

SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS DO TIMOL COM POTENCIAL ANTIFÚNGICO CONTRA *ASPERGILLUS FLAVUS*

Gisely Ferreira Moura¹, Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla¹, 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, gisely.m.ferreira@gmail.com, poligazolla@gmail.com, vagner.queiroz@ufes.br, avcosta@hotmail.com.

²Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Exatas/Departamento Química, Avenida Fernando Ferrari, 29075-910 – Vitória-ES, Brasil, belizmary@hotmail.com.

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

Resumo

Mundialmente, estima-se que 6,5 milhões de pessoas sejam acometidas por doenças fúngicas agressivas, resultando em cerca de 2,5 milhões de mortes anuais. Entre os principais agentes de risco, destaca-se o fungo *Aspergillus flavus*, produtor de aflatoxinas, micotoxinas carcinogênicas associadas ao câncer que podem contaminar alimentos, configurando sério risco à saúde pública. Diante desse desafio, a síntese de compostos inéditos contendo o núcleo 1,2,3-triazólico surge como uma estratégia para ampliar a diversidade estrutural e explorar novas possibilidades de atividade antifúngica. Os derivados 1,2,3-triazólicos do timol (**3a–3c**) foram obtidos por cicloadição 1,3-dipolar entre uma azida orgânica e alcinos terminais, reação conhecida como “*click chemistry*”. As transformações químicas do timol possibilitaram a obtenção de três novos derivados triazólicos, com rendimentos de 70% (**3a**), 68% (**3b**) e 53% (**3c**). Os ensaios biológicos foram realizados em duplicata em microplacas de 96 poços. Entre os compostos avaliados, o triazol **3b** apresentou atividade fungistática, com concentração inibitória mínima (CIM) de 9,3 µL/mL.

Palavras-chave: Timol. *Click chemistry*. Fungicida. Fungistático.

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra (Química)

Introdução

Mundialmente, estima-se que 6,5 milhões de pessoas sejam acometidas por doenças fúngicas agressivas ocasionando cerca de 2,5 milhões de mortes por ano, número seis vezes superior ao de óbitos por tuberculose (Suleymaan *et al.*, 2021; Denning, 2024). Os grupos mais vulneráveis incluem indivíduos imunocomprometidos, transplantados, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), pacientes com doenças pulmonares crônicas e aqueles submetidos a longas internações hospitalares (Cdc, 2024). No período da pandemia de COVID-19 foram ainda relatados casos de infecções simultânea dos vírus SARS-CoV-2 e fungos dos gêneros *Aspergillus* (Soni *et al.*, 2021).

As espécies do gênero *Aspergillus*, desenvolvem-se em matéria orgânica em decomposição, sendo a inalação de esporos a principal via de infecção (Barac *et al.*, 2024). O *Aspergillus flavus* é um fungo pertencente à seção *Flavi*, destaca-se pela produção de aflatoxinas, micotoxinas carcinogênicas associadas ao câncer hepático, imunossupressão e comprometimento do crescimento animal. Esse fungo pode contaminar alimentos como milho, amendoim, arroz e nozes, configurando um grave risco à segurança alimentar e à saúde pública, o que demanda monitoramento contínuo e estratégias eficazes de controle (Bao *et al.*, 2025).

Os fármacos disponíveis atualmente para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas ainda são limitados, concentrando-se principalmente em três classes: azóis, polienos e equinocandinas. No entanto, seu uso está frequentemente associado ao desenvolvimento de resistência fúngica, elevada toxicidade e dificuldades farmacocinéticas. (Houst *et al.*, 2020). Dentro da classe de azóis, destacam-se os compostos com núcleo 1,2,3-triazólico, os quais apresentam propriedades físico-químicas e biológicas, incluindo atividades antimicrobiana (Zhang, 2019), fungicida (Shinde *et al.*, 2023), anticancerígena (KUMAR *et al.*, 2012), dentre outras.

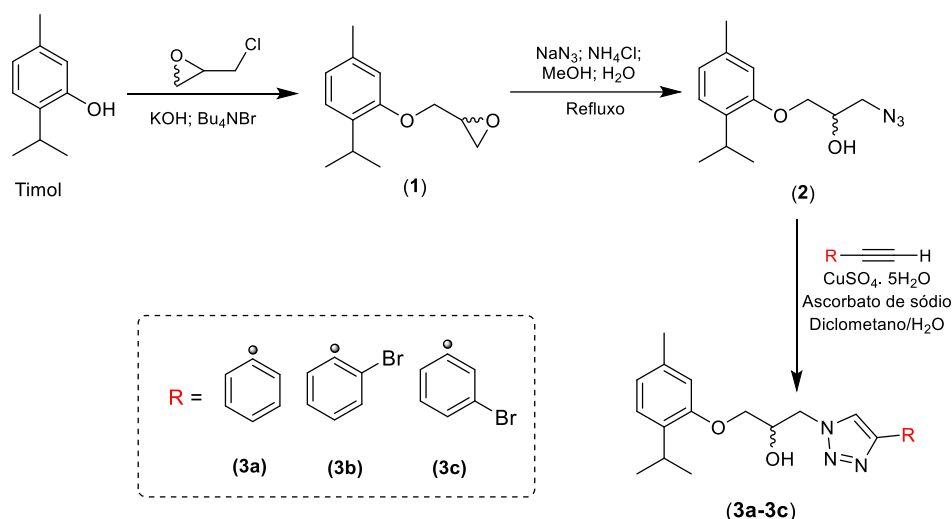
Considerando esses desafios, a pesquisa de Oliveira *et al.* (2025) descreve a síntese de compostos inéditos derivados do timol contendo o núcleo 1,2,3-triazólico com potencial atividade antifúngica. A incorporação desse núcleo visa ampliar a diversidade estrutural e explorar novas possibilidades terapêuticas.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo sintetizar três novos 1,2,3-triazóis derivados do timol (**3a-3c**) por meio da reação “click” e submeter os derivados inéditos a testes biológicos contra o fungo *A. flavus*, agente patogênico responsável pelo desenvolvimento de doenças respiratórias, destacando-se a aspergilose.

Metodologia

Os derivados 1,2,3-triazólicos do timol (**3a-3c**) foram obtidos por meio da cicloadição 1,3-dipolar, também conhecida como “click chemistry”, a qual envolve a reação entre uma azida orgânica e um alcino terminal e sais de cobre como catalisador. A rota sintética foi desenvolvida em três etapas reacionais utilizando o timol como material de partida (De Oliveira *et al.*, 2025) (Fig. 1).

Figura 1: Rota sintética para obtenção dos derivados 1,2,3-triazólicos do timol (**3a-3c**).



Para a síntese dos compostos **3a-3c**, em um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados a azida (**2**) (1,00 g; 4,01 mmol), o ascorbato de sódio (0,41 g; 2,09 mmol), diclorometano/água na proporção 1:1 (v v⁻¹), o catalisador (CuSO₄·5H₂O) (0,260 g; 1,04 mmol), e o alcino terminal de interesse. A mistura reacional foi mantida à temperatura ambiente por 1h sob agitação constante e monitorada periodicamente por cromatografia em camada delgada (CCD). Após a finalização da reação, os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de EDTA, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida, por fim os 1,2,3 triazóis obtidos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel.

As estruturas foram elucidadas pela análise de espectroscopia no infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C (RMN ¹H e ¹³C) e espectrometria de massas. Em seguida os compostos sintetizados foram submetidos a avaliação da atividade fungicida contra *A. flavus* de acordo com o protocolo M38-A2 CLSI (2008b). O fungo foi cultivado em ágar batata dextrose (BDA) por 7 dias a 35

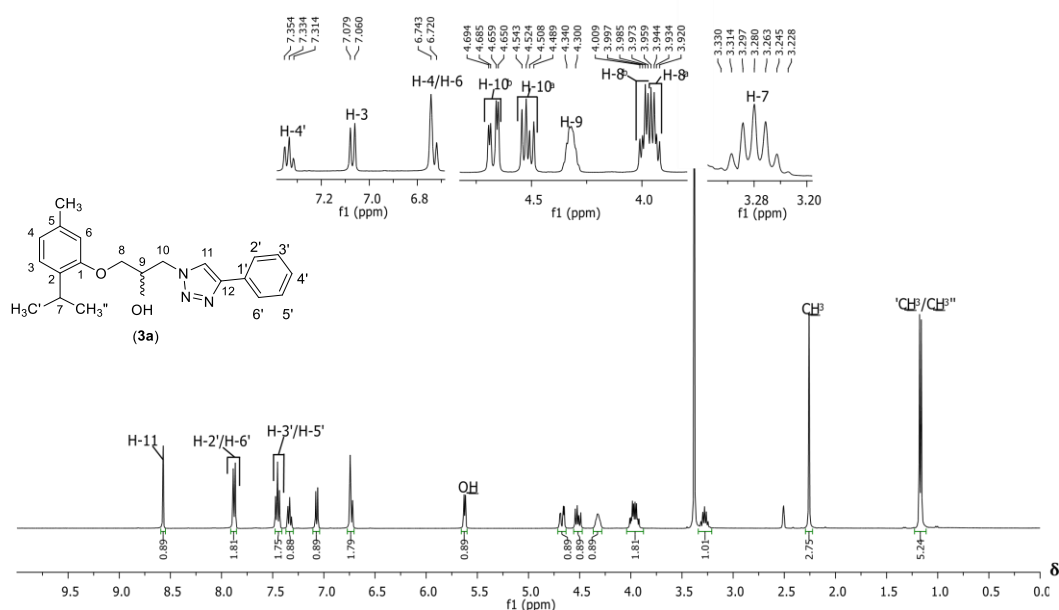
°C. A partir desse cultivo, foi preparada uma solução salina da suspensão de células na concentração de 0,85% na qual teve sua densidade corrigida por espectrofotômetro (85% a 90% transmitância a 530 nm), a fim de alcançar a concentração de 1×10^3 a 5×10^3 UFC/ML. As concentrações testadas para tebuconazol, timol e os três novos derivados triazólicos variou-se de 300 µg/mL a 0,58 µg/mL. Os testes biológicos foram realizados em duplicatas em microplacas de 96 poços. Após o período de 24h de incubação, foi adicionado a microplaca a resazurina (corante) na concentração de 0,01% e reincubada por 4h a 35°C. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através da alteração de cor azul para rosa, evidenciando o azul para ausência do crescimento do fungo e a rosa a presença de crescimento.

Resultados

As transformações químicas do timol resultaram na obtenção de novos derivados contendo fragmentos triazólicos inéditos (**3a-3b**). A rota sintética proposta foi realizada em três etapas reacionais, caracterizadas pela simplicidade experimental e viabilidade econômica. A primeira etapa, foi conduzida a partir da (±)-epicloridrina, na presença de brometo de tetrabutilamônio ((Bu)₄NBr) e hidróxido de potássio (KOH), resultou na formação do intermediário (**1**), por meio de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), com rendimento de 65%. Posteriormente, na segunda etapa foi obtido o intermediário (**2**) com rendimento de 94%, a partir de uma reação com cloreto de amônio e a azida de sódio em metanol como solvente. Na terceira etapa, os três novos 1,2,3-triazóis-1,4-disubstituídos (**3a-3c**) foram obtidos a partir da azida (**2**) e três alcinos terminais distintos por meio da reação “click”, utilizando-se sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄·5H₂O) como catalisador e ascorbato de sódio como agente redutor, diclorometano/água na proporção 1:1(v v⁻¹) como solvente. Os triazóis (**3a**, **3b** e **3c**) foram obtidos com rendimentos de 70%, 68%, 53% respectivamente.

Todos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas químicas elucidadas e confirmadas por métodos espectroscópicos (IV e RMN de ¹H e ¹³C) e espectrométrico (massas). Na Figura 2, está apresentado o espectro de RMN de ¹H do triazol **3a**.

Figura 2: Espectro de RMN de ¹H do composto **3a**.



Com base na análise do espectro de RMN de ¹H foi possível observar que o número de sinais observados corresponde ao número de hidrogênios esperados para a estrutura do triazol **3a**. Foram evidenciados os sinais mais blindados atribuídos aos grupos metilas do composto, além de dois duplos

dupletos atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos H-10_a ($J_1 = 14,0$ Hz; $J_2 = 7,6$ Hz) e H-10_b ($J_1 = 14,0$ Hz; $J_2 = 3,6$ Hz). Os sinais atribuídos como H-2'/H-6' e H-3'/H-5' estão presentes na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos. O sinal mais desblindado, referente ao H-11 presente no anel triazólico, foi identificado como um simpleto, confirmando de forma inequívoca a formação do composto (**3a**). Após a síntese e caracterização, os compostos triazólicos (**3a-3c**) foram submetidos a ensaios biológicos contra o patógeno *A. flavus* para determinar seu potencial fungicida. Os derivados apresentaram potencial fungistático, com destaque para o composto **3b**, que apresentou concentração inibitória mínima (CIM) de 9,3 µL/mL. O controle positivo, tebuconazol, apresentou CIM de 1,17 µL/mL. Esses resultados indicam que a posição dos substituintes exerce influência direta na atividade biológica dos compostos testados.

Discussão

Atualmente, o método mais empregado para a obtenção de 1,2,3-triazóis envolve a reação de cicloadição 1,3-dipolar entre azidas orgânicas e alcinos terminais. Essa metodologia foi inicialmente estudada por Huisgen em 1967. No entanto, apesar de sua importância e ampla aplicação, esse tipo de reação apresentava algumas devastagens no processo reacional, como a formação de regioisômeros, longos tempos reacionais e a necessidade de temperaturas elevadas (Freitas *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2022).

A fim de melhorar essas limitações, Sharpless e colaboradores adaptaram a metodologia incorporando diferentes grupos funcionais, catalisadores à base de cobre e condições reacionais brandas, com controle de regioseletividade. Desde então, essa adaptação passou a integrar o conceito de “click chemistry”, baseado na cicloadição azida-alcino catalisada por cobre (I)(CuAAC). Esse conceito inovador possibilitou a formação de reações mais seletivas formando exclusivamente um único isômero 1,4-dissubstituído, com excelentes rendimentos reacionais (Dheer; Singh; Shankar, 2017).

Com base nesse conceito, a estrutura do timol foi modificada por meio da metodologia “click” resultando em três novos derivados. Os novos compostos triazólicos **3a**, **3b**, **3c**, foram obtidos em três etapas reacionais com rendimentos de 70%, 68%, 53%, respectivamente.

Após sintetizados, foi realizada a caracterização química por análise espectroscópica no Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C e espectrometria de Massas, na qual possibilitou a elucidação estrutural de cada composto e confirmação das estruturas proposta, demonstrando a eficiência nas reações de substituições e da metodologia “click”.

Os derivados triazólicos avaliados, assim como o timol, não desmonstraram potencial fungicida nas concentrações testadas. Esse resultado está relacionado ao mecanismo de ação dessas substâncias e as características dos fungos.

O tebuconazol, fungicida comercial amplamente utilizado, confirmou sua eficácia nas concentrações testadas. Os novos derivados triazólicos, embora não tenham reproduzido o mesmo efeito fungicida, apresentaram atividade fungistática, evidenciada pela retomada do crescimento fúngico após a retirada do composto do meio de cultivo. Esse resultado está de acordo com a natureza intrínseca dos triazóis (Snelders *et al.*, 2021) e demonstra que, apesar da menor potência frente ao tebuconazol, os derivados triazólicos possuem relevância biológica. Os resultados obtidos com *A. flavus* destacam o potencial desses novos compostos como ponto de partida promissor para o desenvolvimento de moléculas otimizadas, especialmente quando combinadas a diferentes grupos funcionais capazes de ampliar a interação do núcleo triazólico com a parede celular do fungo.

Conclusão

As modificações químicas realizadas no timol foram bem-sucedidas com resultados promissores para inovação de novas moléculas com fragmentos triazólicos. Os compostos inéditos (**3a-3c**) foram obtidos com rendimentos de 70%, 68%, 53%, respectivamente. A reação “click” mostrou-se uma alternativa viável e eficiente para o desenvolvimento de novos compostos com potencial para inibição do crescimento de doenças fúngicas. Nos ensaios biológicos realizados contra *A. flavus* os compostos não apresentaram atividade fungicida, mas evidenciaram potencial fungistático, sendo o composto **3b** o mais ativo, com concentração inibitória mínima (CIM) de 9,3 µL/mL. Essa versatilidade na hibridização de moléculas destaca-se como uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novos compostos bioativos, com aplicações potenciais tanto na indústria química quanto na agricultura.

Referências

DE 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**, 2025.

BAO, Y *et al.* Efficacy of sodium new houttuylfonate against *Aspergillus flavus*: insights from in vitro and in vivo models of invasive pulmonary aspergillosis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 16, p. 1577561, 2025.

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

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

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Aspergillosis Basics. Disponível em: <https://www.cdc.gov/aspergillosis/about/index.html>. Acesso em: 10 ago. 2025.

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

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

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.

SHINDE, A *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.

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.

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.