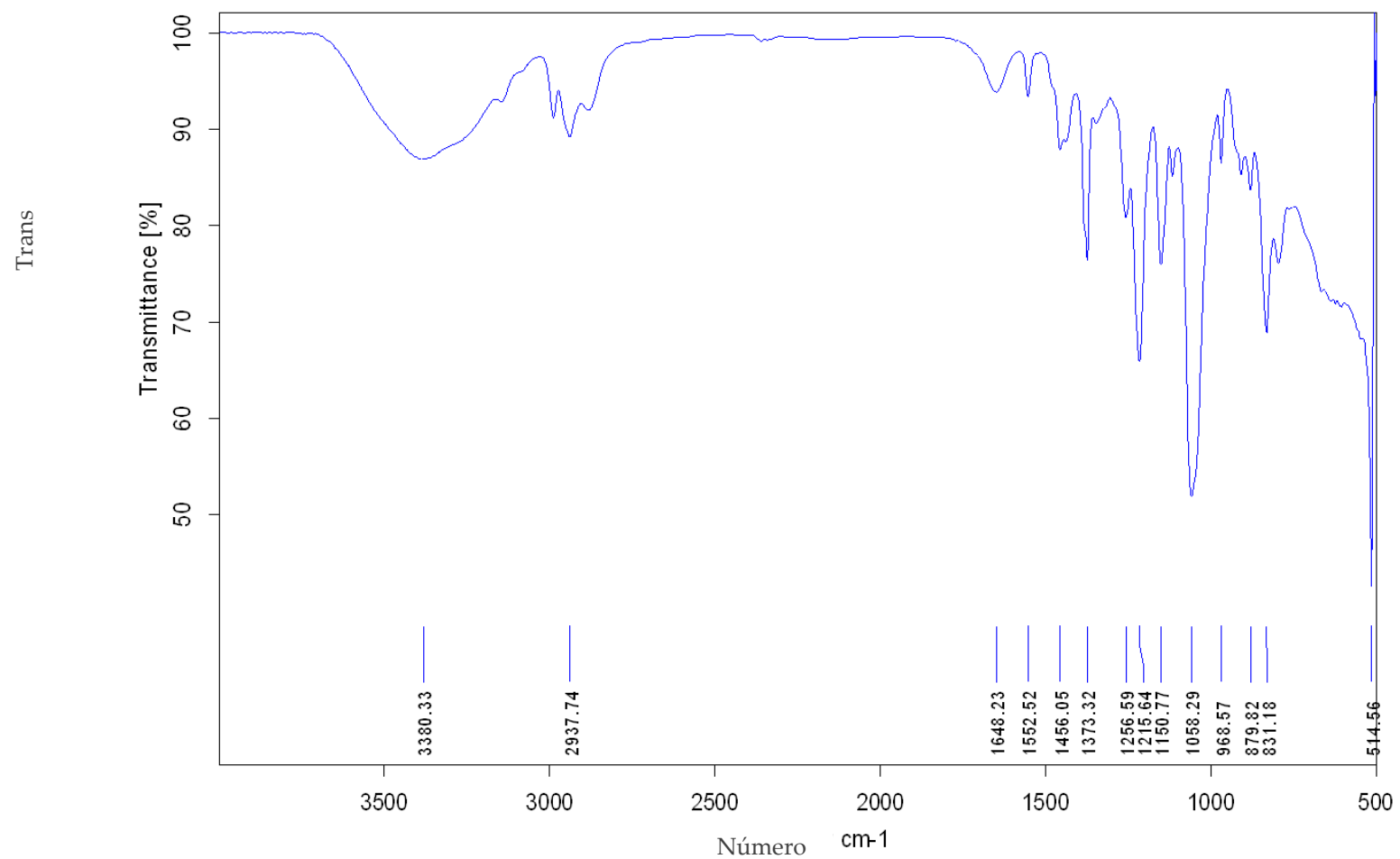


Figura A5 - Espectro no IV do composto **4c**.

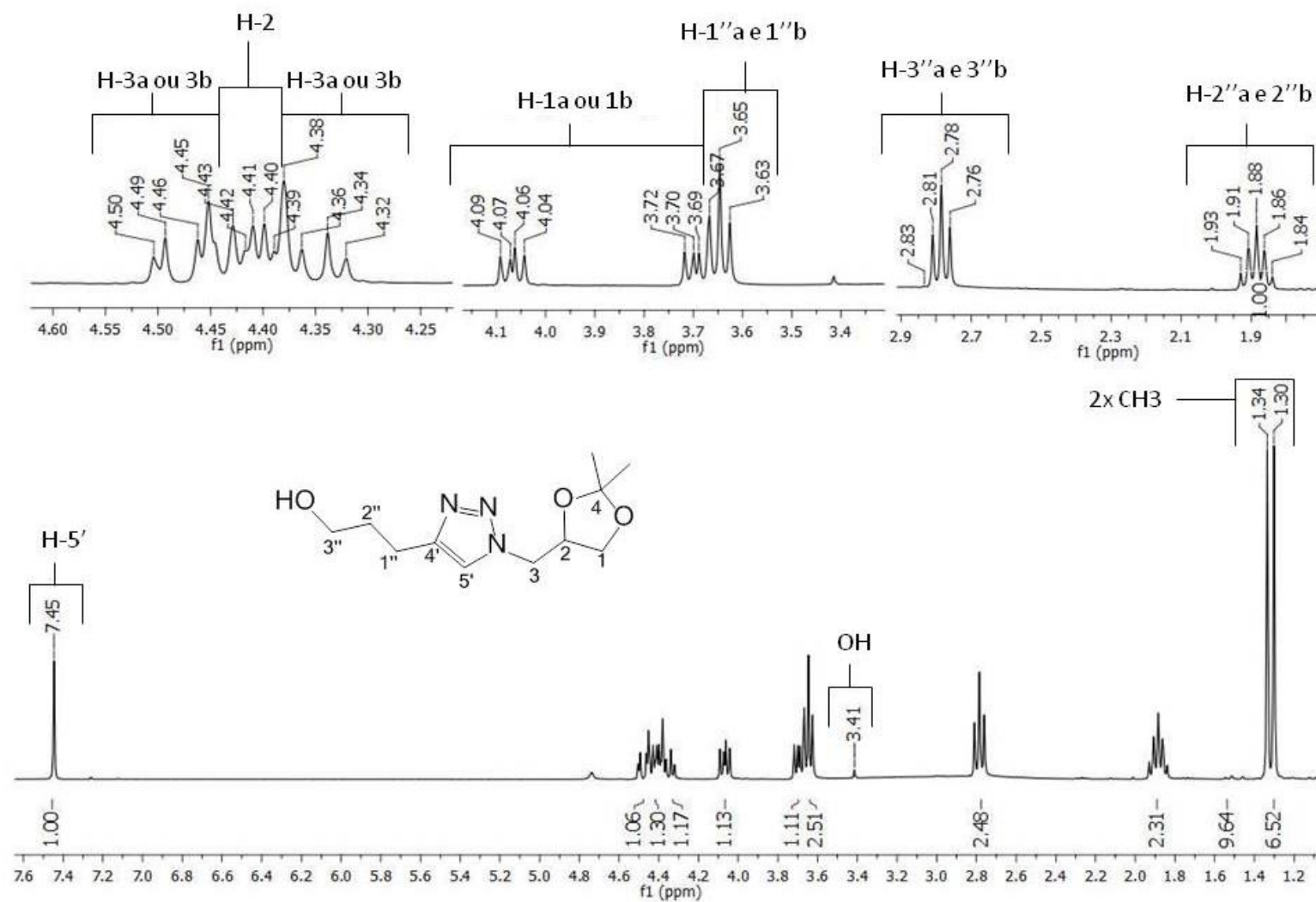


Figura A6 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 Mhz) do composto **4c**.

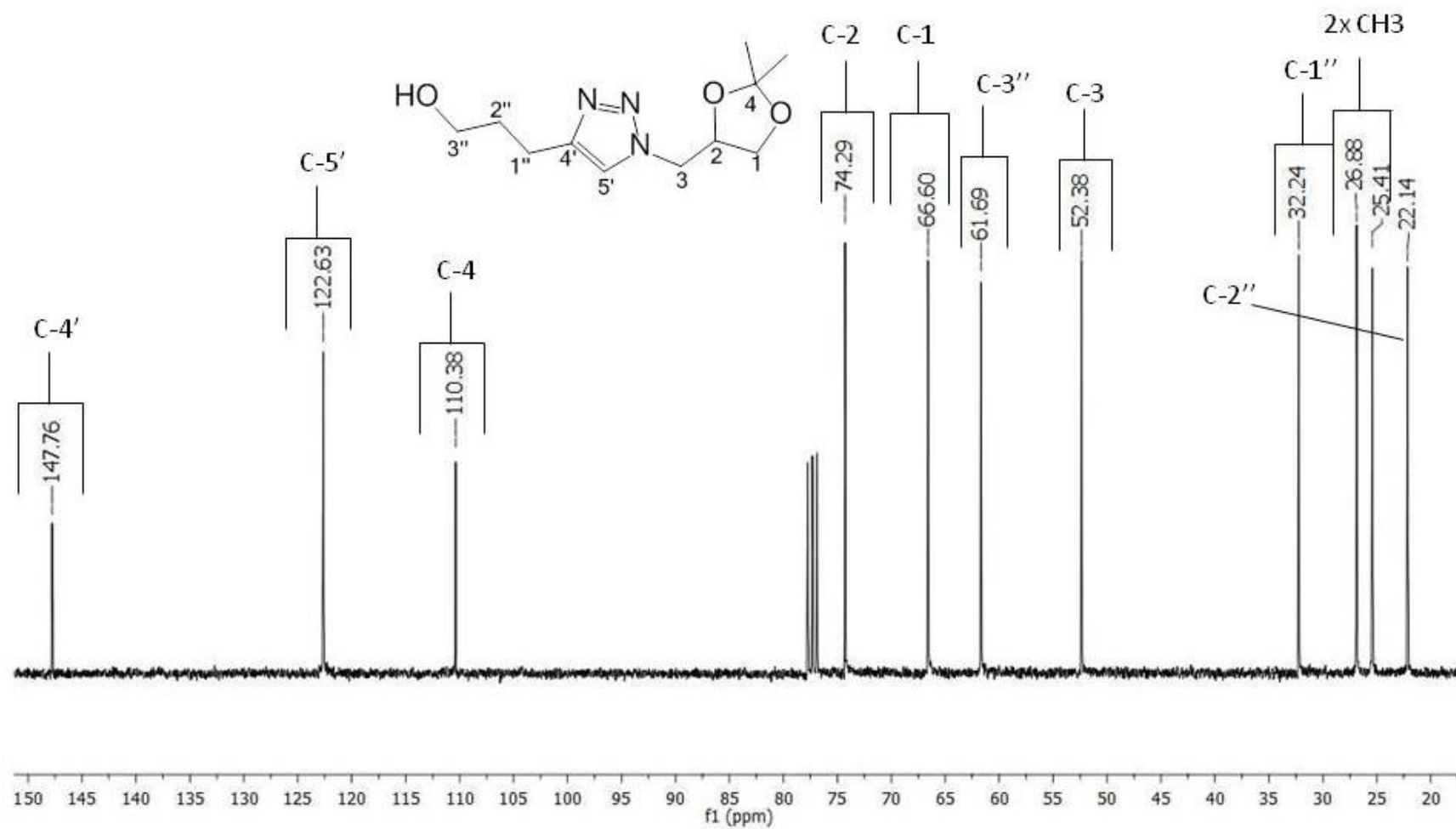


Figura A7 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 Mhz) do composto **4c**.

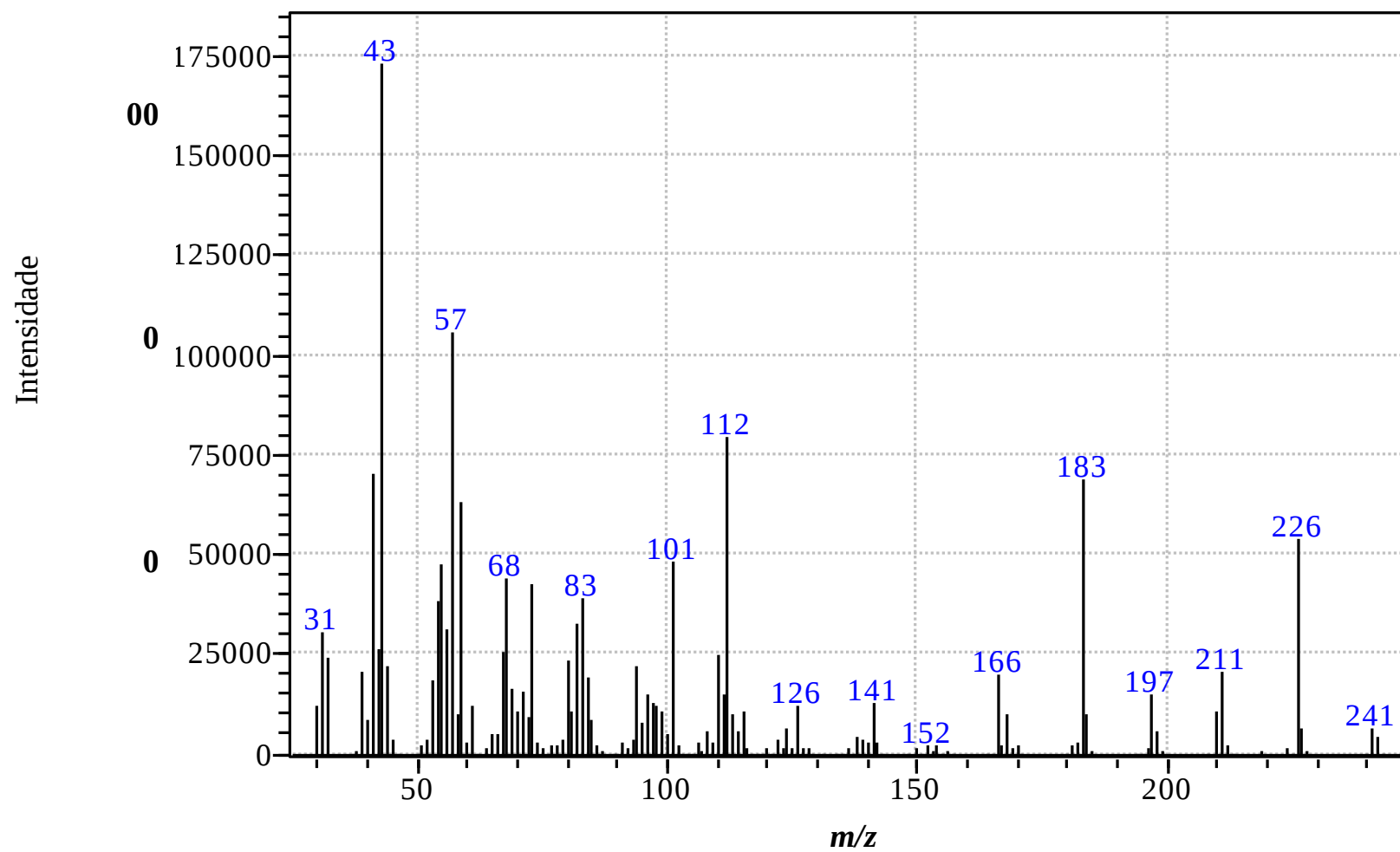


Figura A8 - Espectro de massas do composto **4c**.

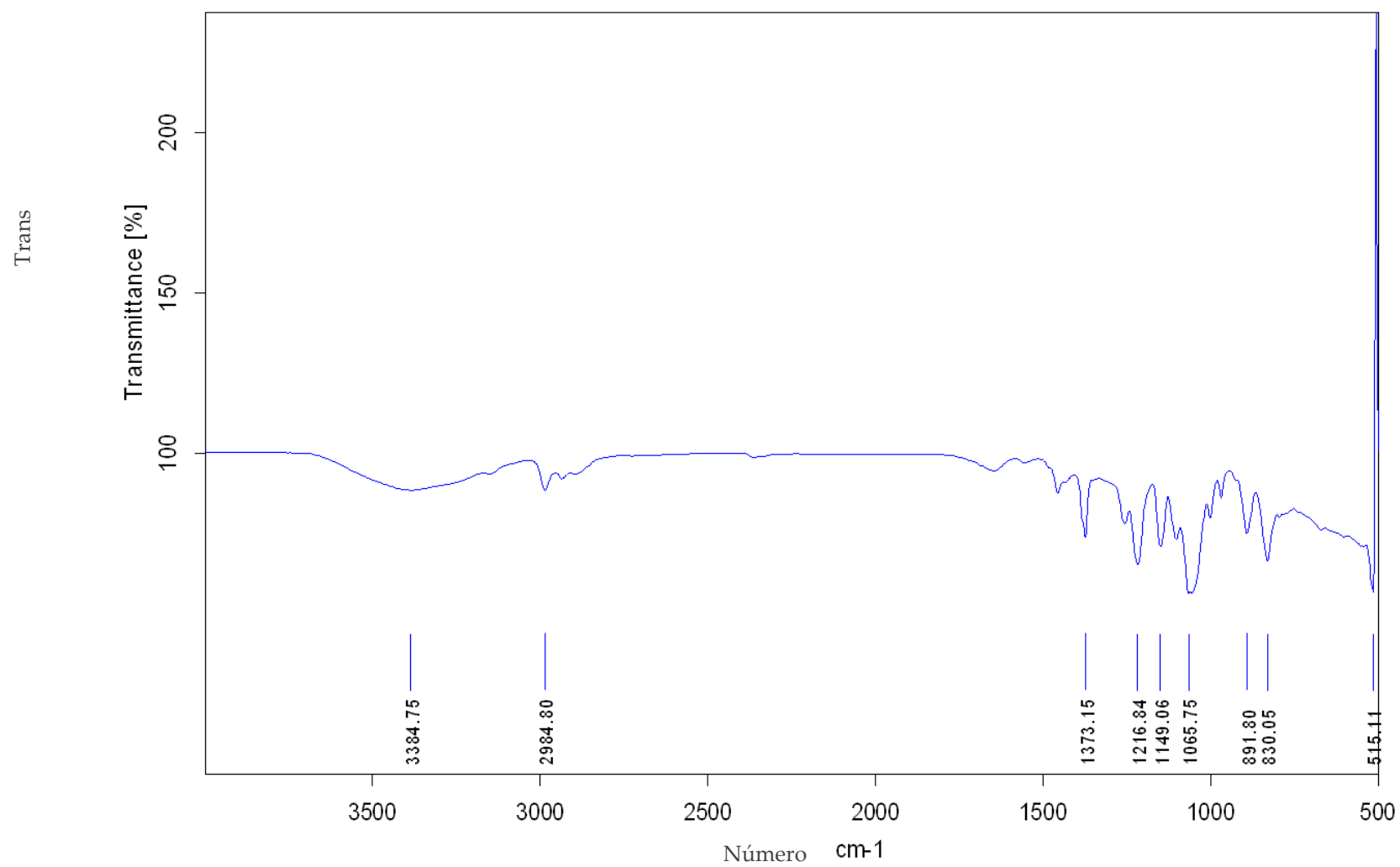


Figura A9 - Espectro no IV do composto **4d**.

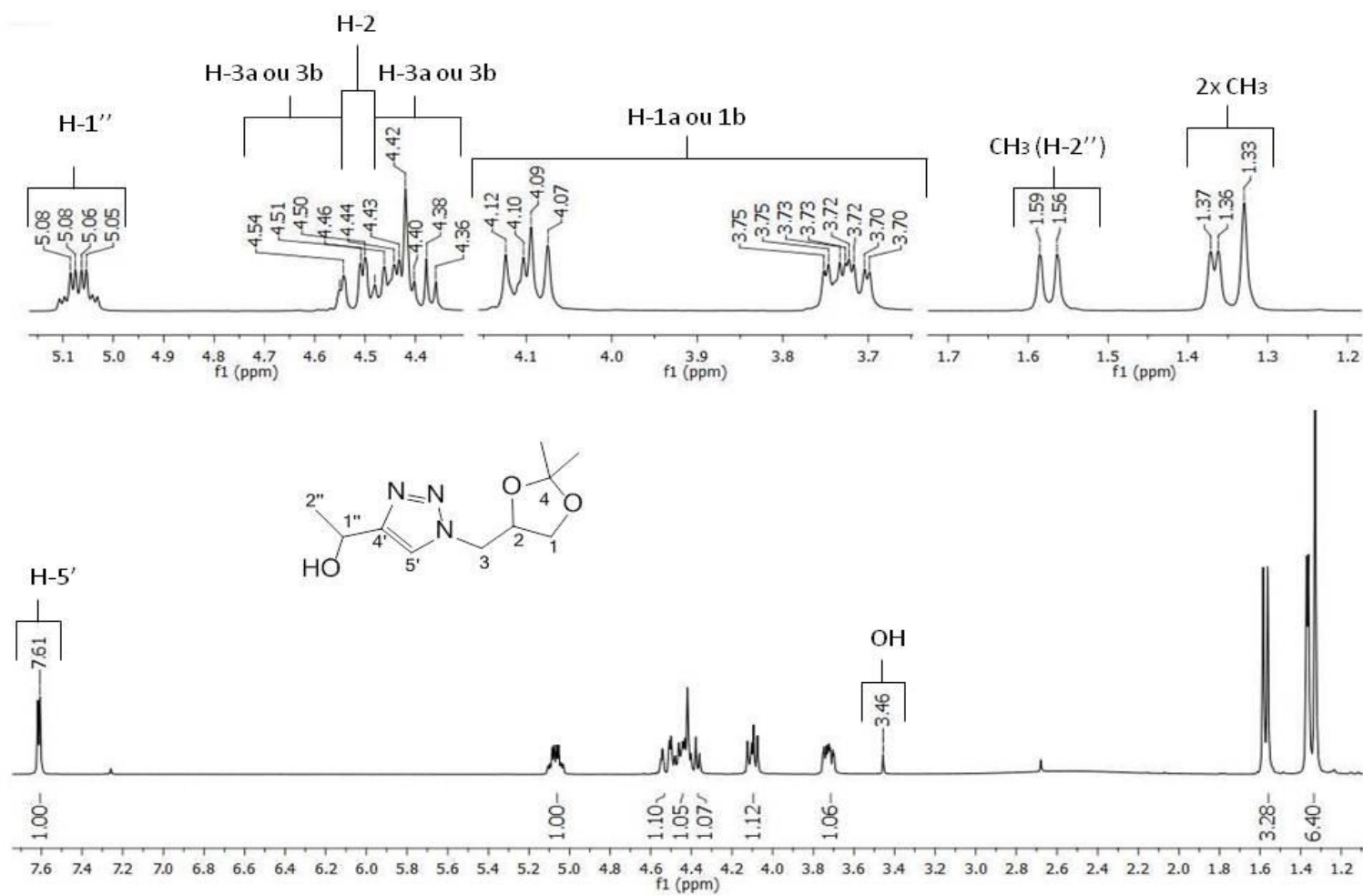


Figura A10 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 Mhz) do composto **4d**.

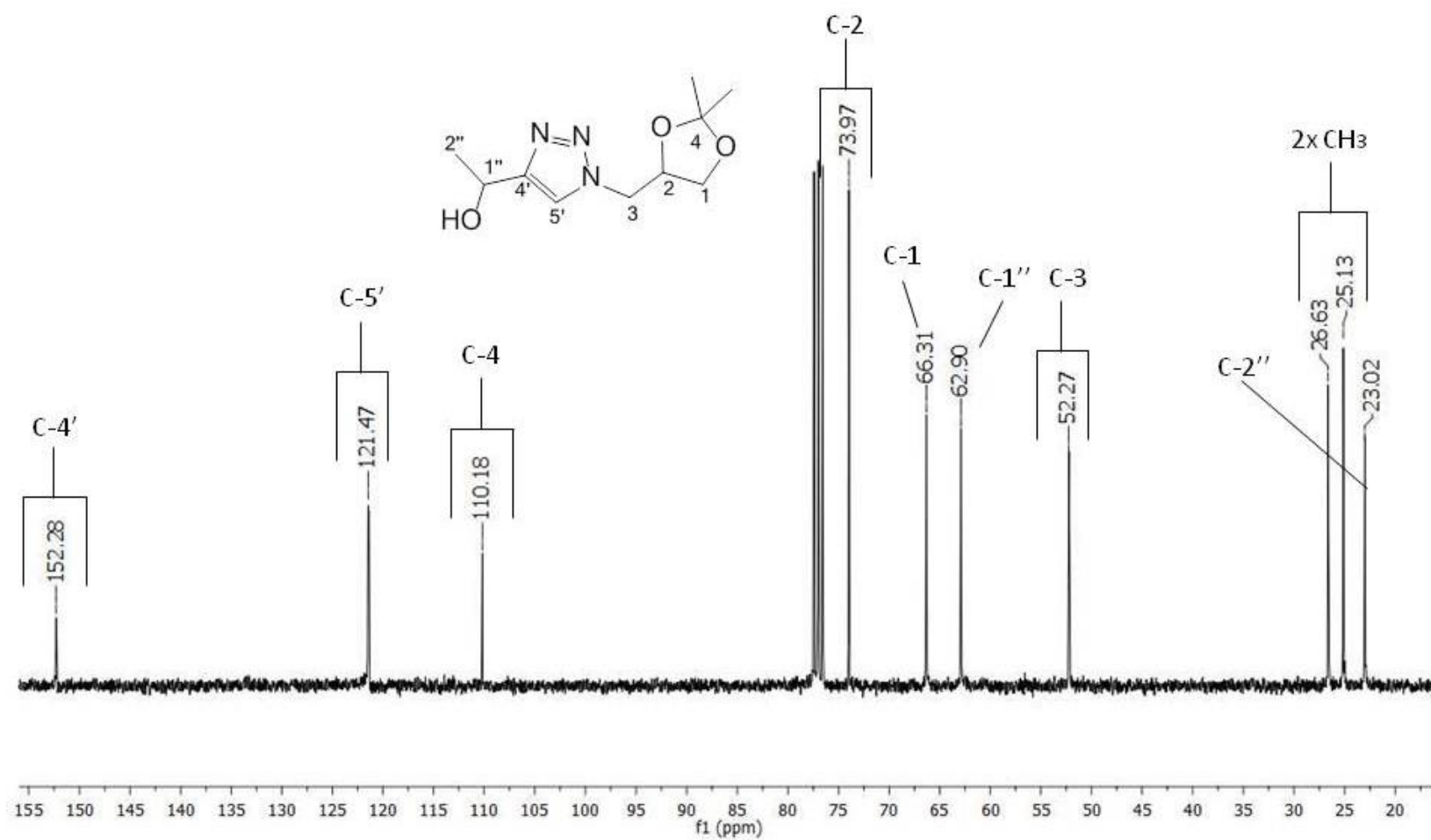


Figura A11 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 Mhz) do composto **4d**.

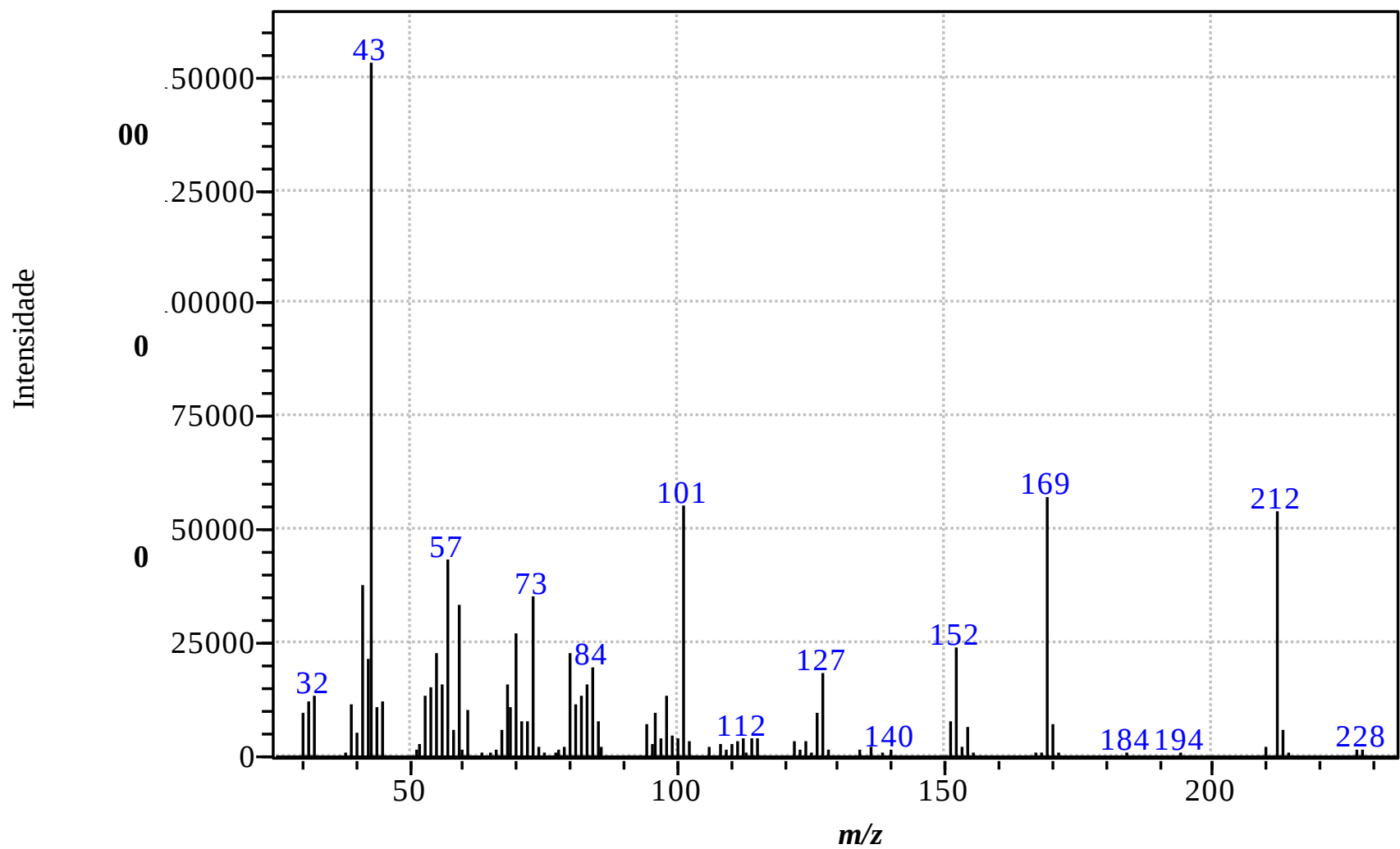


Figura A12 - Espectro de massas do composto **4d**.

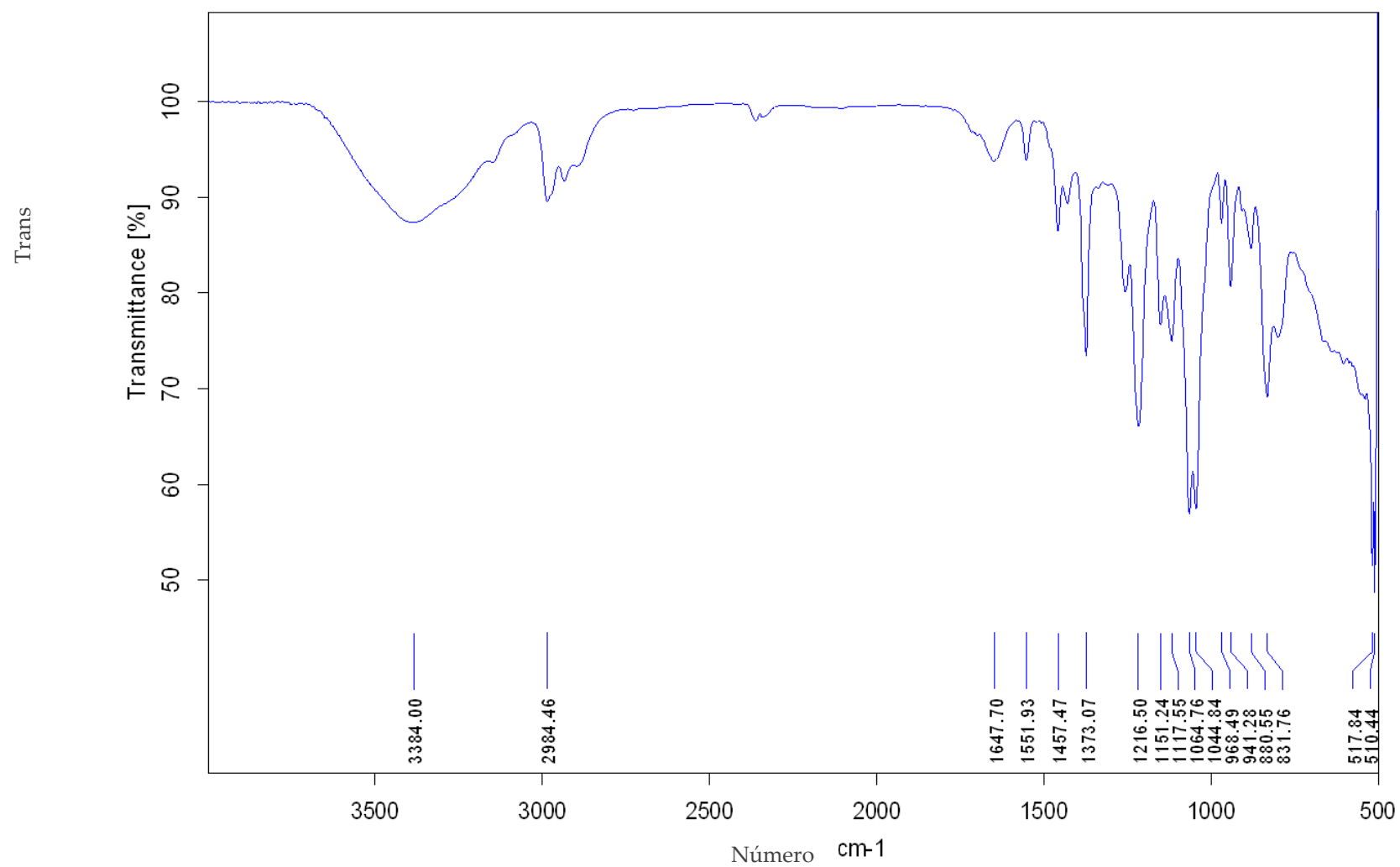


Figura A13 - Espectro no IV do composto **4e**.

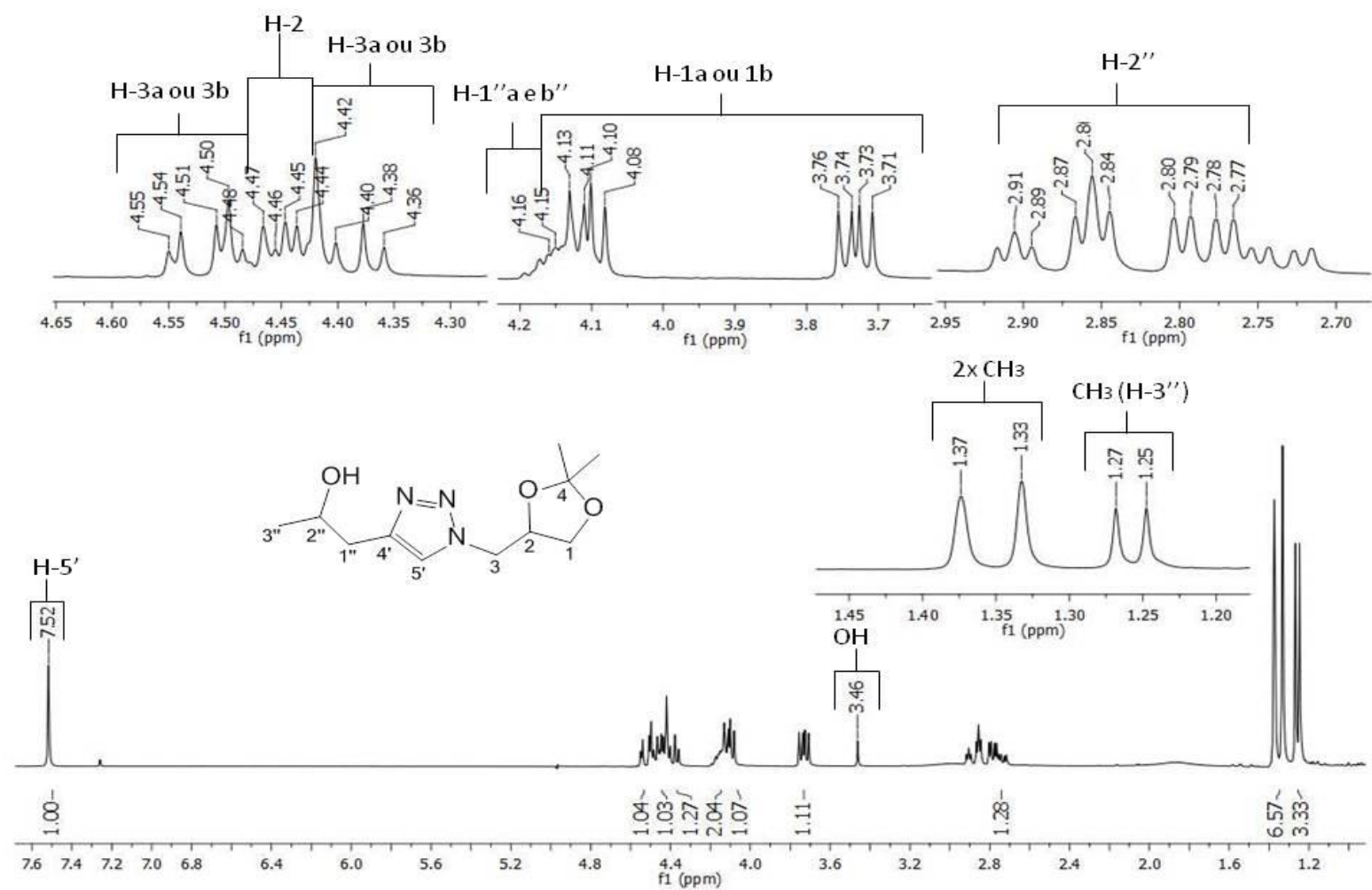


Figura A14 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 Mhz) do composto **4e**.

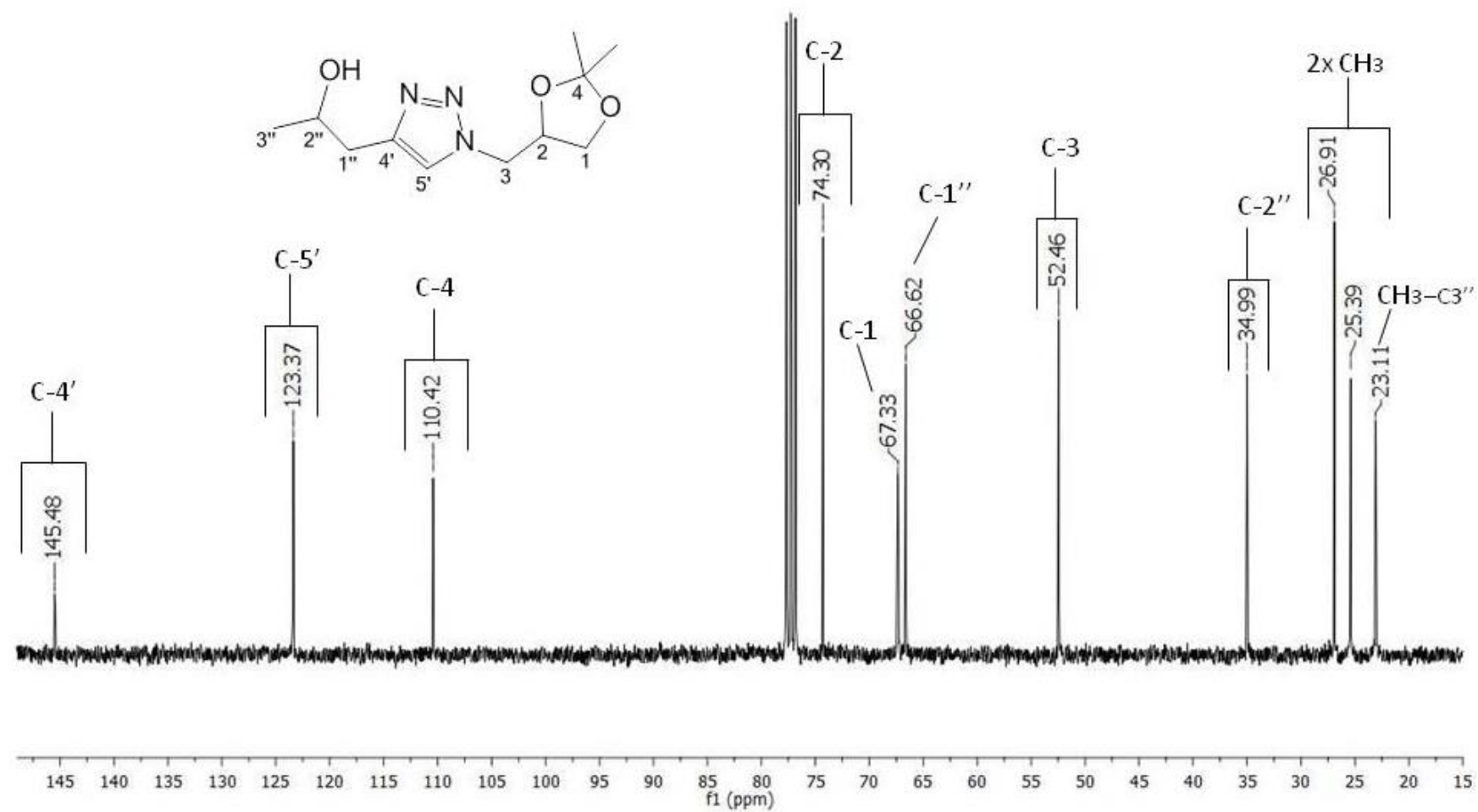


Figura A15 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 Mhz) do composto **4e**.

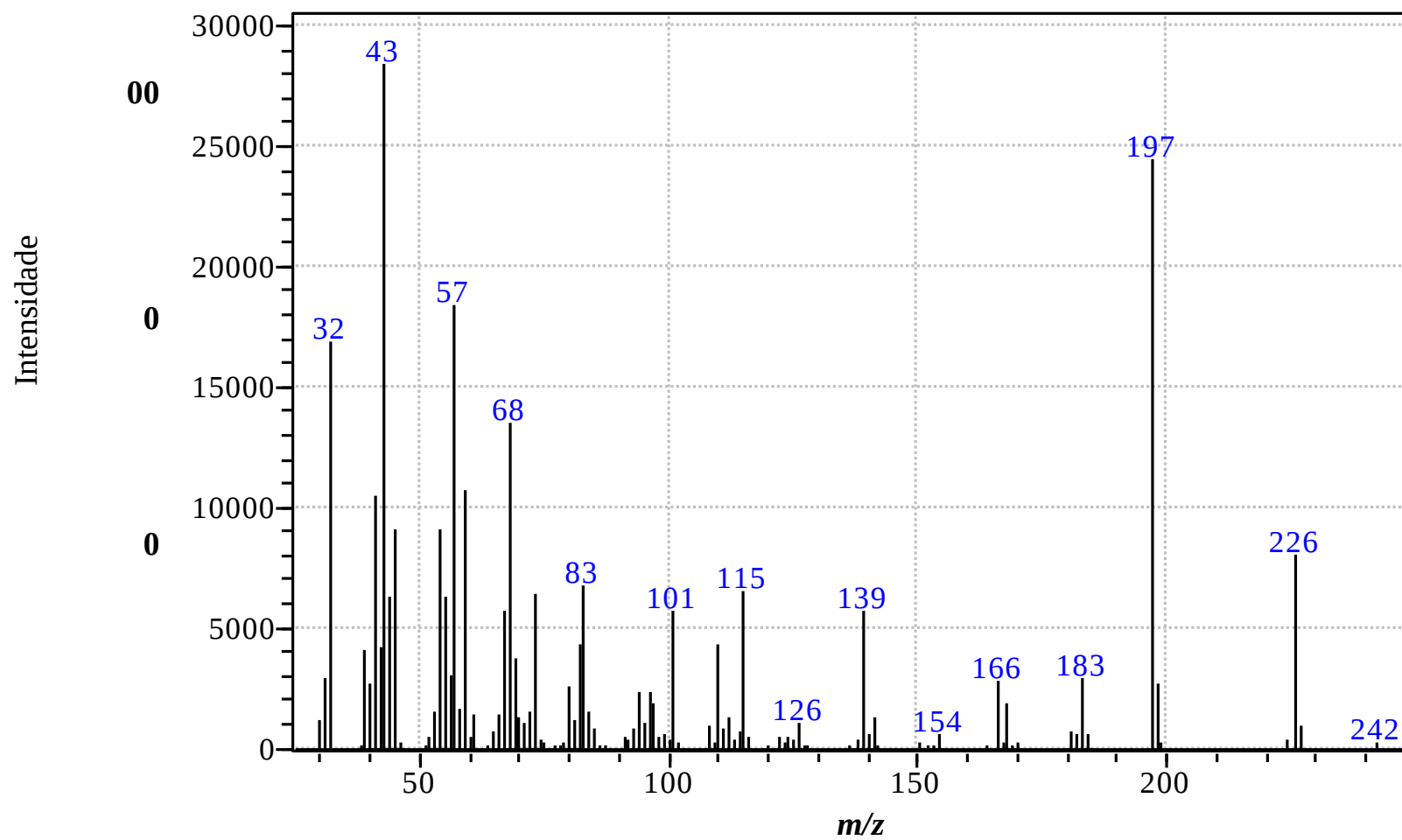


Figura A16 - Espectro de massas do composto **4e**.

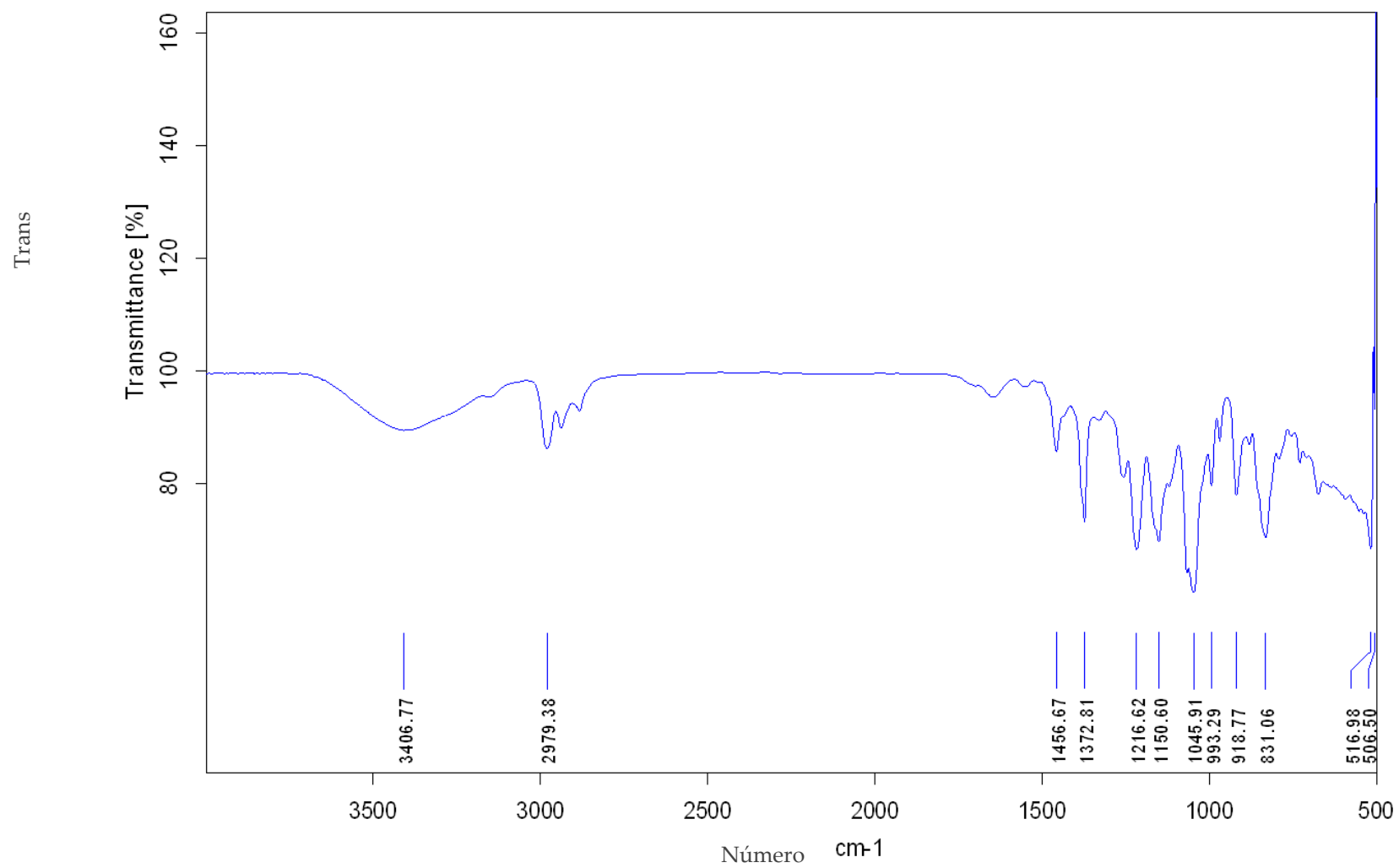


Figura A17 - Espectro no IV do composto **4f**.

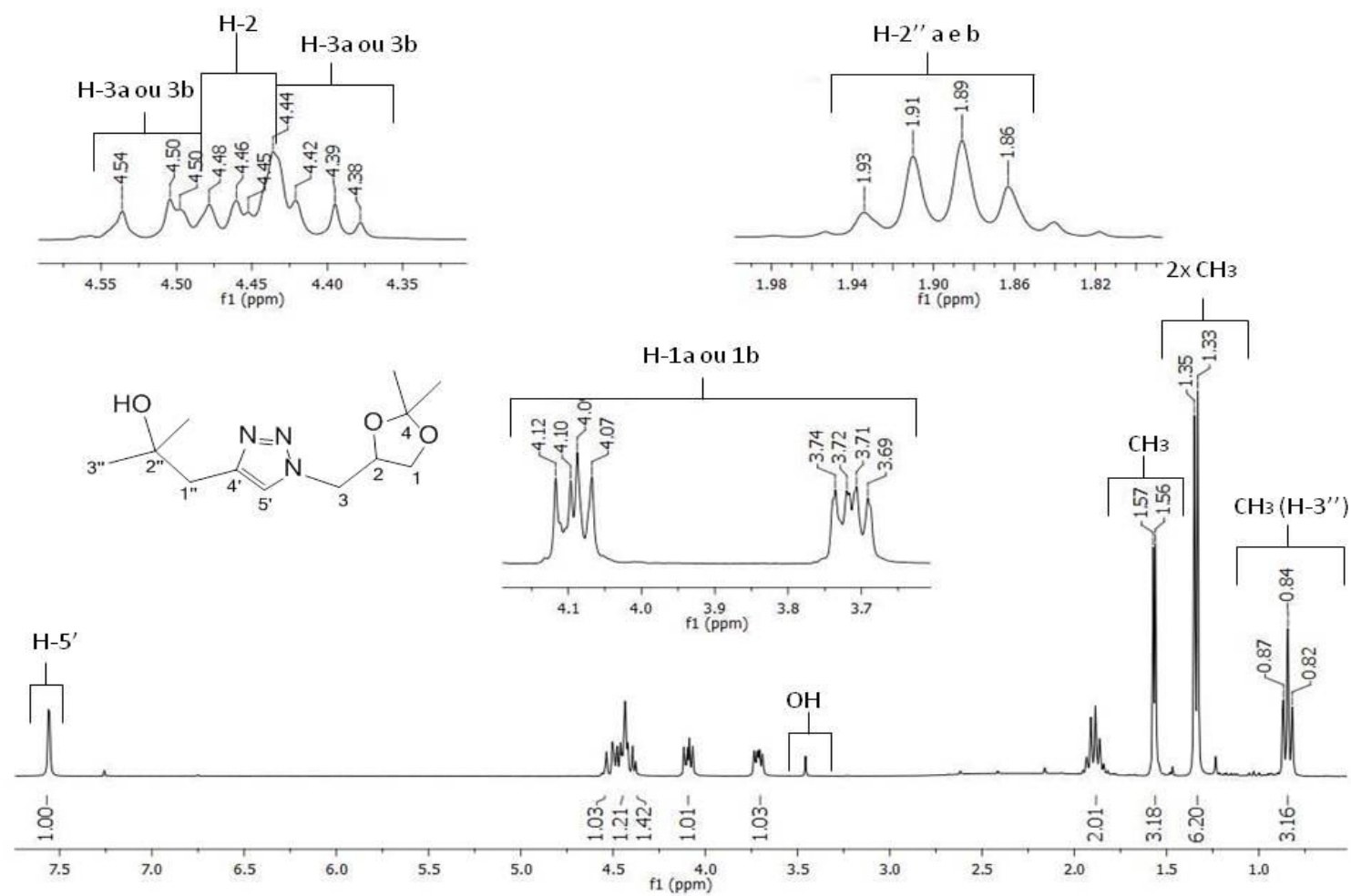


Figura A18 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 Mhz) do composto **4f**.

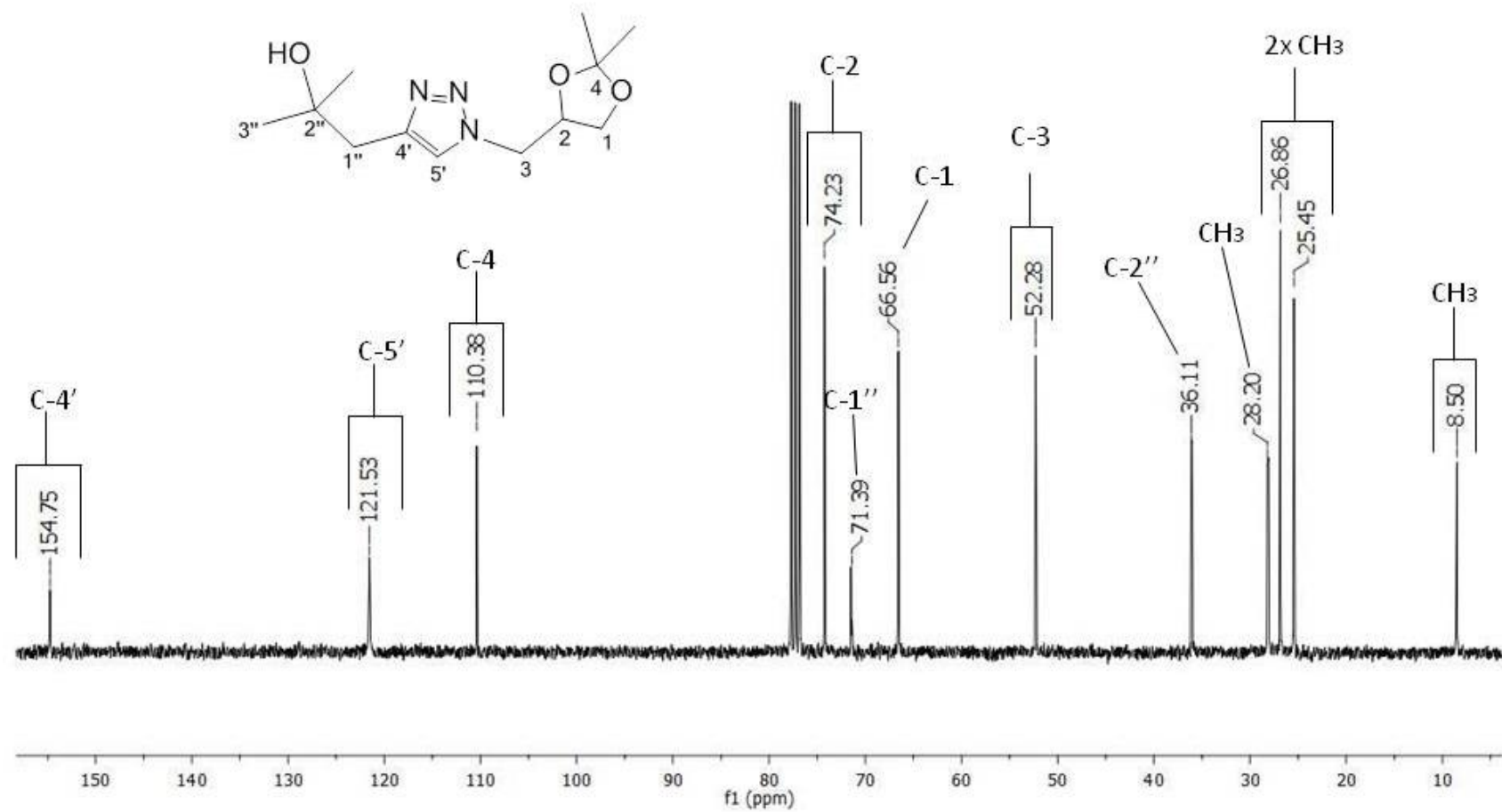


Figura A19 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 Mhz) do composto **4f**.

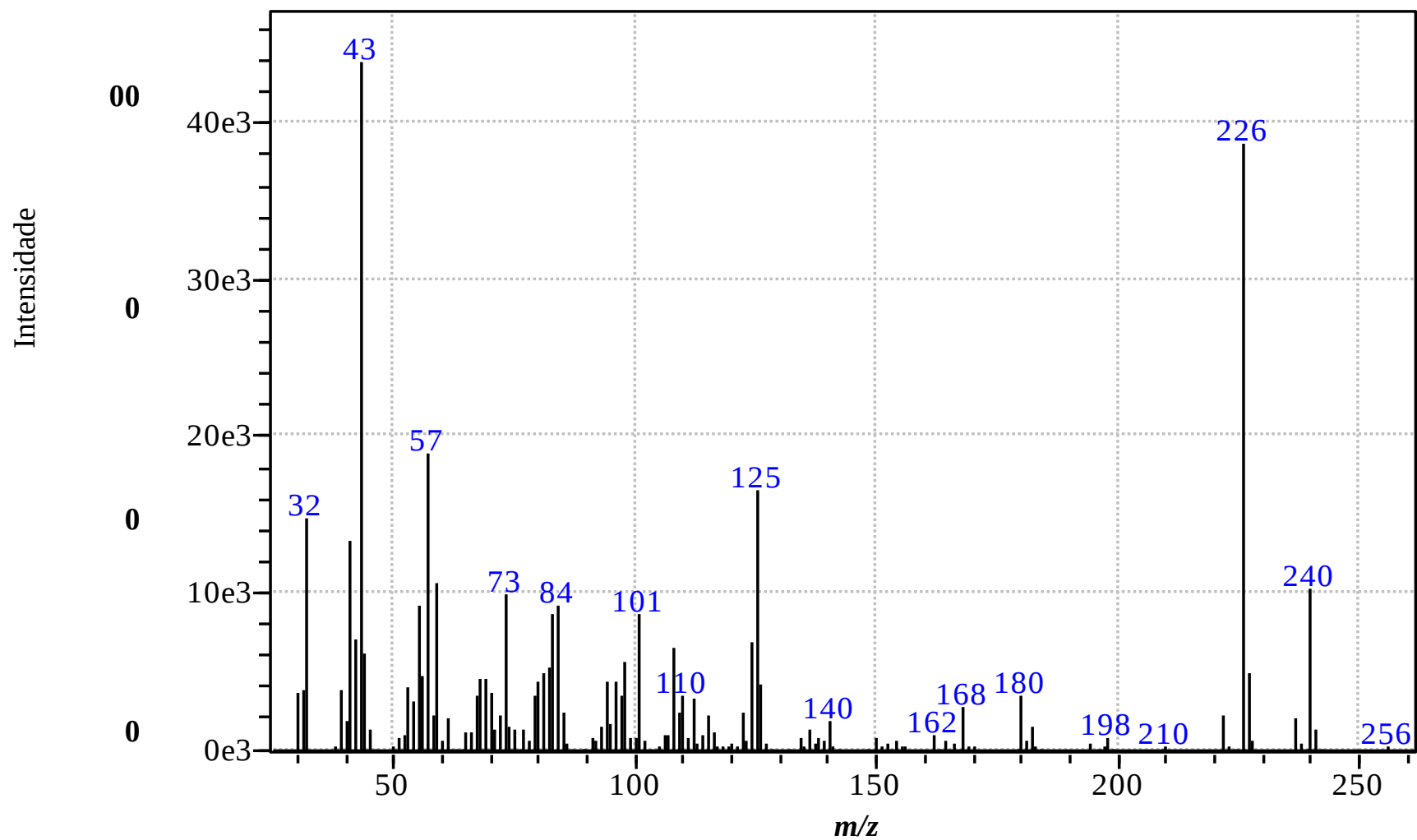


Figura A20 - Espectro de massas do composto **4f**.

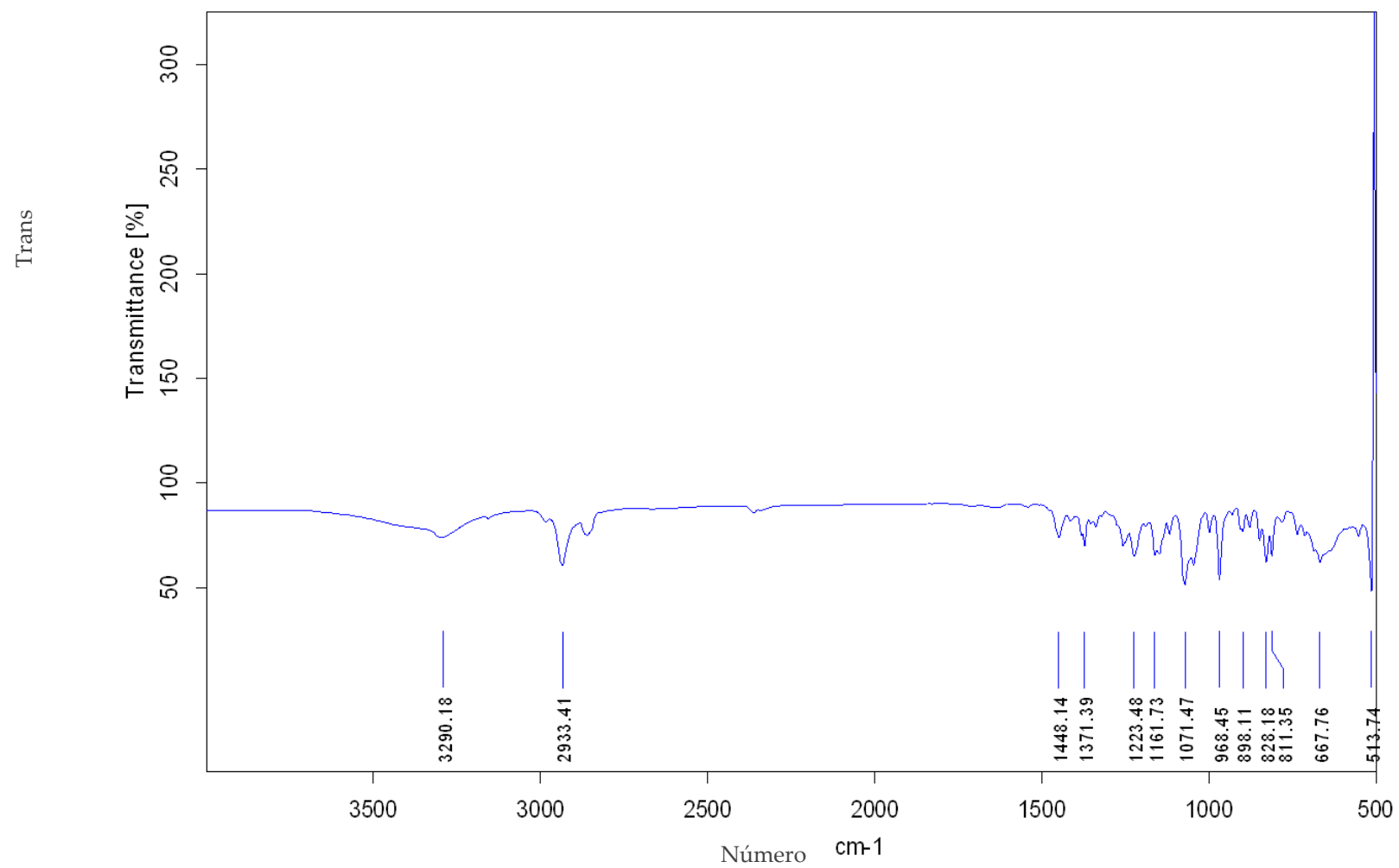


Figura A21 - Espectro no IV do composto **4g**.

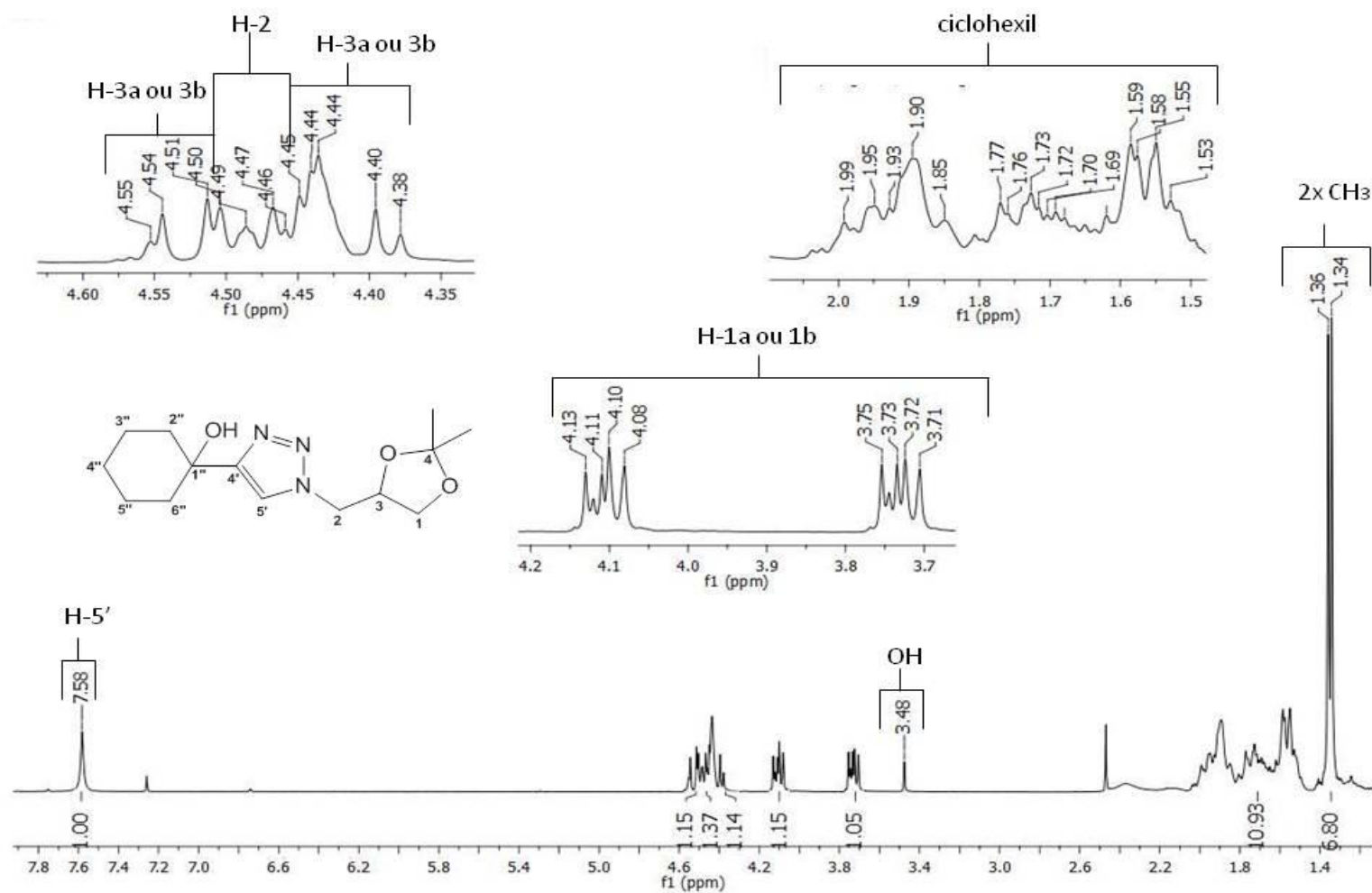


Figura A22 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 Mhz) do composto **4g**.

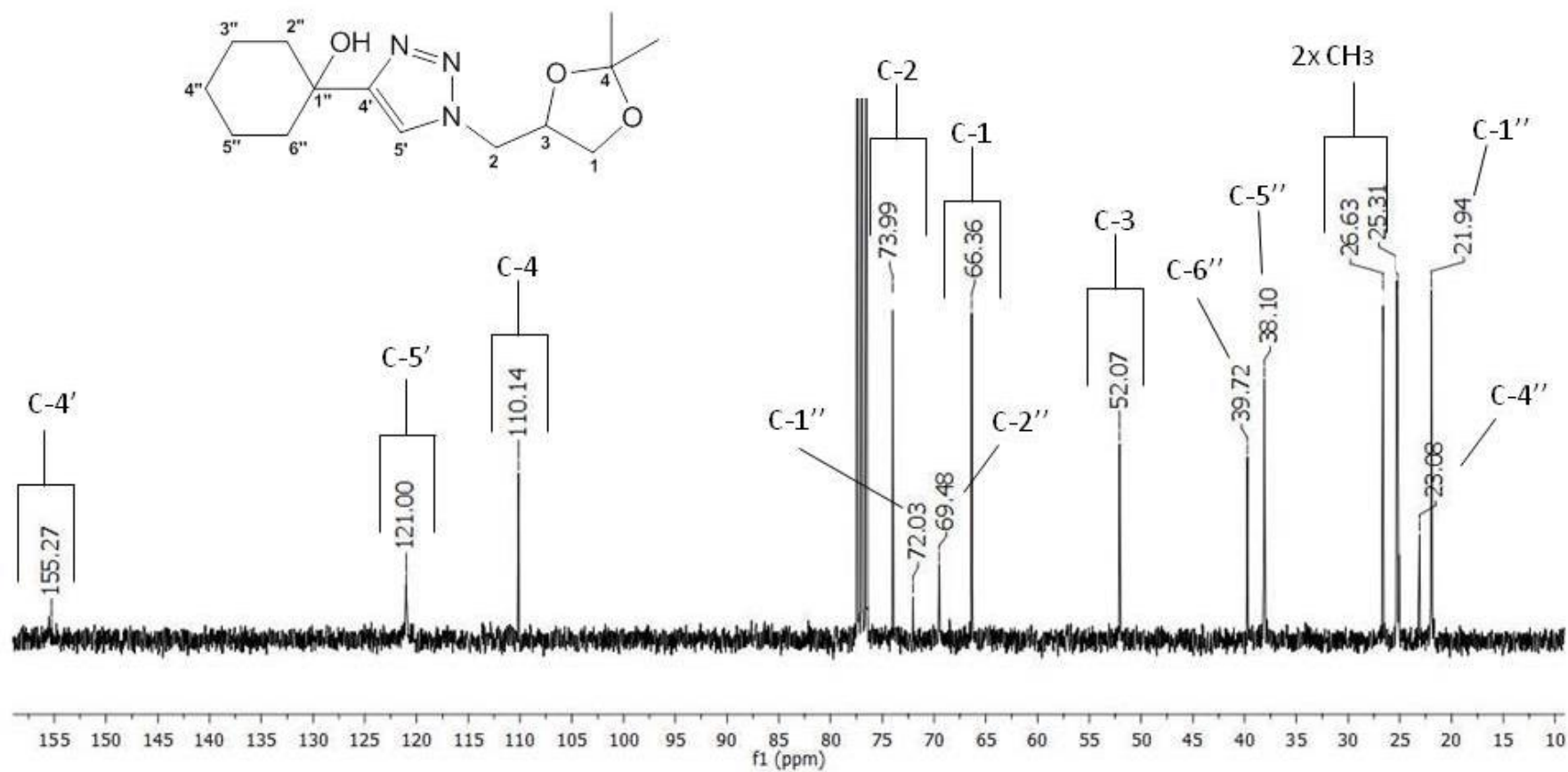


Figura A23 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 Mhz) do composto **4g**.

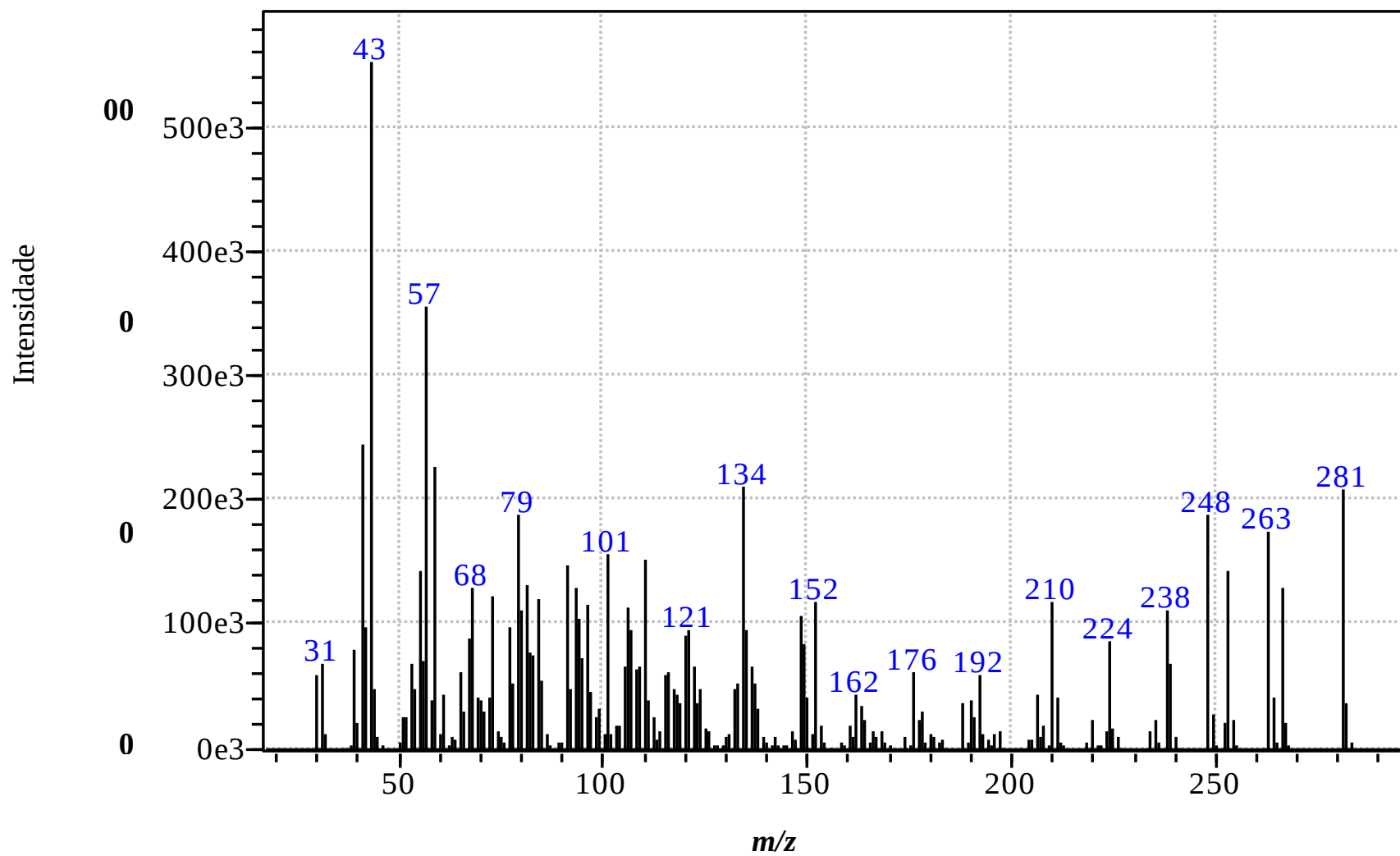


Figura A24 - Espectro de massas do composto **4g**.

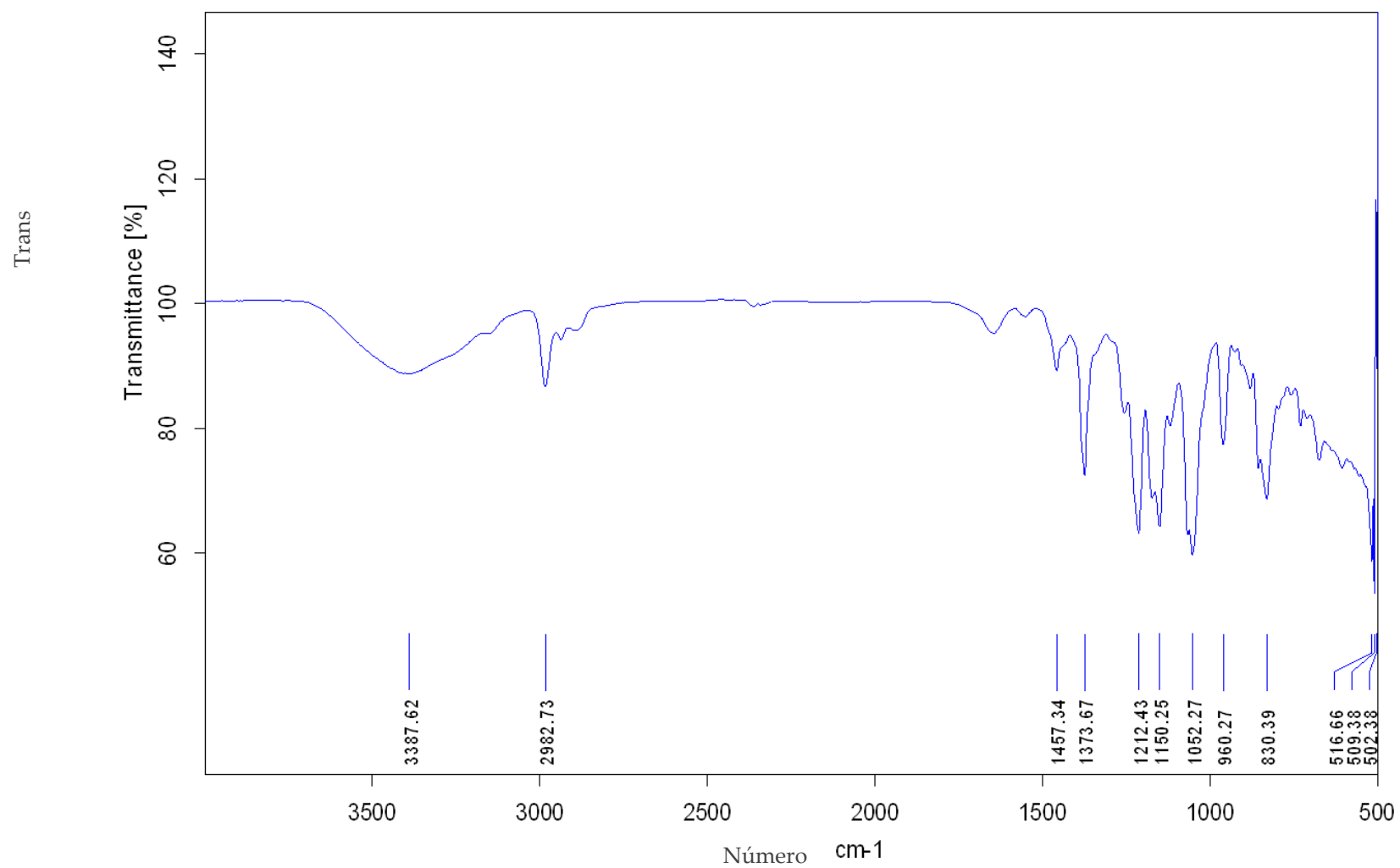


Figura A25 - Espectro no IV do composto **4h**.

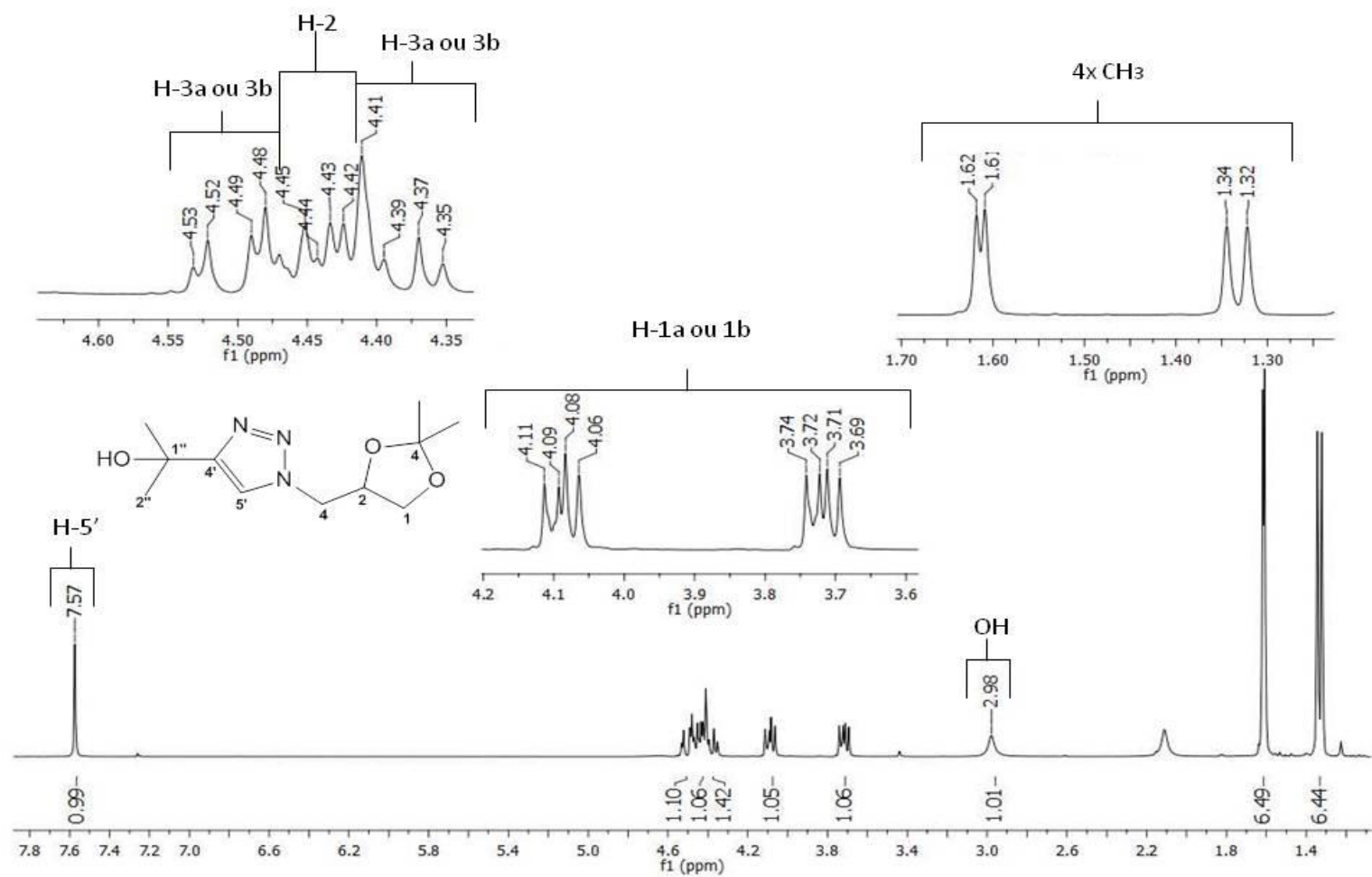


Figura A26 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 Mhz) do composto **4h**.

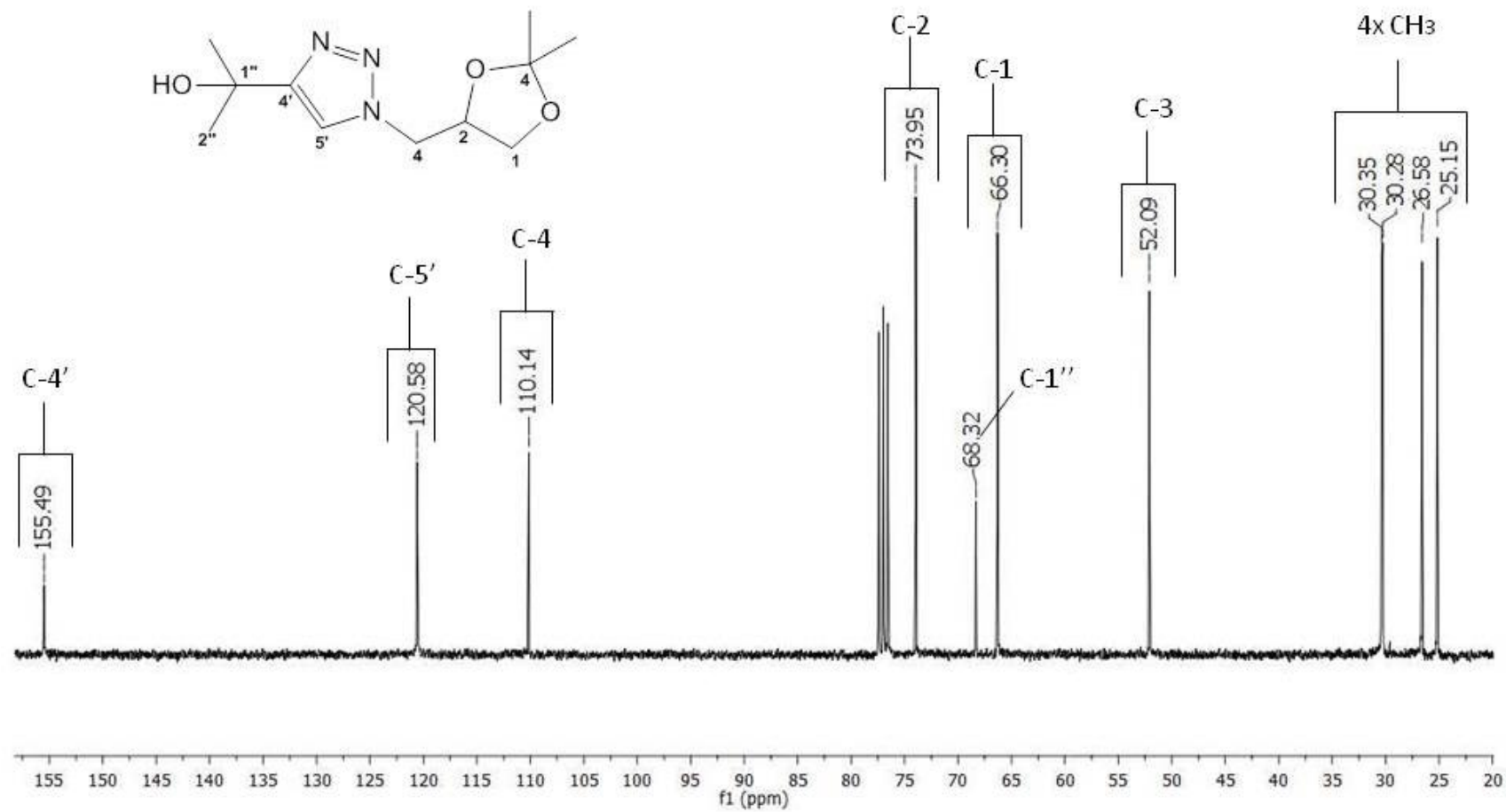


Figura A27 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 Mhz) do composto **4h**.

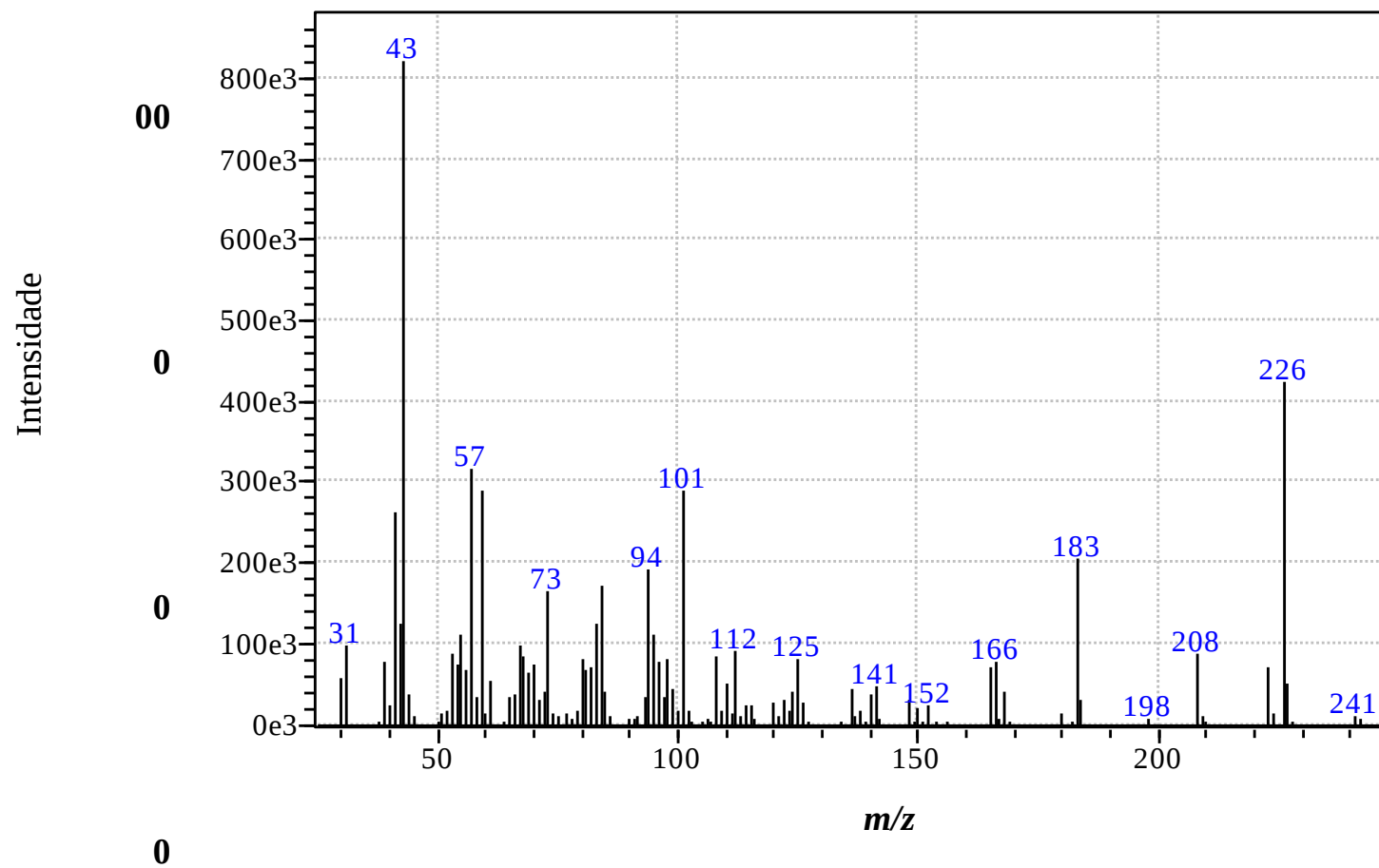


Figura A28 - Espectro de massas do composto **4h**.

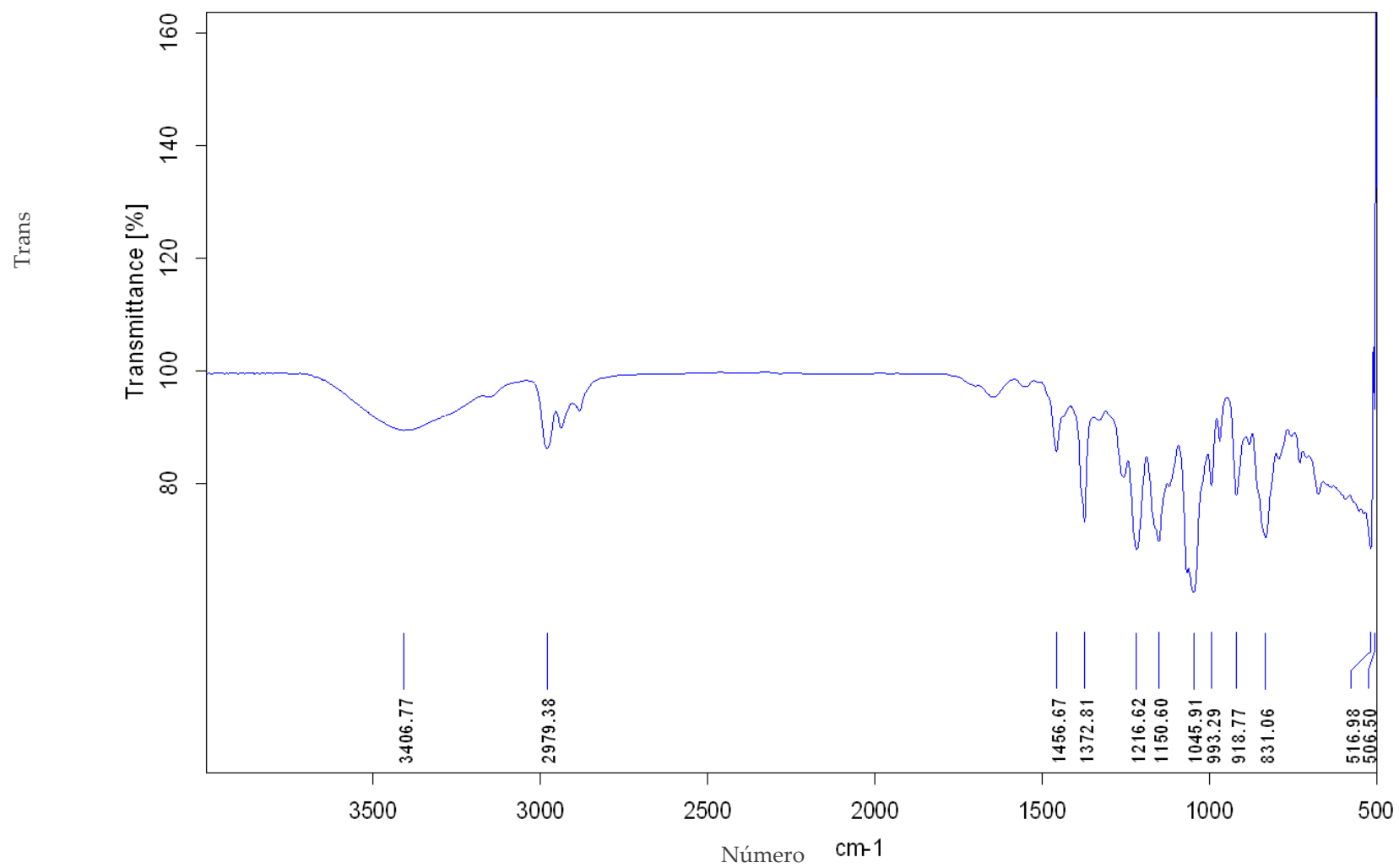


Figura A29 - Espectro no IV do composto **4i**.

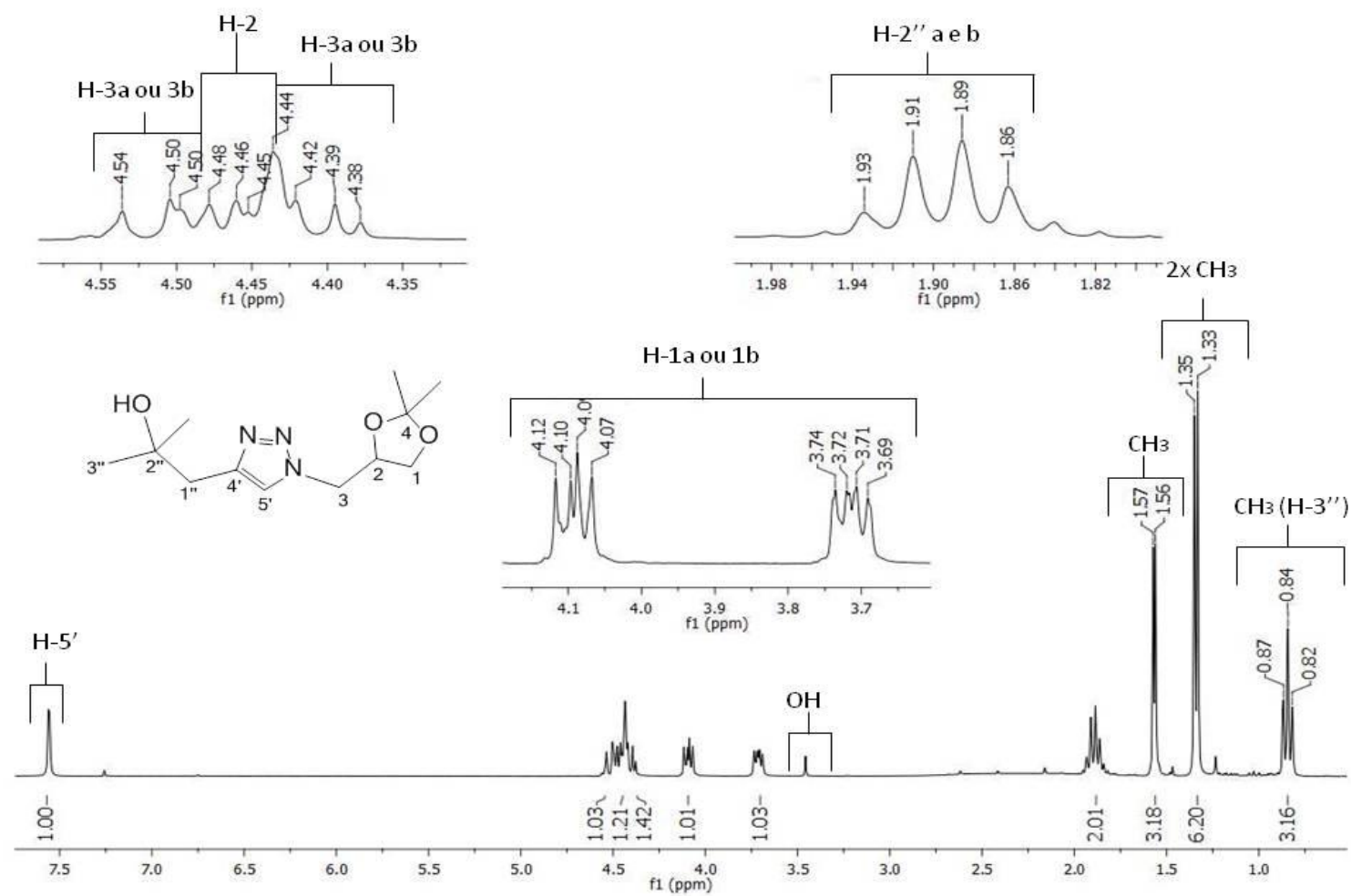


Figura A30 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 Mhz) do composto **4i**.

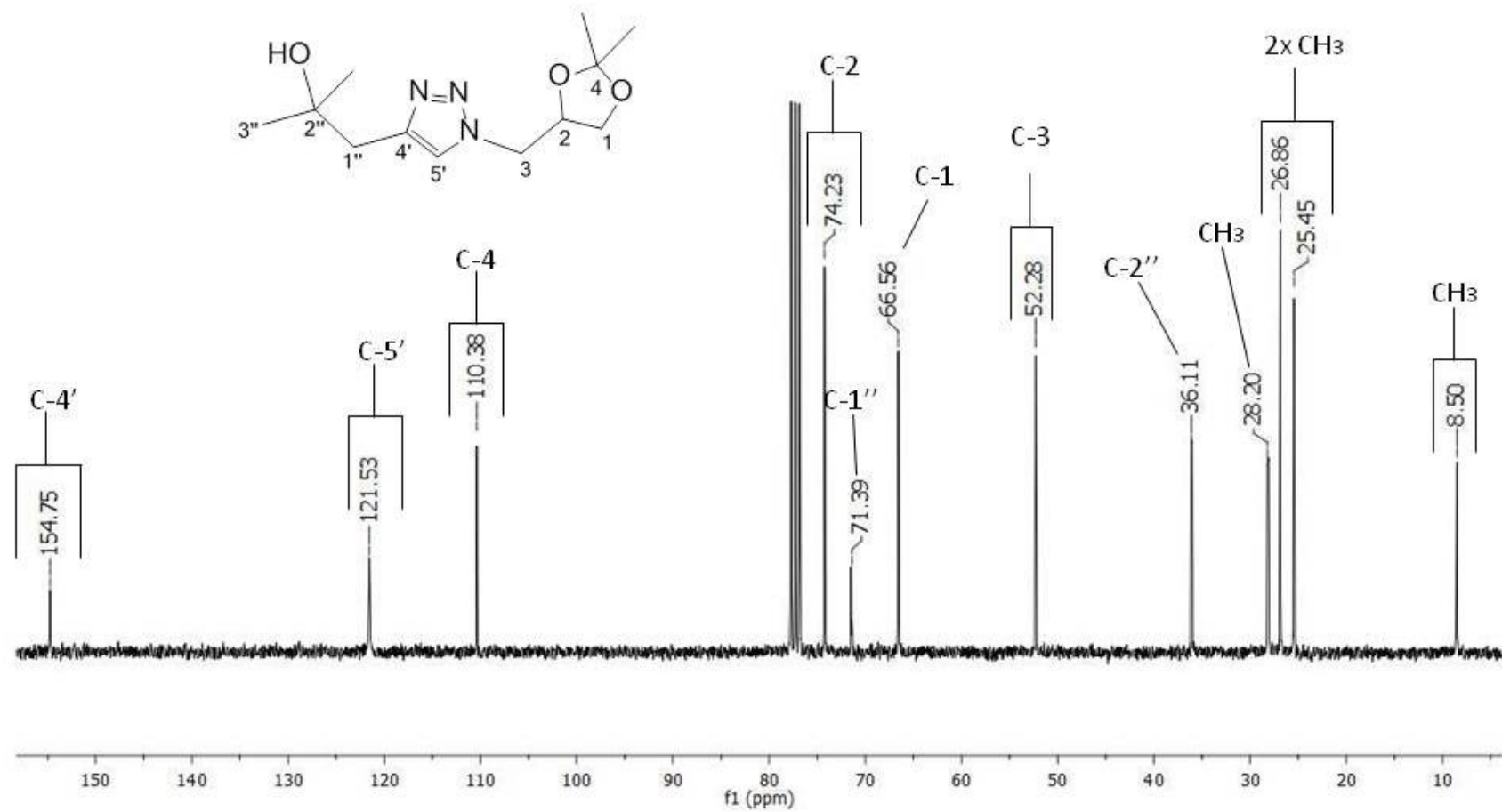


Figura A31 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 Mhz) do composto **4i**.

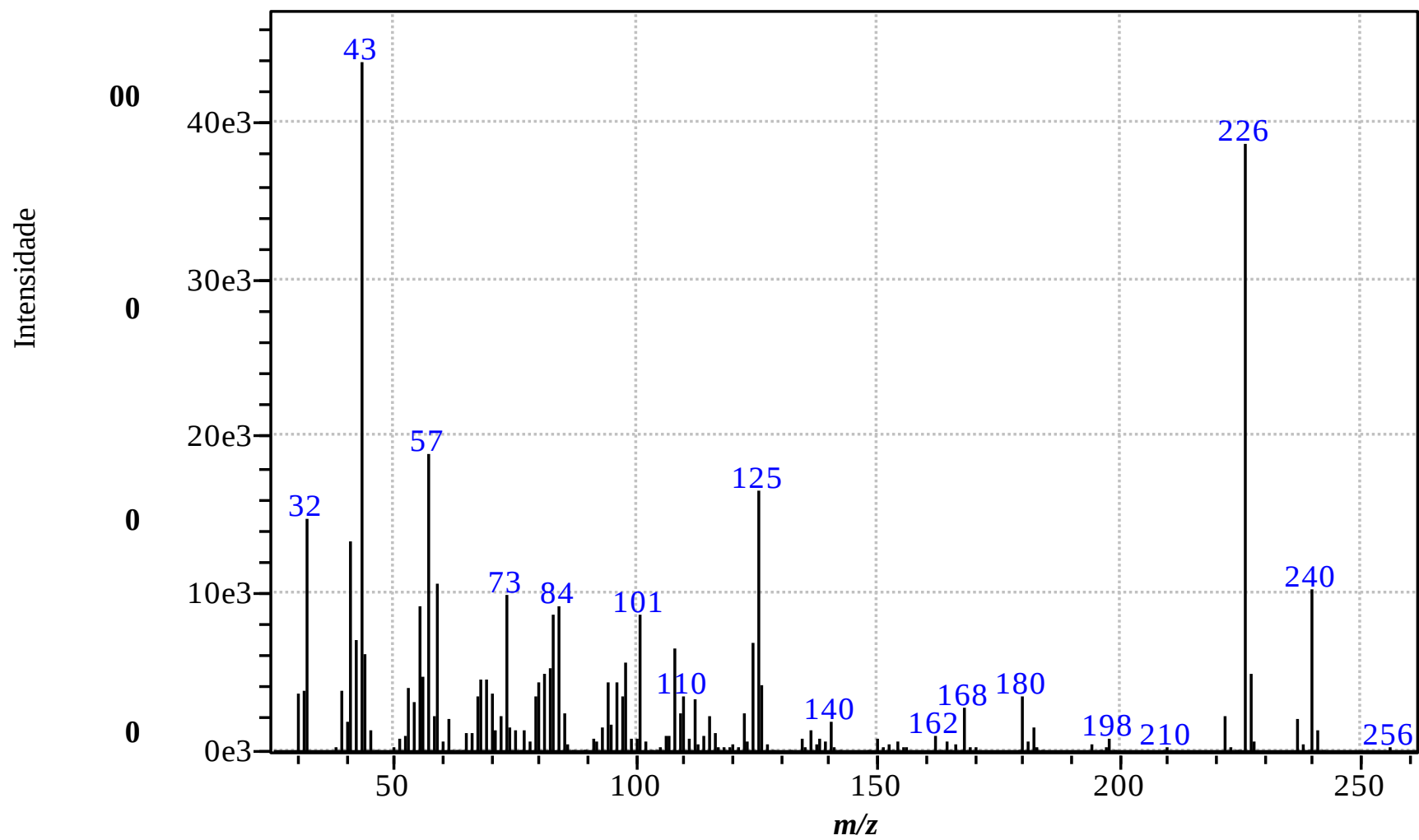


Figura A32 - Espectro de massas do composto **4i**.

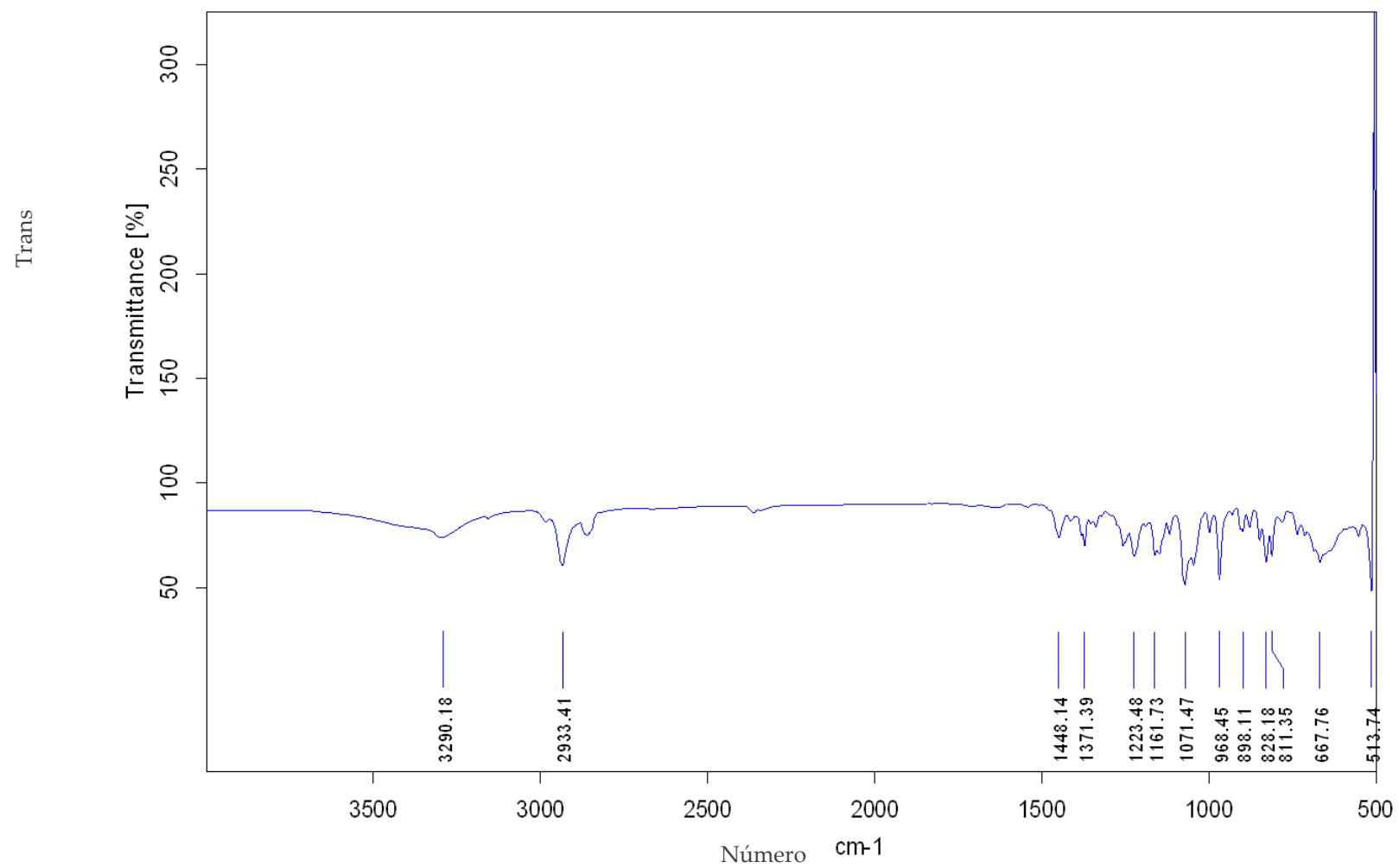


Figura A33 - Espectro no IV do composto **4j**.

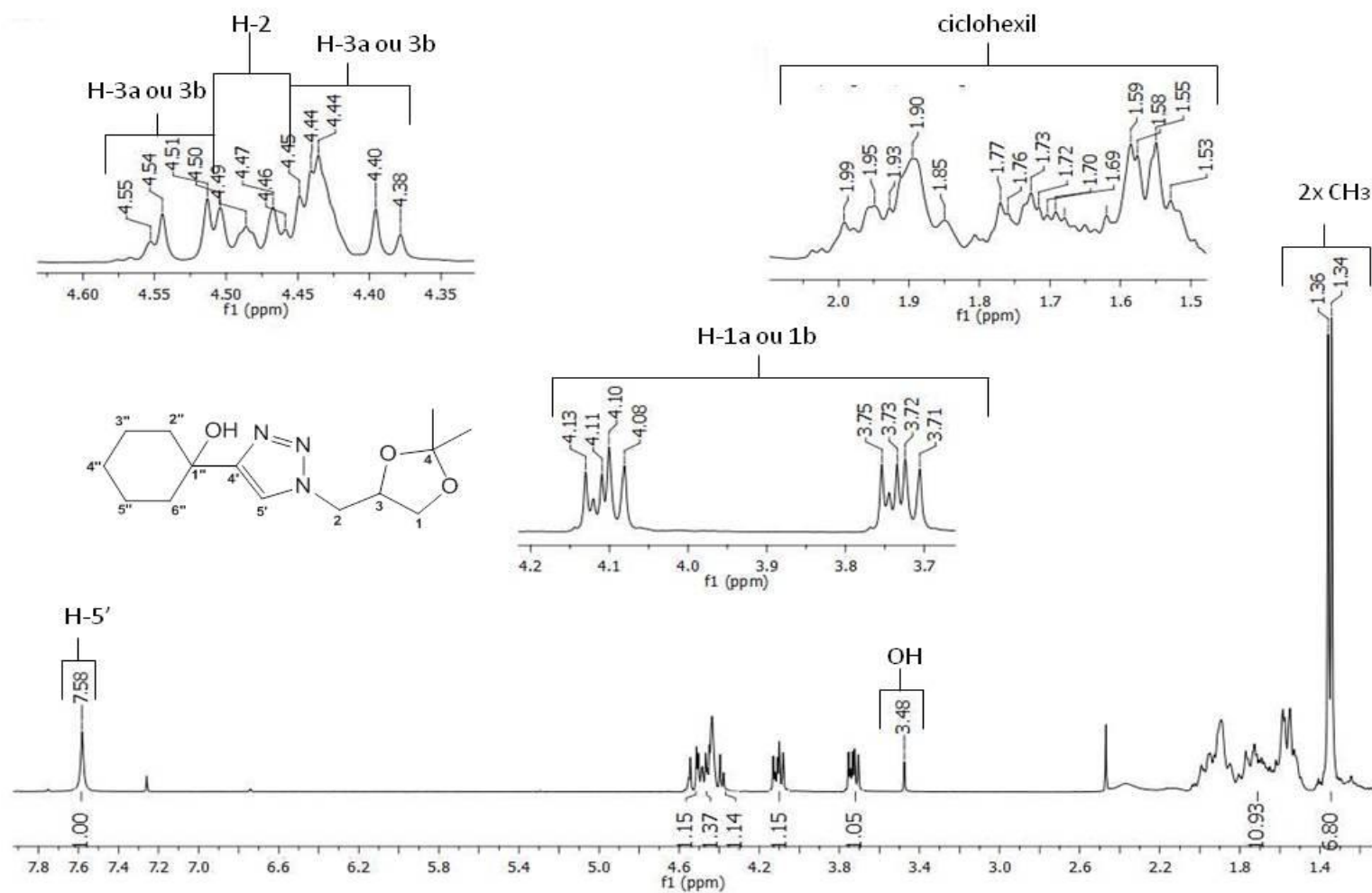


Figura A34 - Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 Mhz) do composto **4j**.

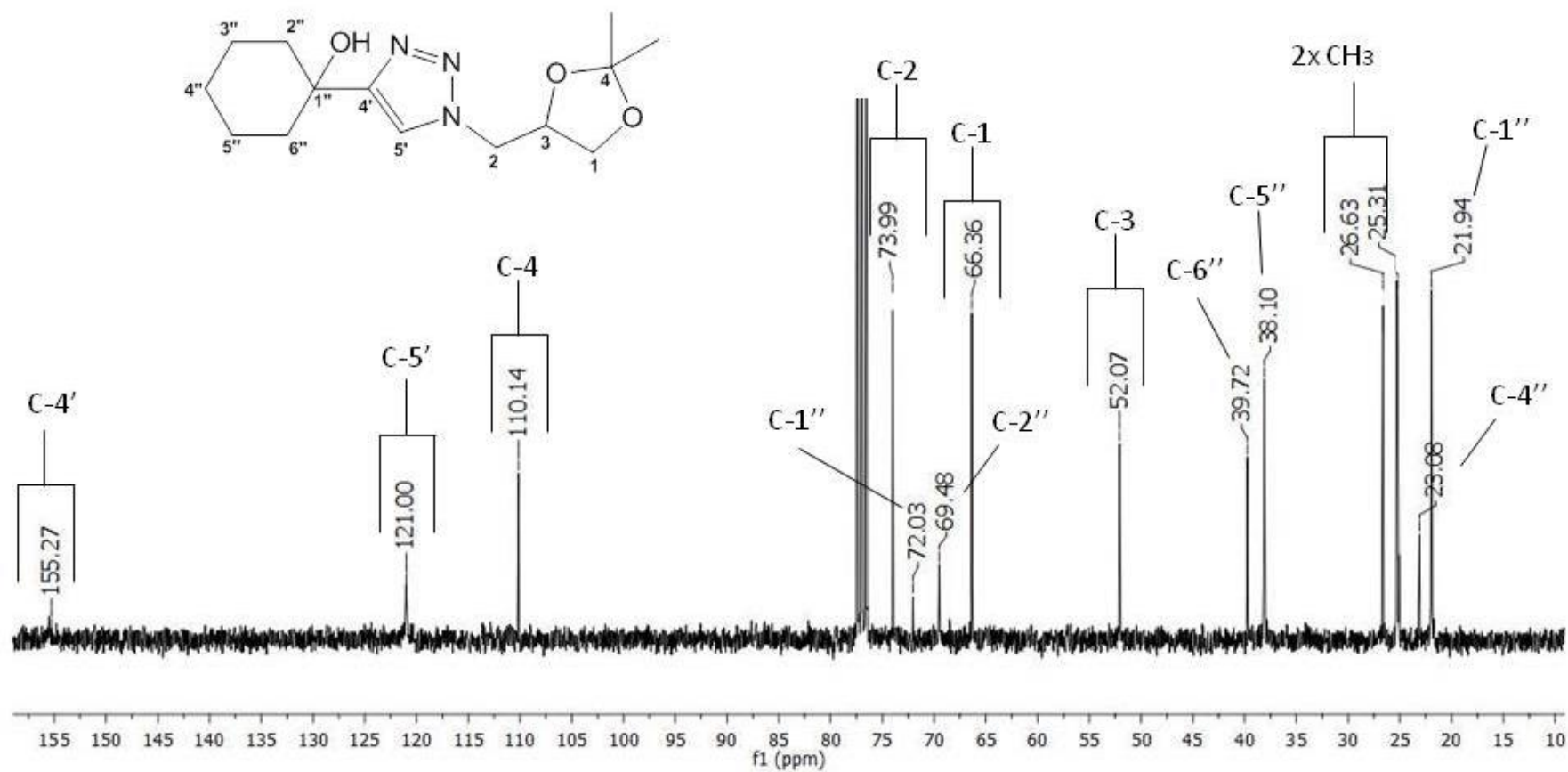


Figura A35 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 Mhz) do composto **4j**.

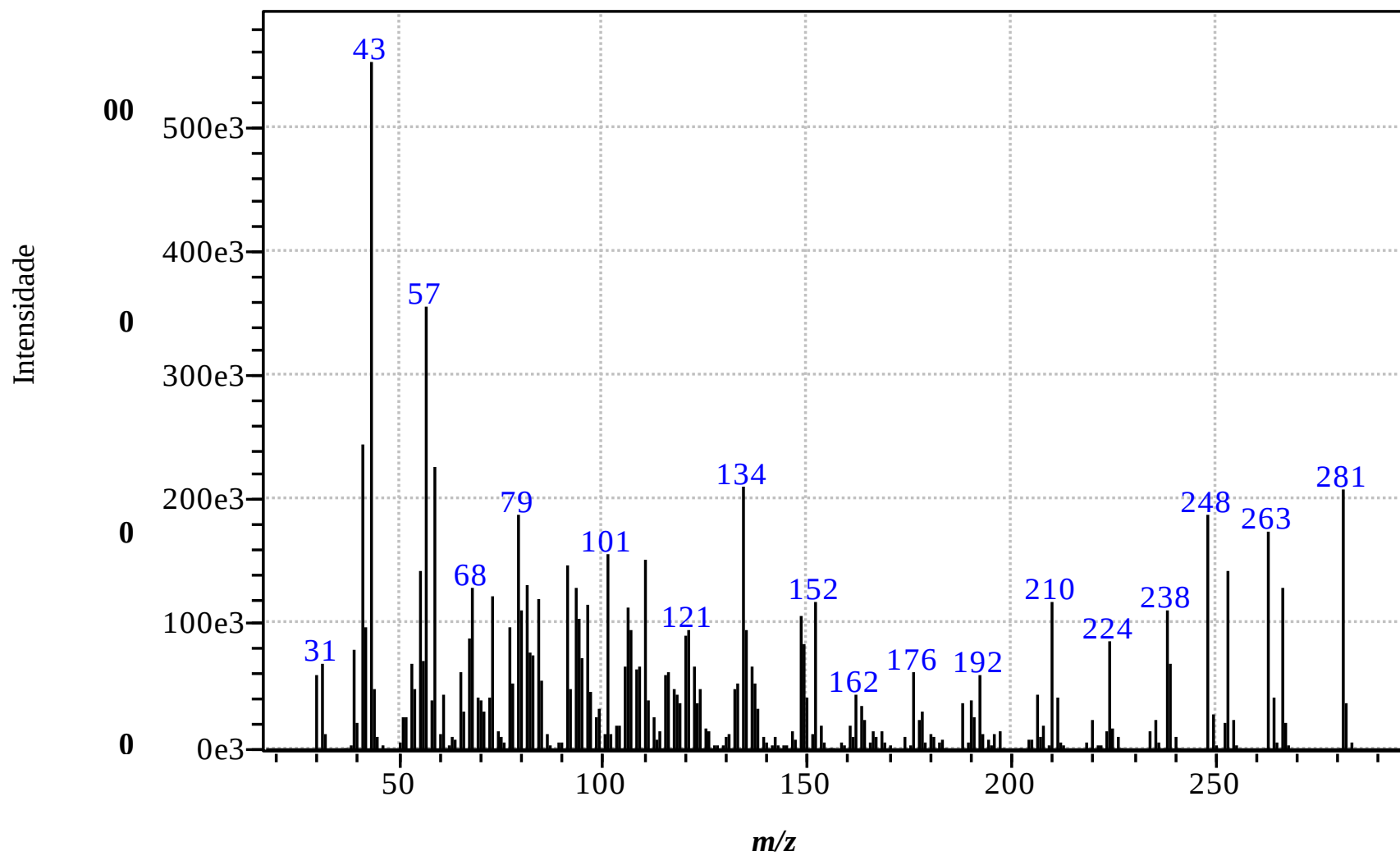


Figura A36 - Espectro de massas do composto **4j**.

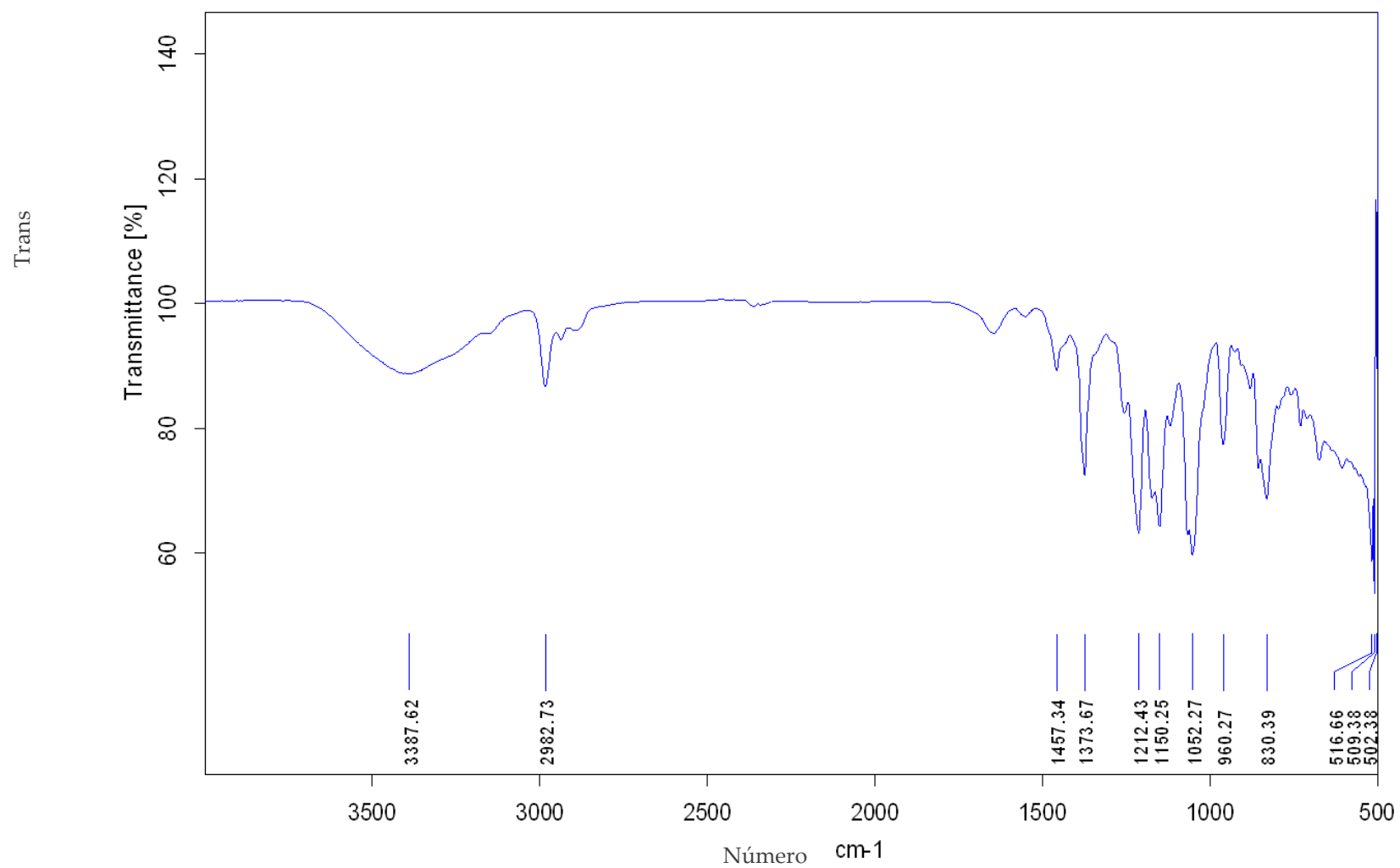


Figura A37 - Espectro no IV do composto **4k**.

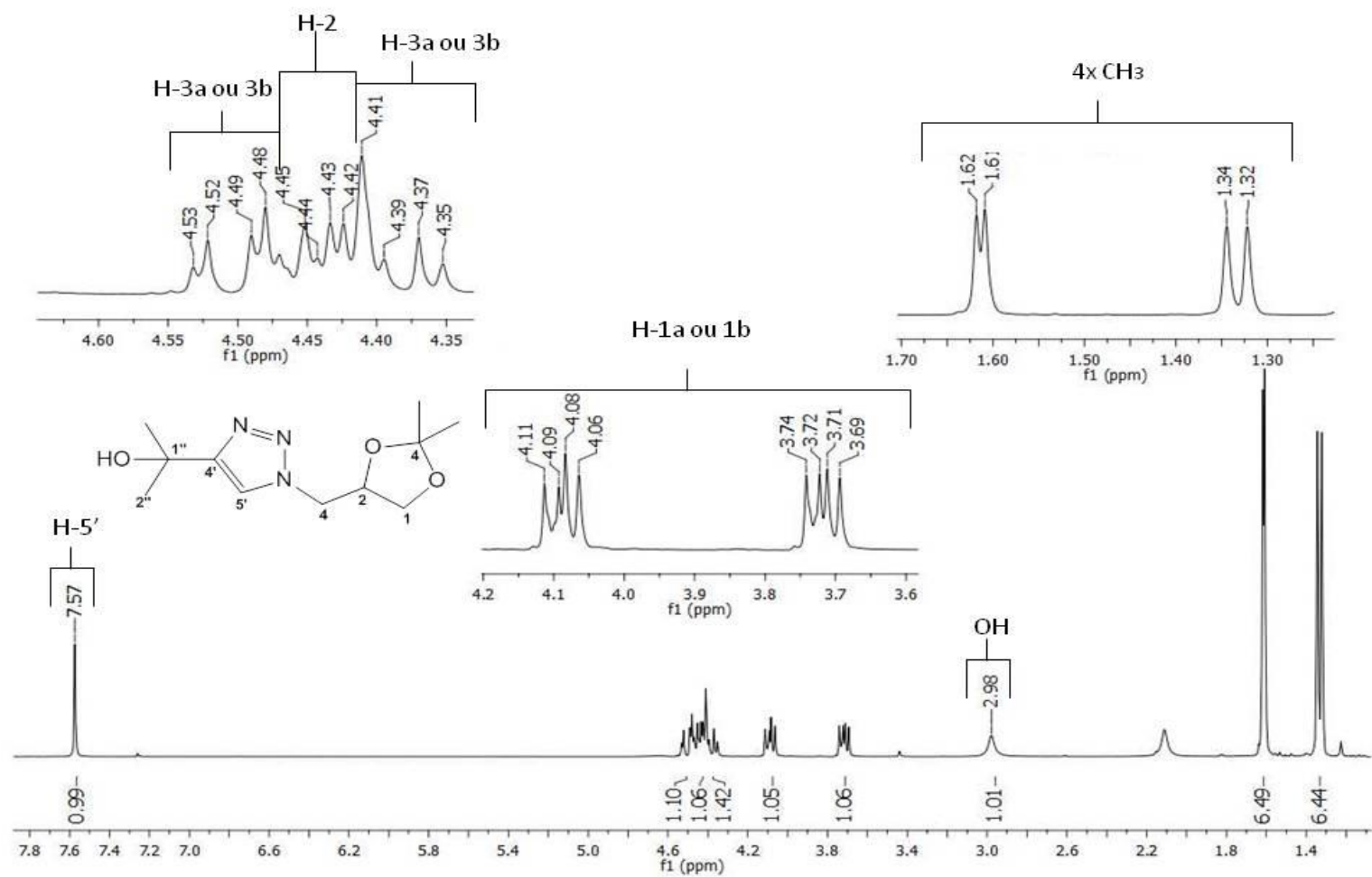


Figura A38 - Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 Mhz) do composto **4k**.

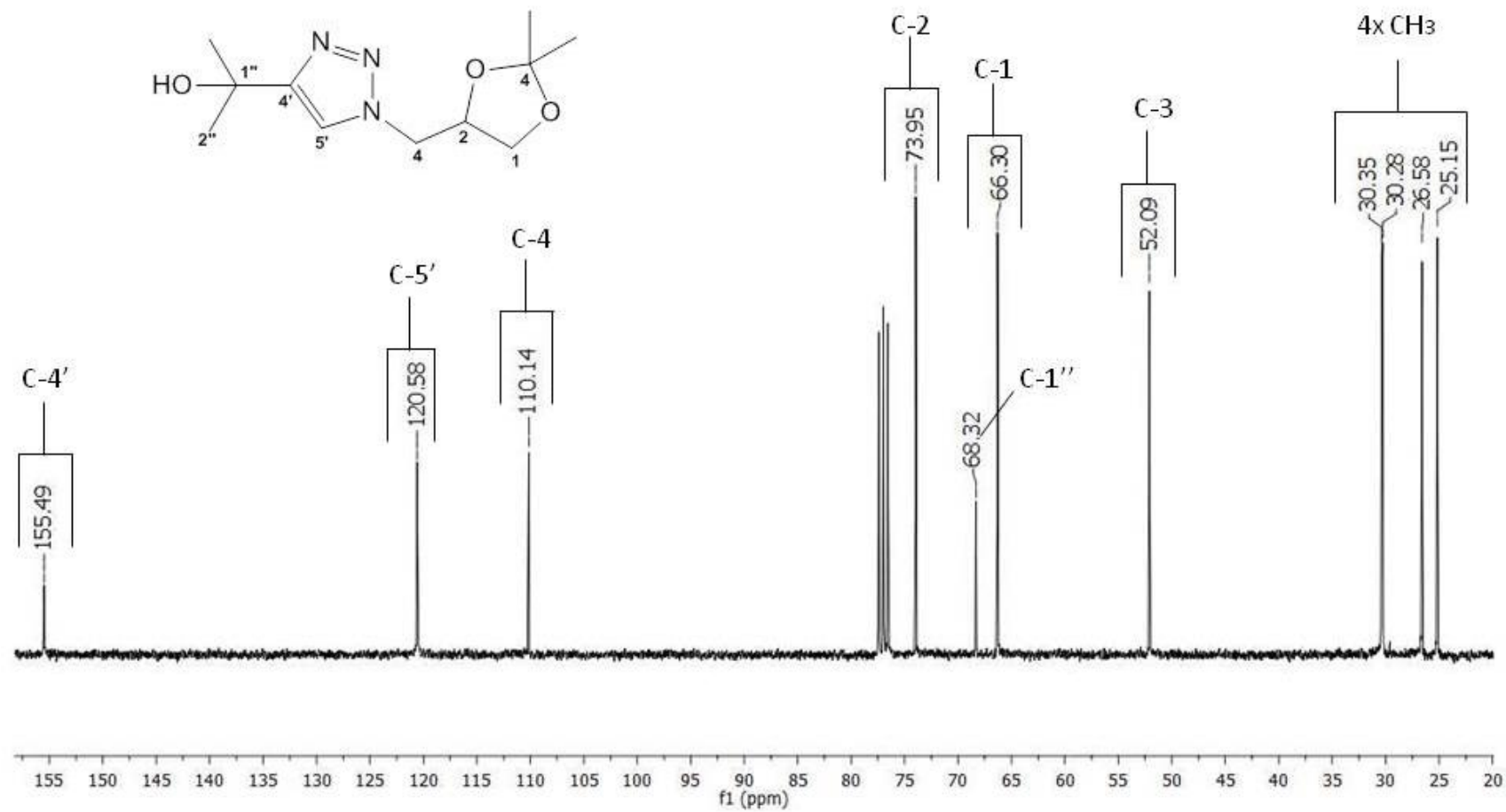


Figura A39 - Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 Mhz) do composto **4k**.

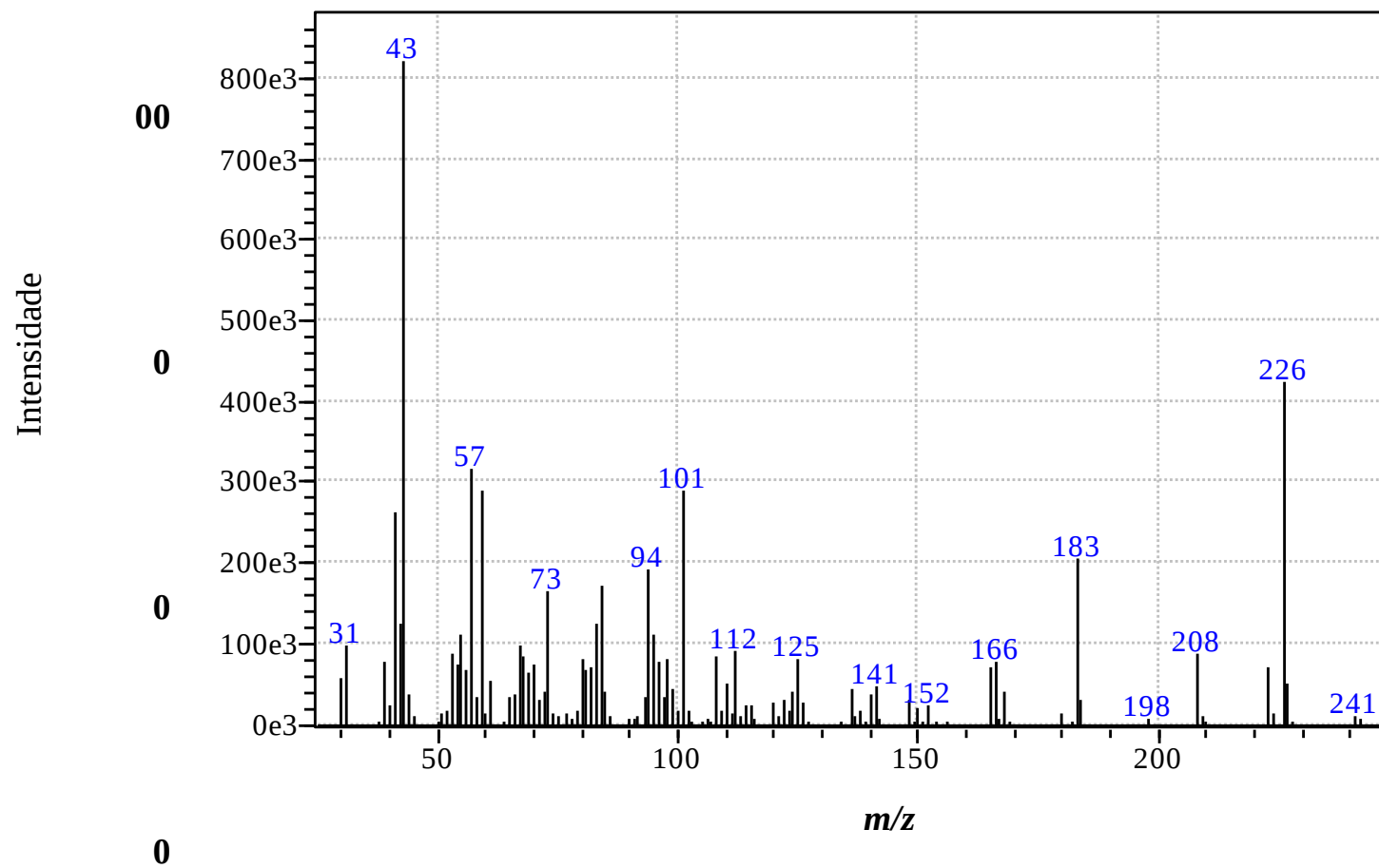


Figura A40 - Espectro de massas do composto **4k**.

