

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS DERIVADOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA FRENTE A *Aspergillus fumigatus*

William dos Santos Belarmino¹, Camila Luiz Sena¹, Mariana Belizario de Oliveira², Leandra Martins Meireles³, Vagner Tebaldi de Queiroz¹, Rodrigo Scherer³, 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, william.belarmino@edu.ufes.br, camila.sena@ufes.br, 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, belizmary@hotmail.com.

³ Universidade Vila Velha, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Comissário José Dantas de Melo St., 21, 29102-770, Boa Vista, Vila Velha, Espírito Santo, Brasil, leandramartinsmeireles@gmail.com, rodrigo.scherer@uvv.br

Resumo

O núcleo 1,2,3-triazólico destaca-se como uma estrutura versátil, com ampla gama de atividades biológicas. No tratamento de infecções fúngicas, os triazóis atuam inibindo a enzima lanosterol 14 α -desmetilase, fundamental para a biossíntese do ergosterol, componente essencial da membrana celular. Modificações estruturais nesse núcleo, como a bioconjugação com moléculas bioativas, permitem explorar interações específicas com o alvo molecular, aumentando seletividade e potência. A relevância dessa classe de compostos é reforçada pela crescente resistência de patógenos como *Aspergillus fumigatus*, fungo filamentoso amplamente distribuído e agente etiológico da aspergilose invasiva. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo sintetizar três novos derivados 1,2,3-triazólicos do timol, um fenol natural com reconhecidas propriedades antimicrobianas, utilizando reação do tipo “click chemistry”. A avaliação da atividade antifúngica frente ao *A. fumigatus* busca identificar compostos promissores para o desenvolvimento de terapias inovadoras contra infecções fúngicas resistentes.

Palavras-chave: 1,2,3-triazol. “Click chemistry”. Fungicida. compostos bioativos. *Aspergillus*.

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

Introdução

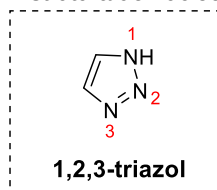
As doenças infecciosas continuam representando um desafio significativo para a saúde humana, causando impactos expressivos. Entre os diversos microrganismos de grande importância, destaca-se o *Aspergillus fumigatus*, considerado um dos principais fungos filamentosos patogênicos. Esse microrganismo apresenta ampla distribuição tanto em ambientes internos quanto externos, sendo encontrado em concentrações que variam de 1 a 100 conídios por metro cúbico de ar. Seus conídios, de pequeno diâmetro, favorecem a dispersão pelo ar e, consequentemente, a exposição humana (LATGÉ, CHAMILOS, 2019). Quando inalados, os esporos se alojam no trato respiratório, onde podem causar diferentes formas de infecções, algumas potencialmente fatais, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (HARISH *et al.*, 2022).

O *A. fumigatus* é o principal agente etiológico da aspergilose invasiva, infecção grave que afeta especialmente os pulmões, mas que, em estágios avançados, pode se disseminar para outros órgãos (LOPES *et al.*, 2004; MORGAN *et al.*, 2005). A letalidade da doença é preocupante, com índices superiores a 40%, ocorrendo principalmente em populações de alto risco e sendo influenciada por fatores como o estado imunológico do hospedeiro, a localização da infecção e o regime terapêutico adotado (DAGENAIS, KELLER, 2009).

Apesar da ampla disponibilidade de antibióticos e agentes quimioterápicos para uso clínico, o surgimento crescente de resistência dos patógenos evidencia a urgência em desenvolver novas

classes de agentes terapêuticos com ação inovadora e maior eficácia contra cepas resistentes (KAPLANCIKLI *et al.*, 2008). Nesse contexto, o desenvolvimento de novas moléculas com maior bioatividade e seletividade se tornou um dos objetivos da pesquisa científica. Assim, os derivados triazólicos se destacam como uma classe promissora. O núcleo 1,2,3-triazólico (Figura 1) apresenta uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo efeitos antimicrobianos (ZHANG, 2019), fungicidas (SHINDE *et al.*, 2023), anticancerígenos (KUMAR *et al.*, 2012), antivirais (RASHDAN *et al.*, 2021) dentre outros. No tratamento contra patógenos fúngicos, os triazóis atuam inibindo a enzima lanosterol 14 α -desmetilase, fundamental para a biossíntese de ergosterol, componente essencial da membrana celular fúngica (MONK *et al.*, 2019). Modificações estruturais no núcleo 1,2,3-triazólico, como bioconjugação com moléculas bioativas de produtos naturais, permitem explorar interações específicas com o alvo molecular. Estratégia essa que possibilita ampliar o espectro de ação, potencializando as propriedades biológicas, tornando os derivados triazólicos excelentes candidatos para aplicações farmacológicas (Guo *et al.*, 2021).

Figura 1 – Estrutura do núcleo triazólico.



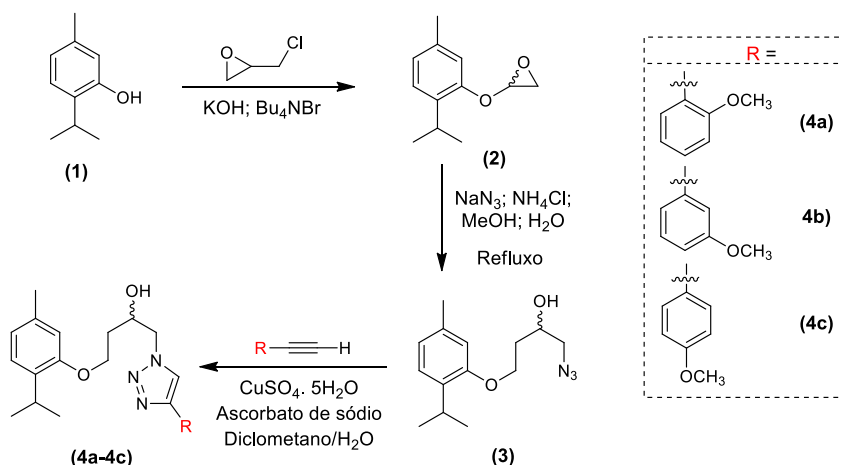
Fonte: Autores (2025).

Nesse sentido, o desenvolvimento de novos derivados triazólicos surge como uma estratégia promissora para combater a problemática sobre resistência antifúngica. Com isso o presente estudo teve como objetivo sintetizar três novos 1,2,3-triazóis derivados do timol, um fenol natural com amplo espectro de atividades biológicas, via reação do tipo “click chemistry” e avaliar a atividade antimicrobiana desses compostos contra *A. fumigatus*, para o desenvolvimento de moléculas com potencial terapêutico para o tratamento de infecções fúngicas graves

Metodologia

Os derivados triazólicos do timol (4a-4c) foram sintetizados por meio da cicloadição 1,3-dipolar, “click chemistry”, envolvendo a reação entre uma azida orgânica e um alcino terminal (Figura 2). Essa metodologia é amplamente reconhecida por sua eficiência, seletividade e confiabilidade, sendo amplamente utilizada e relatada na literatura científica (OLIVEIRA *et al.*, 2025).

Figura 2 – Rota proposta para a síntese dos 1,2,3-triazóis derivados do timol.



Fonte: Autores (2025).

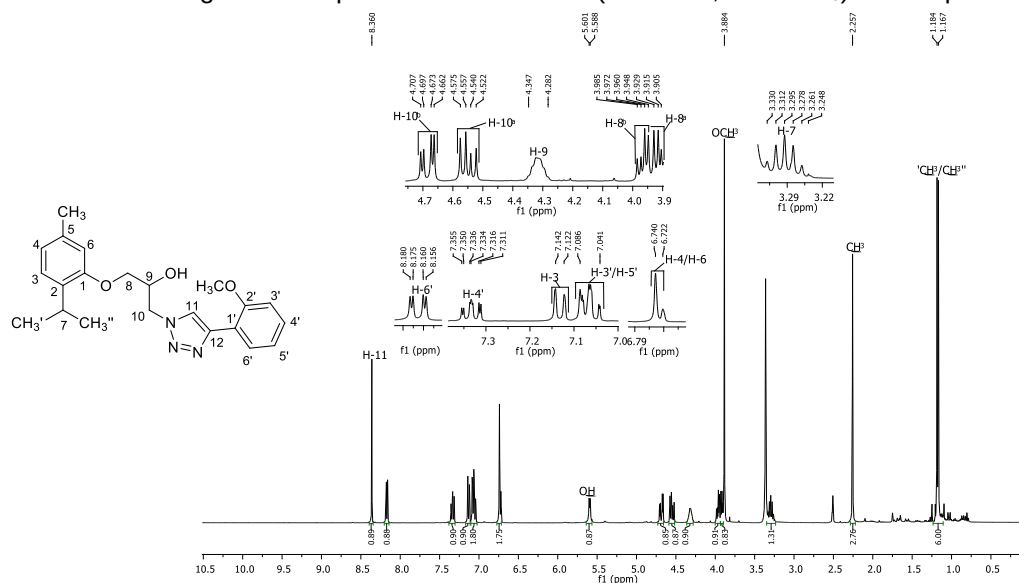
Os ensaios de susceptibilidade foram realizados conforme o protocolo M38-A2 para fungos filamentosos, utilizando cepas cultivadas em ágar batata dextrose (BDA) por 7 dias a 35 °C. Após o crescimento, preparou-se uma suspensão de esporos em solução salina estéril a 0,85% contendo 0,1% de Tween 20, cuja densidade foi ajustada em espectrofotômetro (absorbância 0,08–0,13 a 530 nm) e diluída em RPMI-1640 para alcançar concentrações finais de $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL. Foram testados tebuconazol (controle positivo) e 3 novas moléculas triazólicas derivadas do timol, em concentrações variando de 300 a 0,58 µL/mL, em microplacas de 96 poços, em duplicata. Após 48 horas de incubação a 35 °C, adicionou-se 15 µL de resazurina a 0,01% a cada poço e as placas foram reincubadas por mais 4 horas, sendo a concentração inibitória mínima (CIM) determinada pela mudança de coloração do corante, em que azul indicou ausência e rosa presença de crescimento, considerando-se a menor concentração que inibiu totalmente o crescimento em relação ao controle.

Resultados

As modificações químicas realizadas no timol resultaram na obtenção dos intermediários **(1)** e **(2)**, com rendimentos de 65% e 94%, respectivamente. Na primeira etapa, o timol reagiu com (±)-epicloridrina, na presença de brometo de tetrabutilamônio ((Bu)₄NBr) e hidróxido de potássio (KOH), por meio de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2). Em seguida, a azida **(2)** foi obtida por reação de azidólise entre o epóxido recém-sintetizado **(1)** e azida de sódio, na presença de cloreto de amônio (NH₄Cl).

Na etapa subsequente foi possível sintetizar, de forma exclusiva, três derivados 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (**4a-4c**) por meio de reação “click” entre a azida **(2)** e três diferentes alcinos terminais, empregando sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O) como catalisador, ascorbato de sódio como agente redutor e uma mistura de etanol e água como solvente. Os compostos **4a**, **4b** e **4c** foram obtidos com rendimentos de 67%, 55% e 68%, respectivamente, e posteriormente submetidos às análises de caracterização química por espectroscopia no infravermelho, RMN de ¹H e ¹³C, e espectrometria de massas. Na análise do espectro de RMN de ¹H do composto **4a**, observam-se sinais consistentes com a formação da estrutura proposta. O sinal mais desblindado, em δH 8,57 corresponde, respectivamente, ao próton H-11 do núcleo triazólico, confirmando a formação do derivado 1,2,3-triazol. Além disso, é observado um duplete em δH 5,62, referente ao hidrogênio do grupo hidroxila (–OH). Por fim, destacam-se um duplete em δH 1,16 e um simpleto em δH 2,25, atribuídos, respectivamente, aos grupos metílicos (–CH₃) presentes nos fragmentos do composto de partida. (Figura 3).

Figura 3 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **4a**.



Fonte: Autores, 2025.

Após a síntese e caracterização completa dos compostos triazólicos por meio de técnicas espectroscópicas e espectrométricas, os derivados foram avaliados em ensaios biológicos para determinar sua atividade antifúngica frente ao *Aspergillus fumigatus*. Os resultados mostraram que o derivado **4a** apresentou efeito fungistático significativo, com concentração inibitória mínima (CIM) de 9,3 µL/mL. Em comparação, o controle positivo, tebuconazol, apresentou CIM de 1,17 µL/mL, indicando que, embora menos potente que o fungicida de referência, o composto **4a** demonstrou uma atividade biologicamente relevante, enquanto os demais derivados 1,2,3-triazólicos não apresentaram efeito significativo.

Discussão

Os compostos 1,2,3-triazólicos constituem uma classe de heterociclos nitrogenados de elevada importância, amplamente empregados em diversas áreas e reações sintéticas, incluindo processos de bioconjugação. A síntese clássica desses compostos é a reação de cicloadição térmica entre uma azida orgânica e um alquino descrita por Huisgen em 1967. Embora essa reação possibilitasse a obtenção do núcleo triazólico, apresentava limitações significativas, como a formação concomitante de dois regioisômeros, além da exigência de longos tempos reacionais e de altas temperaturas (FREITAS *et al.*, 2011). Essas limitações estimularam o desenvolvimento de métodos mais modernos e eficientes, como a "click chemistry" catalisada por cobre, que superou tais limitações e estabeleceu o composto triazólico como estruturas versáteis para diversas abordagens sintéticas (SHARGHI *et al.*, 2010; Lima *et al.*, 2023).

Após sintetizados, os derivados triazólicos podem apresentar diferentes bioatividades, incluindo ação antifúngica. O desenvolvimento de novos agentes dessa classe é de grande relevância para a química medicinal, sobretudo diante do aumento da resistência de patógenos aos tratamentos atualmente disponíveis. No presente estudo, avaliou-se a bioatividade dos 1,2,3-triazóis sintetizados frente a *Aspergillus fumigatus*. Os resultados indicaram que, embora não tenham apresentado efeito fungicida comparável ao do controle positivo, os compostos demonstraram atividade fungistática, inibindo o crescimento do patógeno e se revelando promissores para o desenvolvimento de novos antifúngicos. No entanto, por mais que consigam inibir o crescimento do patógeno, não foram capazes de promover a eliminação completa do microrganismo nas concentrações avaliadas, o que ressalta seu potencial como candidatos para o desenvolvimento de novos antifúngicos, ainda que com limitações a serem superadas.

Esse padrão de ação está de acordo com o mecanismo proposto para os triazóis, os quais atuam inibindo a enzima lanosterol 14- α -desmetilase (CYP51), bloqueando a biossíntese de ergosterol e comprometendo a integridade e a estabilidade da membrana celular fúngica (SNELDERS *et al.*, 2012). A redução na produção de ergosterol, juntamente com formação de intermediários tóxicos, pode resultar na diminuição da viabilidade celular, mas não necessariamente na morte do fungo, o que caracteriza a atividade fungistática.

No caso específico da *A. fumigatus*, é bastante discutido na literatura a existência de mecanismos intrínsecos de resistência aos triazóis, como mutações nos genes, que causam alterações na conformação do sítio ativo da enzima, reduzindo a afinidade pelo composto (SNELDERS *et al.*, 2012; VERWEIJ *et al.*, 2016). Tal mecanismo mostra a necessidade de concentrações mais elevadas das moléculas sintetizadas para atingir a inibição total, refletida nos valores de CIM superiores aos observados para o tebuconazol.

Portanto, embora os triazóis sintetizados não tenham superado a eficácia do fungicida comercial (tebuconazol), a atividade fungistática observada contra *A. fumigatus* evidencia seu potencial promissor. Melhorias estruturais direcionadas à otimização da penetração celular podem contribuir para o aumento da eficácia antifúngica. Entre as estratégias promissoras destacam-se a introdução de grupos funcionais capazes de estabelecer interações adicionais no sítio ativo da enzima-alvo. Esse aspecto é evidenciado nos derivados sintetizados, uma vez que o composto de maior atividade apresenta um grupo metoxila na posição *orto* do anel aromático ligado ao núcleo triazólico, favorecendo interações estéricas e eletrônicas. Em contraste, os derivados com grupo metoxila substituído nas posições *meta* e *para* exibiram menor atividade, sugerindo que a orientação espacial do grupo funcional exerce papel crucial na modulação da bioatividade.

Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os 1,2,3-triazóis derivados do timol, sintetizados via reação *click chemistry* catalisada por cobre, apresentam potencial como agentes antifúngicos contra *Aspergillus fumigatus*. Embora não tenham exibido efeito fungicida, os compostos mostraram atividade fungistática significativa, inibindo o crescimento do patógeno testado. Essa característica, associada à versatilidade estrutural do núcleo triazólico, reforça seu valor como ponto de partida para o desenvolvimento de novas moléculas com maior seletividade e eficácia no combate a infecções fúngicas resistentes. Estudos adicionais, incluindo modificações estruturais, são recomendados para explorar e ampliar o potencial terapêutico desses derivados.

Referências

DAGENAIS, T. R. T.; KELLER, N. P. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis. **Clinical microbiology reviews**, v. 22, n. 3, p. 447-465, 2009.

FREITAS, R. P. et al. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.

GUO, H. Y. et al. Application of triazoles in the structural modification of natural products. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 36, n. 1, p. 1115-1144, 2021.

HARISH, E. et al. Triazole priming as an adaptive response and gateway to resistance in *Aspergillus fumigatus*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 66, n. 8, p. e00458-22, 2022.

KAPLANCIKLI, Z. A. et al. New triazole and triazolothiadiazine derivatives as possible antimicrobial agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 43, n. 1, p. 155-159, 2008.

KUMAR, B. V. V. S. et al. Design, synthesis and anticancer evaluation of 1,2,3-triazole linked thiazolo[5,4-d]pyrimidine derivatives as anticancer agents. **Chemical Data Collections**, v. 42, p. 100950-100957, 2022.

LATGÉ, J. P.; CHAMILOS, G. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. **Clinical microbiology reviews**, v. 33, n. 1, p. 10.1128/cmr.00140-18, 2019.

LOPES, A. J. et al. Aspergiloses pulmonares. **Pulmão RJ**, v. 13, n. 1, p. 257-67, 2004.

MONK, B. C.; SAGATOVA, A. A.; HOSSEINI, P.; RUMA, Y. N.; WILSON, R. K.; KENIYA, M. V. Fungal Lanosterol 14 α -Demethylase: A Target for next-Generation Antifungal Design. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1868, n. 3, p. 140-206, 2019.

MORGAN, J. et al. Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation: interim results of a prospective multicenter surveillance program. **Medical Mycology**, v. 43, n. Supplement_1, p. S49-S58, 2005.

OLIVEIRA, M. B. et al. Design and synthesis of thymol derivatives bearing a 1, 2, 3-triazole moiety for papaya protection against *Fusarium solani*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 73, n. 23, p. 14290- 14299, 2025.

SHARGHI, H.; SARVARI, M.H.; MOEINI, F.; KHALIFEH, R.; BENI, A.S.; OnePot three-component synthesis of 1-(2-Hydroxyethyl)-1H-1,2,3- triazole Derivatives by Copper-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloaddition of 2-Azido Alcohols and Terminal Alkynes under Mild Conditions in Water. **Helvetica Chimica Acta**, v.93, p.435-449, 2010.

A Ciência do **NANO** e seu impacto transformador no **MACRO**

SHINDE, Abhijit et al. Synthesis of 2-(6-substituted quinolin-4-yl)-1-(4-aryl-1H-1, 2, 3- triazol-1-yl) propan-2-ol as potential antifungal and antitubercular agents. **European Journal of Medicinal Chemistry Reports**, v. 7, p. 100102, 2023.

SNELDERS, E. et al. Triazole fungicides can induce cross-resistance to medical triazoles in *Aspergillus fumigatus*. **PloS one**, v. 7, n. 3, p. e31801, 2012.

VERWEIJ, P. E. et al. In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 11, p. e251-e260, 2016.

ZHANG, Bo. Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1, 2, 3-triazole hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 168, p. 357-372, 2019.

Agradecimentos

Os autores do presente trabalho agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Grupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS), ao Laboratório de Síntese Orgânica (LaSO) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo apoio.