

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área de Insumos Farmacêuticos

**Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com  
Potencial Atividade Biológica**

Luis Miguel Zaravia Argomedo

Dissertação para obtenção do título de  
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani

São Paulo

2017

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área de Insumos Farmacêuticos

**Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com  
Potencial Atividade Biológica**

Luis Miguel Zaravia Argomedo

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018.  
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós Graduação da FCF/USP.

Dissertação para obtenção do título de  
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani

São Paulo

2017

**Ficha Catalográfica**  
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Argomedeo, Luis Miguel Zaravia  
A693s Síntese de heteroaril oxazolininas e derivados triazólicos  
com potencial atividade biológica / Luis Miguel Zaravia  
Argomedeo. -- São Paulo, 2017.  
169p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia  
Orientador : Stefani, Hélio Alexandre

1. Insumos farmacêuticos I. T. II. Stefani, Hélio  
Alexandre, orientador.

615.19 CDD

Luis Miguel Zaravia Argomedo

**Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com  
Potencial Atividade Biológica**

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do título de Mestre

Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani

Orientador/presidente

---

1º examinador

---

2º examinador

---

3º examinador

---

4º examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2017.

## **APOIO FINANCEIRO**

**CAPES** – COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR

**CNPq** – CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO

**FAPESP** – FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de dedicar meus mais sinceros agradecimentos a meu orientador, o **Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani**. Suas ideias e seu apoio foram fundamentais para a realização desta dissertação. Prof. Hélio, sou eternamente grato por seus ensinamentos e orientação constante, pelas nossas discussões científicas, por muitas vezes estar na bancada comigo, por sanar minhas dúvidas e por estimular minha curiosidade, me fazendo crescer em conhecimento. Obrigado por fazer do aprendizado não um trabalho, mas uma fonte de realização.

Sou particularmente grato à **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kelly Ishida**. Primeiramente, agradeço-lhe por me auxiliar no desenvolvimento deste trabalho, pois, sem sua intervenção, provavelmente não teria obtido os resultados atuais e nem essa experiência teria sido tão enriquecedora. Obrigado pela colaboração e por ter gentilmente cedido seu laboratório e por ter-me acolhido na realização dos experimentos.

Também gostaria de expressar meus agradecimentos à **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula de Melo Loureiro** e à **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Farsky**, colaboradoras ativas deste trabalho. Sem a ajuda de ambas, a parte biológica desta tese não teria ficado tão enriquecida.

Chega a hora mais complicada: agradecer aos amigos; aos confidentes e companheiros dessa jornada acadêmica. Tenho orgulho de dizer que tive o prazer de conhecer pessoas fantásticas ao longo desses anos. Pessoas que foram capazes de criar um laço de identificação tão forte que jamais poderá ser esquecido. Cada uma delas contribuiu, à sua maneira, para a realização dessa dissertação, bem como para o meu desenvolvimento como pesquisador. Sou eternamente grato aos amigos **Mayer Ganoza, Anderson Rosales, Sharon Velásquez, Iván Quispe e Pablo Velásquez**.

Aos companheiros de laboratório **Isadora de Oliveira, Anwar Shamin, Cristiane Barbeiro, Ali Bakhat, Olga, Amna, Gonzalo Carrau, Joel e Michael**, sou grato por toda a amizade. E sou especialmente grato a dois companheiros de laboratório, amigos e mentores: **Fred Bernardes**, que gentilmente me ensinou todos os conhecimentos no princípio da minha jornada como IC e que me acompanhou no

desenvolvimento do meu trabalho e ao **Stanley Vasconcelos**, que realmente é um exemplo tanto como pesquisador quanto pessoa. Vocês dois tiveram um grande impacto na minha vida. Sou eternamente grato a vocês.

A **TODOS** que de alguma forma ajudaram neste trabalho ou participaram do seu desenvolvimento, mesmo que seja dizendo um “bom dia”... **MUITO OBRIGADO!!!**

## RESUMO

ZARAVIA, L. M. **Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com Potencial Atividade Biológica.** 2017. 169f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Fungos no ambiente podem ser patogênicos ou oportunistas, dependendo da imunidade do hospedeiro. Existem várias espécies de fungos, por exemplo, *Cândida albicans*, *Cryptococcus* e *Aspergillus*. A primeira espécie fúngica pode ser tratada com o antifúngico fluconazol, que é um composto que contém anéis heterocíclicos 1,2,4-triazólicos. Além disso, existem cepas de fungos que são resistentes à terapia com fluconazol, que é o caso das *Cândida krusei*, *Cândida tropicalis*; entre outras. A busca por novos tratamentos envolve o desenvolvimento de novas moléculas sintéticas. Neste trabalho, sintetizamos uma biblioteca de compostos oxazolínicos e seus derivados 1,2,3-triazólicos. A atividade microbiológica foi avaliada contra 10 tipos de *Cândida*, 2 tipos de *Cryptococcus* e 2 tipos de *Aspergillus*. Além disso, foram feitos os testes de hemólise, citotoxicidade, combinações de drogas e permeabilidade de membrana. Os resultados sugerem um alto potencial terapêutico dos compostos e os propomos como potenciais novos antifúngicos.

**Palavras-chave:** Cândida, Oxazolina, Triazóis, Fungos.

## ABSTRACT

ZARAVIA, L. M. **Synthesis of Heteroaryl Oxazolines and Triazolic Derivatives with Potential Biological Activity.** 2017. 169f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Fungi in the environment may be pathogenic or opportunistic depending on the immune status of the host. There are several species of fungi, for example, *Candida albicans*, *Cryptococcus* and *Aspergillus*. The first fungal species can be treated with the antifungal fluconazole, which is a compound containing 1,2,4-triazole heterocyclic rings. In addition, there are strains of fungi that are resistant to fluconazole therapy, which is the case of *Candida krusei*, *Candida tropicalis*; among others. The search for new treatments involves the development of new synthetic molecules. In this work, we synthesized a library of oxazoline compounds and their 1,2,3-triazole derivatives. Microbiological activity was evaluated against 10 types of *Candida*, 2 types of *Cryptococcus* and 2 types of *Aspergillus*. In addition, hemolysis, cytotoxicity, drug combinations and membrane permeability were performed. The results suggest the high therapeutic potential of the compounds and we propose them as potential new antifungals.

**Key words:** Candida, Oxazoline, Triazole, Fungi.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
1.1. Epidemiologia.....	15
1.2. Fungos de Relevância Clínica.....	16
1.3. Esteróis essenciais e inibição enzimática.....	17
1.4. Principais fármacos antifúngicos e resistência.....	20
1.5. Outros compostos heterocíclicos antifúngicos – Oxazolina.....	22
1.6. Métodos de síntese de Oxazolinas e catalisadores.....	24
1.7. Reações de acoplamento – Ciclo catalítico.....	25
1.8. Acoplamento de Sonogashira.....	27
1.9. Click Chemistry.....	30
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	31
<b>3. MATERIAS E MÉTODOS</b> .....	32
<b>3.1. Materiais</b> .....	32
<b>3.2. Métodos</b> .....	34
3.2.1. Síntese dos materiais de partida.....	34
3.2.2. Ensaio Biológicos.....	70
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	73
<b>4.1. Parte Química</b> .....	73
<b>4.2. Parte Biológica</b> .....	87

<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>96</b>
<b>6. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>97</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>103</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
AMB	Anfotericina B
ATCC	Coleção de Cultivos de Tipo Americano
Boc <sub>2</sub> O	Bi-Carbonato de <i>terc</i> -butila
CASP	Caspofungina
CCV	Corante de cristal violeta
CCD	Cromatografia em camada delgada
CFU	Unidade formadora de colônia
CYP450	Citocromo P450
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMF	Dimetil formamida
DMEM	Meio de Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
FLC	Fluconazol
FCS	Soro fetal de vitelo
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
HepG2	Linhagem de células de câncer de fígado humano
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória 50
IS	Índice de seletividade
MIC <sub>50</sub>	Concentração mínima inibitória 50
MIC <sub>90</sub>	Concentração mínima inibitória 90
MFC	Concentração fungicida mínima
MOPS	Ácido 4-morfolinopropanossulfônico

MHz	Mega-Hertz
MW	Micro-ondas
<i>N</i> -MM	<i>N</i> -metilmorfolina
NO <sub>2</sub>	Grupo nitro
nm	Nanômetros
OD	Desvio óptico
OTf	Triflato
Pd	Paládio
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0)
PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio
Pd(OAc) <sub>2</sub>	Acetato de paládio
PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfina
PEt <sub>3</sub>	Trietilfosfina
PEt <sub>2</sub> Ph	Dietilfenilfosfina
PMePh <sub>2</sub>	Difenilmetilfosfina
PEtPh <sub>2</sub>	Difeniletilfosfina
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
pH	Potencial de hidrogênio
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
S-Co	Enxofre-cobalto
SOCl <sub>2</sub>	Cloreto de tionila
SI	Índice de seletividade
TBAF	Fluoreto de tetrabutilamônio
THF	Tetraidrofurano

TFA	Ácido trifluoroacético
TMS	Trimetilsilano
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
$\mu\text{M}$	Micro molar
uv	Ultravioleta
$\text{ZrOCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Cloreto de zircônio

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o começo dos tempos, os fungos e o homem têm evoluído em conjunto ao longo da vida. Os fungos têm sido utilizados como alimentos, alucinógenos e, inclusive, para a cura de doenças.<sup>1</sup>

A descoberta deles remonta ao século XVIII, quando em 1729, Pietro Antonio Micheli, botânico italiano, publicou o “Nova Plantarum Genera”<sup>1</sup>, Essa primeira classificação moderna dos fungos. Nessa obra, Micheli defende que os esporos são as “sementes” dos fungos e que estes não surgem por geração espontânea, como muitos pensavam. Além dele, é conveniente citar o primeiro “grande mestre” da micologia, Christian Hendrick Persoon (1755-1836), nascido na África, de pais holandeses. Sua obra mais destacada foi a “Synopsis Methodica Fungorum”, na qual classificou mais de 1.500 espécies de fungos.<sup>1</sup>

Os microrganismos fúngicos são responsáveis por uma série de infecções, fazendo com que a necessidade de tratamento fosse sempre evidente e despertando o interesse constante da comunidade científica. Eles pertencem ao Domínio Eukarya, Reino Fungi, e possuem enzimas que permitem sintetizar compostos essenciais assim como defensivos para a sobrevivência.<sup>1</sup>

### 1.1 Epidemiologia

Estima-se cerca de 1,2 bilhão de pessoas em todo o mundo sofrem de alguma doença fúngica.<sup>2,3</sup> A maioria dos casos são infecções da pele ou da mucosa, que respondem prontamente à terapia, mas uma minoria substancial é invasiva ou crônica e difícil de diagnosticar e tratar. Estima-se que de 1,5 a 2 milhões de pessoas morram de infecção fúngica a cada ano, superando a mortalidade causada por malária ou tuberculose.<sup>4</sup> Vale destacar que a maior parte dessa mortalidade se dá por espécies pertencentes a quatro gêneros de fungos: *Aspergillus*, *Cândida*, *Cryptococcus* e *Pneumocystis*. Embora grandes avanços tenham sido feitos na década de 1990, o desenvolvimento de novas drogas caminha a passos lentos desde então. Existem oportunidades para acelerar esse desenvolvimento, particularmente na asma fúngica e para tratar a aspergilose crônica e invasiva. A terapia antifúngica tornou-se progressivamente mais eficaz desde a segunda

geração de azóis, equinocandinas e formulações lipídicas de anfotericina B, que foram introduzidas a partir dos anos 90.<sup>4</sup>

No entanto, de 30% a 50% dos pacientes com aspergilose invasiva ainda morrem, por razões que incluem: diagnóstico tardio; infecção de locais como o cérebro, que não são efetivamente tratados com drogas; e resistência aos fármacos. A mortalidade por candidemia, uma infecção fúngica principalmente tratada com equinocandinas e fluconazol, também permanece elevada, em torno de 50%. Desde 2006, não são aprovadas novas classes de antifúngicos, o que é problemático tendo em vista que os agentes atuais não são suficientemente ativos. Além de não poderem ser administrados por via oral, possuem toxicidade específica de fármaco, de classe ou têm interações medicamentosas importantes.<sup>2</sup>

Existe um vasto número de espécies de fungos, sendo a *Cândida* provavelmente a espécie de maior relevância clínica por estar disseminada pelo mundo inteiro tanto em ambientes hospitalares como em ambientes não hospitalares. Esse fato levou ao surgimento de numerosas espécies mutantes também relacionadas com infecções resistentes ao tratamento.<sup>3</sup>

## 1.2 Fungos de Relevância Clínica

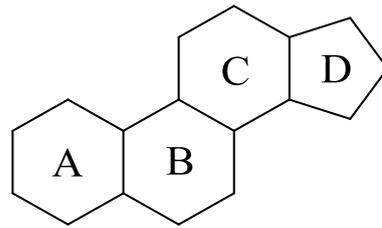
Muitos fungos são intrinsecamente resistentes a certos antifúngicos. Podemos citar: *Candida krusei* (para fluconazol), *Aspergillus terreus* (para anfotericina B), *Cryptococcus spp.* (para as equinocandinas) e *Scedosporium spp.* (para todos os antifúngicos atuais). Cerca de 20 anos atrás, *Cândida albicans*, sensível aos agentes azólicos, foi prevalente nas infecções, junto com outras espécies de *Cândida* raramente vistas. *Cândida glabrata* é particularmente problemática: é a espécie de *Cândida* mais comumente isolada na União Europeia (> 10%) e nos Estados Unidos (> 20%) e tem altas taxas de resistência ao fluconazol e ao voriconazol, bem como para as equinocandinas. As infecções por fungos intrinsecamente resistentes também têm sido observadas com maior frequência, tais como zigomicetos e *Fusarium spp.* A *Cândida glabrata* resistente a azóis e equinocandinas só pode ser tratada com anfotericina B intravenosa, que muitas vezes é tóxica e não penetra no sistema renal, tornando algumas infecções intratáveis. Os zigomicetos apenas respondem ao posaconazol e à anfotericina B, e não existem fármacos para

*Scedosporium*. Além disso, o surgimento da resistência aos azóis é um problema crescente, particularmente nos Países Baixos, onde o *Aspergillus fumigatus* resistente aos azóis é agora comum.<sup>5</sup>

Ao contrário das bactérias, os fungos são conhecidos por não transferirem genes de resistência entre eles, nem a transmissão de paciente para paciente é comum. Áreas com mais dinheiro, UE (New Drugs for Bad Bugs) e EUA (BARDA - Broad Spectrum Antimicrobials) estimularam o investimento no desenvolvimento de antibióticos, porém, não existem iniciativas semelhantes para os antifúngicos. As tentativas para lidar com a falta de investimento incluem a Food and Drug Administration (FDA) Generating Antibiotics Incentives Now (GAIN) Act, que permite uma extensão de 5 anos de exclusividade de mercado para anti-infecciosos e especificamente para espécies de *Aspergillus*, *Cândida* e *Cryptococcus*, como doenças qualificadoras. De certa forma, os desafios para o desenvolvimento de antifúngicos são mais pronunciados do que aqueles enfrentados pelo desenvolvimento antibacteriano. Isso acontece porque, assim como os fungos, os mamíferos são eucariotas e muitas proteínas que são alvos potenciais para a terapia também são encontradas em seres humanos, aumentando o risco substancial de toxicidade de drogas. No entanto, existem algumas vantagens de trabalhar em eucariotas, particularmente aqueles com um estágio de vida diplóide. A haploinsuficiência quimicamente induzida, uma tecnologia de genômica funcional, tem sido utilizada em *Cândida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* para identificar o mecanismo de ação de novos agentes antifúngicos, produzindo muitos novos alvos de drogas.<sup>6</sup>

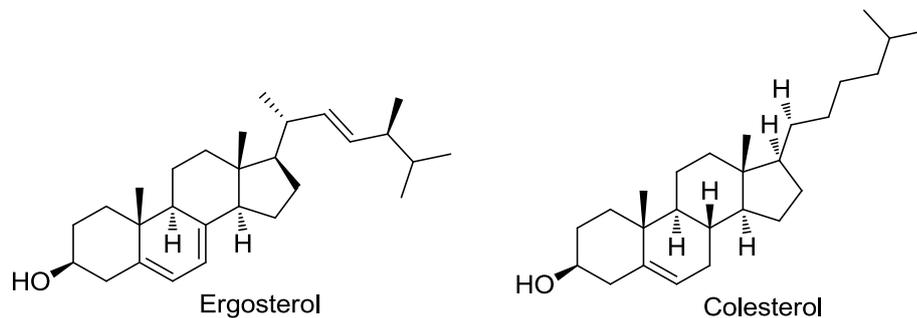
### **1.3 Esteróis essenciais e inibição enzimática**

Os esteróis são biomoléculas derivadas de isoprenos e estão presentes na membrana da maioria das células eucarióticas. Sua característica básica é apresentar um núcleo esteroide com quatro anéis de carbono fundidos, três deles com seis átomos de carbono (A, B e C) e um com cinco átomos de carbono (D)<sup>7</sup> (Fig.1).



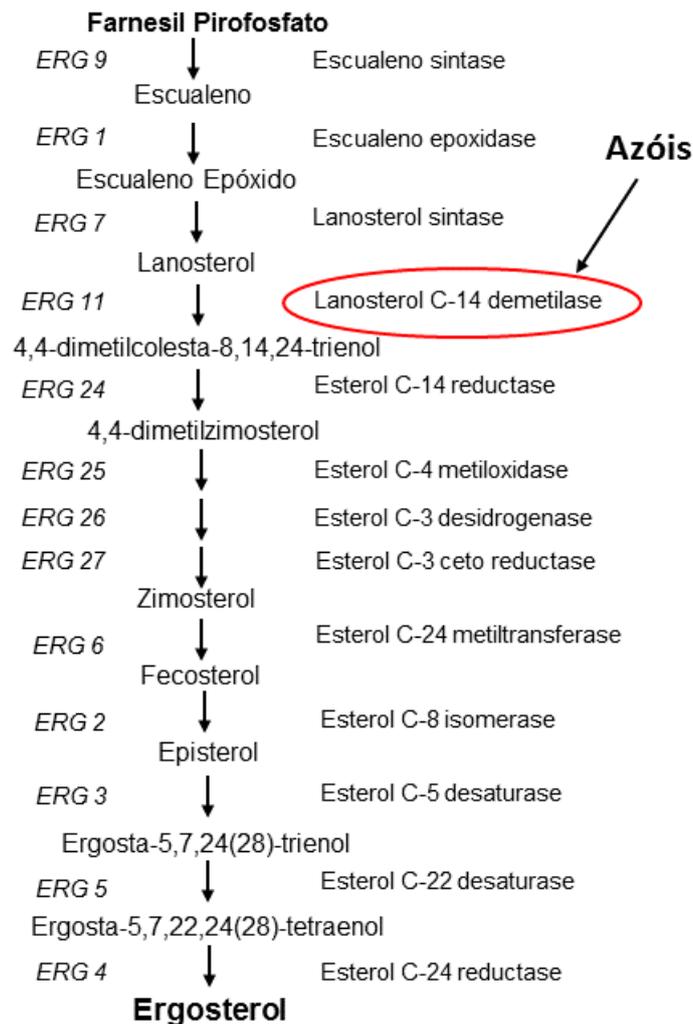
**Figura 1.** Estrutura do núcleo esteroide.

São importantes reguladores das propriedades físicas da membrana plasmática, como a fluidez e a permeabilidade, e possuem um importante papel no metabolismo aeróbico e na regulação do ciclo celular.<sup>8</sup> Os produtos finais da via de biossíntese de esteróis podem variar. Mamíferos produzem colesterol, fungos e protozoários produzem 24-alquil-esteróis, como o ergosterol. O ergosterol (Fig. 2) é um esterol responsável por manter a estrutura e a função da membrana plasmática de forma muito semelhante ao papel desempenhado pelo colesterol (Fig. 2) nas células animais.<sup>9</sup>



**Figura 2.** Diferenças estruturais do ergosterol e colesterol.

O Esquema de tratamento para a infecção produzida por *Cândida albicans* é, por consenso, a droga 1,2,4-triazólica chamada fluconazol. Essa droga atua inibindo a enzima citocromo CYP51, 14- $\alpha$  demetilase, presente no citoplasma do fungo, que é codificada pela família de genes *ERG*, especificamente o gene *ERG11* (Fig. 3).



**Figura 3.** Rota biossintética do Ergosterol.<sup>10</sup>

A enzima 14 $\alpha$ -esterol demetilase (CYPA51) é envolvida em uma etapa-chave na biossíntese do ergosterol, responsável pela demetilação oxidativa de esteróis intermediários por meio do grupamento heme.<sup>10</sup>

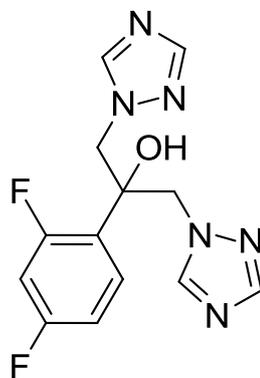
A inibição dessa enzima ocorre mediante interação por coordenação de um dos nitrogênios do anel azólico com o átomo de ferro do grupo heme da enzima. Devido a essa interação, o sítio ativo da enzima não está mais disponível para a ligação com o substrato natural, o que impede sua conversão catalítica. Dependendo do tamanho e da natureza do substituinte ligado ao azol, o efeito de inibição pode variar devido às interações com a parte proteica da CYPA51.<sup>11</sup>

A descoberta dos triazóis inibidores da enzima CYPA51 de primeira geração foi resultado de um programa de pesquisa dirigido ao desenvolvimento de um

agente antifúngico com melhores propriedades farmacocinéticas. A modificação molecular planejada pela substituição do núcleo imidazol por triazol produziu substâncias metabolicamente mais estáveis devido à resistência desse heteroaromático à oxidação. Outro fato importante foi o ganho na propriedade farmacodinâmica. O núcleo triazólico complexa-se mais efetivamente com o Fe heme da enzima, tornando-se mais específico para a inibição da enzima CYP51 e, conseqüentemente, mais seletivo, exercendo assim menor influência no metabolismo dos esteroides humanos, como, por exemplo, do colesterol.<sup>12</sup>

#### 1.4 Principais fármacos antifúngicos e resistência

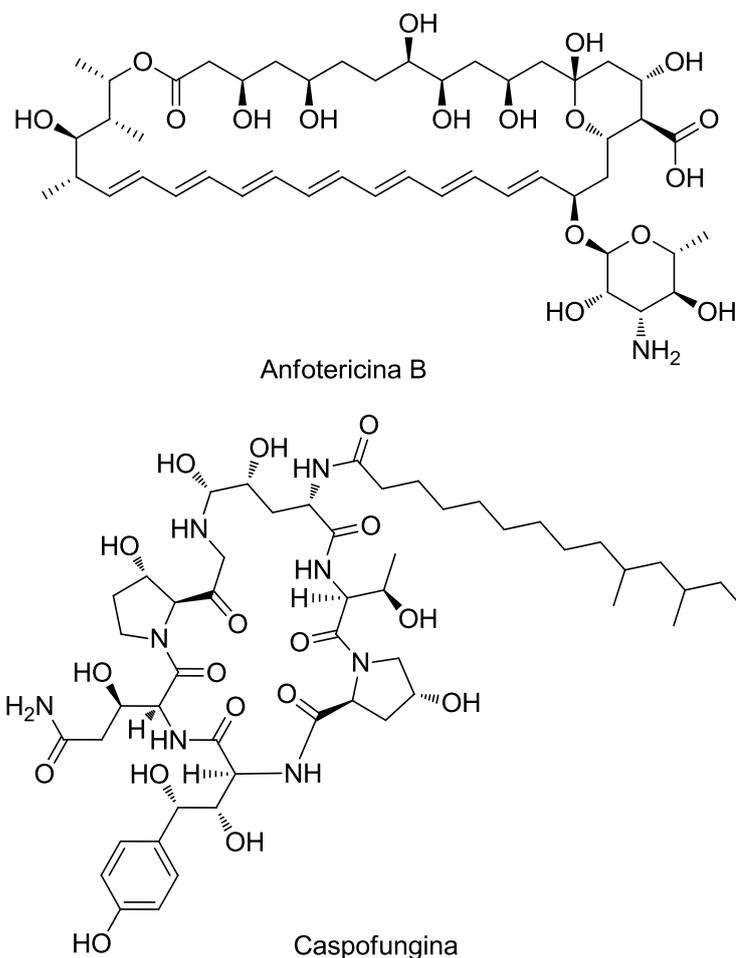
O Fluconazol (Figura 4) é o representante mais importante da primeira geração de triazóis porque é um fármaco com bom perfil de segurança, boa biodisponibilidade, eficácia, seletividade e hidrossolubilidade. A inclusão de dois anéis triazóis idênticos foi feita para gerar um plano de simetria na estrutura que elimina o centro estereogênico e torna a síntese menos custosa.<sup>13</sup>



**Figura 4.** Estrutura química do Fluconazol.

Entretanto, como mencionado anteriormente, novas espécies de *Cândida* foram identificadas nas últimas décadas, levando a uma crescente demanda de novos compostos com fins terapêuticos. Em resposta a essa demanda, anfotericina B e caspofungina (Fig. 5), as quais são produtos natural e semissintético, respectivamente, foram descobertas e incluídas na terapêutica contra as cepas resistentes ao fluconazol. Apesar disso, resistência a essas drogas tem sido relatada<sup>14</sup> por vários grupos de pesquisa e também na clínica. Conseqüentemente, a

demanda por novas drogas que possam ser usadas no tratamento de infecções fúngicas é novamente evidenciada. É nesse momento que a química sintética desempenha um papel muito importante na tentativa de dar solução ao problema.



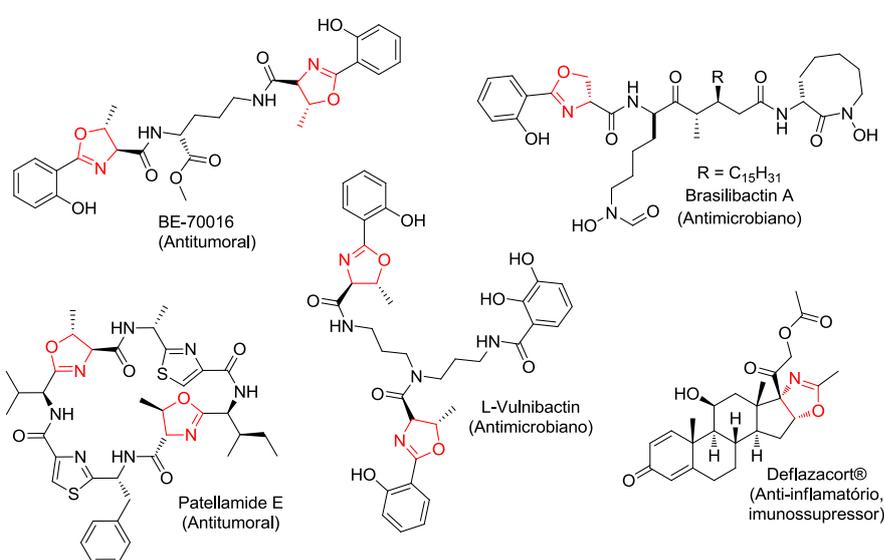
**Figura 5.** Estruturas químicas da anfotericina B e da caspofungina.

Diversos mecanismos de resistência a anfotericina B (AMB) e azóis têm sido descritos.<sup>12,14</sup> Alterações nos componentes de ergosterol da membrana, seguidos de mutações nas rotas biossintéticas do ergosterol, parecem ser os mecanismos mais recorrentes dos polienos no caso de *Cândida*. Três mecanismos que levam à resistência contra azóis foram descritos para *Cândida albicans*: uma concentração reduzida de azóis devida ao efluxo ativo mediante ATP-binding-cassette (ABC) ou transportadores MDR1; alteração mediante mutação ou super expressão de sítios de ligação (C14 $\alpha$ -esterol demetilase, codificado pelo gene ERG11); e uma perda da função na mutação em vias inferiores na rota do ergosterol (defeito na D-5,6-

desaturase codificada por ERG3), levando a um acúmulo menor de esteróis tóxicos (por exemplo 14 $\alpha$ -metilfecolesterol) na presença de azóis.<sup>14, 15</sup>

## 1.5 Outros compostos heterocíclicos antifúngicos - Oxazolina

Muitos compostos heterocíclicos têm sido relatados com atividade antifúngica tais como macrolídeos, flucitocina, taninos, polímeros de náilon e oxazolina. Compostos oxazolínicos mostraram ter atividades tais como antitumoral, anti-inflamatória, imunossupressor e também antifúngica; o que levou nosso grupo a começar o trabalho com esta nova classe de agentes antifúngicos<sup>16</sup> (Fig 6).



**Figura 6.** Exemplos de 2-aril oxazolinas bioativas.

Oxazolina é um composto químico heterocíclico de cinco membros contendo um átomo de oxigênio e um de nitrogênio. Foi caracterizada pela primeira vez em 1891 e nomeada pelas regras de Hantzsch-Widman. Faz parte de uma família de compostos heterocíclicos que existe entre o oxazol e a oxazolidina em termos de saturação.<sup>17</sup>

O anel oxazolínicos, em si, não tem aplicações atuais, mas os compostos contendo o anel têm uma grande variedade de utilizações, particularmente como ligantes na catálise assimétrica, como grupos protetores para os ácidos carboxílicos e, cada vez mais, como monômeros para a produção de polímeros. Estruturas do tipo 2-ariloxazolina foram as estruturas centrais de muitas moléculas biologicamente

ativas que apresentam efeito citotóxico,<sup>18a</sup> antibacteriano,<sup>18b</sup> antitumoral,<sup>18c,d</sup> antidepressivo<sup>18e,f</sup> e anti-Alzheimer<sup>18g</sup>. Adicionalmente, esses grupos são utilizados como intermediários de síntese,<sup>19</sup> grupos de proteção<sup>20</sup> ou ligantes quirais auxiliares em muitas transformações orgânicas.<sup>21</sup> Muitas polioxazolininas são biomateriais úteis para a entrega de drogas e de genes, e têm sido desenvolvidos sistemas de respostas de estímulos.<sup>22</sup>

Alguns métodos químicos foram desenvolvidos para a síntese de derivados 2- aril/heteroariloxazolina utilizando  $\beta$ -hidroxi amidas, olefinas, ácidos carboxílicos, ésteres, nitrilas, aldeídos, ou outros compostos os quais são expostos na Tabela 1.<sup>23-27</sup>

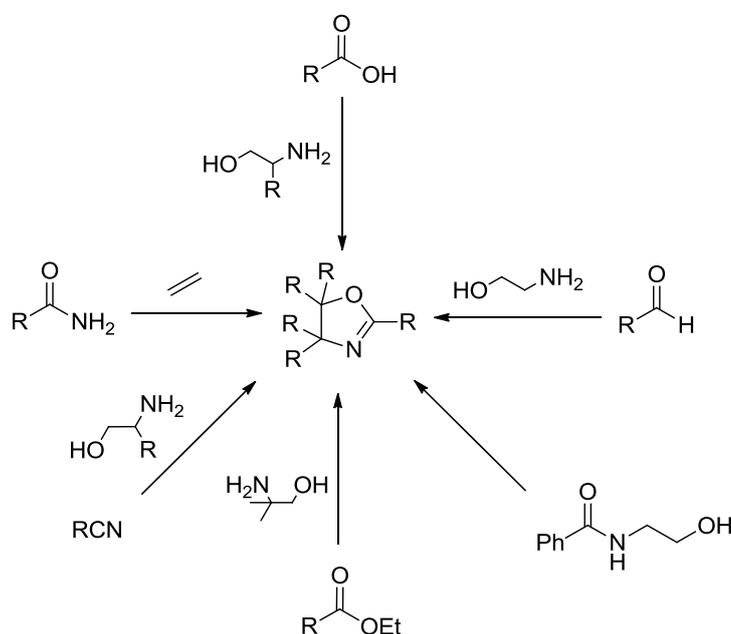
**Tabela 1:** Substratos utilizados na preparação de oxazolininas

Compostos utilizados	Produto	Referência
Olefinas e amidas	Oxazolina	Minakata, S., Morino, Y. <i>Chem. Commun.</i> <b>2007</b> , 3279–3281
Ácidos e amino álcoois	Oxazolina	Cwik A, Hell Z. <i>Tetrahedron Lett.</i> <b>2002</b> , 43, 3985–3987
Aldeídos e amino álcoois	Oxazolina	Karade N., Tiwari G. <i>Synlett.</i> <b>2007</b> , 12, 1921-1924.
Nitrilas aromáticas e amino álcoois	Oxazolina	Prasad A., Satyanarayana B. <i>Der Pharma Chemica.</i> <b>2012</b> , 4, 93-99.
Ésteres e amino álcoois	Oxazolina	Zhou P., Blubaum J. <i>Tetrahedron Lett.</i> <b>1997</b> , 38, 7019-7020
Amidas	Oxazolina	Xu Q, Li, Z. <i>Letters.</i> <b>2009</b> , 50, 6838–6840

## 1.6 Métodos de síntese de Oxazolinas e catalisadores

Os métodos que utilizam catalisadores de metais de transição (contendo carbonila), como ciclização com brometos de arila e 2-cloroetilamina, ou arilação direta de ligações C-H de oxazolinas não aromáticas, muitas vezes exigem muitas horas de reação, altas temperaturas ( $> 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e têm limitada variedade de substratos.<sup>25,26</sup>

Vários catalisadores têm sido utilizados para a ativação de nitrilas, as quais sofrerão adição nucleofílica por amino álcoois. Entre os principais catalisadores, podemos citar:  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{Bi(III)}$ , sais de  $\text{ZrOCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , argila, ácido sulfúrico celulose, ácido sulfúrico sílica, os complexos de  $\text{Cu}$ , e sais de  $\text{S-Co(II)}$ . Embora os métodos acima (Esquema 1) sejam estratégias promissoras de síntese para 2-heteroaril oxazolinas, a falta de aplicabilidade geral, o uso de reagentes caros e menos abundantes, as condições reacionais severas, as temperaturas de reação elevadas e o tempo de reação limitam a sua aplicação.<sup>27</sup>

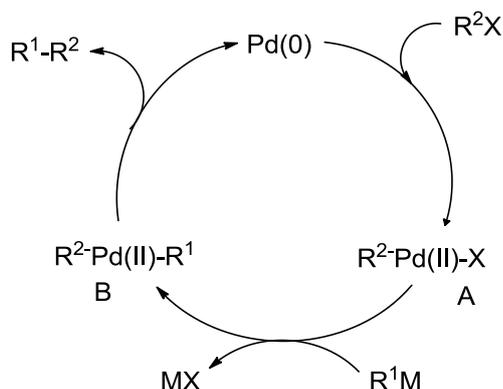


**Esquema 1.** Métodos de síntese de oxazolinas

## 1.7 Reações de acoplamento – Ciclo catalítico

Um ciclo catalítico geral para a reação de acoplamento cruzado de organometálicos, que envolve as sequências de adição oxidativa, transmetalção e eliminação redutiva, está representado no Esquema 2. Embora cada passo envolva processos adicionais incluindo trocas de ligantes, não há dúvida sobre a presença dos intermediários (A e B), os quais foram caracterizados por análises espectroscópicas.<sup>28, 29</sup>

É significativo que a grande maioria das reações de acoplamento cruzado catalisadas por Ni(0), Pd(0) e Fe(II) sejam racionalizadas em termos deste ciclo catalítico comum.



Esquema 2. O ciclo catalítico geral para o acoplamento cruzado

### 1.7.1 Ciclo Catalítico – Adição Oxidativa

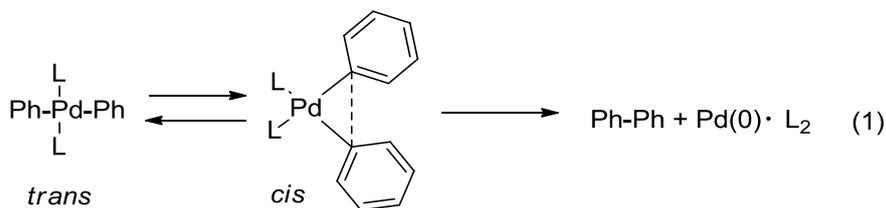
A Adição Oxidativa é frequentemente o passo determinante no ciclo catalítico. A reatividade relativa diminui na ordem  $I > OTf > Br \gg Cl$ . Os haletos de arila e 1-alquenila, ativados pela proximidade de grupos que retiram elétrons são mais reativos à adição oxidativa do que aqueles com grupos doadores, permitindo assim a utilização de cloretos tais como 3-cloroenona para a reação de acoplamento cruzado. Pode-se utilizar uma gama de catalisadores ou precursores de Pd(0) para a reação de acoplamento cruzado. Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> é mais comumente utilizado, mas PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e Pd(OAc)<sub>2</sub> ou outros ligantes de fosfina também são eficientes devido à estabilidade ao ar e a serem facilmente reduzidos aos complexos ativos de Pd(0) com organometálicos ou fosfinas utilizadas para o acoplamento cruzado. Os

complexos de paládio que contêm menos de quatro ligantes de fosfina ou fosfinas volumosas tais como tris(2,4,6-trimetoxifenil)fosfina são, em geral, altamente reativos para a adição oxidativa devido à formação de espécies coordenadas de paládio insaturado.<sup>30</sup>

### 1.7.1 Ciclo Catalítico – Eliminação Redutiva

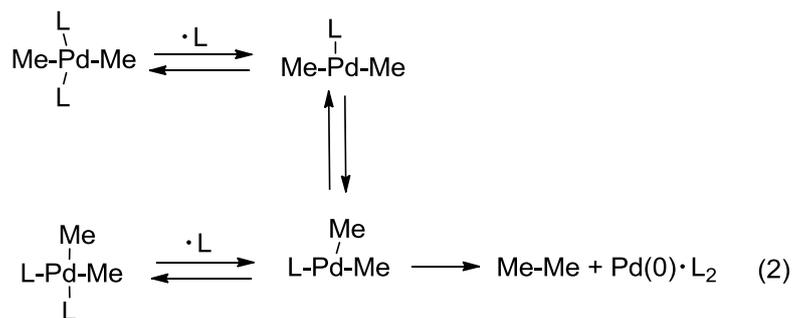
A Eliminação Redutiva dos derivados orgânicos de **B** reproduz o complexo de paládio (0). A reação ocorre diretamente a partir de *cis*-B, e o *trans*-B reage após a sua isomerização para o correspondente complexo *cis* (exemplos 1 e 2, Esquemas 3, 4).

A ordem de reatividade é diaril->(alquil)aril->dipropil->dietil->dimetilpaládio(II), sugerindo a participação do orbital  $\pi$  do grupo arila durante a formação da ligação (Esquema 3).<sup>31</sup> Embora o passo de 1-alquênil ou 1-alquínilpaládio(II) não tenha sido estudado, observa-se um efeito semelhante na eliminação redutiva de complexos de platina(II).<sup>32</sup>



**Esquema 3.** Eliminação redutiva do composto **B**

A termólise do *cis*-(dialquil)paládio(II).L<sub>2</sub>, que é um intermediário no acoplamento alquila-alquila, é inibida pelo excesso de fosfina (L), portanto se considera que é iniciada pela taxa determinante de dissociação do ligante fosfina (L) produzindo um complexo triplo coordenado *cis*-(dialquil)paládio(II).L (mecanismo dissociativo, exemplo 2, esquema 4).<sup>33</sup> Assim, o efeito dos ligantes de fosfina é comparável à ordem da facilidade de sua dissociação:  $\text{PEt}_3 < \text{PEt}_2\text{Ph} < \text{PMePh}_2 < \text{PEtPh}_2 < \text{PPh}_3$  (Esquema 4).



**Esquema 4.** Termólise do *cis*-(dialquil)paládio(II).

Embora o mecanismo da Adição Oxidativa e as sequências de eliminação redutiva sejam razoavelmente bem compreendidos, além de serem processos presumivelmente fundamentais para todas as reações de acoplamento cruzado de organometálicos, é menos conhecido o passo de transmetalção porque o mecanismo é altamente dependente de compostos organometálicos ou condições de reação utilizadas para os acoplamentos.

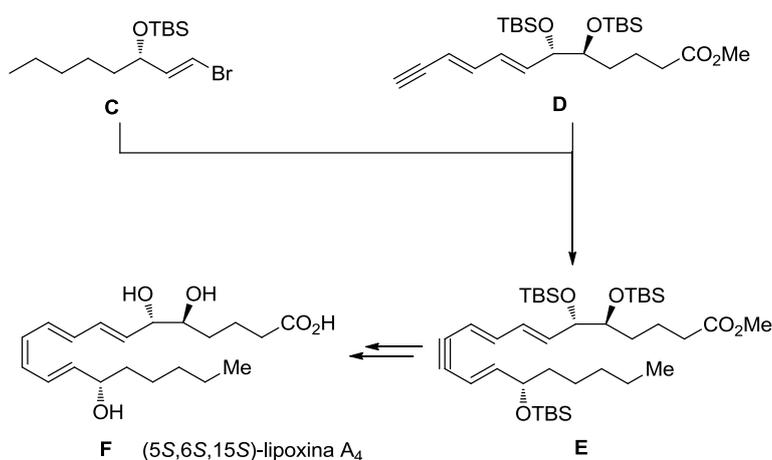
## 1.8 Acoplamento de Sonogashira

O Acoplamento de Sonogashira surgiu nos últimos anos como um dos métodos mais gerais, confiáveis e eficazes para a síntese de alquinos substituídos.<sup>34</sup> O acoplamento de acetiletos metálicos pré-formados (por exemplo, derivados de Zn,<sup>35</sup> Mg,<sup>36</sup> B,<sup>37</sup> Al<sup>38</sup> e Sn<sup>39</sup>) com eletrófilos orgânicos fornece um acesso a alquinos substituídos. No entanto, o protocolo de Sonogashira (que emprega sais de CuI como co-catalisadores) é um dos métodos de alquinição catalisados por paládio mais amplamente utilizado, particularmente no contexto da síntese total, em grande parte devido à sua ampla aplicabilidade e conveniência.

### 1.8.1 Principais aplicações e variantes

Uma das primeiras aplicações da reação de Sonogashira na síntese total pode ser encontrada na via sintética generalizada para as lipoxinas biologicamente significativas e eicosanóides relacionados; iniciada pelo grupo de Nicolaou no início dos anos 80.<sup>40</sup>

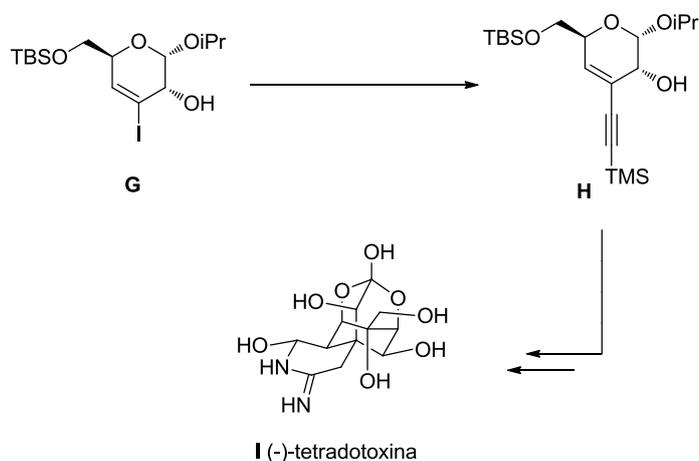
Variantes do Acoplamento de Sonogashira permitiram a síntese de uma série de outros produtos naturais eicosanóides relacionados com a estrutura e a biossíntese, incluindo a família de metabolitos secundários da lipoxina. Por exemplo, a (5*S*, 6*S*, 15*S*)-lipoxina A<sub>4</sub> (**F**) foi obtida através da união dos blocos de construção **C** e **D** enantiomericamente puros, seguindo-se procedimentos de redução de Lindlar e grupos de clivagem do grupo protetor (Esquema 5).<sup>40</sup>



**Esquema 5.** Aplicação da reação de Sonogashira no acoplamento de um fragmento na síntese total de (5*S*,6*S*,15*S*)-lipoxina A<sub>4</sub> (**F**)

Esses exemplos ilustrativos servem para destacar o fato de que a reação de Sonogashira proporciona uma alternativa importante às reações de Stille e Suzuki para a síntese estereosseletiva de sistemas poliênicos, por meio desse protocolo em duas etapas de acoplamento alcino-alceno, seguidas de redução seletiva da tripla ligação. Essa metodologia revela-se de particular utilidade quando os compostos de organoestanho ou de organoboro, necessários para as reações de acoplamento de Stille ou Suzuki, respectivamente, não estão disponíveis ou são instáveis para serem sinteticamente úteis. É importante notar que ambos os isômeros correspondentes de *E* e *Z*-alqueno podem ser preparados de um modo estereosseletivo a partir do alquino. Assim, enquanto que os alquenos *Z* são tipicamente preparados por processos de hidrogenação catalítica, estão disponíveis várias vias para a síntese dos isômeros *E* correspondentes.<sup>41</sup> Os protocolos de hidrossililação desenvolvidos pelos grupos de Fürstner<sup>42</sup> e Trost<sup>43</sup> são métodos potencialmente convenientes e quimiosseletivos.

Uma das aplicações mais comuns da reação de Sonogashira na síntese total é a incorporação de resíduos de alquino de dois carbonos em intermediários sintéticos, tanto como apêndices de anéis como um meio de alongamento de cadeia acíclica. Trimetilsilil acetileno serve como um equivalente de acetileno convenientemente modificado, com o benefício adicional de que, uma vez que a unidade de alquino terminal é bloqueada com o correspondente trimetilsilano, os produtos de mono acoplamento são observados exclusivamente. Tal reação foi aplicada por Isobe e colaboradores em uma junção preliminar no decorrer de sua síntese total assimétrica da tetradotoxina,<sup>44</sup> o famoso veneno do peixe baiacu que foi chamado de "uma das grandes maravilhas da natureza".<sup>45</sup> Assim, (trimetilsilil) acetileno foi acoplado de forma branda ao iodeto de vinílico **G** por exposição a quantidades catalíticas de Pd(OAc)<sub>2</sub> (5 mol%), PPh<sub>3</sub> (10 mol%) e CuI (10 mol%) na presença de Et<sub>3</sub>N em benzeno à temperatura ambiente para proporcionar o enino **H**, com rendimento quase quantitativo (Esquema 6). Esse produto foi submetido a outros passos para completar a síntese total.



**Esquema 6.** Uso da reação de Sonogashira na síntese enantioselectiva da (-)-tetradotoxina **I**

Algumas das aplicações mais destacadas da reação de Sonogashira podem ser encontradas em abordagens sintéticas a vários membros da classe de antibióticos enedino, como relatado por diferentes grupos.<sup>46</sup> O motivo característico (*Z*)-1,5-diino-3-eno contido dentro dessa família de produtos naturais parecia prestar-se à formação de ligação carbono-carbono catalisados por paládio e, de fato,

provou ser um teste significativo para o acoplamento de Sonogashira na síntese total.

## 1.9 Click Chemistry

Nos últimos anos, a “Click Chemistry” regioseletiva tem uma ampla aplicação na química orgânica sintética e na química medicinal. A “Click Chemistry” tem sido explorada como uma nova abordagem para a síntese regioseletiva de derivados 1,2,3-triazólicos para o desenvolvimento de novos medicamentos.<sup>47-49</sup>

Assim como as oxazolinas preparadas, derivados 1,2,3-triazólicos foram também sintetizados. Devido às diversas atividades farmacológicas mencionadas anteriormente, tornam-se compostos muito interessantes. Derivados 1,2,3-triazólicos foram relatados com atividade antibacteriana, antituberculose, anticancerígena, antiviral, anti-hipertensiva, anticolinérgica, anti-inflamatória e antifúngica,<sup>50-53</sup> o que reforça o interesse do nosso grupo para aprofundarmos a pesquisa desse tipo de moléculas.

## 2. OBJETIVOS

- Obter novos derivados oxazolínicos e derivados 1,2,3-triazólicos de uma forma simples e barata.
- Avaliar a atividade antifúngica dos compostos sintetizados.
- Avaliar a toxicidade dos compostos sintetizados.
- Realizar uma proposta de relação estrutura-atividade.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

Todas as reações sensíveis ao ar e/ou à água foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio (N<sub>2</sub>) e em condições anidras. O solvente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (diclorometano) anidro utilizado nas reações foi coletado através da máquina de secagem de solventes MBraun modelo MB-SPS-800-Auto. O restante dos solventes e dos reagentes foram obtidos por fontes comerciais sem a necessidade de purificação antes do uso.

As placas de cromatografia delgada, ferramenta para acompanhamento das reações, são de sílica gel UV254 (0,20 mm) marca Merck, obtidas comercialmente. Solução ácida de vanilina (5% de vanilina em 10% de ácido sulfúrico), com posterior aquecimento para revelação, luz ultravioleta e uma cuba contendo iodo triturado foram empregados na interpretação e revelação dos produtos aplicados e eluídos nas placas de cromatografia delgada.

Para algumas extrações foram utilizadas soluções saturadas de cloreto de amônio, cloreto de sódio e bicarbonato de sódio. A purificação de produtos por meio de cromatografia em coluna foi realizada utilizando colunas de vidro, sílica gel 60 (230-400 mesh - Merck) e um solvente ou mistura de solventes com gradiente adequado para cada produto.

Os dados de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H RMN e <sup>13</sup>C RMN, foram obtidos em um aparelho Bruker ADVANCE DPX-300 que opera na frequência de 300 e 75 MHz, respectivamente. Em experimentos de <sup>1</sup>H RMN, os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em ppm em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno. Os espectros de <sup>13</sup>C RMN foram calibrados considerando o pico do CHCl<sub>3</sub> como 77,0 ppm (pico central) ou o pico do DMSO como 39,5 ppm (pico central). Entre parêntese estão dispostas informações referentes à multiplicidade dos picos (s = simpleto, sl = simpleto largo, d = duplete, t = tripleto, quart = quarteto, quint = quinteto, sex = sexteto, m = multiplete, dd = duplo duplete, dt = duplo tripleto, td = triplo duplete). A dedução do número de hidrogênios foi realizada através da integração relativa e a constante de acoplamento (*J*) expressa em Hertz (Hz).

As reações em ultrassom foram feitas em aparelho Branson Ultrasonic Cleaner 3510R-DTH.

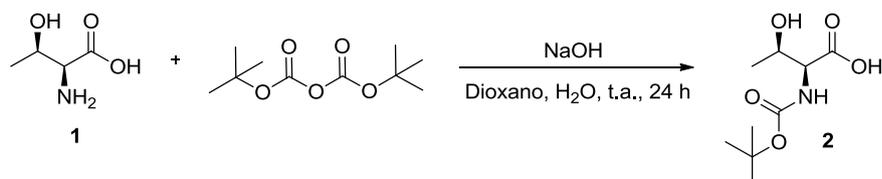
Para a remoção dos solventes das soluções orgânicas, foram utilizados rota-  
evaporadores marca Büchi, modelos R210 e R205, linha de vácuo equipada com  
uma bomba de alto vácuo, marca Boc Edwards, modelo RV8 Rotary Vane.

A espectrometria de massa de alta resolução (HRMS) foi obtida em aparelho  
ESI-IT-ToF (Shimadzu Co., Japão). Para injeção manual foi utilizado injetor  
Rheodyne, com fluxo constante de 50  $\mu\text{L}/\text{min}$ ; voltagem da interface 4,5 kV,  
voltagem do detector 1,76 kV, e temperatura do CDL 200 °C. Os espectros  
geralmente são obtidos na faixa de 50 a 2000 m/z. Outros compostos foram  
analisados no aparelho MALDI modelo Axima Performance (Shimadzu Co., Japão)  
adquirido em modo positivo em matriz. As análises foram realizadas no Instituto  
Butantã da USP pelo Dr. Daniel C. Pimenta.

## 3.2 MÉTODOS

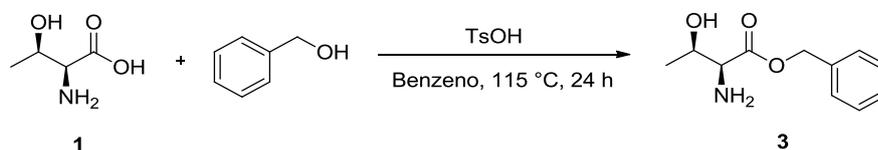
### 3.2.1 Síntese dos materiais de partida

#### Síntese do ácido (2*S*,3*R*)-2-((amino(*t*-butoxicarbonila))-3-hidroxi)butanóico (2)



Em um balão de uma boca foram adicionados a *L*-treonina (119,12 mg; 1 mmol), NaOH (60 mg; 1,5 mmol), H<sub>2</sub>O (2 mL), 1,4-dioxano (2 mL) e Boc<sub>2</sub>O (327 mg; 1,5 mmol), a mistura foi agitada vigorosamente a temperatura ambiente por 24 horas. Após as 24 horas, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida, e então, acidificada com HCl 1% para pH 2, a mistura foi extraída com AcOEt, lavada com NH<sub>4</sub>Cl e secada com MgSO<sub>4</sub>. O solvente foi removido sob pressão reduzida. O ácido (2*S*,3*R*)-2-((amino (*t*-butoxicarbonila))-3-hidroxi)butanóico (2) foi obtido na forma de um óleo incolor com rendimento de 98% (270 mg).<sup>54</sup> RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,61 (s, 2H); 5,62 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); 4,37 – 4,29 (m, 1H); 4,21 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 4,05 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H); 1,38 (s, 9H); 1,22 – 1,14 (m, 3H). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 174,40; 156,62; 80,43; 77,43; 77,01; 76,58; 60,46; 58,66; 28,27; 19,29.

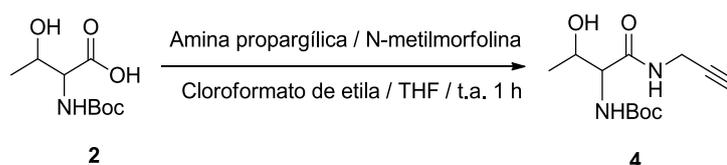
#### Síntese do (2*S*,3*R*)-2-amino-3-hidroxi)butanoato de benzila (3)



Em um balão de duas bocas, previamente flambado, sob fluxo de nitrogênio, e equipado com um aparelho de Dean-Stark, foi adicionado a *L*-treonina (238 mg; 2 mmol), e uma solução de 4:1 de benzeno (8 mL): álcool benzílico (2 mL) e em seguida o TsOH (418 mg; 2,2 mmol), a mistura foi agitada vigorosamente a 115 °C por 24 horas. A mistura foi resfriada a temperatura ambiente e o benzeno removido sob pressão reduzida e extraída com H<sub>2</sub>O e AcOEt (2 x 20 mL), a fase aquosa foi

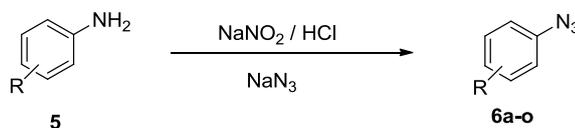
separada (a qual contém o produto), e então a fase orgânica foi lavada com H<sub>2</sub>O (4 x 10 mL), toda a fase aquosa foi separada e basificada para pH acima de 9 utilizando KOH. Após a basificação, foi realizada a extração novamente com AcOEt, a fase orgânica foi secada com MgSO<sub>4</sub> e o solvente removido sob pressão reduzida e bomba de vácuo. O (2*S*,3*R*)-benzil 2-amino-3-hidroxi-3-butanoato (**3**) foi obtido na forma de um sólido branco com rendimento de 74%.<sup>55</sup> RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,32 (d, *J* = 4,5 Hz, 5H); 5,14 (s, 2H); 3,92 (s, 1H); 3,26 (s, 1H); 1,17 (d, *J* = 5,5 Hz, 3H). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 174,02; 135,52; 128,62; 128,41; 128,40; 128,30; 127,30; 126,88; 77,71; 77,28; 76,86; 68,32; 66,89; 64,64; 60,11; 19,92.

#### Síntese do *t*-butil-(3-hidroxi-1-oxo-1-(prop-2-in-1-ilamino)butan-2-il)carbamato (**4**)



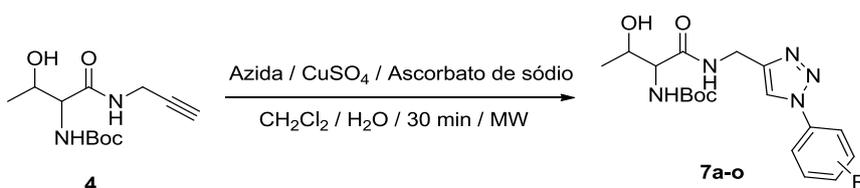
*N*-metilmorfolina (1 equiv.) foi adicionado a uma solução de *N*-*t*-butoxicarbonil-*L*-treonina (1 equiv.) em THF (5 mL) a temperatura ambiente. Cloroformato de etila (1 equiv.) foi adicionado à solução para precipitar o cloridrato de *N*-metilmorfolina como uma massa branca. Em seguida, propargilamina (1 equiv.) foi adicionado, e a mistura resultante foi agitada a temperatura ambiente durante 1 h. O precipitado foi removido por filtração, e o filtrado foi concentrado por rota evaporação. O resíduo resultante foi dissolvido em acetato de etila (40 mL) e lavou-se três vezes com água e secou-se sobre MgSO<sub>4</sub> anidro. Após filtração, o solvente foi removido para se obter o produto bruto. O *t*-butil-(3-hidroxi-1-oxo-1-(prop-2-in-1-ilamino)butan-2-il)carbamato (**4**) foi obtido na forma de um sólido branco com rendimento de 85%.<sup>56</sup> RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*) δ 7,36 (s, 1H); 5,84 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 4,35 – 4,24 (m, 2H); 4,05 (s, 2H); 2,27 (s, 1H); 1,46 (s, 8H); 1,18 (d, *J* = 5,8 Hz, 3H). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*) δ 171,00; 156,32; 80,20; 79,25; 71,60; 67,09; 60,32; 28,99; 28,24; 18,36.

### Procedimento geral para preparar as azidas aromáticas (6a-o)



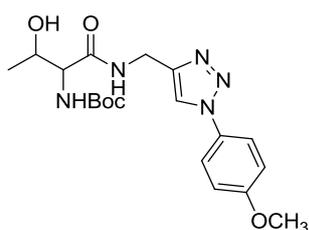
A uma suspensão sob agitação de 10,00 g de ácido composto **5** em 250 mL de água a 0 °C, adicionou-se gota a gota 325 mL de ácido clorídrico 6 M frio durante 1 h. Depois adicionou-se gota a gota 4,96 g de nitrito de sódio em 35 mL de água ao longo de 15 min, e a solução amarela brilhante resultante foi agitada durante 60 min a 0 °C.<sup>57</sup>

### Procedimento geral para a síntese dos triazóis (7a-o)



CuSO<sub>4</sub> (1 equiv.) e ascorbato de sódio (1,5 equiv.) foram adicionados a uma solução de composto **4** e a azida correspondente em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) e H<sub>2</sub>O (5 mL). A solução resultante foi colocada no reator de micro-ondas e deixou-se reagir por 30 min. A mistura da reação foi diluída com H<sub>2</sub>O (10 mL), em seguida, extraiu-se com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL x 3). As fases orgânicas combinadas foram secas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna.<sup>58</sup>

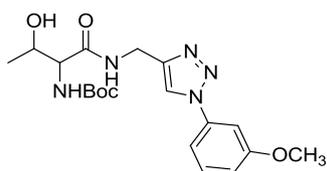
#### **t**-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(4-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato



**7a**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 79%: RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d) δ 7,85 (s, 1H); 7,47 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H); 6,87 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H); 5,73 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); 4,50 (s, 1H); 4,10 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H); 1,32 (s, 9H); 1,12 (t, *J* = 7,3 Hz, 4H). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d) δ 171,66; 159,77; 156,28; 145,14; 130,27; 121,95; 120,60; 80,20; 67,18; 59,18; 55,53; 34,89; 28,23; 18,79. HRMS calcd. para [C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> + H]<sup>+</sup>: 406,4559. Encontrado: 406,1897.

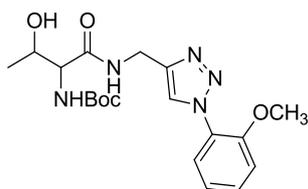
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(3-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7b

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 78%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,00 (s, 1H); 7,61 (s, 1H); 7,45 – 7,12 (m, 4H); 6,94 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H); 5,75 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H); 4,78 – 4,49 (m, 2H); 4,38 (d,  $J = 5,8$  Hz, 2H); 3,85 (s, 3H); 1,41 (s, 9H); 1,19 (d,  $J = 5,9$  Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,71; 160,54; 156,30; 145,24; 137,85; 130,44; 120,53; 114,64; 112,30; 106,22; 67,12; 58,99; 55,58; 34,88; 28,24; 18,70. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 406,4559. Encontrado: 406.1890.

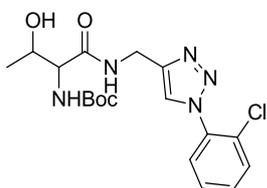
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(2-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7c

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,08 (s, 1H); 7,68 (d,  $J = 9,3$  Hz, 1H); 7,40 (t,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,16 – 6,94 (m, 2H); 5,81 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 4,61 (d,  $J = 5,3$  Hz, 3H); 4,46 – 4,30 (m, 2H); 3,84 (s, 3H); 1,41 (s, 9H); 1,25 (t,  $J = 7,1$  Hz, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,07; 151,08; 143,90; 130,13; 126,07; 125,31; 124,28; 121,04; 112,23; 80,01; 67,18; 60,30; 55,86; 34,87; 28,20. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 406,4559. Encontrado: 406,1897.

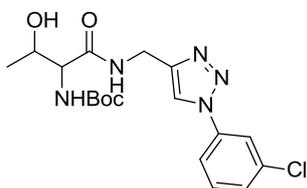
***t*-Butil-1-(((1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7d

O produto foi obtido como um óleo amarelo com rendimento de 53%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  7,99 (s, 1H), 7,73 – 7,48 (m, 4H); 7,50 – 7,37 (m, 2H); 5,75 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 4,64 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H); 4,46 – 4,27 (m, 2H); 1,41 (s, 9H); 1,17 (d,  $J = 6,0$  Hz, 5H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,60; 156,27; 144,41; 134,74; 130,80; 130,71; 128,61; 127,86; 127,73; 124,27; 80,22; 67,12; 58,91; 34,86; 28,25; 18,57. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 410,8750. Encontrado: 410,1405.

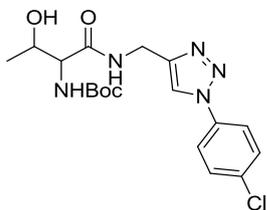
***t*-Butil-1-(((1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7e

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,01 (s, 1H); 7,74 (s, 1H); 7,60 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H); 7,45 (d,  $J = 8,1$  Hz, 3H); 5,63 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 4,65 – 4,51 (m, 3H); 4,39 (d,  $J = 6,1$  Hz, 2H); 1,42 (s, 9H); 1,19 (d,  $J = 6,3$  Hz, 5H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,83; 156,39; 137,71; 135,57; 130,78; 128,84; 120,66; 120,34; 118,36; 67,01; 60,36; 34,90; 28,26; 18,63. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 410,87506. Encontrado: 410,1396.

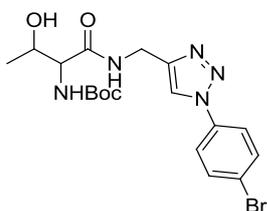
***t*-Butil-(1-(((1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7f

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 86%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,99 (s, 1H); 7,73 – 7,48 (m, 4H); 7,50 – 7,37 (m, 2H); 5,75 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 4,64 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H); 4,46 – 4,27 (m, 2H); 1,41 (s, 9H); 1,17 (d,  $J = 6,0$  Hz, 5H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  171,60; 156,27; 144,41; 134,74; 130,80; 130,71; 128,61; 127,86; 127,73; 124,27; 80,22; 67,12; 58,91; 34,86; 28,25; 18,57. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 410,8750. Encontrado: 410,1381.

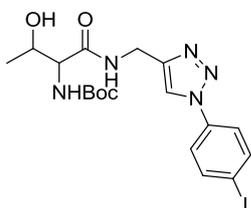
***t*-Butil-(1-(((1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7g

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 79%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,07 (s, 1H); 7,80 (s, 1H); 7,57 (s, 4H); 5,87 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H); 4,58 (s, 3H); 4,46 – 4,30 (m, 4H); 4,21 (s, 1H); 1,40 (s, 9H); 1,24 – 1,08 (m, 6H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  171,75; 156,31; 145,68; 135,73; 132,78; 122,35; 121,67; 120,48; 80,22; 67,21; 60,35; 34,84; 28,24; 18,85. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{BrN}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 455,3260. Encontrado: 454,0928.

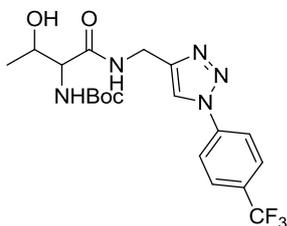
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(4-iodofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7h

O produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 83%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,05 (s, 1H); 7,78 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H); 7,43 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H); 5,81 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H); 4,58 (d,  $J = 12,6$  Hz, 1H); 4,44 – 4,29 (m, 2H); 1,40 (s, 9H); 1,18 (d,  $J = 6,0$  Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,79; 156,30; 145,65; 138,76; 136,40; 121,79; 120,34; 93,65; 80,24; 67,18; 60,36; 34,85; 28,26; 18,82. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{I}\text{N}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 502,3265. Encontrado: 502,0803.

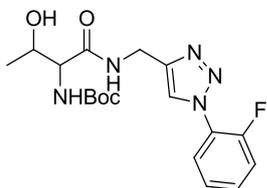
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-oxo-1-(((1-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)butan-2-il)carbamato**



7i

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 78%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,09 (s, 1H); 7,86 (d,  $J = 8,5$  Hz, 3H); 7,77 (d,  $J = 8,6$  Hz, 3H); 5,63 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 4,75 – 4,52 (m, 3H); 4,40 (d,  $J = 6,4$  Hz, 1H); 1,42 (s, 9H); 1,19 (d,  $J = 6,3$  Hz, 5H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,84; 156,40; 145,87; 139,24; 131,00; 130,56; 127,01; 125,27; 121,66; 120,33; 80,46; 67,10; 58,99; 34,87; 28,24; 18,66. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 444,4279. Encontrado: 444,7101.

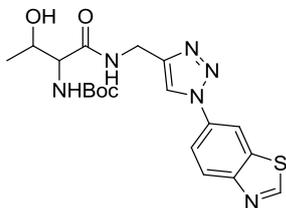
***t*-Butil-(1-(((1-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato**



**7j**

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,00 (s, 1H); 7,61 (s, 1H); 7,45 – 7,12 (m, 4H); 6,94 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H); 5,75 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H); 4,78 – 4,49 (m, 2H); 4,38 (d,  $J = 5,8$  Hz, 2H); 3,85 (s, 3H); 1,41 (s, 9H); 1,19 (d,  $J = 5,9$  Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  171,71; 160,54; 156,30; 145,24; 137,85; 130,44; 120,53; 114,64; 112,30; 106,22; 67,12; 58,99; 55,58; 34,88; 28,24; 18,70. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{FN}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 394,4204. Encontrado: 394,1703.

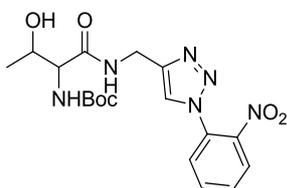
***t*-Butil-(1-(((1-(benzo[d]tiazol-6-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-3-hidroxi-1-oxobutan-2-il)carbamato**



**7k**

O produto foi obtido como um sólido bege com rendimento de 41%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  9,08 (s, 1H); 8,30 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H); 8,22 – 8,06 (m, 2H); 7,83 – 7,61 (m, 2H); 5,80 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 4,62 (dt,  $J = 16,1, 8,1$  Hz, 2H); 4,42 (dd,  $J = 6,6, 2,5$  Hz, 1H); 1,42 (s, 8H); 1,27 (d,  $J = 7,1$  Hz, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  171,10; 156,34; 155,85; 134,33; 124,44; 118,98; 113,86; 80,28; 67,14; 60,34; 34,93; 28,25; 18,80. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_4\text{S} + \text{H}]^+$ : 433,5044. Encontrado: 433,1455.

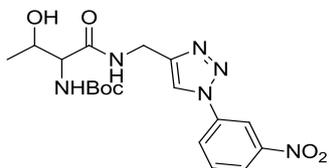
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(2-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7l

O produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 57%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,06 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,88 (s, 1H); 7,77 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H); 7,70 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H); 7,61 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H); 5,60 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 4,68 – 4,53 (m, 2H); 4,37 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H); 1,43 (s, 8H); 1,18 (d,  $J = 6,1$  Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  171,81; 156,39; 145,23; 144,39; 133,83; 130,78; 130,12; 127,88; 125,53; 123,86; 80,40; 67,08; 34,82; 28,27; 18,58. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6 + \text{H}]^+$ : 421,4275. Encontrado: 421,1620.

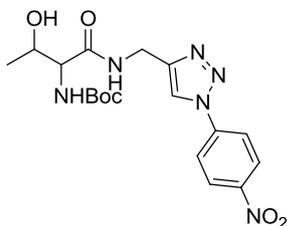
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(3-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7m

O produto foi obtido como um sólido marrom com rendimento de 81%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,58 (s, 1H); 8,28 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H); 8,18 (s, 1H); 8,15 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H); 7,75 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H); 5,63 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 4,72 – 4,47 (m, 2H); 4,40 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H); 1,43 (s, 8H); 1,20 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  171,89; 156,43; 148,92; 146,16; 137,60; 130,94; 125,79; 123,19; 120,52; 115,20; 80,54; 67,08; 34,90; 28,25; 18,68. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6 + \text{H}]^+$ : 421,4275. Encontrado: 421,1620.

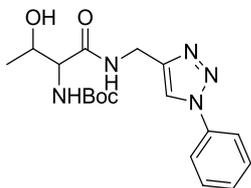
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-(((1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)-1-oxobutan-2-il)carbamato**



7n

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 89%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,40 – 8,28 (m, 1H); 7,99 (s, 0H); 7,96 (s, 0H); 5,84 (d,  $J = 7,6$  Hz, 0H); 4,62 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H); 4,43 – 4,30 (m, 1H); 1,41 (s, 3H); 1,26 (t,  $J = 7,2$  Hz, 0H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,19; 156,38; 147,15; 146,34; 140,94; 125,42; 120,74; 120,36; 80,39; 60,37; 59,24; 34,84; 28,22; 18,84. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6 + \text{H}]^+$ : 421,4275. Encontrado: 421,1628.

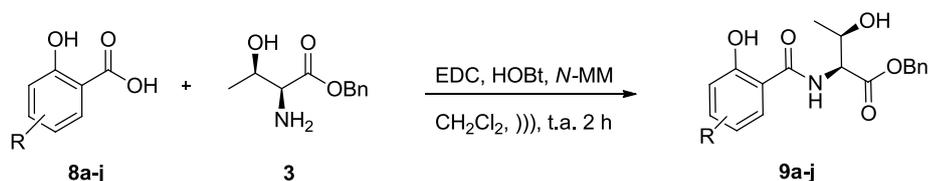
***t*-Butil-(3-hidroxi-1-oxo-1-(((1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)amino)butan-2-il)carbamato**



7o

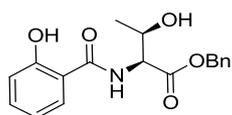
O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 84%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,09 (s, 1H); 7,99 – 7,69 (m, 6H); 7,49 (d,  $J = 6,1$  Hz, 1H); 5,63 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 4,75 – 4,52 (m, 3H); 4,40 (dt,  $J = 6,4, 3,2$  Hz, 1H); 1,42 (s, 10H); 1,19 (d,  $J = 6,5$  Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  171,76; 156,37; 145,28; 136,89; 129,70; 128,80; 120,46; 80,36; 67,07; 34,91; 28,26; 18,66. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 376,43. Encontrado: 376,1768.

### Procedimento geral para a síntese das amidas (9a-j)



Em um balão de uma boca, foi adicionado o derivado do ácido salicílico **8a-j** (1 mmol), a *L*-treonina substituída (1 mmol), EDC (250 mg, 1,3 mmol), HOBT (162 mg, 1,2 mmol), *N*-metilmorfolina (165  $\mu\text{L}$ , 1,5 mmol) e foram dissolvidos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL). A reação foi mantida a temperatura ambiente em banho ultrassônico até o consumo total do material de partida (CCD) (1 – 2,5 h). A mistura reacional foi diluída em AcOEt e lavada com solução de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (3 x 20 mL). A fase orgânica foi recolhida, seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e o solvente removido sob vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna utilizando sílica *flash* com mistura de solventes de AcOEt/hexano (5-10% de AcOEt em hexano).<sup>59</sup>

### (2*S*,3*R*)-Benzil 3-hidroxi-2-(2-hidroxibenzamido)butanoato

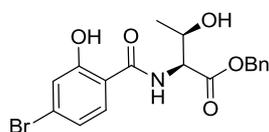


**9a**

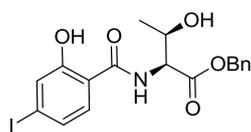
O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 60%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-}d$ )  $\delta$  11,99 (s, 1H); 7,55 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,39 (d,  $J = 8,0$  Hz, 6H); 7,02 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 6,89 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H); 5,35 – 5,16 (m, 2H); 4,85 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H); 4,50 (s, 1H); 1,30 (d,  $J = 6,5$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-}d$ )  $\delta$  170,65; 170,39; 161,58; 135,09; 134,65; 128,70; 128,23; 125,95; 118,85; 118,56; 113,84; 68,11; 67,62; 57,16; 20,17. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_5 + \text{H}]^+$ : 329,13. Encontrado: 328,080.

**(2S,3R)-Benzil 2-(4-azido-2-hidroxibenzamido)-3-hidroxi-butanoato****9b**

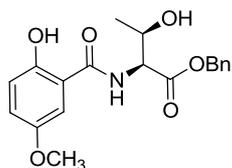
O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 52%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  11,69 (s, 1H); 7,36 (s, 5H); 7,26 (dd,  $J = 8,0, 3,5$  Hz, 1H); 7,17 – 7,12 (m, 1H); 6,94 (dd,  $J = 9,1, 4,7$  Hz, 1H); 5,24 (d,  $J = 5,4$  Hz, 2H); 4,81 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H); 4,49 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H); 1,27 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,62; 169,28; 160,56; 137,35; 128,74; 128,69; 128,58; 128,29; 120,46; 115,3; 110,44; 68,06; 67,81; 57,27; 20,23. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 370,13. Encontrado: 371,176.

**(2S,3R)-Benzil 2-(4-bromo-2-hidroxibenzamido)-3-hidroxi-butanoato****9c**

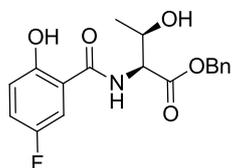
O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 59%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  12,11 (s, 1H); 7,37 (d,  $J = 9,0$  Hz, 5H); 7,17 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H); 7,09 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 6,99 (dd,  $J = 8,5, 1,8$  Hz, 1H); 5,34 – 5,13 (m, 2H); 4,80 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H); 4,47 (d,  $J = 6,2$  Hz, 1H); 1,26 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,54; 169,87; 162,20; 135,00; 128,72; 128,66; 128,63; 128,23; 126,98; 122,20; 121,72; 112,77; 68,04; 67,72; 57,18; 20,21. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrNO}_5 + \text{H}]^+$ : 407,04. Encontrado: 406,105.

**(2S,3R)-Benzil 3-hidroxi-2-(2-hidroxi-4-iodobenzamido)butanoato****9d**

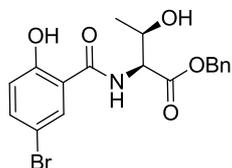
O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 52%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  12,05 (s, 1H); 7,57 – 7,04 (m, 7H); 5,26 (d,  $J = 5,7$  Hz, 2H); 4,83 (dd,  $J = 8,6, 2,0$  Hz, 1H); 4,50 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1H); 1,28 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,51; 170,02; 161,72; 128,72; 128,66; 128,24; 128,05; 127,87; 126,74; 113,30; 68,05; 67,72; 57,16; 20,21. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{INO}_5 + \text{H}]^+$ : 455,02. Encontrado: 456,082.

**(2S,3R)-Benzil 3-hidroxi-2-(2-hidroxi-5-metoxibenzamido)butanoato****9e**

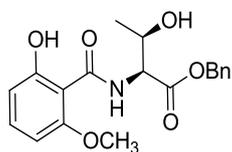
O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 60%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,38 (s, 4H); 7,15 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H); 7,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H); 6,95 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H); 5,45 – 5,14 (m, 2H); 4,85 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H); 4,64 – 4,37 (m, 1H); 3,78 (s, 3H); 1,29 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,68; 170,09; 155,60; 151,93; 135,09; 128,69; 128,59; 128,23; 121,53; 119,26; 113,74; 110,30; 68,12; 67,64; 57,26; 56,11; 20,18. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_6 + \text{H}]^+$ : 359,14. Encontrado: 360,176.

**(2S,3R)-Benzil 2-(5-fluoro-2-hidroxibenzamido)-3-hidroxi-butanoato****9f**

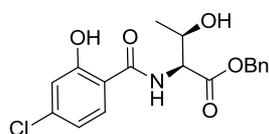
O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 53%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  11,69 (s, 1H); 7,36 (s, 5H); 7,26 (dd,  $J = 8,0, 3,5$  Hz, 1H); 7,14 (s, 1H); 6,94 (dd,  $J = 9,1, 4,7$  Hz, 1H); 5,24 (d,  $J = 5,4$  Hz, 2H); 4,83 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H); 4,49 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H); 1,27 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,58; 169,52; 157,69; 128,73; 128,68; 128,28; 122,14; 121,84; 119,79; 119,70; 113,60; 111,85; 111,54; 68,07; 67,76; 57,23; 20,18. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{FNO}_5 + \text{H}]^+$ : 347,12. Encontrado: 348,034.

**(2S,3R)-Benzil 2-(5-bromo-2-hidroxibenzamido)-3-hidroxi-butanoato****9g**

O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 58%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  11,69 (s, 1H); 7,36 (s, 5H); 7,26 (dd,  $J = 8,0, 3,5$  Hz, 1H); 7,17 – 7,12 (m, 1H); 6,94 (dd,  $J = 9,1, 4,7$  Hz, 1H); 5,24 (d,  $J = 5,4$  Hz, 2H); 4,81 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H); 4,49 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H); 1,27 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H); RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,62; 169,28; 160,56; 137,35; 128,74; 128,69; 128,58; 128,29; 120,46; 115,35; 110,44; 68,06; 67,81; 57,27; 20,23. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrNO}_5 + \text{H}]^+$ : 407,04. Encontrado: 406,105.

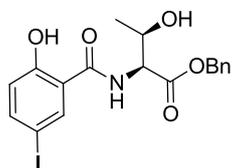
**(2S,3R)-Benzil 3-hidroxi-2-(2-hidroxi-6-metoxibenzamido)butanoato****9h**

O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 76%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  9,15 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H); 7,65 – 6,99 (m, 6H); 6,63 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 6,41 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 5,24 (s, 2H); 4,82 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 4,43 (s, 1H); 3,91 (d,  $J = 2,0$  Hz, 3H); 1,27 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,69; 164,41; 159,00; 133,75; 128,67; 128,52; 128,21; 111,68; 103,71; 101,18; 68,15; 67,41; 57,50; 56,36; 20,14. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_6 + \text{H}]^+$ : 359,14. Encontrado: 360,173.

**(2S,3R)-Benzil 2-(4-cloro-2-hidroxibenzamido)-3-hidroxibutanoato****9i**

O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 48%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,55 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 7,31 (d,  $J = 32,8$  Hz, 5H); 7,03 (s, 1H); 6,85 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 5,22 (s, 2H); 5,02 (s, 2H); 1,34 (d,  $J = 5,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  168,87; 167,09; 160,82; 139,53; 135,03; 129,21; 128,68; 119,26; 117,23; 70,14; 67,23; 15,96. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ClNO}_5 + \text{H}]^+$ : 363,09. Encontrado: 364,135.

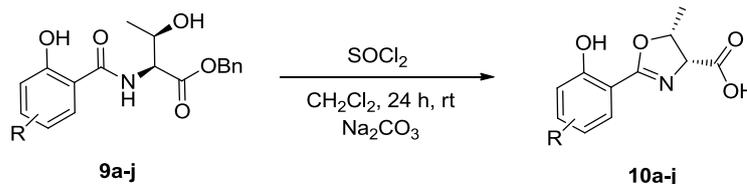
**(2S,3R)-Benzil 3-hidroxi-2-(2-hidroxi-5-iodobenzamido)butanoato**



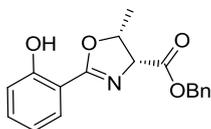
**9i**

O produto foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 45%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  12,17 (s, 1H); 7,46 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H); 7,35 (s, 5H); 6,99 (s, 1H); 6,83 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H); 5,34 – 5,13 (m, 2H); 4,81 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H); 4,48 (d,  $J = 6,1$  Hz, 1H); 1,26 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  162,31; 134,98; 128,74; 128,68; 128,25; 119,36; 118,62; 112,36; 68,06; 67,74; 57,17; 20,22. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{INO}_5 + \text{H}]^+$ : 455,02. Encontrado: 456,864.

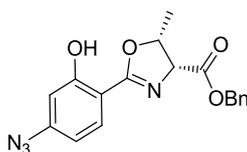
**Procedimento geral para a síntese das oxazolininas (10a-j)**



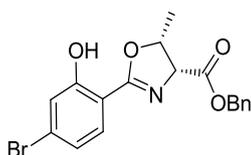
Em um balão de duas bocas de 25 mL, previamente flambado, sob fluxo de nitrogênio, foi adicionado **9a-j** (1 mmol) e  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL), em seguida o  $\text{SOCl}_2$  gota a gota (2,9 mL, 40 mmol), a mistura reacional foi agitada vigorosamente a temperatura ambiente por 48 horas. Em seguida, foi adicionado  $\text{NaHCO}_3$  até que a solução se tornasse básica. O sólido inorgânico foi removido por filtração, e a fase orgânica foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna utilizando sílica *flash* (hexano/AcOEt 9:1).<sup>60</sup>

**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-hidroxifenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato****10a**

O produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 86%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  11,85 (s, 1H); 7,68 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H); 7,41 (s, 6H); 7,06 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 6,90 (s, 1H); 5,26 (s, 2H); 5,07 (s, 2H); 1,38 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  169,04; 167,61; 160,20; 135,15; 133,89; 128,64; 128,58; 128,32; 118,62; 116,96; 110,24; 70,31; 67,13; 15,99. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_4 + \text{H}]^+$ : 311,12. Encontrado: 312,086.

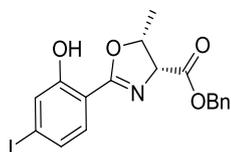
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(4-azido-2-hidroxifenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato****10b**

O produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 60%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,40 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H); 7,29 (s, 5H); 6,37 (s, 1H); 6,27 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 5,14 (s, 2H); 4,91 (d,  $J = 2,6$  Hz, 2H); 1,25 (d,  $J = 5,5$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  168,65; 166,59; 160,99; 159,80; 134,08; 128,89; 127,59; 106,18; 102,58; 102,04; 69,06; 66,20; 14,95. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 352,12. Encontrado: 352,146.

**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(4-bromo-2-hidroxifenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato****10c**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 87%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  11,97 (s, 1H); 7,48 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 7,36 (s, 5H); 7,27 – 7,19 (m, 1H); 7,00 (dd,  $J = 8,4, 1,8$  Hz, 1H); 5,22 (d,  $J = 1,7$  Hz, 2H); 5,10 – 4,90 (m, 2H); 1,33 (d,  $J = 5,9$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  168,79; 167,17; 160,75; 135,05; 129,27; 128,65; 127,90; 122,10; 120,27; 109,28; 70,18; 67,22; 15,94. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrNO}_4 + \text{H}]^+$ : 389,03. Encontrado: 390,072.

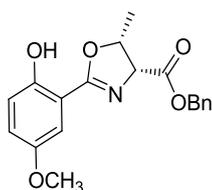
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-hidroxi-4-iodofenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10d**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 81%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  7,43 (d,  $J = 21,0$  Hz, 6H); 7,33 (s, 1H); 7,27 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 5,25 (s, 2H); 5,04 (s, 2H); 1,37 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  168,77; 167,31; 160,29; 135,05; 129,12; 128,65; 127,99; 126,34; 109,82; 100,31; 70,22; 67,21; 15,94. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{INO}_4 + \text{H}]^+$ : 437,01. Encontrado: 438,024.

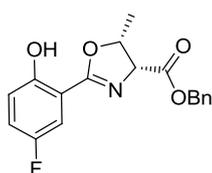
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-hidroxi-5-metoxifenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10e**

O produto foi obtido como um sólido lilás com rendimento de 71%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  7,29 (s 5H); 7,05 (s, 1H); 6,90 (d,  $J = 11,3$  Hz, 2H); 5,30 – 5,08 (m, 2H); 4,95 (s, 2H); 3,69 (s, 3H); 1,27 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  169,03; 167,46; 154,64; 151,83; 135,16; 128,59; 121,79; 117,89; 111,12; 109,75; 77,46; 70,43; 67,13; 55,94; 16,02. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_5 + \text{H}]^+$ : 341,13. Encontrado: 342,150.

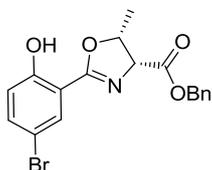
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(5-fluoro-2-hidroxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10f**

O produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 76%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  7,65 – 7,19 (m, 6H); 7,11 (td,  $J = 8,5, 8,1, 3,1$  Hz, 1H); 6,96 (dd,  $J = 9,1, 4,5$  Hz, 1H); 5,22 (s, 2H); 5,03 (s, 2H); 1,34 (d,  $J = 5,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  168,84; 156,43; 156,41; 135,05; 128,67; 121,28; 120,97; 118,14; 118,04; 113,94; 113,61; 110,20; 77,63; 70,33; 67,24; 15,97. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{FNO}_4 + \text{H}]^+$ : 329,11. Encontrado: 330,127.

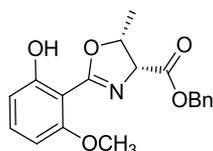
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10g**

O produto foi obtido como um sólido rosa com rendimento de 49%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,67 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H); 7,51 – 7,21 (m, 6H); 6,83 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H); 5,14 (s, 2H); 4,95 (s, 2H); 1,26 (d,  $J = 5,8$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  167,72; 165,56; 158,18; 135,54; 133,97; 129,59; 127,63; 117,88; 110,74; 109,21; 69,19; 66,21; 14,92. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BrNO}_4 + \text{H}]^+$ : 389,03. Encontrado: 390,158.

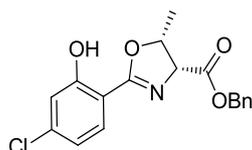
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-hidroxi-6-metoxifenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10h**

O produto foi obtido como um sólido marrom com rendimento de 40%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{Metanol-}d_4$ )  $\delta$  7,85 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,42 – 7,27 (m, 6H); 6,67 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 5,22 (s, 3H); 3,97 (s, 2H); 3,31 (s, 3H); 1,24 (d,  $J = 5,8$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{MeOD-}d_4$ )  $\delta$  171,83; 168,12; 162,03; 143,33; 137,16; 129,58; 129,30; 129,14; 126,84; 105,37; 103,57; 101,40; 68,42; 68,21; 68,03; 59,49; 57,32; 20,78. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_5 + \text{H}]^+$ : 341,13. Encontrado: 342,150.

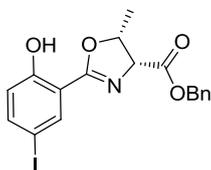
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(4-cloro-2-hidroxifenila)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10i**

O produto foi obtido como um sólido rosa com rendimento de 50%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,55 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 7,31 (d,  $J = 32,8$  Hz, 5H); 7,03 (s, 1H); 6,85 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 5,22 (s, 2H); 5,02 (s, 2H); 1,34 (d,  $J = 5,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  167,09; 160,82; 139,53; 135,03; 129,21; 128,68; 119,26; 117,23; 70,14; 67,23; 15,96. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClNO}_4 + \text{H}]^+$ : 345,08. Encontrado: 346,042.

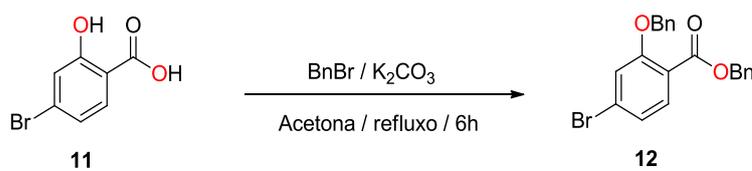
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-hidroxi-5-iodofenila)-5-metila-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**10j**

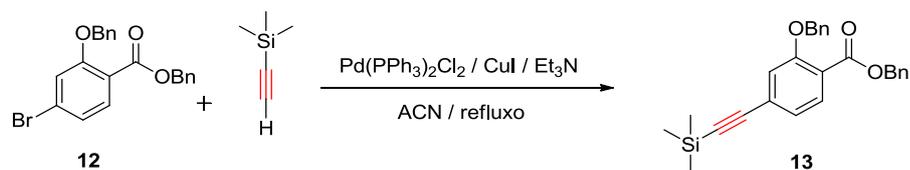
O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 60%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,92 (s, 1H), 7,63 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H); 7,36 (s, 5H); 6,80 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H); 5,22 (s, 2H); 5,02 (s, 2H); 1,34 (d,  $J = 5,2$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  168,76; 166,47; 159,90; 142,31; 136,61; 135,02; 128,70; 119,40; 112,51; 77,70; 70,20; 67,25; 15,97. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{INO}_4 + \text{H}]^+$ : 437,01. Encontrado: 438,063.

**Proteção dos grupos hidroxí com brometo de benzila**



O ácido 4-bromosalicílico foi dissolvido em acetona e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e o brometo de benzila foi adicionado. A mistura foi refluxada por 10 h. O solvente foi removido mediante pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido em  $\text{H}_2\text{O}$  e extraído com  $\text{AcOEt}$ . A fase orgânica foi secada com  $\text{MgSO}_4$  e o solvente evaporado no rotaevaporador.<sup>61</sup> O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 91%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  7,65 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 7,38 – 7,32 (m, 2H); 7,33 – 7,14 (m, 8H); 7,11 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H); 7,06 (dd,  $J = 8,3, 1,7$  Hz, 1H); 5,25 (s, 2H); 5,05 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,51; 158,77; 135,90; 133,14; 128,61; 128,52; 128,23; 128,14; 128,04; 127,60; 127,17; 123,84; 119,63; 117,24; 71,02; 66,89.

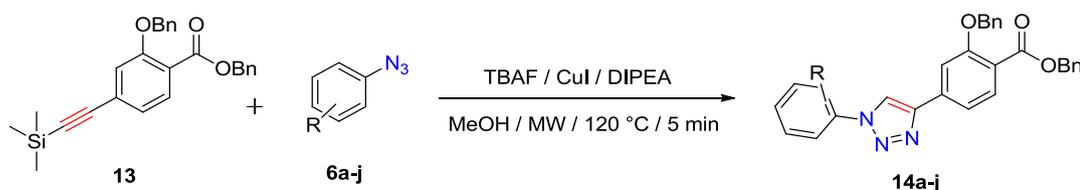
## Reação de acoplamento de Sonogashira



A solução do composto bromado e o trimetilsil acetileno (TMS) foram preparadas em acetonitrila (ACN) em atmosfera de  $N_2$ , seguidamente se adicionaram a base  $Et_3N$ ,  $CuI$ , e a fonte de paládio. A mistura foi refluxada por 15 horas. Em seguida, aquela mesma mistura foi deixada alcançar a temperatura ambiente e  $AcOEt/H_2O$  foram adicionados. A fase orgânica foi subsequentemente separada, lavada com  $H_2O$  e secada com  $Na_2SO_4$ .<sup>62</sup> O produto foi obtido como um sólido preto com rendimento de 66%:

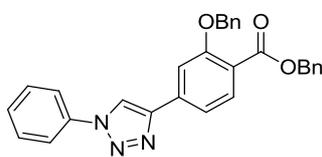
RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3-d$ )  $\delta$  7,82 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,57 – 7,25 (m, 10H); 7,22 – 7,05 (m, 2H); 5,36 (s, 2H); 5,17 (s, 2H); 0,30 (s, 9H). RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  165,89; 158,12; 136,43; 136,12; 132,06; 128,69; 128,41; 128,25; 128,04; 127,31; 124,39; 120,87; 116,96; 104,16; 97,33; 70,96; 67,02; -0,00.

## Síntese geral dos 1,2,3-triazóis



Todos os compostos foram adicionados ao vial e colocados no reator do micro-ondas sob  $N_2$  e a irradiação foi feita durante 5 minutos a 120 °C. O sólido obtido foi filtrado e lavado com hexano. Quando o produto de reação era líquido, realizou-se a extração 3 vezes com uma solução de  $NH_4Cl$  e  $AcOEt$  para depois secar com  $MgSO_4$  e remover o solvente mediante evaporação no rotaevaporador.<sup>63</sup>

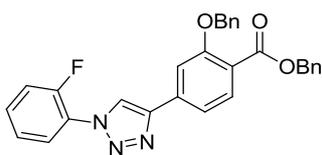
### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



**14a**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 67%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,16 (s, 1H); 7,88 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,72 (d,  $J = 5,3$  Hz, 3H); 7,45 (dd,  $J = 12,3, 6,9$  Hz, 6H); 7,30 (dd,  $J = 19,7, 7,2$  Hz, 8H); 5,25 (d,  $J = 25,5$  Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,90; 158,95; 147,27; 136,90; 136,46; 136,10; 135,36; 132,78; 129,84; 129,02; 128,53; 128,25; 128,07; 127,84; 127,23; 120,62; 120,23; 118,61; 117,70; 110,87; 70,86; 66,78. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 461,17. Encontrado: 462,237.

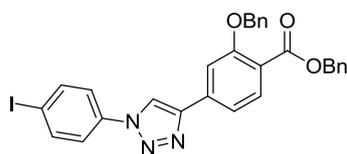
### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



**14b**

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 55%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,36 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H); 8,00 (dd,  $J = 17,9, 7,7$  Hz, 2H); 7,79 (s, 1H); 7,54 – 7,32 (m, 14H); 5,38 (s, 2H); 5,30 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,89; 158,92; 147,06; 136,45; 136,08; 135,23; 132,77; 128,52; 128,22; 128,06; 127,83; 127,23; 125,34; 124,84; 120,26; 117,77; 117,23; 116,96; 110,94; 70,87; 66,76. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 479,16. Encontrado: 478,421.

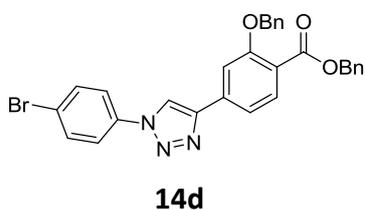
### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(4-iodofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



**14c**

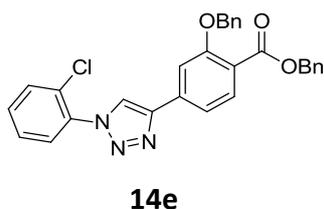
O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 95%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,29 (s, 1H); 7,97 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,92 – 7,68 (m, 3H); 7,61 – 7,27 (m, 13H); 5,40 (s, 2H); 5,30 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,86; 158,93; 147,50; 137,70; 136,40; 136,06; 135,70; 135,03; 132,78; 130,92; 129,04; 128,52; 128,24; 128,08; 127,85; 127,23; 120,78; 120,41; 118,53; 117,73; 110,91; 70,88; 66,80. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{IN}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 587,07. Encontrado: 588,241.

### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



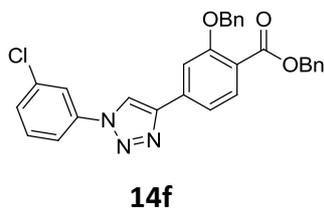
O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 67%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,30 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H); 8,02 – 7,95 (m, 1H); 7,77 (d,  $J = 8,8$  Hz, 3H); 7,57 – 7,32 (m, 13H); 5,38 (s, 2H); 5,30 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  165,88; 158,93; 147,49; 136,43; 136,08; 135,36; 135,13; 134,81; 132,77; 130,02; 128,53; 128,25; 128,10; 127,85; 127,24; 121,73; 120,35; 118,60; 117,73; 110,92; 70,92; 66,83. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{BrN}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 539,08. Encontrado: 540,156.

### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



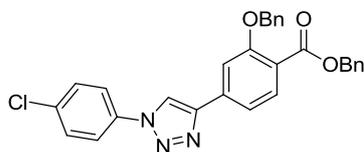
O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 78%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,17 (s, 1H), 7,88 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,71 (s, 1H); 7,61 – 7,48 (m, 2H); 7,46 – 7,18 (m, 13H); 5,29 (s, 2H); 5,21 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  165,90; 158,97; 146,53; 136,46; 136,10; 135,31; 134,75; 132,80; 130,99; 130,86; 128,63; 128,53; 128,24; 128,07; 128,03; 127,84; 127,75; 127,23; 122,56; 120,24; 117,78; 110,95; 70,89; 66,77. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 495,13. Encontrado: 496,237.

### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 78%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,29 (s, 1H); 7,97 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,92 – 7,68 (m, 3H); 7,61 – 7,27 (m, 13H); 5,40 (s, 2H); 5,30 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  165,86; 158,93; 147,50; 137,70; 136,40; 136,06; 135,70; 135,03; 132,78; 130,92; 129,04; 128,52; 128,24; 128,08; 127,85; 127,23; 120,78; 120,41; 118,53; 117,73; 110,91; 70,88; 66,80. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 495,13. Encontrado: 496,251.

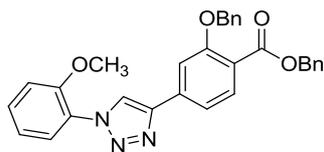
### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



**14g**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 81%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,30 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H); 8,02 – 7,95 (m, 1H); 7,77 (d,  $J = 8,8$  Hz, 3H); 7,57 – 7,32 (m, 13H), 5,38 (s, 2H), 5,30 (s, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,88; 158,93; 147,49; 136,43; 136,08; 135,36; 135,13; 134,81; 132,77; 130,02; 128,53; 128,25; 128,10; 127,85; 127,24; 121,73; 120,35; 118,60; 117,73; 110,92; 70,92; 66,83. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3 + \text{H}]^+$ : 495,13. Encontrado: 496,242.

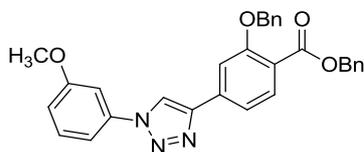
### Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(2-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato



**14h**

O produto foi obtido como um sólido âmbar com rendimento de 88%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,39 (s, 1H); 7,99 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,90 – 7,80 (m, 2H); 7,57 – 7,31 (m, 12H); 5,40 (s, 2H); 5,32 (s, 2H); 3,95 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,99; 158,98; 151,17; 146,14; 136,56; 136,16; 135,92; 132,73; 130,34; 128,51; 128,23; 128,04; 127,80; 127,24; 126,18; 125,50; 122,73; 121,34; 119,86; 117,70; 112,37; 110,86; 70,86; 66,73; 56,09. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 491,18. Encontrado: 492,147.

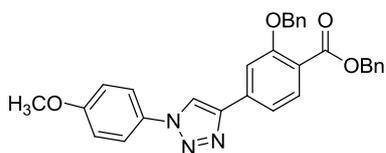
**Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(3-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato**



**14i**

O produto foi obtido como um sólido cinza com rendimento de 88%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,23 (s, 1H); 8,17 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,87 (s, 1H); 7,30 (ddd,  $J = 32,5; 22,5; 12,0$  Hz, 13H); 6,94 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 5,33 (s, 2H); 4,62 (s, 2H); 3,82 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,03; 160,73; 157,97; 140,92; 137,76; 136,80; 134,47; 134,23; 130,69; 129,26; 129,17; 128,53; 128,20; 127,61; 126,97; 119,34; 117,59; 114,90; 112,46; 110,19; 106,57; 72,55; 65,34; 55,70. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 491,18. Encontrado: 492,198.

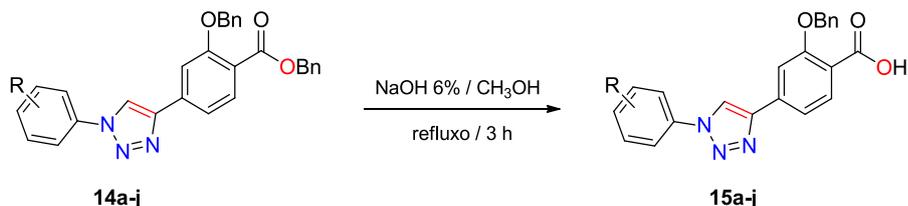
**Benzil-2-(benziloxi)-4-(1-(4-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoato**



**14j**

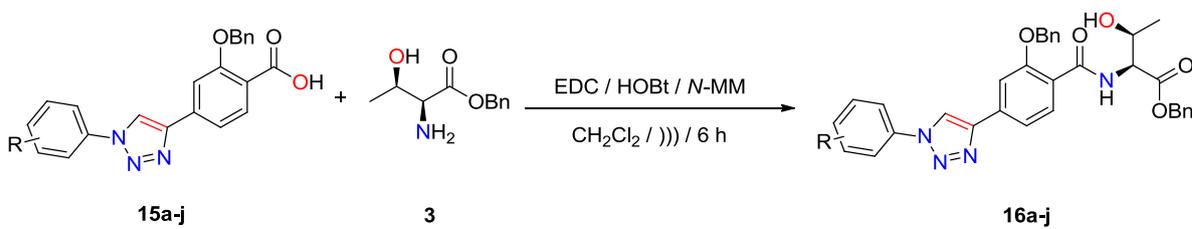
O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 80%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,21 (s, 1H); 7,97 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,74 – 7,33 (m, 14H); 7,06 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H); 5,38 (s, 2H); 5,30 (s, 2H); 3,89 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  165,93; 160,03; 158,94; 147,04; 136,49; 136,11; 135,55; 132,75; 130,31; 128,51; 128,23; 128,06; 127,81; 127,23; 122,24; 120,07; 118,94; 117,67; 114,87; 110,83; 70,86; 66,80; 55,66. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 491,18. Encontrado: 492,173.

## Preparação dos compostos hidrolizados



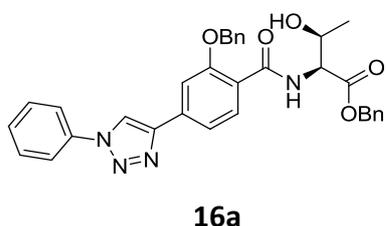
Os triazóis foram refluxados numa mistura de NaOH 6% e MeOH por 3 h. Em seguida a mistura foi acidificada com solução de HCl 6% a pH 1. O sólido resultante foi filtrado, lavado com H<sub>2</sub>O, recristalizado com AcOEt, filtrado e secado no alto vácuo.<sup>35</sup>

## Síntese geral das amidas triazólicas



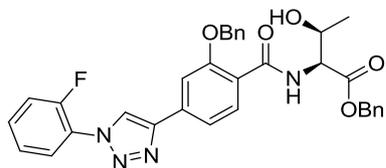
O procedimento foi o mesmo utilizado para a síntese dos compostos **7a-j**.<sup>33</sup>

## (2S,3S)-Benzil-2-(2-(benzloxy)-4-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato



O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 83%: RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d) δ 8,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H); 8,30 (s, 1H); 8,26 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 7,87 (s, 1H); 7,83 – 7,73 (m, 2H); 7,61 – 7,24 (m, 15H); 5,27 (s, 2H); 5,22 – 5,03 (m, 2H); 4,80 (dd, *J* = 8,4; 2,6 Hz, 1H); 4,26 (s, 1H); 1,06 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d) δ 170,85; 165,47; 157,65; 147,51; 135,56; 135,42; 135,31; 134,88; 134,74; 133,23; 130,12; 128,95; 128,87; 128,66; 128,42; 128,21; 121,78; 121,12; 118,75; 118,62; 109,87; 71,68; 68,08; 67,18; 58,19; 20,09. HRMS calcd. para [C<sub>33</sub>H<sub>30</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> + H]<sup>+</sup>: 562,22. Encontrado: 563,077.

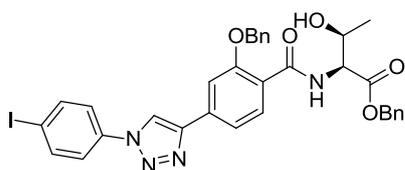
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(2-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16b**

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 83%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,54 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,30 (s, 1H), 8,26 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,87 (s, 1H); 7,79 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H); 7,61 – 7,24 (m, 14H); 5,27 (s, 2H); 5,23 – 5,05 (m, 2H), 4,80 (dd,  $J = 8,4, 2,6$  Hz, 1H), 4,26 (s, 1H), 1,05 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,85; 165,48; 157,68; 155,09; 151,77; 147,14; 135,60; 135,37; 134,87; 133,29; 130,62; 130,52; 128,96; 128,88; 128,67; 128,42; 128,22; 125,52; 125,47; 124,94; 121,84; 121,73; 121,13; 118,71; 117,37; 117,11; 109,95; 71,74; 68,13; 67,17; 58,14, 20,05. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{FN}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 580,21. Encontrado: 581,121.

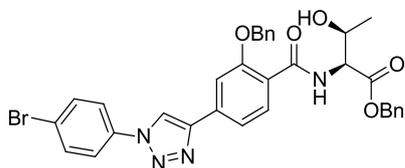
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-iodofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16c**

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 74%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,53 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,30 (s, 1H); 8,23 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,96 – 7,74 (m, 3H); 7,69 – 7,16 (m, 14H); 5,25 (s, 2H); 5,23 – 5,05 (m, 2H); 4,78 (dd,  $J = 8,4, 2,8$  Hz, 1H); 4,35 – 4,17 (m, 1H); 1,06 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,74; 165,35; 157,56; 147,46; 138,95; 136,47; 135,46; 135,21; 134,61; 133,16; 128,85; 128,78; 128,56; 128,32; 128,11; 122,01; 121,06; 118,53; 118,40; 109,78; 93,91; 71,61; 67,99; 67,08; 58,05; 19,97. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{IN}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 688,12. Encontrado: 689,961.

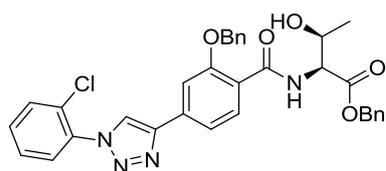
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-  
il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16d**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 84%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,53 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 8,29 (s, 1H); 8,24 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,96 – 7,11 (m, 16H); 5,26 (s, 2H); 5,24 – 5,05 (m, 2H); 4,79 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 4,45 – 4,13 (m, 1H); 1,06 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,74; 165,35; 157,56; 147,45; 135,80; 135,45; 135,20; 134,61; 133,16; 133,01; 128,86; 128,84; 128,78; 128,56; 128,32; 128,11; 122,69; 121,92; 121,06; 118,52; 109,78; 71,61; 67,99; 67,08; 58,04; 19,96. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{BrN}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 640,13. Encontrado: 641,142.

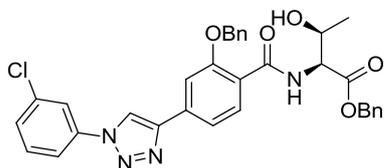
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-  
il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16e**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,47 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,28 – 8,13 (m, 2H); 7,82 (s, 1H); 7,64 – 7,57 (m, 1H); 7,57 – 7,51 (m, 1H); 7,45 – 7,24 (m, 12H); 5,23 (s, 2H); 5,16 – 5,01 (m, 2H); 4,73 (dd,  $J = 8,4, 2,6$  Hz, 1H); 4,30 – 4,13 (m, 1H); 1,00 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,72; 165,36; 157,61; 135,50; 135,28; 134,85; 133,19; 130,99; 130,88; 128,84; 128,82; 128,64; 128,55; 128,29; 128,09; 128,03; 127,75; 122,57; 121,03; 118,61; 109,90; 71,67; 68,04; 67,04; 58,02; 19,93. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{ClN}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 596,18. Encontrado: 597,100.

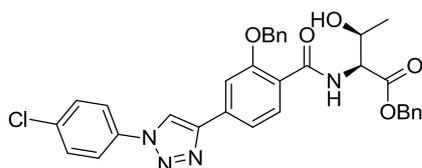
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16f**

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,53 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,32 (s, 1H); 8,24 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,85 (d,  $J = 2,5$  Hz, 2H); 7,71 (dt,  $J = 7,6$ , 1,8 Hz, 1H); 7,51 – 7,26 (m, 13H); 5,26 (s, 2H); 5,22 – 5,05 (m, 2H); 4,79 (dd,  $J = 8,4$ , 2,7 Hz, 1H); 4,26 (s, 1H); 1,06 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,74; 165,36; 157,55; 147,43; 137,67; 135,67; 135,45; 135,21; 134,56; 133,15; 130,93; 129,03; 128,84; 128,77; 128,55; 128,31; 128,10; 121,07; 120,74; 118,64; 118,53; 118,48; 109,79; 71,59; 67,98; 67,08; 58,08; 33,58; 19,97. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{ClN}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 596,18. Encontrado: 597,018.

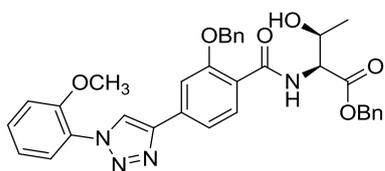
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16g**

O produto foi obtido como um sólido verde com rendimento de 56%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,55 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,38 (d,  $J = 2,6$  Hz, 1H); 8,27 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 8,01 (s, 1H); 7,87 (s, 1H); 7,54 – 7,43 (m, 4H); 7,40 – 7,35 (m, 4H); 7,32 (s, 4H); 5,29 (s, 2H); 5,16 (d,  $J = 6,5$  Hz, 2H); 4,94 – 4,69 (m, 1H); 1,07 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,74; 165,35; 157,56; 147,45; 135,80; 135,46; 135,20; 134,61; 133,16; 133,01; 128,86; 128,78; 128,56; 128,32; 128,11; 122,69; 121,92; 121,06; 118,52; 109,78; 71,61; 67,99; 67,08; 67,05; 58,05; 19,96. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{ClN}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 596,18. Encontrado: 597,103.

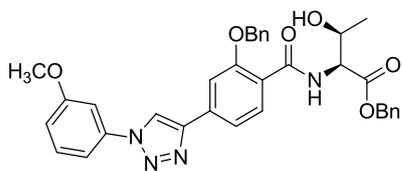
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(2-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16h**

O produto foi obtido como um óleo amarelo com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,56 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,41 (s, 1H); 8,26 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,96 – 7,75 (m, 2H); 7,53 – 7,25 (m, 12H); 7,13 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H); 5,30 (s, 2H); 5,23 – 5,07 (m, 2H); 4,80 (dd,  $J = 8,4, 2,7$  Hz, 1H); 4,26 (s, 1H); 3,93 (s, 3H); 1,07 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,75; 165,48; 157,59; 151,12; 146,08; 135,51; 135,42; 135,34; 133,05; 130,36; 128,83; 128,72; 128,55; 128,29; 128,09; 126,11; 125,45; 122,79; 121,31; 120,62; 118,50; 112,34; 109,73; 71,59; 68,02; 67,03; 58,03; 56,09; 19,95. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6 + \text{H}]^+$ : 592,23. Encontrado: 593,220.

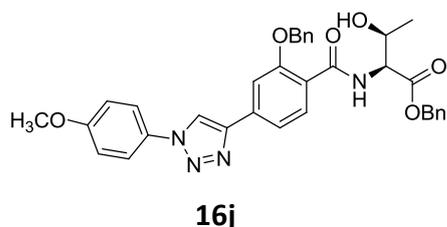
**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(3-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-butanoato**



**16i**

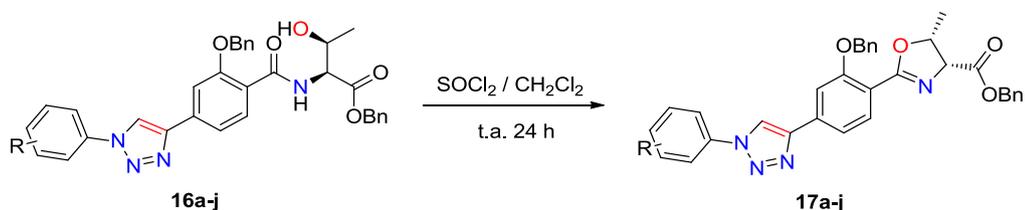
O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 85%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,56 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,29 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H); 7,89 (s, 1H); 7,54 – 7,33 (m, 13H); 7,03 (d,  $J = 6,6$  Hz, 1H); 5,31 (s, 2H); 5,18 (d,  $J = 7,1$  Hz, 2H); 4,83 (d,  $J = 10,9$  Hz, 1H); 3,92 (s, 3H); 1,10 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,73; 165,38; 160,70; 157,57; 147,15; 137,89; 135,50; 135,28; 134,88; 133,14; 130,62; 128,82; 128,74; 128,54; 128,29; 128,09; 121,00; 118,76; 118,53; 114,79; 112,45; 109,82; 106,50; 71,62; 68,02; 67,05; 58,06; 55,67; 19,93. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6 + \text{H}]^+$ : 592,23. Encontrado: 593,218.

**(2S,3S)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-metoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzamido)-3-hidroxi-2-butanoato**



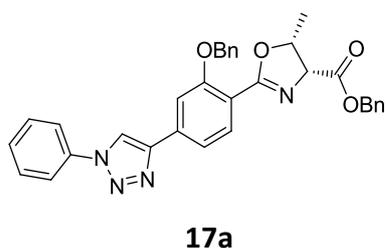
O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 56%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,56 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 8,41 (s, 1H); 8,26 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H); 7,96 – 7,75 (m, 2H); 7,53 – 7,25 (m, 12H); 7,13 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H); 5,30 (s, 2H); 5,23 – 5,07 (m, 2H); 4,80 (dd,  $J = 8,4, 2,7$  Hz, 1H); 4,26 (s, 1H); 3,93 (s, 3H); 1,07 (d,  $J = 6,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  170,75; 165,48; 157,59; 151,12; 146,08; 135,51; 135,42; 135,34; 133,05; 130,36; 128,83; 128,72; 128,55; 128,29; 128,09; 126,11; 125,45; 122,79; 121,31; 120,62; 118,50; 112,34; 109,73; 71,59; 68,02; 67,03; 58,03; 56,09; 19,95. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_6 + \text{H}]^+$ : 592,23. Encontrado: 593,080.

**Síntese geral das oxazolininas triazólicas**



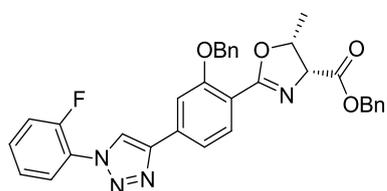
O procedimento foi o mesmo utilizado para a síntese dos compostos **8a-j**.<sup>34</sup>

**(4R,5R)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 86%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,17 (s, 1H); 7,85 (d,  $J = 6,2$  Hz, 1H); 7,77 – 7,61 (m, 3H); 7,47 (t,  $J = 6,8$  Hz, 4H); 7,42 – 7,14 (m, 10H); 5,22 (s, 2H); 5,16 (d,  $J = 3,8$  Hz, 2H); 4,96 (s, 2H); 1,25 (s, 3H). HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 544,21. Encontrado: 545,177.

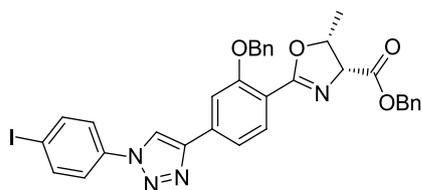
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(2-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17b**

O produto foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 70%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,26 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H); 8,04 – 7,79 (m, 2H); 7,68 (s, 1H); 7,48 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H); 7,44 – 7,16 (m, 12H); 5,23 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H); 5,16 (d,  $J = 4,4$  Hz, 2H); 4,97 (s, 2H); 1,25 (d,  $J = 4,9$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  169,74; 165,66; 158,36; 154,99; 151,66; 147,23; 136,73; 135,42; 134,48; 132,39; 130,41; 130,31; 129,81; 128,64; 128,57; 128,43; 128,36; 127,68; 127,09; 125,37; 125,32; 124,86; 121,53; 121,42; 118,03; 117,22; 116,95; 110,98; 70,95; 66,90; 16,11. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{FN}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 562,20. Encontrado: 563,079.

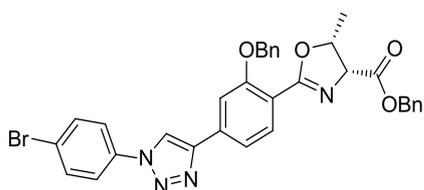
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-iodofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17c**

O produto foi obtido como um sólido bege com rendimento de 66%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,17 (s, 1H); 7,98 – 7,73 (m, 3H); 7,64 (s, 1H); 7,47 (d,  $J = 7,7$  Hz, 4H); 7,40 – 7,06 (m, 9H); 5,18 (d,  $J = 11,8$  Hz, 4H); 4,95 (s, 2H); 1,37 – 1,13 (m, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  169,76; 158,33; 147,64; 138,92; 136,66; 136,52; 135,38; 134,34; 132,40; 128,65; 128,57; 128,46; 128,36; 127,70; 127,07; 122,02; 118,26; 117,97; 110,90; 93,80; 71,45; 70,92; 66,93; 16,12. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{IN}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 670,11. Encontrado: 670,976.

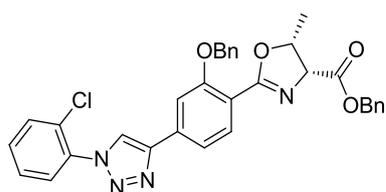
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-bromofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17d**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 61%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,16 (s, 1H); 7,82 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,61 (d,  $J = 15,0$  Hz, 5H); 7,46 (d,  $J = 7,1$  Hz, 2H); 7,37 – 7,14 (m, 9H); 5,19 (s, 2H); 5,15 (d,  $J = 4,1$  Hz, 2H); 4,96 (d,  $J = 4,8$  Hz, 2H); 1,24 (d,  $J = 5,6$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  169,78; 165,61; 158,33; 147,63; 136,66; 135,85; 135,38; 134,32; 132,96; 132,39; 128,65; 128,58; 128,46; 128,36; 127,69; 127,06; 122,60; 121,92; 118,34; 117,96; 117,33; 110,87; 71,48; 70,90; 66,92; 16,12. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{BrN}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 622,12. Encontrado: 622,980.

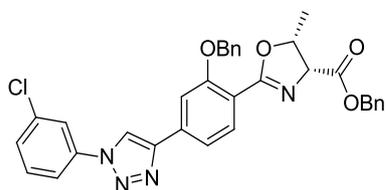
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(2-clorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17e**

O produto foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 70%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,79 (d,  $J = 7,0$  Hz, 1H); 8,30 – 8,21 (m, 2H); 7,87 (s, 1H); 7,62 (d,  $J = 20,9$  Hz, 3H); 7,48 (s, 3H); 7,34 (d,  $J = 6,6$  Hz, 8H); 5,31 (s, 2H); 5,20 – 5,07 (m, 2H); 4,93 (s, 1H); 4,17 (s, 1H); 0,94 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  169,80; 165,84; 146,40; 135,25; 135,20; 134,71; 133,08; 131,02; 130,87; 128,82; 128,73; 128,59; 128,46; 128,27; 128,04; 127,73; 122,67; 118,62; 110,00; 71,69; 68,98; 67,22; 59,04; 18,38. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 578,17. Encontrado: 579,213.

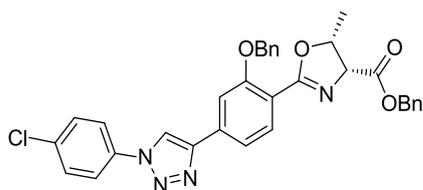
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(3-clorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17f**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 43%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,18 (s, 1H); 7,82 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,75 (s, 1H); 7,62 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H); 7,48 – 7,16 (m, 13H); 5,18 (s, 2H); 5,15 (d,  $J = 4,3$  Hz, 2H); 4,95 (s, 2H); 1,24 (d,  $J = 5,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  169,81; 165,59; 158,30; 147,61; 137,73; 136,65; 135,64; 135,38; 134,26; 132,38; 130,87; 128,94; 128,65; 128,57; 128,46; 128,35; 127,68; 127,04; 120,75; 118,50; 117,95; 117,34; 110,84; 71,53; 70,87; 66,92; 16,13. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 578,17. Encontrado: 579,254.

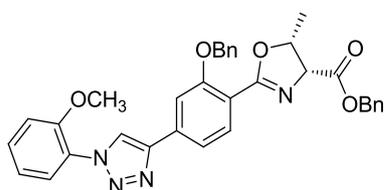
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-clorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17g**

O produto foi obtido como um sólido bege com rendimento de 35%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  8,15 (s, 1H); 7,83 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,66 (d,  $J = 8,6$  Hz, 3H); 7,57 – 7,08 (m, 14H); 5,20 (s, 2H); 5,16 (d,  $J = 4,1$  Hz, 2H); 4,95 (s, 2H); 1,24 (d,  $J = 4,9$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ -*d*)  $\delta$  169,78; 165,62; 158,33; 147,62; 136,66; 135,38; 134,75; 134,33; 132,39; 129,99; 128,65; 128,57; 128,46; 128,36; 127,69; 127,06; 121,71; 118,39; 117,95; 117,34; 110,88; 71,48; 70,90; 66,92; 16,12. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}_4 + \text{H}]^+$ : 578,17. Encontrado: 579,165.

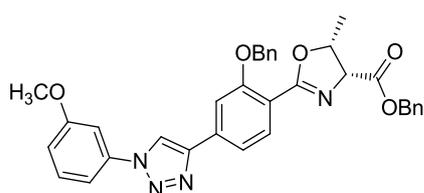
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(2-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17h**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 65%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,28 (s, 1H); 7,84 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 7,80 – 7,65 (m, 2H); 7,48 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H); 7,43 – 7,15 (m, 11H); 7,05 (t,  $J = 8,1$  Hz, 2H); 5,22 (d,  $J = 6,3$  Hz, 2H); 5,16 (d,  $J = 4,9$  Hz, 2H); 4,96 (s, 2H); 3,85 (s, 3H); 1,24 (d,  $J = 5,1$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  169,80; 165,77; 158,36; 151,19; 146,27; 136,82; 135,43; 135,15; 132,29; 130,30; 128,64; 128,43; 127,64; 127,08; 126,22; 125,52; 122,61; 121,31; 117,95; 116,87; 112,36; 110,91; 71,47; 71,31; 66,89; 56,10; 16,12. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 574,22. Encontrado: 575,177.

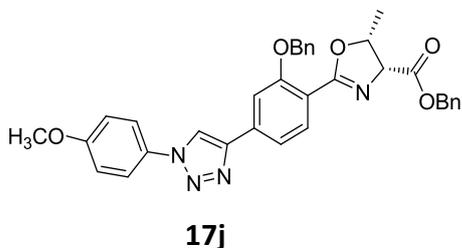
**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(3-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



**17i**

O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 99%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,25 (s, 1H); 7,96 (s, 1H); 7,78 (s, 1H); 7,74 – 7,16 (m, 14H); 7,04 (s, 1H); 5,30 (d,  $J = 13,0$  Hz, 4H); 5,06 (s, 2H); 3,92 (s, 3H); 1,35 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  169,82; 165,61; 158,32; 147,36; 135,42; 132,37; 130,58; 128,63; 128,56; 128,43; 128,35; 127,66; 127,06; 118,57; 117,94; 114,76; 112,47; 110,89; 106,51; 71,59; 70,90; 66,88; 55,66; 16,13. HRMS calcd. para  $[\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 574,22. Encontrado: 575,190.

**(4*R*,5*R*)-Benzil-2-(2-(benziloxi)-4-(1-(4-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-5-metil-4,5-dihidrooxazole-4-carboxilato**



O produto foi obtido como um sólido branco com rendimento de 82%: RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  8,07 (s, 1H); 7,83 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,71 – 7,55 (m, 3H); 7,47 (d,  $J = 7,2$  Hz, 2H); 7,25 (td,  $J = 19,5; 18,5; 7,7$  Hz, 9H); 6,95 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H); 5,21 (s, 2H); 5,16 (d,  $J = 4,8$  Hz, 2H); 4,95 (s, 2H); 3,79 (s, 3H); 1,24 (d,  $J = 5,3$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3-d$ )  $\delta$  169,79; 165,67; 160,01; 158,34; 147,20; 136,75; 135,41; 134,75; 132,35; 130,36; 128,64; 128,56; 128,43; 128,35; 127,66; 127,07; 122,25; 118,73; 117,91; 117,11; 114,86; 110,83; 71,49; 70,90; 66,89; 55,65; 16,12, HRMS calcd. para  $[\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_5 + \text{H}]^+$ : 574,22. Encontrado: 575,268.

### 3.2.2 Ensaio Biológicos

Todos os testes biológicos foram feitos no Laboratório da Prof<sup>a</sup> Kelly Ishida, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. Assim como as amostras fúngicas utilizadas também foram forçadas pelo mesmo laboratório. A amostra sanguínea foi obtida mediante doação do pesquisador principal (o aluno de mestrado) e a extração da mesma foi feita pelo técnico do próprio laboratório.

**Amostras fúngicas:** Neste estudo, utilizaram-se 10 espécies de *Cândida*, *Cândida albicans* (ATCC 10231 e IAL-40), *Cândida parapsilosis* (ATCC 22019 e IAL-17), *Cândida krusei* (ATCC 6258 e IAL-30), *Cândida tropicalis* (ATCC 200956 e IAL-01), *Cândida glabrata* (ATCC 2001 e IAL-23), os quais apresentaram susceptibilidade e resistência ao fluconazol nos testes *in vitro*. Adicionalmente duas espécies de *Cryptococcus* (*Cryptococcus neoformans* (H99), *Cryptococcus gattii* (ATCC 56990)) e duas espécies de *Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus* (ATCC 16913), *Aspergillus niger*). Os isolados foram mantidos em ágar Sabouraud dextrose até o uso nos experimentos. As cepas foram incubadas durante 48 horas antes dos experimentos para atingir um número apropriado de células.

**Teste de sensibilidade antifúngica:** A susceptibilidade dos isolados de *Cândida* spp. aos compostos sintetizados, caspofungina, anfotericina B (Sigma Chemical Co., Missouri, USA), e fluconazol (Sigma Aldrich) foi determinada mediante o método de micro diluição descrito no documento M27-A3 publicado pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008). *Cândida parapsilosis* (ATCC 22019) foi incluída em cada experimento como controle. Em seguida, diluições seriadas de duas vezes para todas as moléculas sintetizadas e os antifúngicos (anfotericina B, caspofungina e fluconazol) foram feitas no meio RPMI 1640, com buffer MOPS 0,16 M, pH 7,0 (ambos da Sigma Chemical Co., Missouri, USA) em microplacas de 96 poços. Depois, o inóculo foi ajustado à concentração de  $1-5 \times 10^6$  CFU mL<sup>-1</sup>, diluído em 1:1000 e 100 µL foram dispensados em cada poço para obter uma concentração fúngica final de  $0.5-2,5 \times 10^3$  CFU mL<sup>-1</sup>, durante 48 h a 35 °C. A concentração mínima inibitória (MIC) para anfotericina B e o resto de antifúngicos foi definida como a menor concentração de agente antifúngico na qual foram inibidos 50% e 90% da população fúngica, MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub>, respectivamente. Os valores de MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub>

foram determinados mediante leitura espectrofotométrica a 492 nm (Bio-Tek® PowerWave XS) (CLSI, 2008). Os pontos de quebra para fluconazol e caspofungina foram considerados de acordo com o descrito no documento M27-S4 (CLSI, 2012); e para anfotericina B e cepas resistentes foram consideradas concentrações superiores a  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Concentração Mínima Fungicida (MFC):** Para determinar os valores de MFC, alíquotas de 10  $\mu\text{L}$  foram coletadas de todas as concentrações inibitórias no final do período de incubação de 2 dias, e foram semeadas em agar Sabouraud dextrose. As placas foram incubadas durante 48 h a 35 °C, e a menor concentração da droga sintetizada que impediu o crescimento do fungo foi considerada como o MFC.

**Ensaio hemolítico (RBCs):** Células sanguíneas humanas foram lavadas com solução salina 0,85%, e glucose 5% foi adicionada para obter uma suspensão de células a 4%. Esta suspensão foi tratada com diversas concentrações dos compostos sintetizados (8-128  $\mu\text{g/mL}$ ) e 1% de Triton X-114 (como indicador de hemólise completa), e foram incubadas a 37 °C por 2 h. As células foram centrifugadas a 1500 g por 5 min, o sobrenadante foi removido, e foi feita a leitura de hemólise a 540 nm utilizando o espectrofotômetro (Bio-Tek® PowerWave XS).

**Ensaio de citotoxicidade:** As células de hepatócitos humanos (HepG2) foram tratadas com várias concentrações de derivados de 2-ariloxazolina (8-128  $\mu\text{g/mL}$ ) durante 48 h a 37 °C com 5% de  $\text{CO}_2$ . A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio de redução de tetrazólio (XTT) e a absorbância foi medida a 490 nm (Bio-Tek® PowerWave XS).

A concentração citotóxica de 50% ( $\text{CC}_{50}$ ), a hemólise de 50% ( $\text{HA}_{50}$ ) e o índice de seletividade foram calculados de acordo com Ishida et al. (2006).

**Combinações antimicrobianas:** As leveduras foram cultivadas pelo menos duas vezes subsequentes antes dos ensaios. Se prepararam suspensões fúngicas a  $1-5 \times 10^6$  UFC/mL em solução salina 0,85%, mediante contagem na câmara de Neubauer. Diluiu-se o inóculo 1:20 e, depois, 1:50 em meio RPMI 1640 tamponado com 0,165 mol/L de MOPS, obtendo a concentração fúngica de  $1-5 \times 10^3$  UFC/mL. Para realizar este ensaio foi necessário que o resultado da microdiluição em caldo tivesse sido

bem definido, ou seja, os valores de Concentração Mínima Inibitória (MIC) de cada composto determinados.

**Efeito na permeabilidade da membrana celular:** Suspensões fúngicas padronizadas a  $1 \times 10^7$  UFC/mL foram expostas às concentrações de MIC, 2x CIM e 4x CIM de anfotericina B, previamente determinadas, diluídas em solução PBS, incubadas a 35 °C. Leveduras não tratadas foram utilizadas como controle de integridade da membrana celular. Após os períodos de 1, 4, 8 e 24 horas de incubação, as leveduras foram coletadas por centrifugação por 8 min a 4000 rpm e o sobrenadante analisado no espectrofotômetro (Nanodrop 2000, Thermo scientific) para quantificação de DNA (260 nm) e de proteínas (280 nm) (modificado de Aguiar Cordeiro et al., 2014).

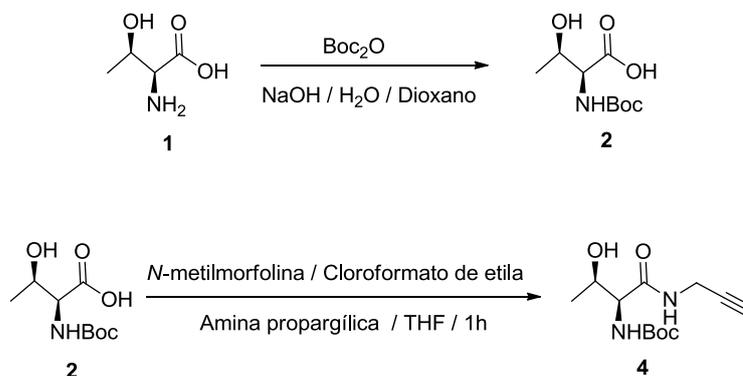
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parte Química:

A síntese dos 1,2,3-triazóis com potencial atividade biológica foi feita partindo do aminoácido *L*-treonina **1**. O grupo amino da *L*-treonina foi protegido utilizando  $\text{Boc}_2\text{O}$ ; como solvente foi empregada uma mistura de 1,4-dioxano e  $\text{H}_2\text{O}$ ; e  $\text{NaOH}$  para conferir o meio básico requerido na reação (Esquema 7). O produto **2** foi obtido como um rendimento de 80% e foi usado sem purificação para a reação seguinte. Depois, a Boc-treonina foi reagida com a amina propargílica na presença de *N*-metilmorfolina, cloroformato de etila e THF como solvente para a obtenção do produto **4** (Esquema 7).

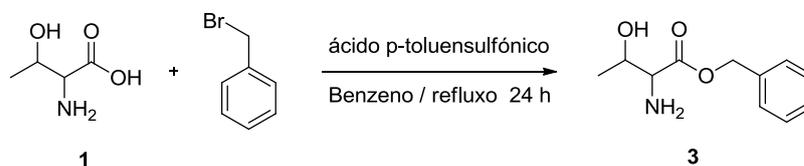
Iniciamos a síntese utilizando o aminoácido *L*-treonina **1**, pois diversos trabalhos reportaram os derivados de aminoácidos com interessantes atividades biológicas pela similaridade com os sítios ativos de enzimas.<sup>64,65</sup>

**Esquema 7:** Proteção da amina e grupo ácido do aminoácido *L*-treonina.



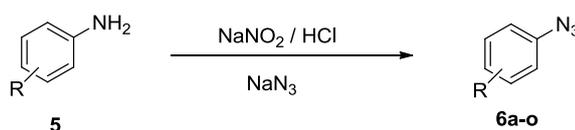
Adicionalmente, trabalhamos com a forma benzilada do aminoácido *L*-treonina, devido à necessidade de ter o nitrogênio do aminoácido livre para reagir com os materiais de partida derivados do ácido salicílico. A reação é mostrada no Esquema 8.

**Esquema 8:** Proteção do grupo ácido aminoácido *L*-treonina com o grupamento benzila.

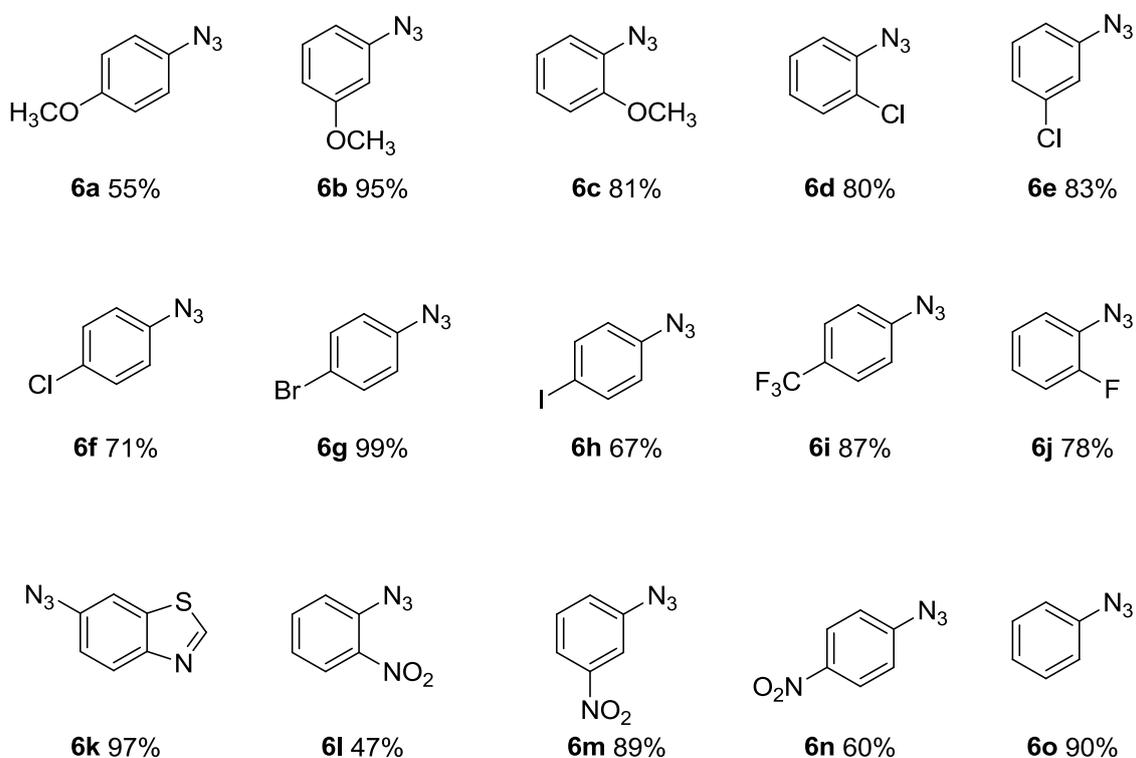


Adicionalmente foi sintetizado um grupo de azidas aromáticas a partir das aminas aromáticas. O esquema geral da síntese e os exemplos sintetizados, assim como os rendimentos, foram detalhados nos Esquemas 9 e 10, respectivamente.

**Esquema 9:** Síntese geral das azidas orgânicas.



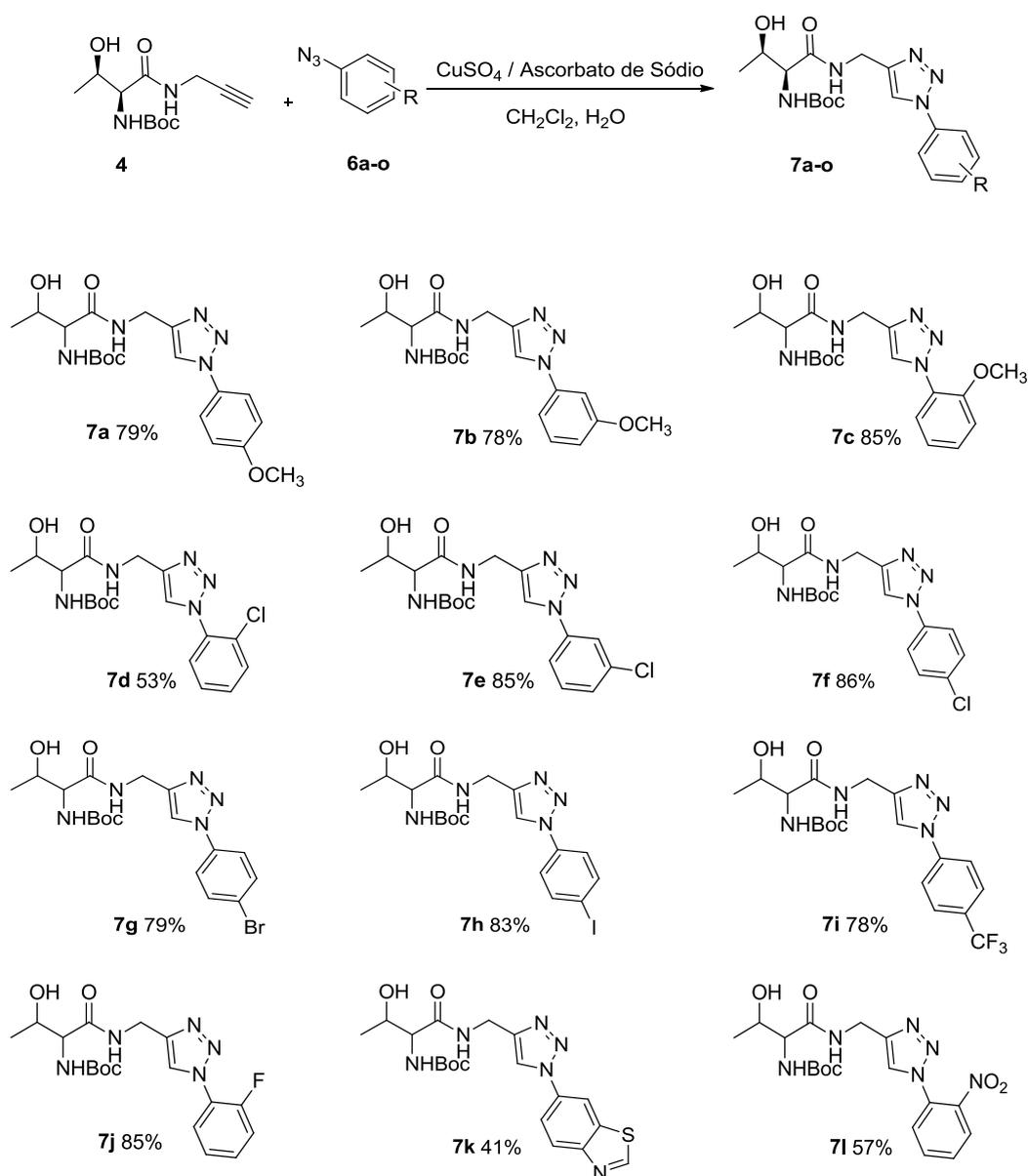
**Esquema 10:** Relação das azidas orgânicas sintetizadas.

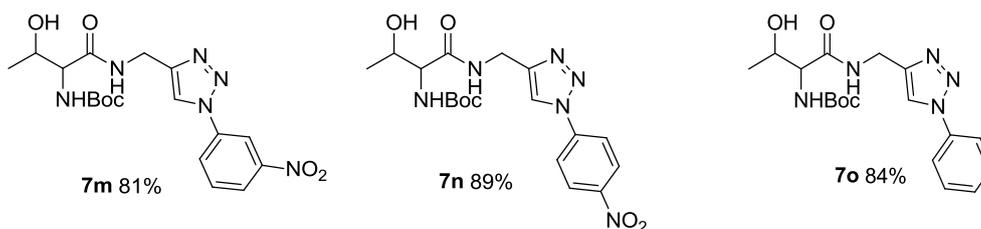


Depois de serem devidamente purificadas e caracterizadas, essas azidas foram reagidas com a treonina propargílica protegida com Boc na presença de

CuSO<sub>4</sub>, ascorbato de sódio e uma mistura de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O como solvente à temperatura ambiente durante 4 horas (Esquema 11). Os triazóis foram obtidos com rendimentos moderados a bons (40-90%). Estes compostos foram purificados por coluna cromatográfica com um gradiente de 50% hexano/AcOEt e devidamente caracterizados mediante RMN de hidrogênio e carbono (Esquema 11).

**Esquema 11:** Síntese geral dos 1,2,3-triazóis.





Todos os compostos foram obtidos com rendimentos de moderado a bons (40%-90%). Não se observou nenhuma diferença marcante na reatividade dos compostos. Por exemplo, os compostos **7l**, **7m** e **7n**, que têm substituintes  $-NO_2$ , não mostraram muita diferença nos rendimentos isolados, exceto para a substituição *orto*, que teve o menor rendimento de todos os três, o que significa que a posição mencionada não é favorecida por um efeito de grupo retirador de elétrons.

Nos outros casos de compostos *orto* substituídos, o rendimento do composto com flúor **7j** não foi afetado. O átomo de flúor é pequeno, e não confere um aporte eletrônico considerável, porém o rendimento foi semelhante quando comparado com o composto **7o**. No caso do substituinte metoxila (**7 a-c**), o rendimento mais elevado foi obtido na posição *orto* (composto **7c**), sugerindo que os grupos doadores de elétrons favorecem a reatividade na formação do triazol.

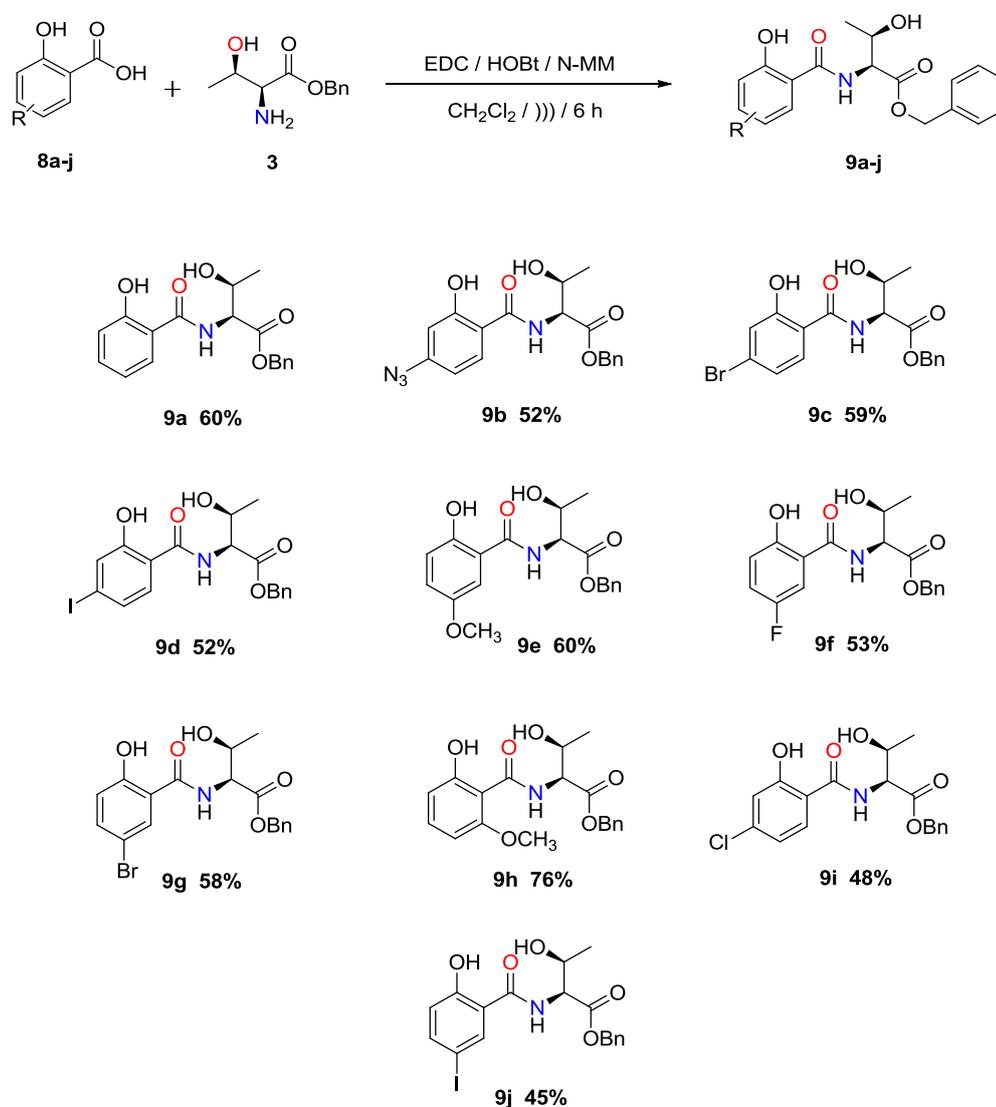
Por outro lado, o substituinte cloro apresenta melhores rendimentos nas posições *meta* e *para* (compostos **7e** e **7f** respectivamente). Contrariamente ao que acontece com o flúor, o cloro apresenta rendimentos mais baixos na posição *orto* (composto **7d**), o que pode ser explicado pelo efeito de impedimento estérico. O cloro nesse caso fica mais perto do nitrogênio da azida, conferindo certa dificuldade na formação do triazol, o que torna um pouco mais difícil a reação. Por outro lado, os compostos *para* substituídos apresentaram quase a mesma reatividade.

Nos compostos **7g** e **7h**, que têm bromo e iodo (ambos átomos volumosos), respectivamente, os rendimentos altos poderiam ser atribuídos à posição dos mesmos. A posição *para* é a mais afastada no anel aromático, fazendo com que a formação do 1,2,3-triazol seja mais favorável. O menor rendimento foi observado para o composto **7k**, que tem um anel heterocíclico (benzotiazol). Este substituinte é muito mais volumoso do que os outros, dando um indício de que este tipo de substituintes não favoreceu a reatividade. Finalmente, o composto **7o** apresentou

um rendimento elevado, e foi utilizado como composto de referência para avaliar os rendimentos.

Complementarmente, foi iniciada a síntese das oxazolinas, utilizando os derivados do ácido salicílico e a forma benzilada do aminoácido *L*-treonina; os precursores dessas oxazolinas foram as amidas descritas no Esquema 12.

### Esquema 12: Síntese geral das amidas



Os precursores das oxazolinas mostrados no Esquema 12 foram obtidos com rendimentos moderados de 45-76%. A reação de formação de amida foi feita em condições de banho de ultrassom na presença de EDC como agente ativante, pois esse procedimento não gera muitos produtos secundários, que poderiam ser de

purificação muito complexa. Utilizamos o HOBt para manter a configuração do aminoácido, a *N*-MM (*N*-metilmorfolina) foi utilizada como base nas reações e o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi o solvente.

Foram utilizados dez derivados do ácido salicílico para as reações. Iniciamos o trabalho com o ácido salicílico sem substituinte, **9a**. Sabendo-se que a intenção foi fazer testes biológicos com os compostos sintetizados, sempre é recomendado ter a molécula mais simples da série para poder avaliar a influência dos substituintes, assim como no rendimento. A reação de formação de amidas a partir de um ácido carboxílico e uma amina está geralmente influenciada pelos substituintes do carbono carboxílico e do carbono ligado ao nitrogênio da amina. Neste caso, a amina não variou, pois utilizamos o aminoácido descrito anteriormente. Analisemos o caso do composto **9b**, o qual possui como substituinte o grupo azida, que é um retirador de elétrons num sistema aromático. Embora seja esse o caso, o rendimento não sofreu muita variação. Para os compostos **9i**, **9c**, **9d**, com halogênios como substituintes, o rendimento foi semelhante, com exceção do composto **9i**, que apresentou o rendimento mais baixo da série, 48%. Dois aspectos muito importantes nas reações químicas são o efeito eletrônico e o impedimento estérico.<sup>66</sup>

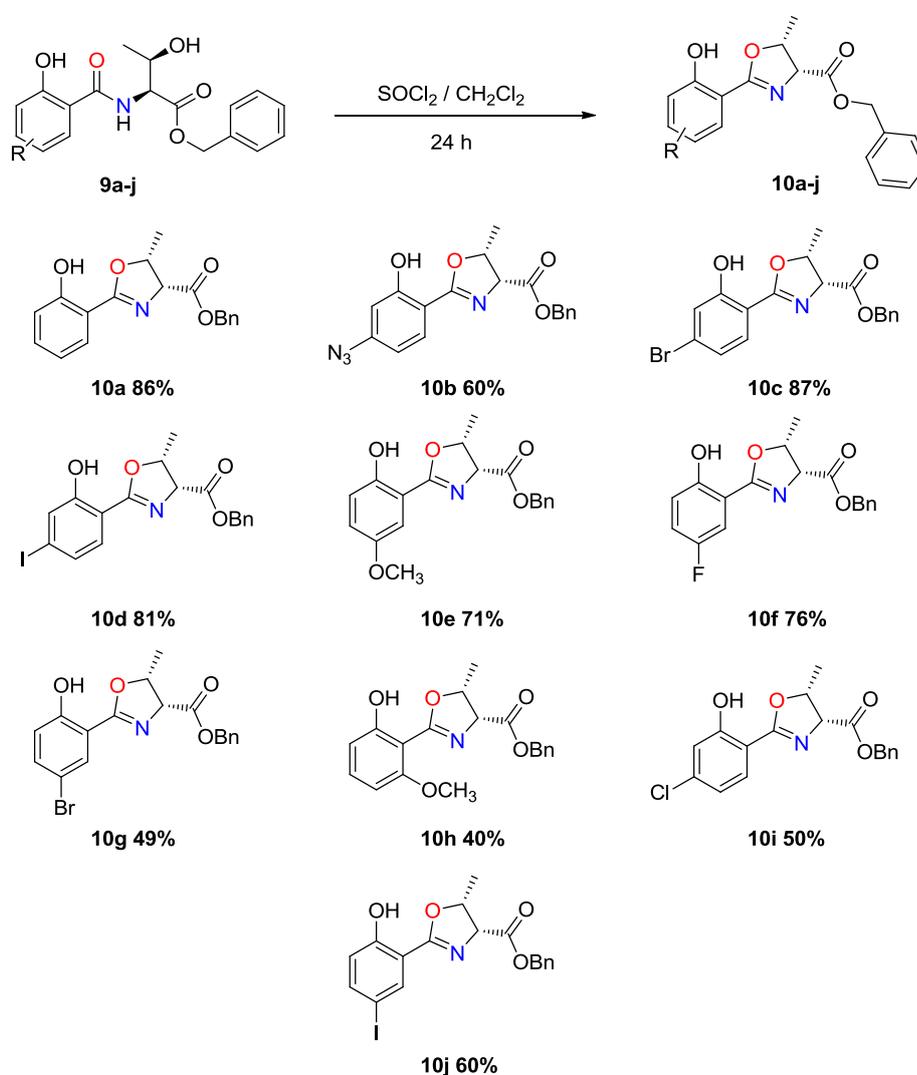
Com relação ao efeito eletrônico, é sabido que os halogênios têm uma ordem de eletronegatividade decrescente  $\text{F} > \text{Cl} > \text{Br} > \text{I}$ , e que este é inverso ao tamanho do átomo, o qual gera efeito indutivo e impedimento estérico nas reações, aspecto crucial para explicar inclusive os mecanismos. Sob essa premissa, foram utilizados compostos aromáticos halogenados na posição 5 do anel aromático do ácido salicílico. Os compostos **9f**, **9g**, **9j** possuem esse tipo de substituição. Os rendimentos não foram muito diferentes. O composto **9j** teve o menor rendimento dos três.

Esse composto possui o átomo de iodo como substituinte. Sendo o mesmo um átomo muito volumoso, em vez de compartilhar elétrons, ele os atrai até o núcleo, fazendo com que o carbono aromático ligado ao iodo fique mais eletropositivo. Essa situação pode causar um efeito de ressonância desfavorável para que a reação ocorra, pois a densidade eletrônica vai ficar concentrada no anel aromático ao invés de se direcionar para o carbono carboxílico da amida.<sup>67,68,69</sup> Finalmente, nessa série tivemos dois compostos, **9e** e **9h**, substituídos com o grupo

metoxi nas posições 5 e 6, respectivamente. O grupo metoxi é um grupo relativamente pequeno, cuja influência se deve ao par de elétrons livres do oxigênio. Este, quando compartilhado, cria um sistema de ressonância que favorece a formação do produto com o substituinte na posição *orto* (composto **9h**).

Conseguimos apreciar aspectos importantes na formação dos precursores que foram ainda mais determinantes na síntese das oxazolinas (Esquema 13).

### Esquema 13: Síntese geral das oxazolinas



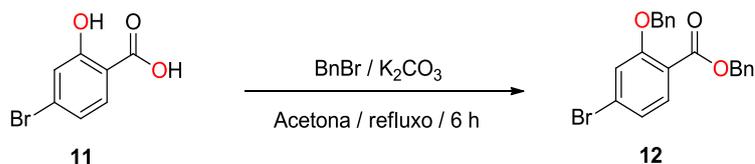
No caso das oxazolinas, a influência dos substituintes é mais marcante em termos de rendimento. O composto **10a**, o mais simples da série, teve o maior rendimento entre todos: 86%. O ácido salicílico foi utilizado como referência para

interpretar os rendimentos dos compostos sintetizados. Novamente, no composto **10b**, não se observou uma influência marcante do grupo azida, retirador de elétrons na formação da oxazolina, pois o rendimento de 60% obtido é considerado bom. Analisando os compostos substituídos na posição 4 do anel aromático, **10c**, **10d** e **10i** tiveram rendimentos relativamente diferentes. O composto **10i** resultou no menor rendimento, usando o substituinte cloro, que se diferencia dos átomos de bromo e iodopor ser menos volumoso. Complementarmente, os compostos **10f**, **10g** e **10j** apresentaram substituinte halogênio na posição 5 do anel aromático. Curiosamente, o composto **10g** foi o que teve menor rendimento deste grupo: 49%. Porém, só temos um indício de que a eletrônica dos halogênios influi no rendimento. No caso dos halogênios mais volumosos, cujos elétrons ficam mais próximos do núcleo, como é o exemplo do iodo, verifica-se uma leve queda do rendimento. Finalmente, as oxazolinas **10e** e **10h** apresentaram grupo metoxi como substituinte. Neste caso, a diferença de rendimentos é muito evidente, sendo que o composto **10h** foi o mais difícil para ser sintetizado, devido ao maior tempo de reação e à purificação mais complexa. Podemos inferir que nesse tipo de reação, o impedimento estérico e, principalmente, o efeito eletrônico, são fatores importantes para que a reação ocorra. O composto **10e** substituído na posição 5 teve rendimento de 70% e o substituído na posição 6, o composto **10h**, teve 40% de rendimento. Portanto, essa diferença nas posições dos substituintes influencia o comportamento eletrônico quando a reação está acontecendo. É bem provável que os substituintes doadores de elétrons na posição 6 desfavoreçam a reação devido a efeitos eletrônicos.

Depois de ter sido obtida a primeira série de oxazolinas, pensou-se em funcionalizar os compostos, adicionando mais anéis heterocíclicos. Diversos trabalhos<sup>70,71,72</sup> reportam uma série de aplicações dos compostos heterocíclicos com anéis fundidos. Por essa razão, decidiu-se adicionar anéis triazólicos às oxazolinas, visto que o grupo de pesquisa possui vasta experiência na química desses compostos.

Inicialmente, utilizou-se o composto **11**, derivado bromado do ácido salicílico, o qual sofreu uma proteção dos grupos hidroxila com brometo de benzila, resultando no produto **12** com 91% de rendimento.

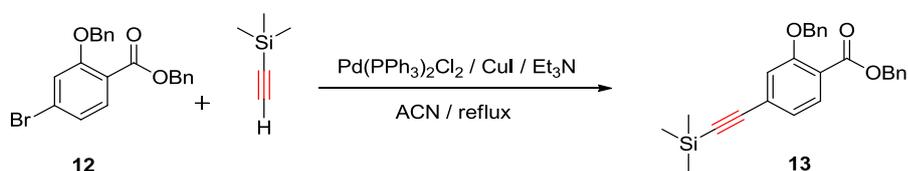
#### Esquema 14: Proteção com benzila



Embora diversas condições reacionais estejam reportadas na literatura, as condições descritas nesse trabalho são as mais convenientes e econômicas.

Em seguida, foi realizada a reação de acoplamento de Sonogashira. Esse tipo de acoplamento na química heterocíclica tem sido amplamente utilizado desde sua descoberta como uma poderosa ferramenta para a obtenção de derivados de produtos naturais.<sup>40,44</sup>

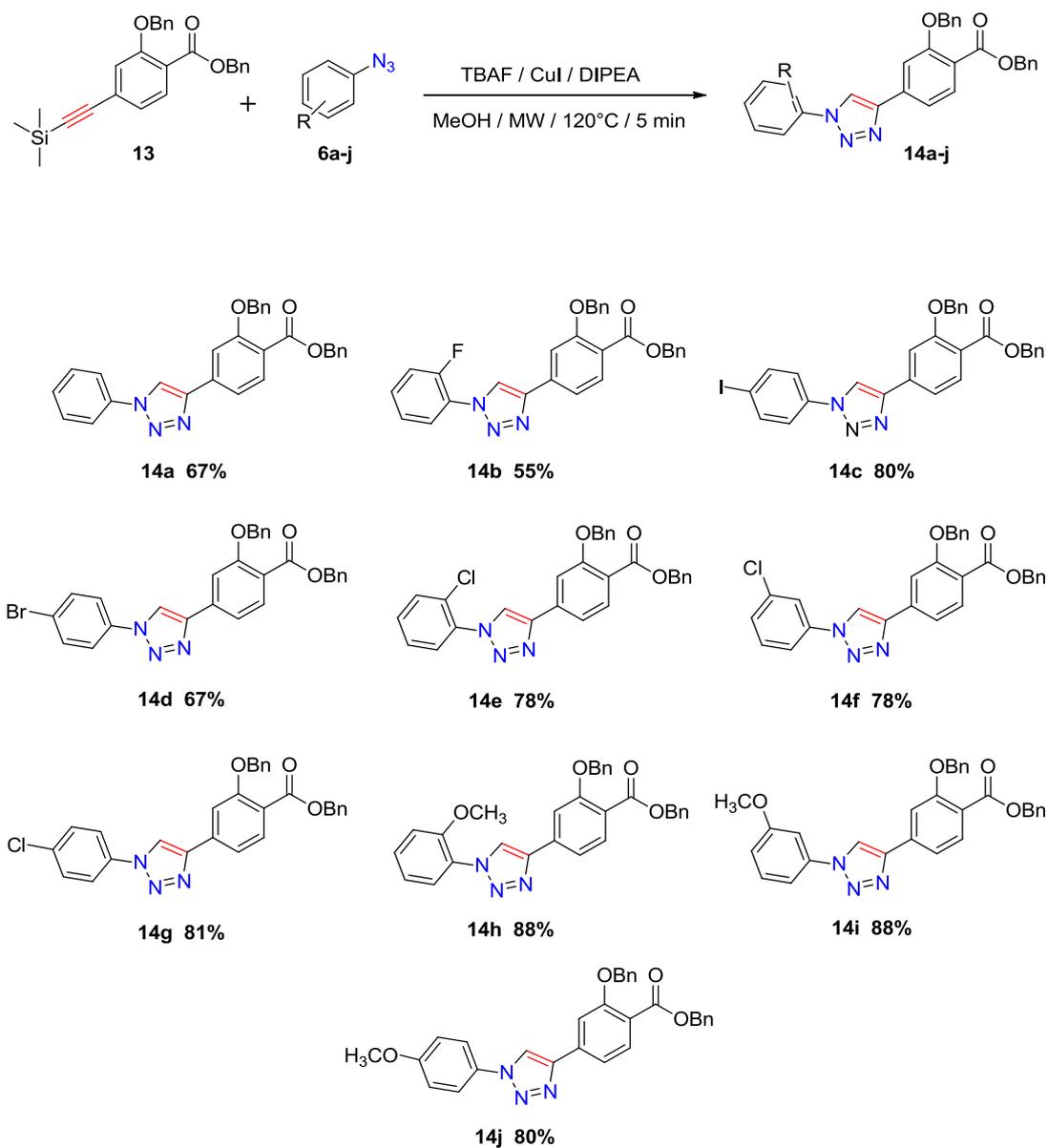
#### Esquema 15: Acoplamento de Sonogashira



No nosso caso, utilizamos uma variante introduzida por Liang et al. em 2006, na qual se substitui o halogênio pela tripla do acetileno TMS. A ordem de reatividade dessa reação depende em grande medida do halogênio utilizado,<sup>30</sup> sendo que a prioridade de reação começa com o I > Br > Cl > F. Utilizamos o material de partida bromado por ser o mais barato entre os outros, além de consideravelmente reativo.

Uma vez obtido o composto **13**, passamos à formação dos compostos 1,2,3-triazólicos a partir da reação com os compostos **6a-j**, tal como é mostrado no Esquema 16. As condições de reação utilizadas permitem o uso de irradiação por micro-ondas que, ultimamente, tem sido de muita utilidade na síntese orgânica multicomponente,<sup>57</sup> principalmente, de compostos heterocíclicos. Apenas 5 minutos de reação foram necessários para a obtenção dos produtos **14a-j**, os quais foram obtidos com rendimentos excelentes.

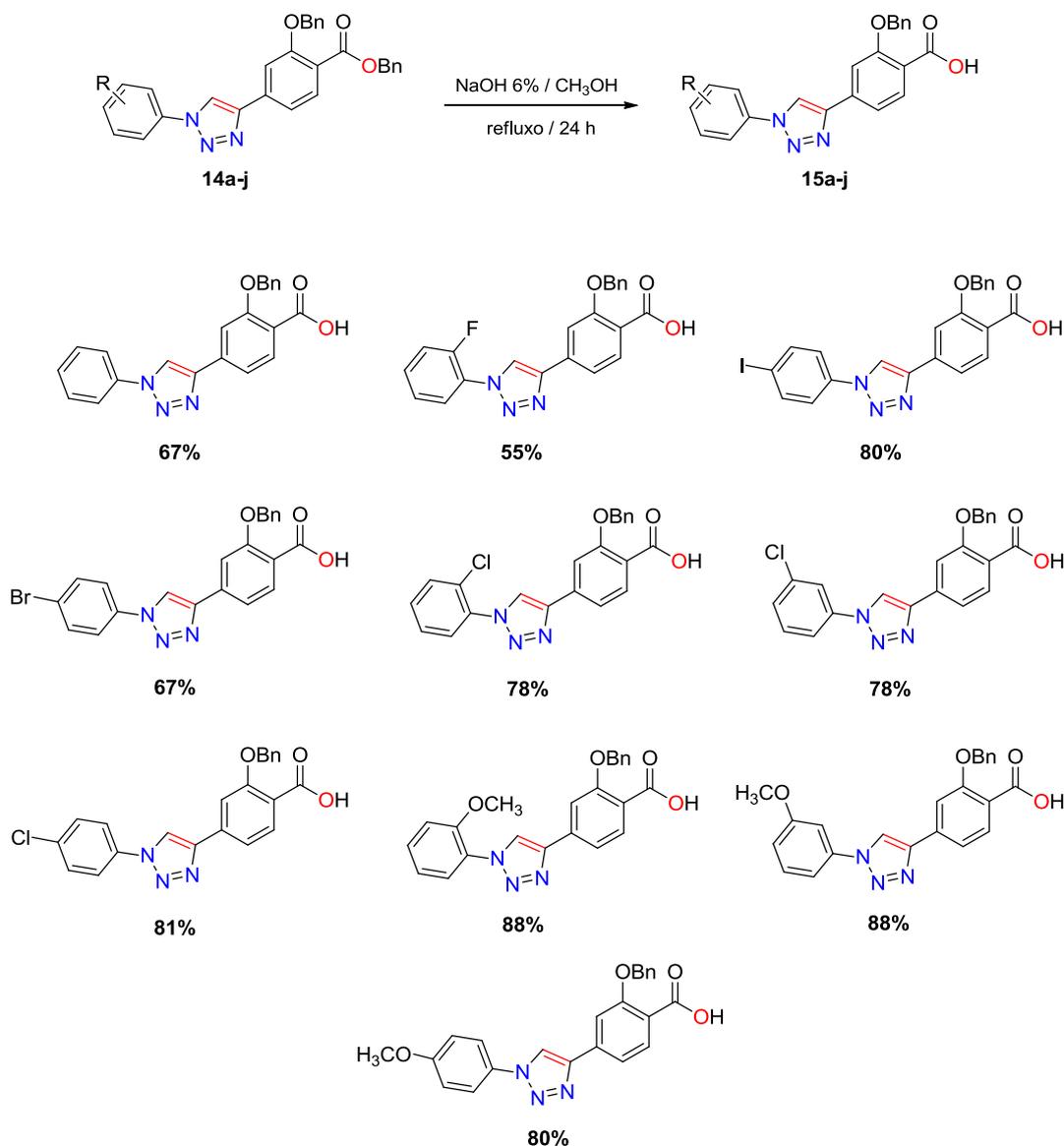
### Esquema 16: Formação dos 1,2,3-triazóis



Utilizamos azidas aromáticas para essa etapa de síntese, e não observamos muita diferença nos rendimentos finais dos compostos. Foram obtidos compostos não substituídos, halogenados e metoxilados.

Em seguida, realizamos a hidrólise destes precursores 1,2,3-triazólicos, conforme apresentado no Esquema 17.

### Esquema 17: Hidrólise dos triazóis precursores

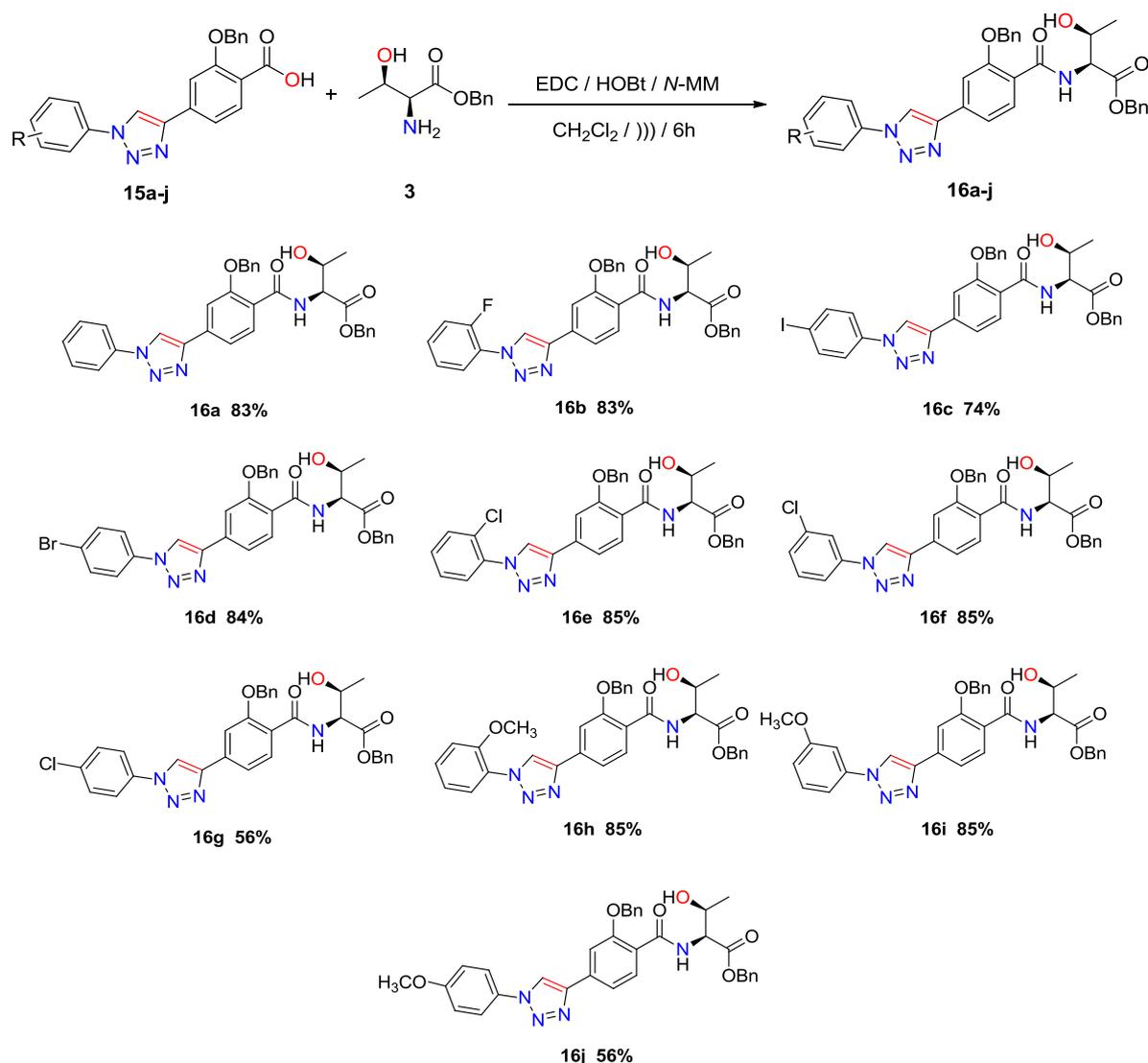


Os compostos descritos no Esquema 17 foram utilizados sem necessidade prévia de purificação. Sabe-se que o anel 1,2,3-triazólico é mais estável nas condições de hidrólise, variações de pH e protonação do que o anel 1,2,4-triazólico.<sup>73</sup> Certamente, o ácido carboxílico livre confere uma polaridade e hidrossolubilidade importante à molécula, mas os substituintes halogênicos dão equilíbrio a esse caráter conferindo lipofilicidade.<sup>74</sup>

Continuando com a rota sintética, as amidas triazólicas foram sintetizadas como descrito no Esquema 18. O uso de ultrassom nas reações é referido como “química verde” e vem sendo realizado pelos químicos orgânicos nos últimos anos.<sup>75</sup>

O ultrassom diminui consideravelmente o tempo de reação, bem como oferece rendimentos de aceitáveis a muito bons. Foi necessário o uso de um agente ativante como foi o caso do EDC, devido à vantagem de não gerar muitos produtos secundários - como poderia ser o caso do DCC -, assim como o uso do HOBt para manter a configuração do aminoácido.

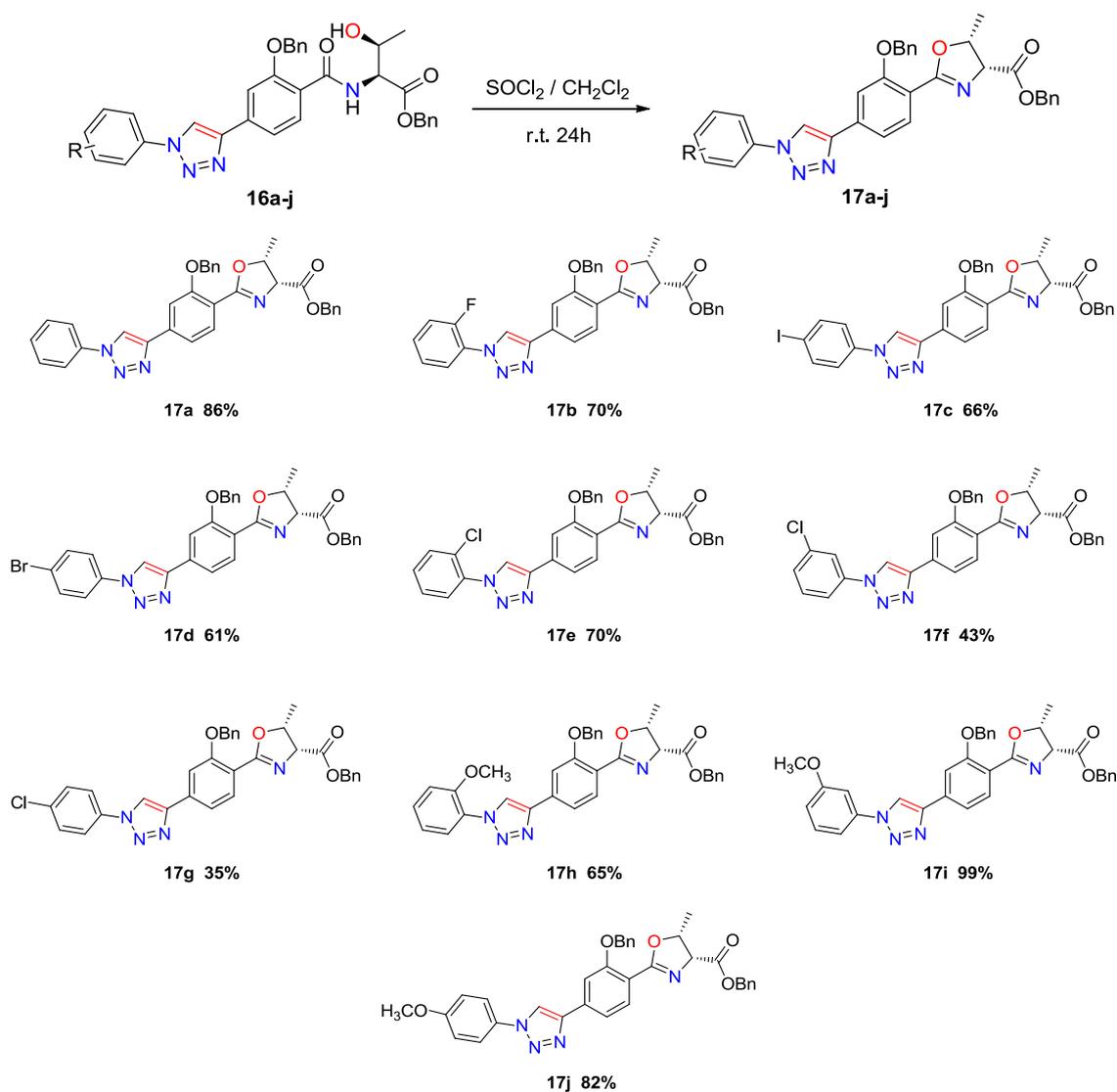
### Esquema 18: Síntese geral das amidas triazólicas



Os tempos de reação variaram para cada composto sintetizado, tendo um tempo máximo de 6 horas. Como se pôde perceber, os rendimentos obtidos foram muito bons, não sendo verificadas diferenças que indicassem influência dos substituintes no rendimento.

Finalmente, a síntese das oxazolinas triazólicas foi realizada como mostrado no Esquema 19. As condições de reação não foram tão drásticas devido ao  $\text{SOCl}_2$  utilizado.

### Esquema 19: Síntese geral das oxazolinas triazólicas



Os rendimentos destas oxazolininas triazólicas foram muito bons, com exceção dos compostos **17f** e **17g**, os quais apresentaram 43 e 35%, respectivamente. Não fica clara a razão pela qual os rendimentos variaram desse jeito, porém, o composto com melhor rendimento foi o **17i**, substituído na posição 3 com o grupo metoxi. Tendo em vista que esses tipos de compostos são inéditos, não há menção na literatura descrevendo seu caráter químico-, mas vale destacar que possuem átomos capazes de fazer ligações de hidrogênio (nitrogênio e oxigênio) assim como um número considerável de átomos de carbono, o qual confere a estes novos compostos características tanto lipofílicas como hidrofílicas.



Na microbiologia, é utilizada a unidade de concentração de  $\mu\text{g/mL}$ , designada por consenso nos protocolos.<sup>76</sup> Segundo estes protocolos, os novos agentes antifúngicos sintéticos propostos como alternativas aos atuais devem ser testados numa faixa de concentração que vai de 0,03 a 16  $\mu\text{g/mL}$ . Concentrações maiores a 16  $\mu\text{g/mL}$  indicam que o composto não se encaixa nos requisitos do CLSS e passa a ser considerado sem atividade antifúngica.

Composto	ATCC 10231		IAL-40		ATCC 22019		IAL-17		ATCC 6258		IAL-30		IAL-01		ATCC 200956		ATCC 2001		IAL-23	
	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>																		
10a	1	2	2	2	4	8	0,5	2	2	4	1	2	4	8	1	2	0,25	1	0,03	0,03
10b	0,5	1	0,12	0,5	1	2	0,12	0,25	0,5	1	0,12	0,5	0,5	1	0,25	0,5	0,06	0,12	0,03	0,03
10c	0,5	1	0,12	0,25	0,5	1	1	1	0,25	0,5	0,12	0,25	0,25	0,5	0,25	0,5	0,25	0,25	0,06	0,06
10d	1	2	0,25	0,5	0,5	1	0,12	0,25	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	2	0,25	0,5	0,25	0,25	0,03	0,03
10e	2	4	0,5	1	4	8	0,5	0,5	0,5	1	0,25	0,5	2	8	0,5	1	0,12	0,25	0,03	0,03
10f	1	1	0,5	1	0,5	4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	1	4	0,12	0,5	0,25	0,25	0,03	0,03
10g	0,12	0,5	0,25	0,5	1	1	0,06	0,25	1	1	0,25	1	0,5	2	0,12	0,25	0,06	0,5	0,03	0,06
10h	16	>16	2	8	4	>16	2	8	16	16	4	8	4	4	2	4	0,12	0,25	0,12	0,25
10i	0,25	0,25	0,25	0,25	0,12	0,25	0,12	0,12	0,25	0,25	0,12	0,25	0,25	1	0,12	0,12	0,12	0,12	0,03	0,03
10j	1	1	0,5	0,25	1	2	1	1	1	4	0,5	1	1	2	0,25	1	0,25	0,5	0,03	0,03
AMB	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,03	0,12	0,25	0,25	0,03	0,06	0,06	0,12	0,5	0,5	0,03	0,12	0,03	0,06
CASP	0,12	0,12	0,25	0,25	1	2	2	2	1 <sup>R</sup>	1	1 <sup>R</sup>	2	1 <sup>R</sup>	1	0,12	0,5	0,5 <sup>R</sup>	0,5	0,5 <sup>R</sup>	0,5
FLC	4	8	>128 <sup>R</sup>	>128	4	8	128 <sup>R</sup>	>128	>128 <sup>R</sup>	>128	>128 <sup>R</sup>	>128	4	8	>128 <sup>R</sup>	>128	16 <sup>SDD</sup>	32	4	8

**Tabela 3:** MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub> das oxazolininas derivadas do ácido salicílico.

SDD – susceptibilidade dose dependente, R – resistente

*Cândida albicans* (ATCC 10231 e IAL-40), *Cândida parapsilosis* (ATCC 22019 e IAL-17), *Cândida krusei* (ATCC 6258 e IAL-30), *Cândida tropicalis* (ATCC 200956 e IAL-01), *Cândida glabrata* (ATCC 2001 e IAL-23)

Na tabela 3, são mostrados os valores de MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub> para todos os compostos oxazolinínicos sintetizados a partir dos derivados do ácido salicílico. Foram utilizadas 10 cepas diferentes de *Cândida*, 5 cepas padrão denominadas ATCC e 5 isolados clínicos recentemente obtidos. Essas cepas padrão e isolados clínicos apresentaram diferente susceptibilidade aos fármacos de referência, daí a razão pela qual foram utilizados os fármacos anfotericina B, caspofungina e fluconazol como controle. O MIC é um parâmetro utilizado para mensurar o quanto um ativo é um composto contra determinado microorganismo, neste caso, fungos. Sendo a concentração inibitória mínima de 50% dos fungos (MIC<sub>50</sub>), os valores obtidos para as oxazolininas sintetizadas foram muito bons de acordo com o CLSS.

Vejam os valores de MIC<sub>50</sub> que indicam sensibilidade a determinado tipo de fármaco ou composto químico e que variam dependendo de cada cepa estudada. Para *Cândida albicans*, é  $\leq 2$ ; *Cândida parapsilosis*, é  $\leq 2$ ; para *Cândida krusei*, todos os isolados são resistentes; *Cândida tropicalis*, é  $\leq 2$ ; no caso de *Cândida glabrata*, também todos os isolados são resistentes. Se os valores são maiores que os indicados, o fármaco ou composto deve ser considerado inativo, e a cepa é resistente contra esse composto.

Como pode se observar na tabela 3, os compostos **10b**, **10c**, **10g** e **10i** foram os que apresentaram o melhor espectro de atividade contra quase a totalidade das cepas estudadas, padrão e isolados clínicos. É importante mencionar que os isolados clínicos utilizados nos experimentos foram espécies de *Cândida* resistentes ao fluconazol. Teve destaque o composto **10i**, o qual teve valores de MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub> excelentes para todas as cepas testadas. O resto das moléculas teve boa atividade também, com a diferença de que quando se analisaram os valores para as cepas padrão, estes foram inferiores em termos de atividade se comparados com os isolados clínicos. Porém, nossos compostos foram mais ativos contra as cepas resistentes ao fluconazol, o que abre a possibilidade da utilização deles como novos agentes antifúngicos.

Observou-se que a atividade biológica variou dependendo do substituinte presente na molécula. Este é o caso para o composto **10a**, o qual não tinha nenhum substituinte e cuja atividade biológica não foi boa contra quase nenhuma das cepas sensíveis ou resistentes ao fluconazol, com exceção do **IAL-23**. Isso é muito interessante, devido ao fato de a síntese ter sido planejada para a avaliação da atividade biológica, e um composto de referência é muito útil para estudar a influência dos substituintes. O composto **10b**, o qual continha o substituinte azida, apresentou uma melhora drástica na atividade. Embora muitos estudos relatem que esse tipo de substituinte resulta tóxico para as células,<sup>77</sup> esse aspecto será discutido mais adiante.

Ficou evidente que a adição de um átomo de halogênio no anel aromático influenciou enormemente a atividade antifúngica. Analisando a diferença nas posições dos halogênios, os compostos **10c** e **10g** tiveram bromo nas posições 4 e 5 respectivamente. É possível notar que a atividade do composto **10g** é ligeiramente

melhor do que a do **10c**, o que leva a concluir que o bromo nessa posição interage melhor com alguma estrutura do fungo e faz com que o composto seja mais ativo. Para os compostos **10d** e **10j**, o comportamento foi diferente.

A mudança nas posições dos substituintes ofereceu um caráter diferente contra as cepas testadas. O átomo de iodo é um átomo volumoso, com uma alta densidade eletrônica, geralmente tóxico nos compostos em que se encontra presente, assim como relativamente instável devido ao seu tamanho. Neste caso, o iodo na posição 5 (**10j**) resultou ser menos ativo que o análogo na posição 4 (**10d**). Com essa informação, temos mais um indício de que os átomos muito volumosos na posição 5 do anel aromático são desfavoráveis para a atividade antifúngica.

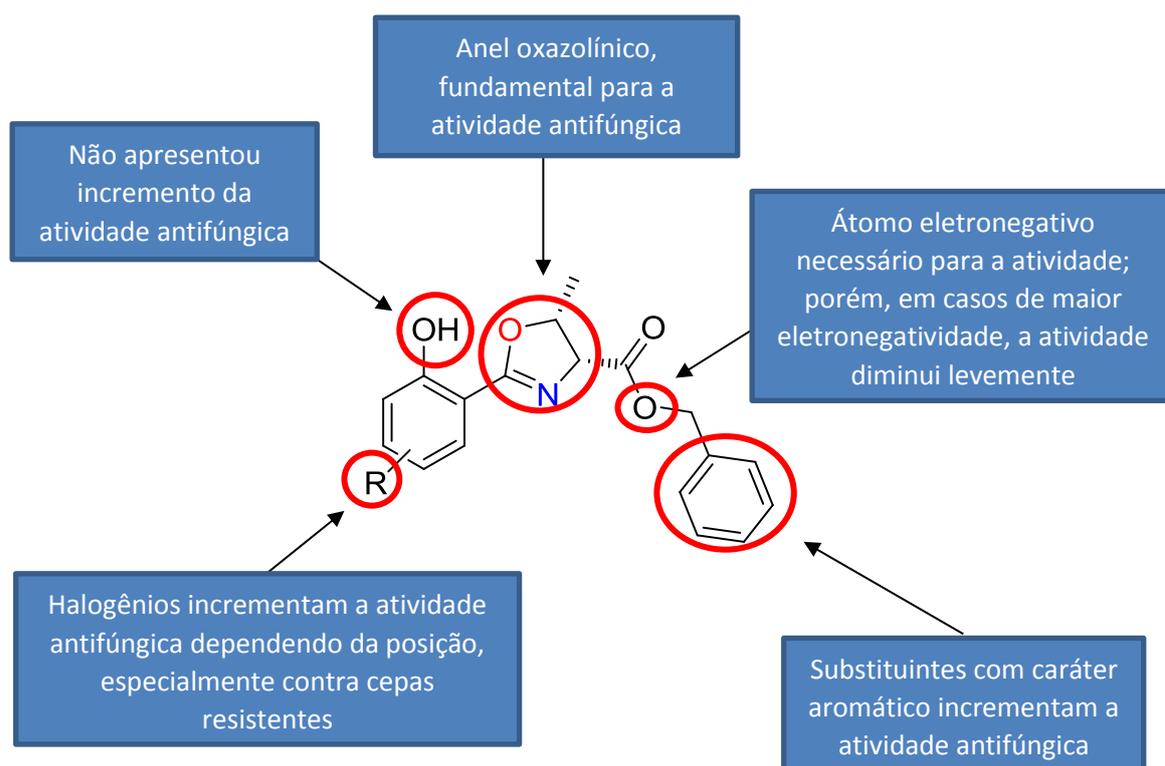
Seguindo com casos isolados, o composto **10f** apresentou maior atividade do que o **10a**, mas foi inferior aos compostos que tiveram outros halogênios mais volumosos. É muito provável que a atividade antifúngica nas cepas estudadas esteja condicionada ao tamanho do substituinte na oxazolina. O átomo de flúor é o menor dos halogênios, além de possuir o maior valor de eletronegatividade do grupo.

Diversos compostos com atividade biológica apresentam esse átomo em suas estruturas.<sup>78</sup> Inclusive, o fluconazol apresenta dois átomos de flúor que ajudam a se estabilizar no sítio ativo da enzima alvo. Porém, no nosso caso, o flúor não ajudou de maneira destacada. Contrariamente, o composto **10i**, já mencionado anteriormente, foi o mais ativo de toda a série de compostos. Apresentando um átomo de cloro na posição 4, obteve valores muito bons de MIC. Cabe ressaltar que o átomo de cloro também é amplamente utilizado na química medicinal<sup>79</sup> para a síntese de moléculas ativas. Seu tamanho, eletronegatividade e características químicas parecem ser os mais propícios para favorecer a inibição do crescimento dos fungos das cepas estudadas.

Finalmente, vejamos os compostos **10e** e **10h**, que tiveram substituinte metoxi. Os valores de MIC para o composto **10e** são inferiores a outros compostos com substituição na posição 5, o que nos dá outro indício de que os substituintes relativamente pequenos, como é o caso, não favorecem a atividade biológica. Adicionalmente, foi observado que quanto mais perto do anel oxazolinico estiver algum substituinte, a atividade biológica cai drasticamente, caso do composto **10h**.

Para verificar que o núcleo oxazolínicoo foi o responsável pela atividade biológica, foi testado o precursor da oxazolina, resultando ser inativo. Isso confirmou que o anel oxazolínicoo é o responsável em grande medida pela atividade biológica (farmacóforo).

Assim, foi feito um estudo de relação estrutura-atividade para conseguir explicar e visualizar melhor o resultado da influência dos substituintes.



Adicionalmente, foi feito o teste de sensibilidade antifúngica contra outras cepas de fungos. Na tabela 4, estão descritos os valores de MIC e MFC de todos os compostos sintetizados contra *Cryptococcus* e *Aspergillus*.

**Tabela 4:** MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub> para *Cryptococcus* e *Aspergillus*.

Compostos	<i>C. neoformans</i> H99			<i>C. gattii</i> ATCC 56990			<i>A. fumigatus</i> ATCC 16913			<i>A. niger</i>		
	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MFC	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MFC	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MFC	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MFC
10a	2	4	8	4	4	16	16	>16	>16	8	>16	>16
10b	0,5	1	4	1	1	4	4	4	>16	4	>16	>16
10c	0,5	1	1	0,5	1	2	4	4	>16	4	>16	>16

<b>10d</b>	1	2	2	1	2	4	4	>16	>16	4	>16	>16
<b>10e</b>	2	4	>16	8	16	>16	>16	>16	>16	16	>16	>16
<b>10f</b>	4	4	16	2	4	4	>16	>16	>16	16	>16	>16
<b>10g</b>	2	2	4	1	2	4	>16	>16	>16	16	>16	>16
<b>10h</b>	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16
<b>10i</b>	1	1	2	1	2	4	2	16	>16	2	16	>16
<b>10j</b>	1	2	4	1	2	2	>16	>16	>16	>16	>16	>16
<b>AMB</b>	0,12	0,25	0,5	0,12	0,25	0,25	0,25	0,5	>16	0,25	0,25	16
<b>CASP</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	>16	>16	>16	0,06	0,06	>16
<b>FLC</b>	4	8	16	4	8	16	>128	>128	>128	>128	>128	>128

Os resultados expostos na tabela 4 indicam que nossos compostos não foram igualmente ativos para os fungos *Cryptococcus* e *Aspergillus* quanto para a *Cândida*. É evidente nos valores tanto nos valores de MIC<sub>50</sub> como de MIC<sub>90</sub>. Entretanto, um diferencial muito interessante é a atividade fungicida contra esse tipo de fungos, a qual é recomendável estudar com mais detalhe.

Assim como os testes de sensibilidade antifúngica realizados, é muito importante realizar testes de hemólise e citotoxicidade quando as moléculas sintetizadas são novas, pois o risco de produzirem prejuízos no indivíduo a tratar é muito alto.

Na tabela 5, são mostrados os resultados obtidos para os testes de hemólise e citotoxicidade, assim como o Índice de Seletividade.

**Tabela 5:** Índice de Seletividade para hemácias e células de hepatocarcinoma.

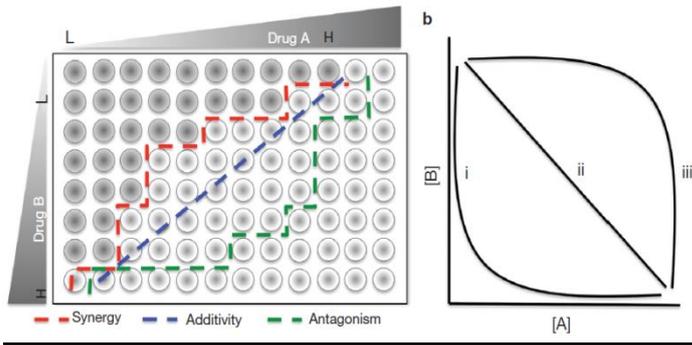
Compostos	Hemácias (RBC)			HepG2				
	AH <sub>50</sub> (%)	IS <i>Candida</i> spp.	IS <i>Cryptococcus</i> spp.	IS <i>Aspergillus</i> spp.	CC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )	IS <i>Candida</i> spp.	IS <i>Cryptococcus</i> spp.	IS <i>Aspergillus</i> spp.
<b>10a</b>	>128	32 - >4267	32 - 64	8 - 16	102	26 - 3400	26 - 51	6 - 13
<b>10b</b>	>128	256 - >4267	128 - 256	32	100	100 - 3333	100 - 200	25

<b>10c</b>	>128	128 - >4267	256	32	62	62 - 1033	124	16
<b>10d</b>	>128	128 - >4267	128	32	62	62 - 2067	62	16
<b>10e</b>	>128	32 - >4267	16 - 64	>8	100	25 - 3333	13 - 50	>6
<b>10f</b>	>128	128 - >4267	32 - 64	>8	>128	128 - 4267	32 - 64	>8
<b>10g</b>	>128	8 - >4267	64 - 128	>8	88	88 - 2933	44 - 88	>6
<b>10h</b>	>128	8 - >1067	>8	>8	101	6 - 842	>6	>6
<b>10i</b>	>128	<b>16 - &gt;4267</b>	128	64	95	380 - 3167	95	48
<b>10j</b>	>128	128 - >4267	128	>8	64	64 - 2133	64	>4
<b>AMB</b>	>128	512 - >4267	1067	512	4	8 - 133	33	16
<b>CASP</b>	>32	16 - 267	ND	>8 - 2133	~32	16 - 267	ND	>2 - 533
<b>FLC</b>	>128	1 - 256	32	>1	>128	1 - 32	>32	>1

Pode-se observar na tabela 5, nenhum dos compostos sintetizados apresentou atividade hemolítica na concentração de 128 µg/mL. Os índices de seletividade obtidos foram valores altos, na maioria acima de 64, os quais, segundo a literatura, são valores adequados para compostos novos.<sup>80</sup>

O efeito combinatório de novas moléculas candidatas a antifúngicos com os já existentes tem sido um teste muito importante para avaliar o efeito sinérgico, antagônico ou indiferente destas. Cabe ressaltar que, na literatura, escassos são os casos de efeito sinérgico na hora de combinar as drogas, sendo que o efeito obtido como resultado mais comum é o efeito indiferente. Nosso caso não exceção.<sup>81</sup>

Existem 3 tipos de curvas que podem ser obtidas segundo o efeito das combinações.



**FIC índice  $\leq 0,5$  = Sinergismo**

**FIC índice  $> 0,5$  e  $< 4$  = Indiferente**

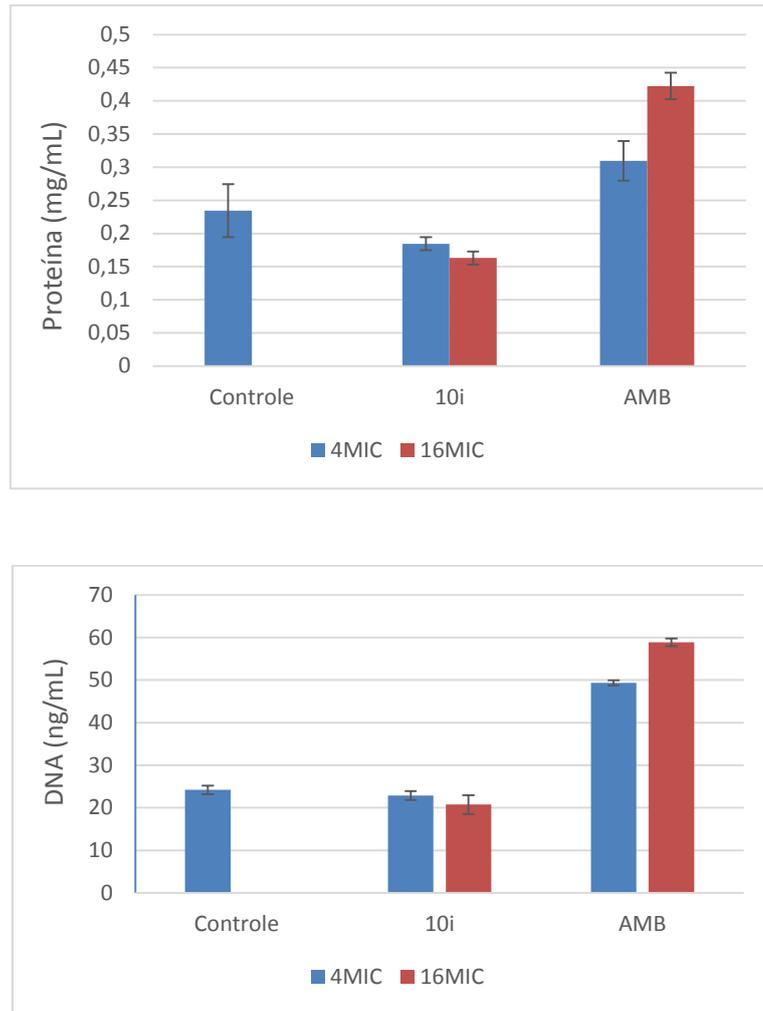
**FIC índice  $\geq 4$  = Antagonismo**

No nosso caso, os valores do FIC índice obtidos oscilaram entre 0,5 – 4, o qual significa dizer que o efeito de nossas combinações foi indiferente.

FIC index		
	10i - AMB	10i - CASP
<b>ATCC 10231</b>	0.98	1.125
<b>ATCC 22019</b>	1.5	2
<b>ATCC 6258</b>	1.5	2
<b>ATCC 200956</b>	1.5	2
<b>ATCC 2001</b>	2	2
<b>IAL-01</b>	2	2
<b>IAL-17</b>	1.5	2
<b>IAL-23</b>	1.5	2
<b>IAL-30</b>	1.25	2
<b>IAL-40</b>	1.5	3,9

**Quadro 1:** Valores dos FIC index obtidos para as combinações entre 10i e AMB, CASP.

Complementarmente, o teste de permeabilidade de membrana foi realizado. O fungo escolhido para realizar o teste foi *Cândida albicans* ATCC 10231. No gráfico 1, são mostrados os índices obtidos tanto para a quantidade de proteína como para o DNA.



**Gráfico 1:** Efeito na permeabilidade de membrana de **10i** e AMB nas concentrações de 4MIC e 16MIC.

Os resultados desse teste indicam se um composto é capaz de alterar a homeostase da membrana celular. Existem fármacos, tipo anfotericina B, que atua formando poros na membrana, produzindo extravasamento do conteúdo celular. Nossa molécula mais promissora, **10i**, não teve o efeito de alterar a permeabilidade da membrana e isto pode ser corroborado olhando os valores obtidos para ambos os testes, os quais são ou semelhantes ou menores que o controle, nas concentrações de 4 vezes o MIC e 16 vezes o MIC.

## 5. CONCLUSÃO

Mostramos que a síntese de oxazolininas e derivados 1,2,3-triazólicos de forma econômica e rápida é possível a partir do aminoácido *L*-Treonina. Os compostos oxazolínicos apresentaram boa atividade microbiológica do tipo antifúngica quando comparados com as drogas atualmente disponíveis para cepas sensíveis e resistentes ao fluconazol. Os compostos obtidos apresentaram baixa toxicidade contra hemácias, assim como para células HepG2, adicionalmente não alteraram a permeabilidade da membrana da *Cândida albicans* ATCC 10231 e o efeito combinatório de drogas resultou ser indiferente. De acordo com os estudos de relação estrutura-atividade realizados, evidenciou-se a influência dos substituintes sobre a atividade antifúngica, ressaltando que os halogênios, assim como os substituintes aromáticos e volumosos, aumentam drasticamente a atividade antifúngica, especialmente contra cepas resistentes ao fluconazol. Esses fatos nos levam a considerar essas novas moléculas oxazolínicas como promissoras e candidatas a serem estudadas com mais detalhe com o intuito de gerar um novo potencial fármaco antifúngico.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Webster, J., Webe, R. Introduction to fungi. 3. ed. United States of America, Cambridge. **2007**
2. Vos, T. et al. *Lancet*. **2012**, 380, 2163.
3. Brown, G. D. et al. *Sci. Transl. Med.* **2012**, 4, 165.
4. Wilson, L. S. et al. *Value Health*. **2002**, 5, 26.
5. Slavin, M. et al. *Clin. Microbiol. Infect.* **2015**, 10, 1016.
6. Roemer, T., Boone, C. *Nat. Chem. Biol.* **2013**, 9, 222.
7. Lehninger, A., Nelson, D. L., Cox, M. Princípios de Bioquímica 5<sup>a</sup> ed. São Paulo, Artmed. **2011**.
8. Daum, G., Lees, N. D., Bard, M., Dickson, R. Biochemistry, Cell Biology and Molecular Biology of Lipids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. **1998**, 14, 1471.
9. Golan, D. E. Princípios de Farmacologia. A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia, 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. **2009**, 580.
10. Johnson, D. S., Li, J. J. *The Art of Drug Synthesis*. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc. **2007**, 71.
11. Lepesheva, G.I., Ott, R.D., Hargrove, T.Y., Kleshchenko, Y.Y., Schuster, I. et al. *Chemistry & Biology*. **2007**, 14, 283.
12. Woods, R., Bard, M., Jackson, I., Drutz, D. *J Infect Dis*. **1974**, 129, 53.
13. Kontoyiannis, D., Lewis, R. *Lancet*. **2002**, 359, 1135.
14. Vandeputte, P., Larcher, G. *Antimicrob. Agents Chemother*. **2005**, 49, 4608.
15. Sanati, H., Belanger, P, Fratti, R, Ghannoum, M. *Antimicrob. Agents Chemother*. **1997**, 41, 2492.
16. Forastiero, A., Arango, A. *Antimicrob. Agents Chemother*. **2013**, 57, 4769.
17. Gabriel, S. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. **1889**, 22, 1139.
18. (a) Tsuda, M., Yamakawa, M., Oka, S., Tanaka, Y., Hoshino, Y., Mikami, Y., Sato, A., Fujiwara, H., Ohizumi, Y., Kobayashi, J. *J. Nat. Prod*. **2005**, 68, 462. (b) Onishi, H. R., Pelak, B. A., Silver, L. L., Kahan, F. M., Chen, M., Patchett, A. A., Galloway, S. M., Hyland, S. A., Anderson, M. S., Raetz, C. R. *H. Science*. **1996**, 274, 980. (c) Li, Q., Woods, K. W., Claireborne, A., Gwanlley, S. L., Barr, K. J., Liu, G., Gehrke, L., Credo, R. B., Hua Hui, Y., Lee, J., Warner, R. B., Kovar, P., Nukkla, M. A., Zielinski, N. A., Tahir, S. K., Fitzgerald, M., Kim, K. H., Marsh, K., Frost, D., Ng, S., Rosenberg, S., Sham, H. L. *Bioorg. Med. Chem*. **2002**, 12, 465.

- (d) Tsukamoto, M., Murooka, K., Nakajima, S., Abe, S., Suzuki, H., Hirano, K., Kondo, H., Kojiri, K., Suda, H. *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 815. (e) Vizi, E. *S. Med. Res. Rev.* **1986**, *6*, 431. (f) Celanire, S., Talaga, P., Leurs, R., Denonne, F., Timmerman, H., Lebon, F. Patent no. WO 2006103057 A1, 2006. (g) Gross, J. L., Robichaud, A. J., Mazzacani, A., Williams, M. J. Patent no. US 0023707, 200
19. Gant, T. G., Meyers, A. I. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2297. (b) Reuman, M., Meyers, A. I. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 837. (c) Frump, J. A. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 483.
20. (a) Lee, Y.-J., Lee, J., Kim, M.-J., Jeong, B.-S., Lee, J.-H., Kim, T.- S., Lee, J., Ku, J.-M., Jew, S.-S., Park, H.-G. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3207. (b) Saravanan, P., Corey, E. J. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2760. (c) Greene, T. W., Wutz, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed; John Wiley & Sons: New York, **1991**.
21. Hargaden, G. C., Guiry, P. *J. Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2505.
22. (a) Khumsubdee, S., Fan, Y., Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 9969. (b) Mckee, S. C., Muller-Bunz, H., Guiry, P. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 7107. (c) Sawada, T., Nakada, M. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1527.
23. (a) Padmaja, A., Rajasekhar, C., Durgamma, S., Venkatesh, B. C., Padmavathi, V. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 1084. (b) Djurendic, E., Vujaskovic, S. D., Sakac, M., Ajdukovic, J., Gakovic, A., Kojic, V., Bogdanovic, G., Klisuric, O., Gasi, G. P. *ARKIVOC.* **2011**, ii, 83. (c) Padmavathi, V., Mahesh, K., Reddy, G. D., Padmaja, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3178.
24. (a) Boissarie, P. J., Hamilton, Z. E., Lang, S., Murphy, J. A., Suckling, C. *J. Org. Lett.* **2011**, *13*, 6256. (b) Ilkgul, B., Gunes, D., Sirkecioglu, O., Bicak, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5313. (c) Kangani, C. O., Day, B. W. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5332. (d) Takahashi, S., Togo, H. *Synthesis* 2009, 2329. (e) Clayden, J., Clayton, J., Harvey, R. A., Karlubikova, O. *Synlett.* **2009**, 2836. (f) Kempe, K., Lobert, M., Hoogenboom, R., Schubert, U. S. *J. Comb. Chem.* **2009**, *11*, 274. (g) Minakata, S., Morino, Y., Ide, T., Oderaotoshi, Y., Komatsu, M. *Chem. Commun.* **2007**, 3279. (h) Ishihara, M., Togo, H. *Tetrahedron.* **2007**, *63*, 1474. (i) Sayama, S. *Synlett.* **2006**, 1479. (j) Cwik, A., Hell, Z., Hegedus, A., Finta, Z., Horvath, Z. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3985. (k) Wipf, P., Wang, X. *J. Comb. Chem.* **2002**, *4*, 656.
25. Wu, X.-F., Neumann, H., Neumann, S., Beller, M. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 13619.

26. (a) Ackermann, L., Barfusser, S., Kornhaass, C., Kapdi, A. R. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3082. (b) Lewis, J. C., Berman, A. M., Bergman, R. G., Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2493. (c) Lewis, J. C., Wiedemann, S. H., Bergman, R. G., Ellman, J. A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 35.
27. (a) Mei, L., Hai, Z. J., Jie, S., Ming, Z. S., Hao, Y., Liang, H. K. *J. Comb. Chem.* **2009**, *11*, 220. (b) Mohammadpoor-Baltork, I., Khosropour, A. R., Hojati, S. F. *Synlett* **2005**, *18*, 2747. (c) Mohammadpoor-Baltork, I., Khosropour, A. R., Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2007**, *8*, 200. (d) Jnaneshwara, G. K., Deshpande, V. H., Lalithambika, M., Ravindranathan, T., Bedekar, A. V. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 459. (e) Shaabani, A., Seyyedhamzeh, M., Maleki, A., Rezazadeh, F. *Appl. Catal. A.* **2009**, *358*, 146. (f) Mohammadpoor-Baltork, I., Mirkhani, V., Moghadam, M., Tangestaninejad, S., Zolfigol, M. A., Abdollahi-Alibeik, M., Khosropour, A. R., Kargar, H., Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2008**, *9*, 894. (g) Mohammadpoor-Baltork, I., Moghadam, M., Tangestaninejad, S., Mirkhani, V., Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2008**, *9*, 1153. (h) Wang, L., Guo, B., Li, H.-X., Li, Q., Lia, H.-Y., Lang, J.-P. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 15570. (i) Li, X. N.; Zhou, B. Y., Zhang, J., She, M. Y., An, S. J., Ge, H. X., Li, C., Yin, B., Li, J. L., Shi, Z. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 1626. (j) Ge, H. X., Liu, P., Li, X. N., Sun, W., Li, J. L., Yang, B. Q., Shi, Z. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 6591.
28. (a) Kochi, J. K. *Organometallic Mechanisms and Catalysis*; Academic: New York, **1978**. (b) Heck, R. F. *Palladium Reagents in Organic Syntheses*; Academic: New York, **1985**. (c) Hartley, F. R., Patai, S. *The Chemistry of Metal-Carbon Bond*; Wiley: New York, **1985**; Vol. **3**. (d) McQuillin, F. J., Parker, D. G., Stephenson, G. R. *Transition Metal Organometallics for Organic Synthesis*; Cambridge University Press: Cambridge, **1991**. (e) Tamao, K. *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B. M., Fleming, I., Pattenden, G., Eds., Pergamon: New York, **1991**; Vol. **3**, p **435**. (f) Hegedus, L. S. *Organometallics in Organic Synthesis*; Schlosser, M., Ed.; Wiley: New York, **1994**, 383.
29. Aliprantis, A., Canary, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6985.
30. Farina, V., Krishnan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9585.
31. Ozawa, F., Yamamoto, A. *Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *773*.
32. Stang, P. J., Kowalski, M. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3356.
33. (a) Ozawa, F., Ito, T., Yamamoto, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6457. (b) Ozawa, F., Ito, T., Nakamura, Y., Yamamoto, A. *Bull. Chem. Sc. Jpn.* **1981**, *54*,

1868. (c) Ozawa, F., Kurihara, K., Yamamoto, T., Yamamoto, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, *58*, 399. (d) Ozawa, F. Hidaka, T., Yamamoto, T., Yamamoto, A. *J. Organomet. Chem.* **1987**, *330*, 253. (e) Ozawa, F. Kurihara, K., Fujimori, M., Hidaka, T., Toyoshima, T., Yamamoto, A. *Organometallics.* **1989**, *8*, 180.
34. Negishi, E., Anastasia, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1979.
35. King, A. O., Okukado, N., Negishi, E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 683.
36. Dang, H. P., Linstrumelle, G. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 191.
37. Soderquist, J. A., Matos, K., Rane, A., Ramos, J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2401.
38. Takai, K., Oshima, K., Nozaki, H. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2531.
39. Stille, J., Simpson, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2138.
40. Nicolaou, K. C., Veale, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7515.
41. Pasto, D. J. *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 8 (Eds.: B. M. Trost, I. Fleming), Pergamon, Oxford, **1991**, 471.
42. Fürstner, A., Radkowski, K. *Chem. Commun.* **2002**, 2182.
43. Trost, B. M., Ball, Z. T.; Jöge, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7922.
44. Ohyabu, N., Nishikawa, T., Isobe, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8798.
45. Hinman, A., Du Bois, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11510.
46. a) Smith, A. L., Nicolaou, K. C. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2103; b) Nicolaou, K. C., Smith, A. L. *Modern Acetylene Chemistry* (Eds.: Stang, P. J., Diederich, F.), VCH, Weinheim, 1995, p. 203; c) Nicolaou, K. C., Dai, W.-M. *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387.
47. Isloor, M., Kalluraya, B., Shetty, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3784.
48. Vijesh, M., Isloor, A. Prabhu, M., Ahmad, V., Malladi, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5460.
49. Chandrakantha, P., Shetty, V., Nambiyar, N., Isloor, A.M. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1206.
50. Tripathi, R. P., Yadav, A.K., Ajay, A., Bisht, S. S., Chaturvedi, V., Sinha, S.K. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 142.
51. Li, X., Lin, Y., Wang, Q., Yuan, Y., Zhang, H., Qian, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1274.
52. Montagu, V., Balzarini, J., Snoeck, R., Andrei, G., Agrofoglio, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 778.
53. Isloor, M., Kalluraya, B., Rao, M. J. *Saudi Chem. Soc.* **2000**, *4*, 265.

54. Sinha, M. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 3573.
55. Hanessian, S.; Vakiti, R. R.; Dorich, S.; Banerjee, S.; Lecomte, F.; DelValle, J. R.; Zhang, J.; Deschênes-Simard, B. *Angew. Chem. Int.* **2011**, *50*, 3497.
56. Fumio, S., Araki, H. *Macromolecules.* **2004**, *37*, 8510.
57. Kometani, T., David, S. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5384.
58. Yu, F. et al. *Euro. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 258.
59. Huasin, S. N., Gentile, B., Sauers, R. R., Eichholz, A. *Carbohydrate Res.* **1983**, *118*, 57.
60. Kikkeri, R., Trabousi, H., Humbert, N., Kontecka, G. E., Yellin, A. R., Melman, G., Elhabiri, M., Gary, A. M. A., Shanzer, A. *Inorg. Chem.*, **2007**, *46*, 2485.
61. Liechti, C., Séquin, U. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 11.
62. Sheng, L., Rader, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*(23), 5630.
63. Beckmann, H., Wittmann, V. *Org. Lett.* **2010**, *12*(21), 4936.
64. Corey, E., Li, W. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*(1), 1.
65. David, S., John, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3979.
66. Shaikh, M., Subhedar, D., Nawale, L. *Med. Chem. Commun.* **2015**, *6*, 1104.
67. Bartroli, J., Turmo, E. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1855.
68. Ghosh, A. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 7967.
69. Shaaban, K., Saunders, M. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*(1), 2.
70. Bartroli, J., Turmo, E. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1855.
71. Matsunaga, S.; Fusetani, N.; Hashimoto, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 847.
72. Yoshida, M., Onda, Y. *Biopolymers (Pept Sci)*. **2016**, *106*, 404.
73. Mubarak, H., Dnyaneshwar, D. *Med. Chem. Commun.* **2015**, *6*, 1104.
74. Bissantz, C., Kuhn, B. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5061; Böhm, H., Banner, D. *ChemBioChem.* **2004**, *5*, 637.
75. Sharar, M., Bozeya, A. *Green Chem. Lett. Rev.* **2017**, *10*:3, 121; Naeimi, H., Babaei, Z. *Green Chem. Lett. Rev.* **2017**, *10*:3, 129.
76. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved standard, 2nd ed., CLSI document M38-A2; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, 2008.
77. (a) Dröge, W. *Physiol. Rev.* **2002**, *82*, 47. (b) Valko, M., Rhodes, C. *Chem.-Biol. Interact.* **2006**, *160*, 1. (c) Valko, M., Leibfritz, D. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2007**, *39*, 44. (d) Soler, C., Espin, J.C. *Phytochem. Anal.* **2000**, *11*, 1.
78. Böhm, H., Banner, D. *Chem. Bio. Chem.* **2004**, *5*, 637.

79. Gál, B., Bucher, C. *Mar. Drugs*. **2016**, *14*, 206; Hernandez, M., Cavalcanti, S. *Current Drug Targets*, **2010**, *11*, 00-00.
80. International standard. Biological evaluation of medical devices. ISO, 2009, 10993-5.
81. Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins, Baltimore, 2005.

## 7. ANEXOS

