

SÍNTESE DE DERIVADOS TRIAZÓLICOS VIA REAÇÃO CLICK E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA SOBRE *Hemileia vastatrix*

Quésia Helena Campos Serpa¹, Walter Cesar Celeri Bigui², William dos Santos Belarmino¹, Tatiane Paulino da Cruz³, Vagner Tebaldi de Queiroz¹, Waldir Cintra de Jesus Junior³, Adilson Vidal Costa¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/ Departamento de Química e Física, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre – ES, Brasil, quesiacamposh7@gmail.com, santoswilliam_s@hotmail.com, vagner.queiroz@ufes.br, avcosta@hotmail.com.

²Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Exatas/ Departamento de Química, Avenida Fernando Ferrari, 29075-910 – Vitória – ES, Brasil, walter.bigui@edu.ufes.br.

³Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto universitário s/n, 29500-000 – Alegre – ES, Brasil, agronomapaulino@gmail.com, wcintra@yahoo.com.

Resumo

Doenças fúngicas representam uma grande ameaça à produção global na agricultura. O café, commodity de significativo valor econômico, é afetado pela ferrugem do cafeeiro, causado pelo fungo *Hemileia vastatrix*. Uma das formas de controle da doença ocorre por meio de fungicidas à base de triazóis, devido a ampla bioatividade que apresentam. O objetivo deste estudo foi sintetizar e avaliar a atividade antifúngica sobre *H. vastatrix* de cinco 1,2,3-triazóis derivados do glicerol (4m-4q). Os triazóis foram sintetizados empregando-se a reação *click*, com rendimentos superiores a 80%. A atividade antifúngica dos compostos de interesse foi avaliada a partir de ensaios *in vitro*, nas concentrações de 10 a 100 ppm, sobre a germinação de urediniosporos do patógeno. Dentre os compostos analisados, os triazóis 4o e 4m demonstraram ser mais eficazes, com dose efetiva para inibir 50% (DE₅₀) da germinação dos esporos de 3 e 4 ppm, respectivamente. Dessa forma, os 1,2,3-triazóis obtidos a partir do glicerol se mostram como potenciais produtos para controle da ferrugem do cafeeiro.

Palavras-chave: Café. Ferrugem do cafeeiro. Compostos heterocíclicos. Cicloadição 1,3-dipolar.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra - Química.

Introdução

O café é um dos produtos agrícolas mais importantes para o mercado financeiro global, com o valor estimado em 70 bilhões de dólares, tendo desempenho relevante na sustentação de milhões de pessoas em desenvolvimento econômico do mundo todo (Rhiney et al., 2021). No Brasil, o *Coffea canephora*, popularmente conhecido como café conilon, cuja produção é predominante no estado do Espírito Santo, tem uma produção nacional próxima de 70%, contribuindo com cerca de 15% da produção global (Ramos et al., 2023; Venancio et al., 2020).

No entanto, o surgimento de doenças fúngicas apresenta uma ameaça na produção agrícola, ocasionando grandes perdas econômicas. A ferrugem do cafeeiro, causada pelo agente etiológico *Hemileia vastatrix*, é a principal doença que afeta as plantações de café, causando desfolhamento precoce e uma redução considerável na produtividade de aproximadamente 50% (Belan et al., 2020; Talhinhos et al., 2017). Os sintomas da doença apresentam-se como pústulas na cor laranja na face inferior das folhas, compostas pelos urediniosporos do fungo, prejudicando o desenvolvimento da planta e afetando a produção cafeeira (Godoy; Bergamim Filho; Salgado, 2005; Talhinhos et al., 2017).

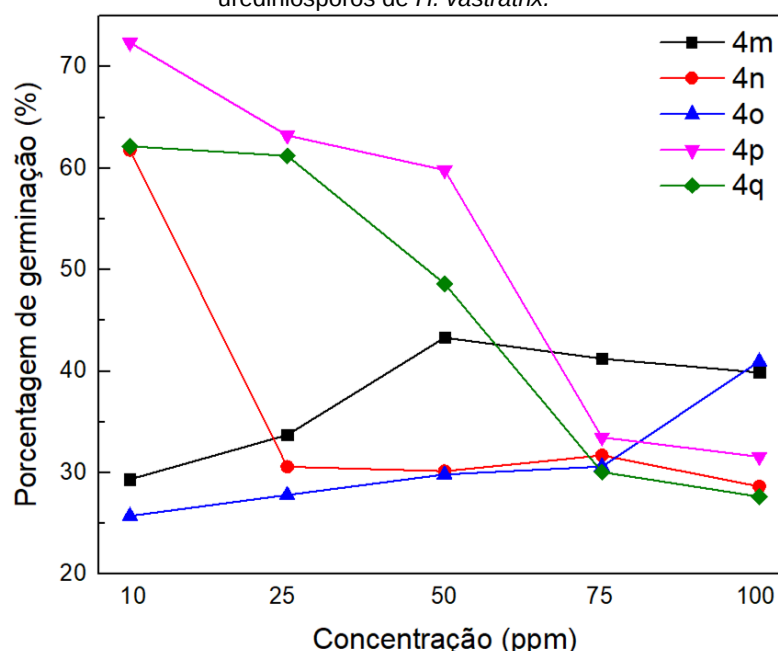
Uma das formas de manejo da ferrugem do cafeeiro é o emprego de fungicidas protetores e sistêmico à base de triazol (Belan et al., 2020; Hinnah et al., 2020). Os triazóis apresentam excelente potencial biológico, sendo encontrados em diversos defensivos agrícolas atualmente comercializados, como o flutriafol e o tebuconazol (Costa et al., 2020). Os triazóis constituem um dos maiores grupo de compostos usados para o controle de diferentes doenças fúngicas causadas em plantas (Jiang et al., 2020; Li et al., 2018). Empregando o conceito da *Click Chemistry*, os 1,2,3-triazóis podem ser sintetizados por meio da reação de cicloadição 1,3 dipolar catalisada por cobre entre alcinos e azidas.

Resultados

Os 1,2,3-triazóis (4m-4q) foram sintetizados empregando o conceito da *Click Chemistry*, utilizando o glicerol como material de partida. A etapa chave para formação dos derivados triazólicos envolveu a utilização do sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) como catalisador da reação entre os alcinos e a azida. A partir dessa reação, foi possível obter os cinco 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (4m-4q) com rendimentos superiores a 80%. Todos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas confirmadas por métodos espectroscópicos de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e Espectrometria de Massa (dados não mostrados).

Os resultados referentes ao ensaio fungicida estão representados na Figura 2, na qual observa-se a porcentagem de germinação de *H. vastratrix* em diferentes concentrações.

Figura 2 - Porcentagem de germinação (%) dos derivados triazólicos (4m-4q) em diferentes concentrações sobre urediniósporos de *H. vastratrix*.



Fonte: o autor.

De maneira geral, os triazóis 4n, 4p e 4q mostraram uma diminuição da porcentagem de germinação com o aumento da concentração. Na concentração de 10 ppm, pode-se observar que dos cinco triazóis testados, somente dois obtiveram germinação dos urediniósporos abaixo de 30%. O triazol 4p, na concentração de 10 ppm, foi menos efetivo, com porcentagem de germinação de 72,39%, sendo semelhante ao controle negativo (81,99%). Na concentração de 50 ppm, somente o triazol 4p apresentou germinação de esporos superior a 50%. Na maior concentração (100 ppm), os cinco triazóis demonstraram porcentagem de germinação de esporos abaixo de 45%. Os triazóis 4q, 4n e 4p se mostraram mais promissores com apenas 27,64%, 28,65% e 31,58% de esporos germinadores, respectivamente. Já os triazóis 4m e 4o apresentaram porcentagem de germinação 39,87% e 40,97%.

Os valores da DE_{50} (Tabela 1), calculados a partir dos modelos logarítmicos, demonstraram que o triazol 4o e 4m apresentaram valores de DE_{50} de 3 ppm e 4 ppm, respectivamente, sendo mais efetivos para inibir 50% da germinação de esporos. Os triazóis 4n, 4q e 4p apresentaram valores de DE_{50} de 13,50, 30,00 e 34,00 ppm, respectivamente.

Tabela 1 - Dose efetiva (DE₅₀) para inibir 50% da germinação de *H. vastatrix* dos triazóis 4m-4q.

Triazol	Equação	R ²	DE ₅₀ (ppm)
4m	$Y = 41,6286 + 6,0185 \ln x$	0,9062	4,00
4n	$Y = 16,3959 + 12,8084 \ln x$	0,8816	13,50
4o	$Y = 46,7958 + 6,0493 \ln x$	0,9239	3,00
4p	$Y = -18,6926 + 18,1385 \ln x$	0,8569	34,00
4q	$Y = -5,7558 + 16,2926 \ln x$	0,8760	30,00

Fonte: Os autores.

Discussão

Todos os compostos intermediários sintetizados (1, 2 e 3) e os 1,2,3-triazóis foram obtidos com rendimentos satisfatórios variando entre 63% e 94% e devidamente caracterizados, indicando que as transformações químicas propostas para o glicerol de fato aconteceram e foram bem sucedidas.

O glicerol, composto orgânico de função álcool com três hidroxilas e fórmula molecular C₃H₈O₃, é produzido em quantidade excessiva a partir da reação de transesterificação para formação do biodiesel (Peiter *et al.*, 2016). Uma das estratégias disponíveis para evitar o descarte indevido deste composto, é utilizar o glicerol como matéria prima indispensável para o desenvolvimento de derivados orgânicos com ampla bioatividade e aplicabilidade em diversas áreas, como é o caso dos 1,2,3-triazóis (Costa *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2023). Os estudos conduzidos por Costa *et al.* (2017) e Barcelos *et al.* (2023) indicaram a contribuição valiosa do glicerol como material de partida para síntese de 1,2,3-triazóis como potencial fungicida frente a diferentes patógenos, sendo obtidos com rendimentos superiores à 60%.

Embora o cobre apresente elevado potencial de oxidação, tendência de formação de complexos polinucleares e facilidade de trocas de ligantes, a sua inserção como catalisador ao meio reacional é descrita como bem sucedida na literatura (Freitas *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2022). Nesta reação *click*, por exemplo, o cobre interfere diretamente na energia de ativação da reação, causando um aumento na velocidade reacional de até 10⁷ vezes e influenciando positivamente na obtenção dos derivados triazólicos com rendimentos elevados (Kolb; Finn; Sharpless, 2001).

Uma vez sintetizados, os 1,2,3-triazóis podem ser utilizados em ensaios fungicidas no controle de diferentes patógenos. O desempenho dos fungicidas são de extrema importância no manejo de doenças de plantas, em particular no combate à ferrugem do café Conilon. Todavia, o uso de produtos de modo único e em excesso promovem a resistência de populações, incentivando a busca por tecnologias inovadoras para manter o controle de doenças.

Com este estudo pode ser observado a eficácia dos compostos triazólicos contra a germinação de uredinósporos de *H. vastatrix*. A inibição da germinação dos esporos pode estar associada a interação dos mesmos com o ergosterol nas membranas fúngicas. Os triazóis inibem a atividade da lanosterol 14 α -desmetilase, de forma que comprometa a sobrevivência de fungos como *H. vastatrix*. Essa enzima possui um papel importante na biossíntese de ergosterol, responsável por mediar a permeabilidade e a fluidez das membranas fúngicas (Nguyen *et al.*, 2020).

Conclusão

Como conclusão, a reação *click* se mostrou eficiente para a obtenção dos cinco derivados triazólicos obtidos a partir do glicerol, com altos rendimentos e sendo de fácil execução. Em relação ao teste biológico, todos os triazóis foram capazes de inibir a porcentagem de germinação dos esporos, sendo os triazóis 4o, 4m e 4n promissores para inibir 50% da germinação (DE₅₀) do fungo. Na maior concentração testada (100 ppm), o triazol 4q se mostrou mais eficiente para inibir a germinação dos esporos.

Dessa forma, o emprego do glicerol como material de partida para obtenção de derivados triazólicos é capaz de gerar novos compostos com potencial aplicação biológica. Entretanto, novos testes *in vivo* e em diferentes concentrações devem ser realizados a fim de estudar a completa inibição da germinação dos esporos e, assim, desenvolver novos produtos a serem aplicados no campo para o controle da ferrugem do cafeeiro.

Referências

- BARCELOS, F. F. *et al.* Synthesis of novel glycerol-fluorinated triazole derivatives and evaluation of their phytotoxic and cytogenotoxic activities. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 95, n. 1, p. e20211102, 2023.
- BELAN, L. L. *et al.* Standard area diagram with color photographs to estimate the severity of coffee leaf rust in *Coffea canephora*. **Crop Prot.**, v. 130, p. 105077, 2020.
- CAPUCHO, A. S. *et al.* Climate favourability to leaf rust in *Conilon coffee*. **Australas. Pl.Pathol.**, v. 42, p. 511-514, 2013.
- COSTA, A. V. *et al.* Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1666-1681, 2017.
- COSTA, A. V. *et al.* Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1, 2, 3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 31, p. 821-832, 2020.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorg. Chem.**, v. 71, p. 30–54, 2017.
- FREITAS, L. B. O. *et al.* The "click" reaction in the synthesis of 1,2,3-triazoles: Chemical aspects and applications. **Quím. Nova.**, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.
- HINNAH, F. D. *et al.* Performance of a weather-based forecast system for chemical control of coffee leaf rust. **Crop Prot.**, v. 137, p. 105-225, 2020.
- JIANG, J. *et al.* Effects of difenoconazole on hepatotoxicity, lipid metabolism and gut microbiota in zebrafish (*Danio rerio*). **Environ. Pollut.**, v. 265, p. 114-844, 2020.
- GODOY, C. V.; BERGAMIM FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), In: KIMARI, H. *et al.* **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4ª Ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005, p.607-626.
- KOLB, H. C.; FINN, M.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 40, n. 11, p. 2004-2021, 2001.
- LI, H. *et al.* Developmental toxicity, oxidative stress and immunotoxicity induced by three strobilurins (pyraclostrobin, trifloxystrobin and picoxystrobin) in zebrafish embryos. **Chemosphere**, v. 207, p. 781-790, 2018.
- NGUYEN, M. H. *et al.* Posaconazole serum drug levels associated with pseudohyperaldosteronism. **Clin. Infect. Dis.**, v. 70, n. 12, p. 2593-2598, 2020.
- OLIVEIRA, M. B. de *et al.* A reação CuAAC (reação click): Aspectos químicos, mecanísticos e alguns exemplos de sua utilização na preparação de compostos com interesse agroquímico. In: COSTA, A. V. *et al.* **Tópicos Especiais em Agroquímica II**. Vitória: UFES, 2022. 300 p.
- OUYANG, T. *et al.* Recent trends in click chemistry as a promising technology for virus-related research. **Virus Res.**, v. 256, p. 21-28, 2018.
- RAMOS, D. O. *et al.* Lasiodiplodiaranensis is the causal agent of *Coffea canephora* dieback in Brazil. **Crop Prot.**, v. 172, p. 106-318, 2023.
- RHINEY, K. *et al.* Epidemics and the future of coffee production. **PNAS.**, v. 118, n. 27, p. e2023212118, 2021.

TALHINHAS, P. *et al.* The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: One and a half centuries around the tropics. **Mol. Plant. Pathol.**, v. 18, n. 8, p. 1039, 2017.

VENANCIO, L. P. *et al.* Impact of drought associated with high temperatures on *Coffea canephora* plantations: A case study in Espírito Santo State, Brazil. **Sci. Rep.**, v. 10, n. 1, p. 19719, 2020.

YANG, S. *et al.* Enhancing erythritol production from crude glycerol in a wild-type *Yarrowia lipolytica* by metabolic engineering. **Front. Microbiol.**, v. 13, p. 1054243, 2022.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes/CNPq nº 25/2022; Termos de outorga 039/2023). Os autores agradecem aos pesquisadores do Grupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS-UFES-CNPq) pelo apoio na estrutura e no aprendizado.