

ROBERTA DA SILVA EVANGELISTA

**BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS PARA O TRATAMENTO DAS
LEISHMANIOSES EXPLORANDO O SCAFFOLD EUGENOL/1,2,3-TRIAZOL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Róbson Ricardo Teixeira

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

E92b
2024 Evangelista, Roberta da Silva, 1992-
Busca por novos compostos para o tratamento das
leishmanioses explorando o *scaffold* eugenol/1,2,3-triazol /
Roberta da Silva Evangelista. – Viçosa, MG, 2024.
1 tese eletrônica (187 f.): il. (algumas color.).

Texto em português e inglês.

Inclui anexos.

Orientador: Robson Ricardo Teixeira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.542>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Eugenol - Derivados - Síntese. 2. Leishmaniose -
Tratamento. I. Teixeira, Robson Ricardo, 1969-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica. III. Título.

CDD 22. ed. 547.632

ROBERTA DA SILVA EVANGELISTA

**BUSCA POR NOVOS COMPOSTOS PARA O TRATAMENTO DAS
LEISHMANIOSES EXPLORANDO O SCAFFOLD EUGENOL/1,2,3-TRIAZOL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de julho de 2024.

Assentimento:



Roberta da Silva Evangelista
Autor



Róbson Ricardo Teixeira
Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as graças recebidas e todo livramento que me deste durante todo o meu projeto e a Nossa Senhora por nunca ter me desamparado neste caminho.

Aos meus pais, por toda paciência, empenho e zelo e por terem acreditado em meus sonhos e me ajudado sempre a seguir em frente.

À minha irmã Vanessa, por ter me apoiado sempre e por ter me dado força mesmo que a distância.

Ao meu marido Gabriel, por todo amor, companheirismo, paciência durante todos esses anos, por me ajudar em todos os momentos e nunca ter me deixado desistir dos meus sonhos, e por ter se tornado um exemplo de profissional.

Às minhas queridas filhas, Helena e Isabela, por serem os meus maiores amores e presentes e a razão de toda minha dedicação e esforço durante esses anos.

Agradeço a todos os familiares que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, principalmente pelas orações.

Ao professor Róbson por ter acreditado em mim, por toda atenção, incentivo e confiança ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Por ter me acolhido e compartilhado sua experiência e profissionalismo ao longo destes anos.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realizar esse projeto de pesquisa.

Aos amigos Poliana, Ana Paula, Danilo, Geisiane e Alex pelo apoio durante todo o trabalho e por estarem dispostos a me ajudar nos momentos que precisei.

Aos amigos (as) e colegas do grupo de pesquisa GSPCB – Grupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos - pela colaboração, amizade e por deixarem o ambiente de trabalho muito mais agradável e prazeroso.

Aos Servidores Técnicos-Administrativos do Departamento de Química da UFV, pela realização de análises que auxiliaram na caracterização dos compostos sintetizados neste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos professores da banca examinadora, por terem aceitado participar da avaliação deste trabalho.

Meu eterno agradecimento.

“É preciso abandonar o futuro nas mãos do Bom Deus...’Nada acontece que Deus não tenha previsto desde toda a eternidade”.

(Santa Terezinha do Menino Jesus)

RESUMO

EVANGELISTA, Roberta da Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2024. **Busca por novos compostos para o tratamento das leishmanioses explorando o *scaffold* eugenol/1,2,3-triazol**. Orientador: Róbson Ricardo Teixeira.

O eugenol (4-alil-2-metoxifenol) é um líquido amarelado encontrado em diversas espécies vegetais, conhecido por apresentar várias bioatividades, incluindo atividade antileishmanial. O presente trabalho descreve a síntese e a avaliação da atividade antileishmanial de dois grupos de derivados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos em suas estruturas. O primeiro grupo de compostos consistiu em derivados diidroxilados que foram obtidos por meio de uma rota sintética que envolveu: i) epoxidação do eugenol com ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA), resultando em (\pm) 2-metoxi-4-(oxiran-2-ilmetil)fenol (**1**) com 99% de conversão; ii) reação de abertura de anel de epóxido de (**1**) com azida de sódio, gerando (\pm) 4-(3-azido-2-hidroxi-propil)-2-metoxifenol (**2**) com 94% de rendimento; iii) reação CuAAC [reação de cicloadição (C) 1,3-dipolar entre um alcino terminal (A) e uma azida orgânica (A) catalisada por cobre (Cu(I))] entre a substância **2** e diferentes alcinos terminais, resultando em dezoito derivados diidroxilados (**3a–3r**) com rendimentos variando de 30% a 89%. O segundo grupo de compostos consistiu em derivados do *orto* eugenol contendo grupos 1,2,3-triazólicos. A obtenção de vinte e dois derivados do *orto* eugenol foi possível por meio das seguintes etapas: iv) alquilação do guaiacol com brometo de alila resultando na obtenção de 1-(aliloxi)-2-metoxibenzeno (rendimento de 93%); v) rearranjo de Claisen conduzido com 1-(aliloxi)-2-metoxibenzeno resultando no *orto* eugenol (rendimento de 82%); vi) procedimentos de alquilação realizados com o *orto* eugenol produziram 1-alil-3-metoxi-2-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (rendimento de 73%) e 1-alil-3-metoxi-2-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (rendimento de 53%); vii) reações

CuAAC envolvendo os alcinos obtidos *in vitro* com diferentes azidas benzílicas resultaram em vinte e dois derivados do *orto* eugenol com funcionalidades 1,2,3-triazol (rendimento de 48% a 93%). Os compostos foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel e caracterizados pelas espectroscopias no infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , bem como espectrometria de massas de alta resolução. A avaliação inicial da citotoxicidade dos compostos **3a–3r** e os derivados do *orto* eugenol contendo grupos 1,2,3-triazólicos na concentração de $10\ \mu\text{mol L}^{-1}$ mostrou que os derivados do eugenol não possuem citotoxicidade relevante em macrófagos RAW 264.7 e são menos citotóxicos do que o fármaco comercial anfotericina B. Subsequentemente, os derivados, também na concentração de $10\ \mu\text{mol L}^{-1}$, tiveram seus efeitos avaliados frente a amastigotas do parasito *Leishmania braziliensis*, causador da leishmaniose tegumentar. Os compostos (\pm)-4-(3-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3e**), (\pm)-4-((1-(2-hidroxi-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)propil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-3-metoxibenzaldeído (**3h**), 4-((2-alil-6-metoxi)fenoximetil)-1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol e 4-((2-alil-6-metoxi)fenoximetil)-1-(4-trifluorometoxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol foram os mais eficazes em reduzir a viabilidade celular em aproximadamente 40%. Os valores de CC_{50} (concentração citotóxica 50% frente a macrófagos), IC_{50} (Concentração Inibitória 50% frente a amastigotas) e IS (índice de seletividade) foram determinados para **3e** ($\text{CC}_{50} > 200\ \mu\text{mol L}^{-1}$, $\text{IC}_{50} = 17,48\ \mu\text{mol L}^{-1}$ e $\text{IS} = 11,4$), **3h** ($\text{CC}_{50} > 200\ \mu\text{mol L}^{-1}$, $\text{IC}_{50} = 37,87\ \mu\text{mol L}^{-1}$, e $\text{IS} = 5,3$), 4-((2-alil-6-metoxi)fenoximetil)-1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol ($\text{CC}_{50} = 274,5\ \mu\text{mol L}^{-1}$, $\text{IC}_{50} = 28,09\ \mu\text{mol L}^{-1}$ e $\text{IS} = 9,7$) e 4-((2-alil-6-metoxi)fenoximetil)-1-(4-trifluorometoxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol ($\text{CC}_{50} > 300\ \mu\text{mol L}^{-1}$, $\text{IC}_{50} = 52,03\ \mu\text{mol L}^{-1}$ e $\text{IS} > 5,7$). Os compostos estudados no presente trabalho, explorando o *scaffold* eugenol/1,2,3-triazol, têm potencial como

novos agentes leishmanicidas contra *L. braziliensis* e podem representar um ponto de partida para o desenvolvimento de tratamentos alternativos para leishmaniose tegumentar.

Palavras-chave: Eugenol; Reação Click; Antileishmanial; Leishmaniose tegumentar.

ABSTRACT

EVANGELISTA, Roberta da Silva, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2023.

Search for new compounds for the treatment of leishmaniasis exploring the eugenol/1,2,3-triazole *scaffold*. Adviser: Róbson Ricardo Teixeira.

Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) is a yellowish liquid found in several plant species, known to have several bioactivities, including antileishmanial activity. The present work describes the synthesis and evaluation of the antileishmanial activity of two groups of eugenol derivatives containing 1,2,3-triazole fragments in their structures. The first group of compounds consisted of dihydroxylated derivatives that were obtained through a synthetic route that involved: i) epoxidation of eugenol with meta-chloroperbenzoic acid (m-CPBA), resulting in (\pm) 2-methoxy-4-(oxiran-2-ylmethyl)phenol (1) with 99% conversion; ii) epoxide ring opening reaction of (1) with sodium azide, generating (\pm) 4-(3-azido-2-hydroxypropyl)-2-methoxyphenol (2) in 94% yield; iii) CuAAC reaction [1,3-dipolar cycloaddition reaction (C) between a terminal alkyne (A) and an organic azide (A) catalyzed by copper (Cu(I))] between substance 2 and different terminal alkynes, resulting in eighteen dihydroxylated derivatives (3a–3r) with yields ranging from 30% to 89%. The second group of compounds consisted of ortho eugenol derivatives containing 1,2,3-triazole groups. Obtaining twenty-two ortho eugenol derivatives was possible through the following steps: iv) alkylation of guaiacol with allyl bromide resulting in obtaining 1-(allyloxy)-2-methoxybenzene (93% yield); v) Claisen rearrangement conducted with 1-(allyloxy)-2-methoxybenzene resulting in ortho eugenol (82% yield); vi) alkylation procedures carried out with ortho eugenol produced 1-allyl-3-methoxy-2-(prop-2-yn-1-yloxy)benzene (73% yield) and 1-allyl-3-methoxy-2-(pent-4-yn-1-yloxy)benzene (53% yield); vii) CuAAC reactions involving the alkynes obtained in vi with different benzylic azides resulted in twenty-two ortho

eugenol derivatives with 1,2,3-triazole functionalities (yield from 48% to 93%). The compounds were purified by silica gel column chromatography and characterized by infrared (IR) and ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, as well as high-resolution mass spectrometry. The initial evaluation of the cytotoxicity of compounds 3a–3r and ortho eugenol derivatives containing 1,2,3-triazole groups at a concentration of 10 μmol L⁻¹ showed that eugenol derivatives do not have relevant cytotoxicity in RAW 264.7 macrophages and are less cytotoxic than the commercial drug amphotericin B. Subsequently, the derivatives, also at a concentration of 10 μmol L⁻¹, had their effects evaluated against amastigotes of the *Leishmania braziliensis* parasite, which causes cutaneous leishmaniasis. The compounds (±)-4-(3-(4-butyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2-hydroxypropyl)-2-methoxyphenol (3e), (±)-4-(1-(2-hydroxy-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)-3-methoxybenzaldehyde (3h), 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-chlorobenzyl)-1H-1,2,3-triazole and 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-trifluoromethoxybenzyl)-1H-1,2,3-triazole were the most effective in reducing cell viability by approximately 40%. The values of CC₅₀ (cytotoxic concentration 50% against macrophages), IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50% against amastigotes) and IS (selectivity index) were determined for 3e (CC₅₀ > 200 μmol L⁻¹, IC₅₀ = 17.48 μmol L⁻¹ and IS = 11.4), 3h (CC₅₀ > 200 μmol L⁻¹, IC₅₀ = 37.87 μmol L⁻¹, and IS = 5.3), 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-chlorobenzyl)-1H-1,2,3-triazole (CC₅₀ = 274.5 μmol L⁻¹, IC₅₀ = 28.09 μmol L⁻¹ and IS = 9.7) and 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-trifluoromethoxybenzyl)-1H-1,2,3-triazole (CC₅₀ > 300 μmol L⁻¹, IC₅₀ = 52.03 μmol L⁻¹ and IS > 5.7). The compounds studied in the present work, exploiting the eugenol/1,2,3-triazole scaffold, have potential as new

leishmanicidal agents against *L. braziliensis* and may represent a starting point for the development of alternative treatments for cutaneous leishmaniasis.

Keywords: Eugenol; Click Reaction; Antileishmanial; Tegumentary Leishmaniasis.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATR	Reflectância Total Atenuada
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CCD	Cromatografia em camada delgada
d	Dupleto
dd	Duplodupleto
ddt_{AP}	Duploduplo tripleto aparente
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento escalar
MHz	Megahertz
m	Multiplete
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
quin	Quinteto
R_f	Fator de retenção
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1
s	Simpleto
sext	Sexteto
sl	Simpleto alargado
t	Triplete
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1. Doenças Negligenciadas e Leishmanioses.....	19
3.2. Eugenol, derivados e atividade antileishmanial	25
3.3. A reação CuAAC	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1. Generalidades Metodológicas	34
4.2. PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS	36
4.2.1. Síntese do (±) 2-metoxi-4-(oxiran-2-ilmetil)fenol (1).....	36
4.2.2. Síntese do (±) 4-(3-azido-2-hidroxi-propil)-2-metoxifenol (2)	37
4.2.3. Síntese dos compostos triazólicos 3a–3r	38
4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTILEISHMANIAL	60
4.3.1. Avaliação do efeito dos compostos 3a–3r frente aos macrófagos RAW 264.7	61
4.3.2. Ensaio de infecção de macrófagos por <i>Leishmania braziliensis</i> M2904-GFP ..	62
4.3.3. Determinação da concentração citotóxica (CC ₅₀) em macrófagos e da concentração efetiva (IC ₅₀) no ensaio de infecção de macrófagos por <i>Leishmania braziliensis</i>	64
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
6. SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTILEISHMANIAL DE COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS DERIVADOS DO ORTO-EUGENOL	93
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109
ANEXO A – ESPECTROS	120
ANEXO B – CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO	160

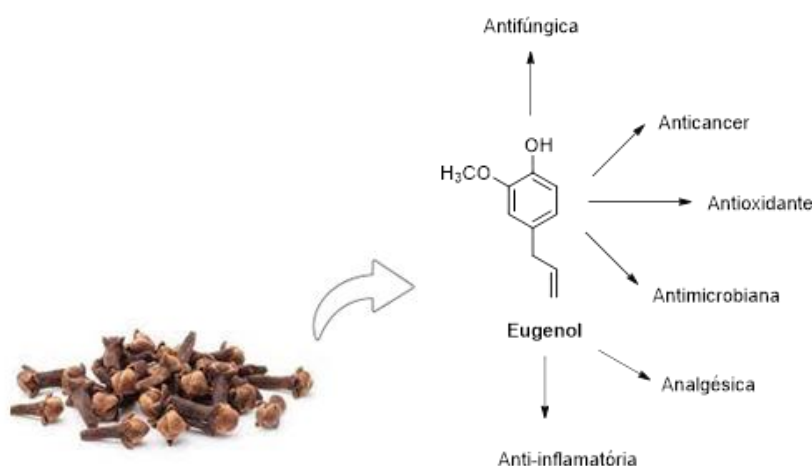
1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças parasitárias negligenciadas cujos agentes etiológicos são pelo menos vinte espécies de parasitos pertencentes ao gênero *Leishmania*. Os parasitos são transmitidos aos mamíferos hospedeiros por meio das picadas de insetos fêmeas, denominados de flebotomíneos (BURZA *et al.*, 2018). Ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais, com ocorrência entre 700.000 e 1 milhão de novos casos das doenças por ano. As principais manifestações clínicas das leishmanioses são tegumentar e visceral (World Health Organization, 2024). Até a presente data, não há vacinas disponíveis para as leishmanioses humanas e o tratamento é realizado pela utilização de fármacos que apresentam importantes problemas relacionados aos seus usos, a saber: desenvolvimento de resistência dos parasitos, elevada toxicidade, severos efeitos colaterais e custo elevado de algumas formulações desses fármacos (BASTOS *et al.*, 2016; DE MENEZES *et al.*, 2015). Diante dos problemas relacionados aos medicamentos atualmente empregados no tratamento das leishmanioses, torna-se imperativo desenvolver alternativas terapêuticas mais eficientes (Ebiomedice, 2023).

Na busca por tratamentos alternativos para as leishmanioses, a utilização de metabólicos secundários (produtos naturais) é uma importante estratégia que vem sendo utilizada. Uma miríade de compostos (aromáticos, fenólicos, acíclicos, cíclicos, cumarinas, fenilpropanóides, flavonóides, alcalóides, dentre outros) isolados a partir de plantas, algas e microorganismos têm sido identificados como promissores agentes antileishmaniais (ROCHA *et al.*, 2005; DE OLIVEIRA *et al.* 2017; GERVAZONI *et al.*, 2020; RAJ *et al.*, 2020; KOKO *et al.*, 2022). Dentre estes compostos, merece destaque o eugenol.

O eugenol, também conhecido como 4-alil-2-metoxifenol de acordo com União Internacional de Química Pura e Aplicada, com fórmula molecular é $C_{10}H_{12}O_2$, é um composto natural pertencente à classe dos fenilpropanóides (Figura 1). Este composto fenólico é encontrado em diferentes espécies vegetais. No entanto, a principal fonte desta substância é a espécie vegetal *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum*), conhecida como árvore do cravo. O óleo essencial obtido dos botões florais secos desta espécie vegetal contém de 45–90% de eugenol (KAMATOU *et al.*, 2012; GAZOLLA, 2020).

Figura 1 – Botões florais secos da árvore do cravo e estrutura do eugenol.

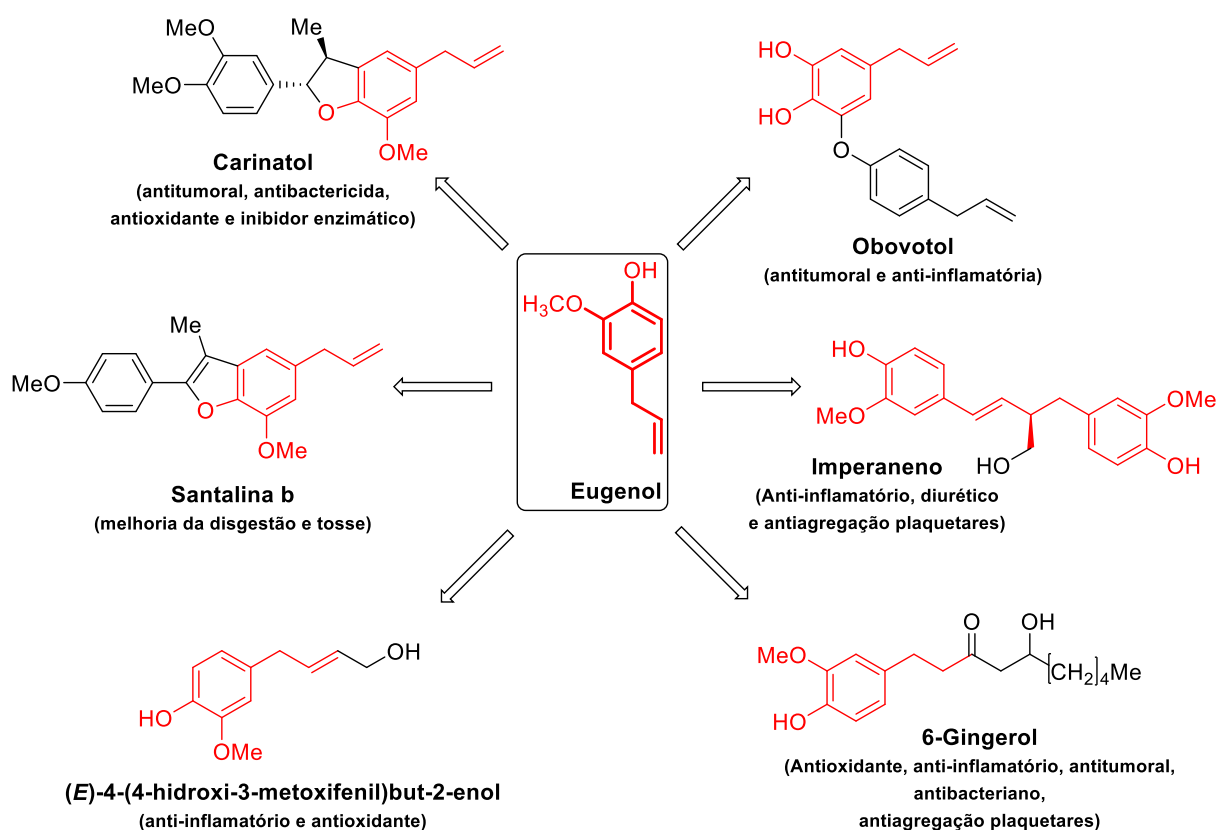


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Identificado originalmente em 1929 como constituinte da espécie *E. caryophyllata* (ZARI *et al.*, 2021), o eugenol é um líquido amarelado, possui baixa solubilidade em água ($2,46g L^{-1}$ a $25\text{ }^{\circ}C$) (LIMA *et al.*, 2019) e apresenta caráter ácido ($pK_a = 10,19$ a $25\text{ }^{\circ}C$) (NCBI, 2024), devido à presença da hidroxila fenólica em sua estrutura. Além disso, o eugenol possui diversas atividades biológicas, algumas destacadas na Figura 1. Do ponto de vista sintético, o eugenol tem sido utilizado como material de partida para a preparação de um número variado de compostos (KAUFMAN, 2015). Na Figura 2 (página 16) estão mostrados alguns produtos

naturais, juntamente com suas bioatividades que foram preparadas empregando o eugenol como material de partida.

Figura 2 – Estruturas de substâncias naturais sintetizadas empregando o eugenol como material de partida.



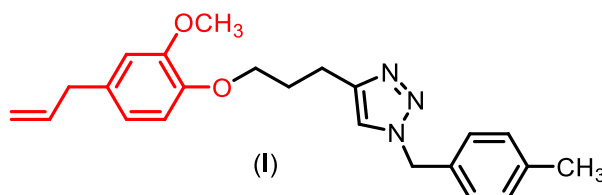
Fonte: Elaborada pela própria autora. A porção derivada do eugenol é destacada em vermelho nas estruturas dos produtos sintetizados.

O eugenol possui várias bioatividades relacionadas, algumas delas mostradas na Figura 1 (página 15) (KAMATOU *et al.*, 2012; GAZOLLA, 2020, ULANOWSKA e OLAS, 2021), dentre elas antileishmanial (UEDA-NAKAMURA *et al.*, 2006; ISLAMUDDIN *et al.*, 2014; HUGES *et al.*, 2023; LE *et al.*, 2023). A incorporação de fragmentos 1,2,3-triazólicos em substância tem sido utilizada em diversos estudos como objetivo à obtenção de derivados com importantes bioatividades, dentre elas o efeito antileishmanial, uma vez que atuam como grupo farmacofórico e oferece maior

estabilidade para os derivados (HEIN e FOKIN, 2010; BORGATI *et al.*, 2013; DHEER *et al.*, 2017; RAZZAGHI-ASL *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2013; AGALAVE *et al.*, 2011; ASTRUC *et al.*, 2012).

Considerando estes fatos, pesquisas no Grupo de Síntese e Compostos Bioativos (GSPCB) do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa começaram a ser desenvolvidas voltadas para a síntese de compostos formados pela combinação dos fragmentos eugenol e 1,2,3-triazol e avaliação da atividade leishmanicida destes compostos. Estas investigações resultaram na descoberta da substância **I** mostrada na Figura 3 que apresentou significativo efeito antileishmanial tanto *in vitro* quanto *in vivo* (TEIXEIRA *et al.*, 2018; TEIXEIRA *et al.*, 2022).

Figura 3 – Estrutura do derivado do eugenol 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol e que possui significativa atividade antileishmanial.



4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Considerando as premissas e dando continuidade às pesquisas que vêm sendo desenvolvidas no GSPCB visando a descoberta de novas alternativas terapêuticas para o tratamento das leishmanioses, o presente estudo objetivou a síntese de compostos inspirados no *scaffold* eugenol/1,2,3-triazol e avaliação de suas atividades antileishmaniais.

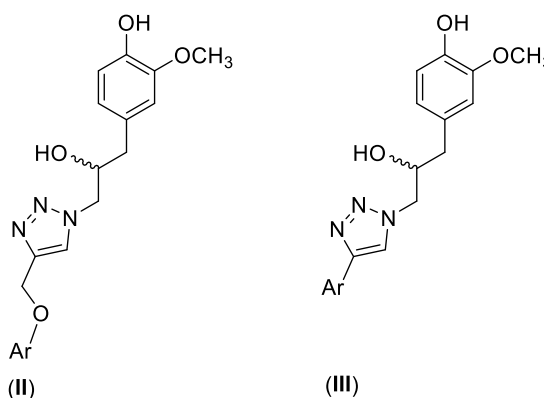
2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Sintetizar derivados 1,2,3-triazólicos do eugenol e avaliar suas atividades antileishmaniais.

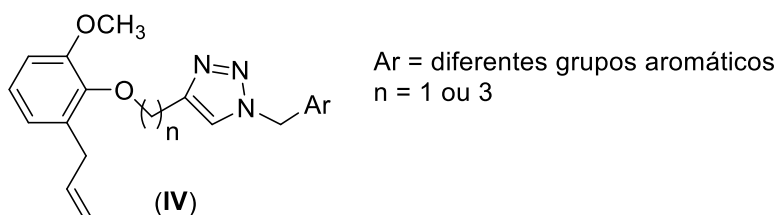
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar uma série de compostos derivados do eugenol apresentando as estruturas gerais **II** e **III** mostradas a seguir e avaliar suas atividades antileishmaniais. No presente estudo, estes compostos são denominados de derivados dihidroxilados do eugenol contendo grupos 1,2,3-triazólicos.



Ar = diferentes grupos aromáticos

- Sintetizar uma série de compostos derivados do eugenol apresentando a estrutura geral **IV** mostrada a seguir e avaliar suas atividades antileishmaniais. Na presente investigação, estes compostos são denominados de *orto* eugenol 1,2,3-triazólicos.



3. REVISÃO DA LITERATURA

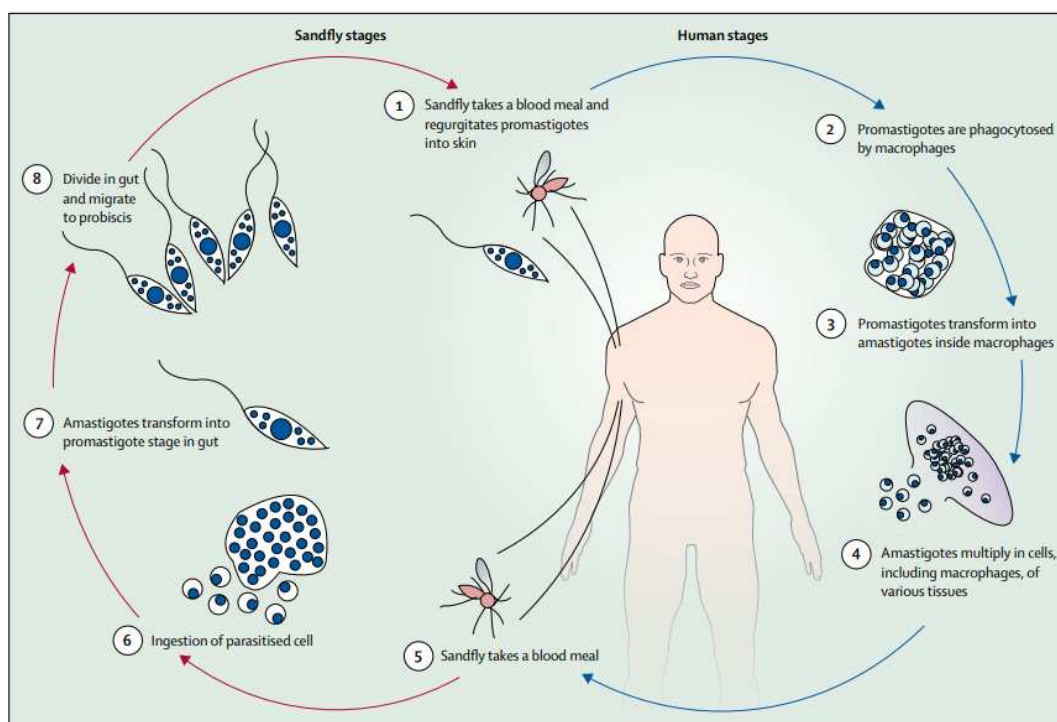
3.1. Doenças Negligenciadas e Leishmanioses

As doenças negligenciadas (DNs) são aquelas causadas por agentes infecciosos que são endêmicas, predominantemente, em populações de regiões de baixa e média renda, sendo algumas das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Essas enfermidades também apresentam indicadores ruins e investimentos reduzidos em pesquisas, produção de medicamentos e em seu controle (FEASAY *et al.*, 2010; LINDOSO e LINDOSO, 2009). Elas são causadas por parasitos, bactérias, vírus, fungos e toxinas e incluem: úlcera de Buruli; doença de Chagas; dengue e Chikungunya; dracunculíase (doença do verme da Guiné); equinococose; trematodiasas transmitidas por alimentos; tripanossomíase africana (doença do sono); leishmanioses; hanseníase (lepra); filariose linfática (elefantíase); micetoma, cromoblastomicose e outras micoses profundas; malária; oncocercose (a cegueira dos rios); raiva; escabiose (sarna) e outras ectoparasitoses; esquistossomose (bilharziose); envenenamento por picada de cobra; helmintíases transmitidas pelo solo; teníase e cisticercose; tracoma; boubá (BVS, 2024). Essas doenças tendem a receber pouca atenção da indústria farmacêutica e de órgãos governamentais devido ao baixo retorno financeiro dos investimentos em pesquisa e desenvolvimento. Como resultado, a falta de investimento compromete a disponibilidade de tratamentos eficazes, vacinas e medidas preventivas, prolongando o ciclo de pobreza e doença nessas populações vulneráveis. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que DNs afetam mais de 1 bilhão de pessoas, enquanto o número de pessoas que necessitam de intervenções para DNs (tanto preventivas quanto curativas) é de 1,6 bilhão (WHO, 2024).

O conjunto de DNs conhecidas como leishmanioses são causadas por pelo menos vinte espécies de parasitos pertencentes ao gênero *Leishmania* e são a segunda maior causa de morte por parasitas no mundo, depois da malária (Ebiomedice, 2023).

Conforme mostrado na Figura 4, a transmissão do parasito para o homem (e outros mamíferos como os cães) ocorre por meio da picada de insetos fêmeas flebotomíneos.

Figura 4 – Ciclo de transmissão das leishmanioses.



Fonte: Burza *et al.* (2018).

O inseto flebotomíneo, que carrega a forma promastigota do protozoário, o deposita na pele do mamífero hospedeiro durante o repasto sanguíneo. A forma promastigota do protozoário é então fagocitada pelos macrófagos do hospedeiro, onde se transforma na forma amastigota, multiplicando-se até que o macrófago se rompa. Quando a fêmea do vetor pica um hospedeiro infectado, ela ingere macrófagos

contaminados com a forma amastigota. Estes se rompem no organismo do inseto, transformando-se na forma promastigota no intestino do vetor.

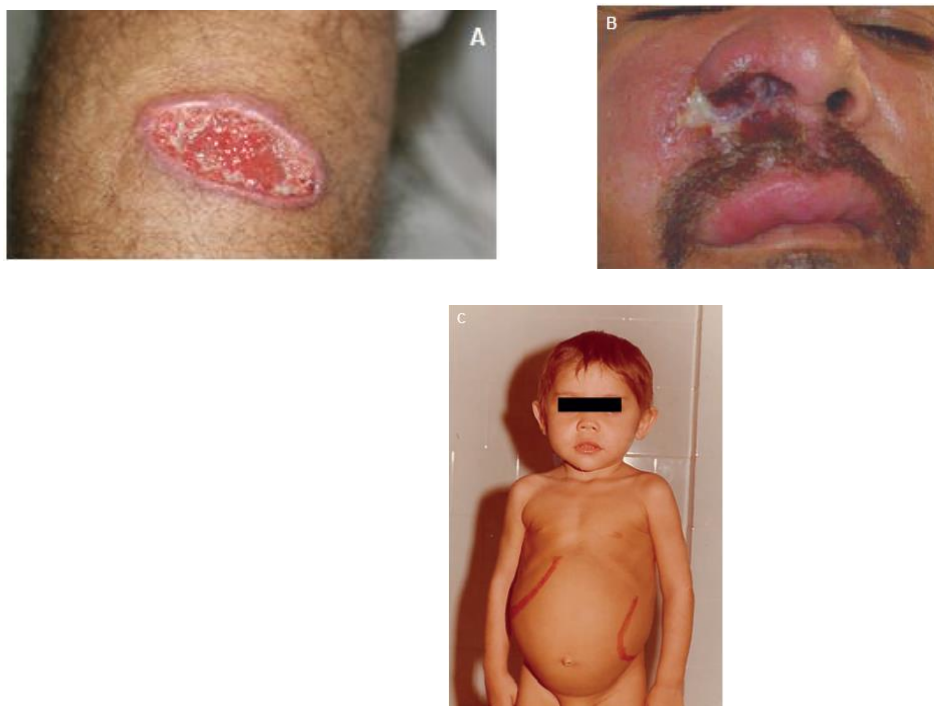
As leishmanioses são mais comuns em quatro áreas: América Latina, Sudeste Asiático, África Oriental e Norte da África. Essas doenças são reconhecidas como sensíveis ao clima e suscetíveis a modificações na distribuição geográfica devido aos impactos das mudanças climáticas na propagação do inseto vetor e no ciclo de vida dos parasitos (Ebiomedice, 2023). Em uma avaliação publicada em setembro de 2022 (BEASLEY *et al.*, 2022), foram registrados casos endêmicos de leishmaniose transmitida por vetores em quatro estados dos Estados Unidos da América. As ramificações secundárias das mudanças climáticas, como o deslocamento populacional e a carência nutricional, tenderão a aumentar ainda mais a vulnerabilidade às leishmanioses. A possibilidade de aumento na ocorrência das leishmanioses significa que opções de tratamento e controle adequadas são indispensáveis (Ebiomedice, 2023).

As manifestações clínicas das leishmanioses são as formas tegumentar e visceral (Ministério da Saúde do Brasil, 2024). A leishmaniose tegumentar é caracterizada pelo aparecimento de lesões cutâneas que podem ser únicas, múltiplas, disseminadas ou difusas, apresentando-se como úlceras com bordas elevadas e fundo granuloso, geralmente sem dor (Figura 5A, página 22). Já as lesões nas mucosas são mais comuns no nariz, boca e garganta (Figura 5B, página 22). Quando afetam o nariz, podem provocar entupimento, sangramento, coriza, surgimento de crostas e feridas. Na garganta, os sintomas incluem dor ao engolir, rouquidão e tosse. O período de incubação da doença, que é o tempo entre a infecção e o início dos sintomas, varia em média de 2 a 3 meses, podendo ser mais curto (2 semanas) ou mais longo (2 anos). No Brasil, uma das formas mais frequentes de leishmanioses é

a tegumentar. Ela é também conhecida pelos nomes de úlcera de Bauru, nariz de tapir, botão do oriente e ferida brava.

Embora menos comum que a leishmaniose tegumentar, a leishmaniose visceral (Figura 5C) é significativamente mais grave, podendo levar à morte se o paciente não for tratado prontamente e de forma adequada. Os principais sinais e sintomas da leishmaniose visceral incluem febre prolongada e irregular (por mais de 7 dias), perda de apetite, perda de peso, fraqueza e aumento do volume abdominal (aumento do fígado e baço). Esses sintomas geralmente aparecem, em média, entre 2 e 6 meses após a picada do inseto flebotomíneo infectado (Ministério da Saúde do Brasil, 2024).

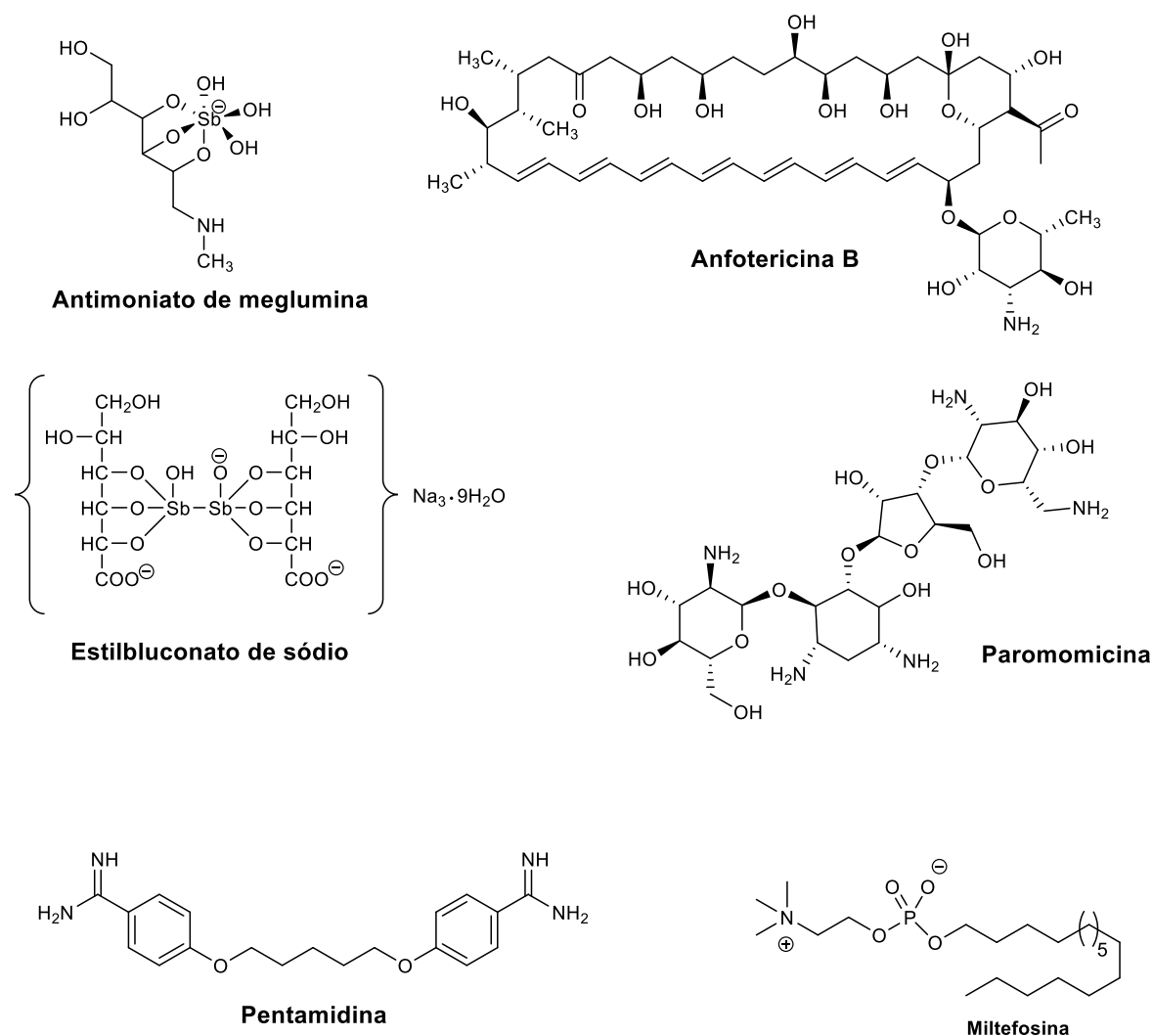
Figura 5 – Manifestações clínicas das leishmanioses.



Fontes: Morgado *et al.*, 2018 (5A); Gomes *et al.*, 2004 (5B); Silveira *et al.*, 2016 (5C).

Atualmente não há vacinas disponíveis para humanos para a prevenção das leishmanioses. O tratamento é feito pela administração dos fármacos mostrados na Figura 6 (página 23).

Figura 6 – Fármacos utilizados no tratamento das leishmanioses.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os antimoniais pentavalentes estibogluconato de sódio (Pentostan[®]) - produzido pela GSK e o antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) – fabricado pela Sanofi-Aventis S.A. - são os fármacos de primeira escolha no tratamento das leishmanioses e são utilizados desde 1945. Entretanto, seu uso no ambiente clínico apresenta várias limitações. Esses compostos precisam ser administrados por via parenteral, diariamente, por pelo menos três semanas (tipicamente, 20 mg de Sb/kg/dia por 20 a 30 dias). A terapia com antimônio muitas vezes é acompanhada por dor local durante as injeções intramusculares e por efeitos colaterais sistêmicos, exigindo uma supervisão

médica muito cuidadosa. Os efeitos colaterais típicos incluem náuseas, vômitos, fraqueza e mialgia, cólica abdominal, diarreia, erupções cutâneas, hepatotoxicidade e cardiotoxicidade. O surgimento de resistência dos parasitos aos antimonais pentavalentes é outro problema importante no tratamento das leishmanioses com estes compostos (FRÉZARD *et al.*, 2009).

A anfotericina B, um produto natural pertencente à classe dos polienos, foi originalmente isolada de culturas de *Streptomyces nodosus* e possui atividade antifúngica (BASTOS *et al.*, 2016). Ela age tanto nas formas promastigotas quanto amastigotas e tem como alvo o ergosterol na membrana superficial do parasita, levando a um aumento da permeabilidade e ao influxo de íons (LINDOSO *et al.*, 2012). Este composto tem sido utilizado em situações em que há elevados níveis de resistência aos antimonais pentavalentes. Devido à sua elevada massa molecular e à presença de muitos grupos doadores e aceptores de ligações de hidrogênio, a anfotericina B tem baixa biodisponibilidade oral em humanos, sendo administrada por via intravenosa. Esse método de administração limita seu uso, uma vez que requer hospitalização do paciente. A nefrotoxicidade é o principal efeito adverso deste fármaco. Para superar esse problema, foram desenvolvidas formulações lipossomais da anfotericina B. Entretanto, o custo elevado dessas formulações também representa uma barreira para sua utilização em países com recursos limitados (BASTOS *et al.*, 2016).

A pentamidina é uma dibenzamidina que interfere na síntese do DNA dos parasitos de *Leishmania*, agindo no cinetoplasto e na membrana mitocondrial, resultando na morte dos parasitos (LINDOSO *et al.*, 2012). Este medicamento pode ser administrado por via parenteral, intramuscular ou intravenosa. O protocolo terapêutico consiste em 4 mg/kg três vezes por semana, por 3–4 semanas (10–12 injeções). Os efeitos adversos mais comuns incluem mialgia, náusea e cefaleia, e, com menor

frequência, podem ocorrer sabor metálico, sensação de queimação, dormência e hipotensão (BASTOS *et al.*, 2016).

Inicialmente desenvolvida para o tratamento do câncer, a miltefosina inibe a biossíntese de fosfolípidios e esteróis, tanto *in vitro* quanto *in vivo* contra as espécies de *Leishmania*. A limitação para o seu uso é a sua toxicidade para os sistemas gastrointestinal, hepático e renal. Também é teratogênica, o que restringe seu uso em mulheres grávidas (LINDOSO *et al.*, 2012).

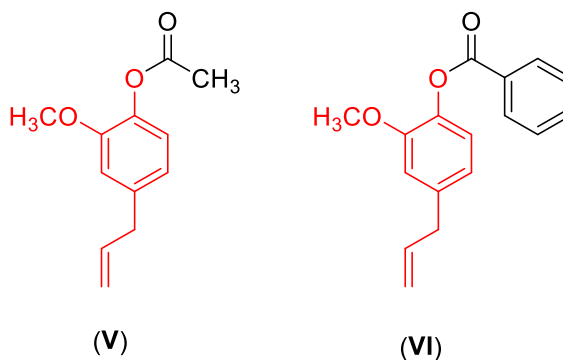
A paromomicina é um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro que foi encontrado por ter atividade antileishmanial na década de 1960. Os principais efeitos colaterais são ototoxicidade e dor local após a injeção. Supostamente, o medicamento afeta a fluidez da membrana plasmática, interfere com os ribossomos e o potencial da membrana mitocondrial, inibindo a respiração (LINDOSO *et al.*, 2012).

Enfatizando, os problemas relacionados aos fármacos utilizados para o tratamento das leishmanioses demonstram a necessidade de pesquisa por novas alternativas terapêuticas.

3.2. Eugenol, derivados e atividade antileishmanial

O eugenol é caracterizado, do ponto de vista estrutural, pela presença dos grupos hidroxila (-OH), metoxila (-OCH₃) e alila (-CH₂-CH=CH₂) conectados a um anel aromático. A grande maioria dos estudos envolvendo preparação de derivados do eugenol e avaliação de atividade antileishmanial envolve modificações realizadas no grupo hidroxila. Por exemplo, DE MORAIS e colaboradores (2014) prepararam os derivados **V** e **VI** mostrados na Figura 7 (página 26) por meio de reações de acilação do eugenol com cloreto de etanoíla e cloreto de benzoíla.

Figura 7 – Derivados acilados do eugenol preparados por DE MORAIS e colaboradores (2014).



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Estes compostos, juntamente com o eugenol, tiveram suas atividades antileishmaniais avaliadas *in vitro* contra *Leishmania infantum chagasi* e os resultados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados dos ensaios de avaliação da atividade antileishmanial e citotoxicidade dos compostos acilados **V** e **VI** derivados do eugenol. O eugenol, a anfotericina B e a pentamidina foram utilizados como controles positivos.

Composto	Promastigota IC₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Amastigota IC₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Citotoxicidade* (%)
V	23,21 \pm 3,46	18,53 \pm 4,79	> 100
VI	10,58 \pm 0,18	14,93 \pm 4,50	97,7 \pm 5,6
Eugenol	56,13 \pm 2,09	20,81 \pm 1,59	29 \pm 1,3
Anfotericina B	Nd	20,44 \pm 0,98	98,5 \pm 7,5
Pentamidina	5,30 \pm 0,81	Nd	85,6 \pm 6,9

IC₅₀ = Concentração inibitória 50%.

Nd = Não determinado.

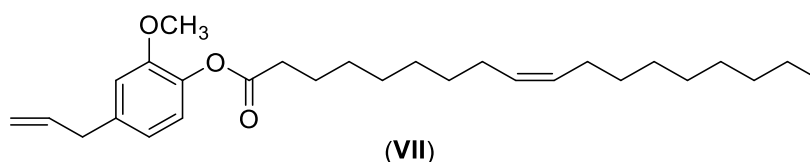
*Os valores de citotoxicidade correspondem ao percentual de sobrevivência celular na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As atividades foram determinadas contra a linhagem celular RAW 264.7.

Os dados apresentados na Tabela 1 revelam que os compostos foram mais ativos que o eugenol contra as formas promastigota e amastigota de *L. infantum*, demonstrando que a conversão do eugenol nos derivados acilados gerou compostos com atividade antileishmanial potencializada. Outro aspecto importante é que, ao

contrário do eugenol, os derivados **V** e **VI** não apresentaram citotoxicidade frente à linhagem celular RAW 264.7. Além disso, os derivados apresentaram atividade anti-leishmanial contra as formas amastigota comparável ao fármaco anfotericina B.

Utilizando reações de esterificação entre o eugenol e diferentes ácidos carboxílicos de cadeias alifáticas e aromáticas, Raja e colaboradores (2017) sintetizaram uma série de trinta e seis derivados do eugenol que tiveram suas atividades avaliadas contra as formas promastigota e amastigota de *Leishmania donovani* que também causa leishmaniose visceral. Entre os derivados sintetizados, o composto **VII** (Figura 8) mostrou a melhor atividade antileishmanial contra a forma promastigota extracelular ($IC_{50} = 20,13 \pm 0,91 \mu\text{mol L}^{-1}$) e amastigota intracelular ($IC_{50} = 4,25 \pm 0,26 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Figura 8 – Estrutura do composto **VII**. Este composto foi produzido por meio da reação de esterificação entre o eugenol e o ácido *cis*-oleico.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Quando avaliado frente a macrófagos peritoniais, este composto apresentou valor de concentração citotóxica 50% (CC_{50}) igual a $346,20 \pm 6,02 \mu\text{mol L}^{-1}$. Assim, o índice de seletividade (IS), que é determinado pela razão entre CC_{50} e IC_{50} (contra a forma amastigota intracelular), correspondeu a $82,24 \pm 3,77$. Este índice de seletividade foi superior em 10 e 13 vezes, respectivamente, em comparação com anfotericina B e miltefosina, utilizados como controles positivos nos ensaios *in vitro* de avaliação antileishmanial (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados dos ensaios *in vitro* de avaliação da atividade antileishmanial contra *L. donovani* **VII**. Miltefosina e anfotericina B foram utilizados como controles positivos. A citotoxicidade foi avaliada empregando macrófagos peritoniais.

Composto	Promastigota IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Amastigota IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Citotoxicidade CC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Índice de seletividade (IS)
VII	20,13 ± 0,91	4,25 ± 0,26	346,20 ± 6,02	82,24 ± 3,77
Miltefosina	10,38 ± 0,32	6,40 ± 0,42	40,66 ± 2,18	6,34 ± 0,45
Anfotericina B	1,36 ± 0,16	1,18 ± 0,13	9,18 ± 0,85	7,78 ± 0,59

O tratamento com composto **VII** (5 mg mL⁻¹) aumentou a geração de óxido nítrico (NO), a expressão de mRNA de iNOS2 (~8 vezes) e diminuiu a atividade de arginase-1 (~4 vezes) em macrófagos peritoneais infectados por *L. donovani*. O derivado do eugenol **VII** também aumentou a expressão de mRNA de interleucina (IL-12) (~6 vezes) e diminuiu a expressão e liberação de interleucina-10 (IL-10) (~3 vezes) *in vitro*. Os resultados de estudos *in vivo* conduzidos com **VII** revelaram que o tratamento com o composto na dosagem de 35 a 25 mg kg⁻¹ de peso corporal eliminou eficientemente a carga parasitária hepática e esplênica com uma resposta Th1 aumentada em camundongos BALB/c infectados por *L. donovani*. Assim, esta investigação mostrou que o composto **VII** apresenta atividade imunomoduladora, capaz de induzir uma resposta imune protetora do hospedeiro contra a leishmaniose visceral por meio do aumento da geração de NO e da resposta Th1, que são essenciais contra essa doença que pode ser fatal.

Conforme descrito anteriormente, o derivado 1,2,3-triazólico do eugenol **I**, mencionado na página 17, demonstrou atividade antileishmanial significativa (TEIXEIRA *et al.*, 2018). Esse derivado foi avaliado quanto ao seu efeito

antileishmanial *in vitro* contra a espécie *Leishmania amazonensis*, responsável pela leishmaniose tegumentar. Em relação à forma promastigota, o valor de IC₅₀ foi de 7,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Notavelmente, este composto mostrou baixa citotoxicidade em relação aos macrófagos (CC₅₀ = 211,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e exibiu atividade significativa contra as formas amastigota intracelular (IC₅₀ = 1,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$). O índice de seletividade foi calculado como 132,5 para a forma amastigota. Adicionalmente, o composto **I** demonstrou maior eficácia quando comparado com a pentamidina e o glucantime, fármacos habitualmente utilizados no tratamento da leishmaniose (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados dos ensaios *in vitro* de avaliação da atividade antileishmanial contra *L. amazonensis* do composto **I**. Glucantime e pentamidina foram utilizados como controles positivos. A citotoxicidade foi avaliada empregando macrófagos peritoniais.

Composto	Promastigota IC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Amastigota IC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Citotoxicidade CC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Índice de seletividade (IS)
I	7,4 ± 0,8	1,6 ± 0,2	211,9 ± 2,3	132,5
Glucantime	Nd	45,5 ± 1,6	75,5 ± 2,6	1,6
Pentamidina	4,2 ± 0,4	1,8 ± 0,2	8,5 ± 0,6	4,7

Quando avaliado *in vivo* e administrado por via oral, o derivado **I** se comportou de forma semelhante ao glucantime na redução da lesão dos camundongos infectados por parasitos que causam a leishmaniose tegumentar, com efeito tóxico inferior ao do medicamento utilizado para o tratamento da doença (TEIXEIRA *et al.*, 2022).

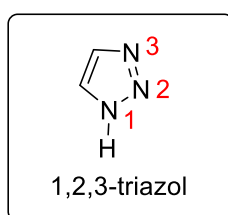
A obtenção de compostos com potencial atividade antileishmanial envolvendo modificações na porção alílica do eugenol e apresentando grupos triazólicos em sua composição ainda não foi descrita na literatura. Além disso, não há relatos reportando

a utilização de isômeros constitucionais do eugenol, como o *orto* eugenol, para a obtenção de derivados 1,2,3-triazólicos. Assim, neste trabalho os compostos de estrutura geral **II** e **III** mostrados na página 18 foram preparados modificando-se a porção alílica do eugenol para a incorporação de fragmentos 1,2,3-triazólicos. Já os derivados de estrutura geral **IV** mostrados na página 18 correspondem a compostos 1,2,3-triazólicos preparados a partir do *orto*-eugenol. A reação de cicloadição (C) 1,3-dipolar entre um alcino terminal (A) e uma azida orgânica (A) catalisada por Cu(I) (reação CuAAC) correspondeu ao processo chave envolvido nas sínteses dos compostos **II**, **III** e **IV** derivados do eugenol.

3.3. A reação CuAAC

Os 1,2,3-triazóis (Figura 9) são compostos de natureza heterocíclica apresentando em suas estruturas um anel de cinco membros, com três átomos de nitrogênio, de origem exclusivamente sintética (MELO *et al.*, 2006; CANDUZINI, 2012; PRAVEENA *et al.*, 2015).

Figura 9 – Estrutura do anel 1,2,3-triazólico.



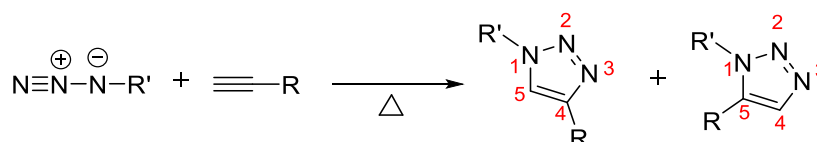
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os compostos heterocíclicos contendo núcleos 1,2,3-triazólicos têm sido objetos de numerosos estudos devido às suas diversas aplicações na indústria farmacêutica e agroquímica, em virtude de suas bioatividades (HEIN e FOKIN, 2010; BORGATI *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2014; MAO *et al.*, 2015). Os 1,2,3-triazólicos podem ser empregados para realizar a conexão entre duas ou mais substâncias de

interesse, bem como grupos farmacofóricos. Além disso, funcionam como bioisósteros do grupo amida, uma vez que exibem propriedades físico-químicas semelhantes e são mais estáveis, não sendo facilmente hidrolisados, oxidados ou reduzidos (LI *et al.*, 2013; AGALAVE *et al.*, 2011; ASTRUC *et al.*, 2012).

Uma metodologia clássica para a obtenção de compostos 1,2,3-triazólicos foi descrita por Michael em 1893 e desenvolvida por Huisgen em 1967, envolvendo uma reação concertada de cicloadição térmica 1,3-dipolar entre azidas orgânicas e alcinos terminais ou internos (Esquema 1). No entanto, devido à necessidade de elevadas temperaturas, tempos de reação prolongados, baixos rendimentos e formação de uma mistura de regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos, esse tipo de reação tornou-se pouco atrativo para a síntese orgânica (KOLB *et al.*, 2001; FREITAS *et al.*, 2011; BORGATI, 2012).

Esquema 1 - Regioisômeros obtidos via cicloadição térmica clássica de Huisgen.

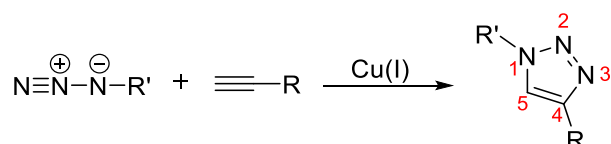


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para contornar esse problema, Meldal (MELDAL e TORNØE, 2008) e Sharpless (ROSTOVTSEV *et al.*, 2002) demonstraram em seus estudos que a utilização de Cu(I) acelerava significativamente a reação (a velocidade da reação aumentava em até 7 vezes), tornando-a mais rápida em relação à proposta de Huisgen. Além disso, o emprego de Cu(I) resultava na formação exclusiva do regioisômero 1,4-dissubstituído em condições brandas de reação (TORNØE *et al.*, 2002; ROSTOVTSEV *et al.*, 2002; MOSES e MOORHOUSE, 2007; TRON *et al.*, 2008; MELDAL e TORNØE, 2008). Essa metodologia específica para a formação

regiosseletiva de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (Esquema 2), conhecida como reação de cicloadição (C) 1,3-dipolar entre um alcino terminal (A) e uma azida orgânica (A) catalisada por Cu(I) (reação CuAAC), passou a ser amplamente adotada na síntese de compostos 1,2,3-triazólicos (PEREIRA *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2016; DHEER *et al.*, 2017; MEGHANI *et al.*, 2017; OUYANG *et al.*, 2018).

Esquema 2 - Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre um alcino terminal e uma azida orgânica catalisada por Cu(I) (reação CuAAC).

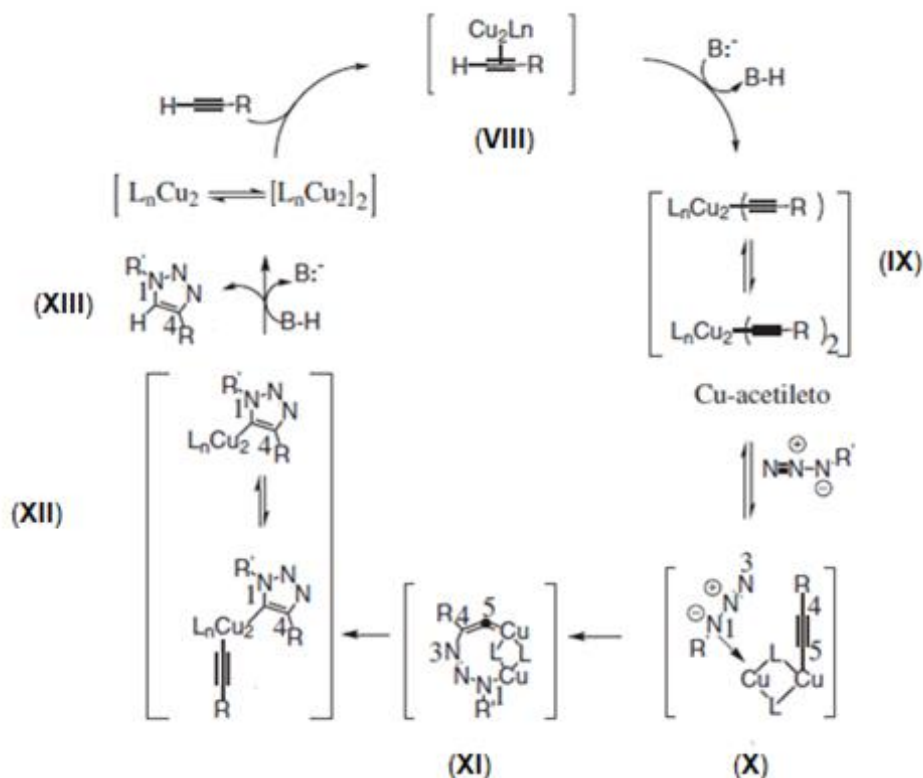


Fonte: Elaborado pela própria autora.

O aumento da velocidade da reação e do rendimento pode ser explicado pelo ciclo catalítico apresentado no Esquema 3 (página 33). Inicialmente, ocorre a complexação π entre Cu(I) e o alcino terminal (estrutura **VIII**, Esquema 3). Em seguida, há a formação do acetileto de cobre (**IX**); a diminuição do pKa do hidrogênio de 25 para 9,8 favorece a desprotonação em meios aquosos. Em seguida, há conversão do intermediário **IX** no complexo azida-acetileto (**X**), no qual o cobre torna o nitrogênio terminal da azida mais eletrofílico e o carbono do tipo β -vinilidênico mais nucleofílico, definindo a formação do metalociclo (**XI**). Essa etapa determina a regiosseletividade da reação, pois é endotérmica, com energia de ativação de 15 kcal mol^{-1} , menor do que para a reação não catalisada (26 kcal mol^{-1}). Na próxima etapa, ocorre uma contração do anel por meio de uma associação transanular do par de elétrons não ligantes do N-1 com o orbital antiligante de C-5, resultando na formação da triazolila de cobre (**XII**). Por fim, ocorre a formação do composto 1,2,3-triazólico-1,4-

dissubstituído (XIII) e a regeneração do catalisador após a protonação do intermediário triazolila de cobre (FREITAS *et al.*, 2011).

Esquema 3 – Etapas do ciclo catalítico envolvido na reação de conversão de alcino terminal e azida em compostos 1,2,3-triazólicos.



Fonte: FREITAS *et al.*, 2011.

A reação CuAAC, também conhecida como reação "click", foi descrita por Sharpless como uma reação que deve ocorrer de forma rápida, estereoespecífica (mas não necessariamente enantiosseletiva), produzindo produtos secundários inofensivos e de fácil remoção. Além disso, idealmente, deve ocorrer sem o uso de solventes ou com a utilização de solventes atóxicos e inofensivos, utilizando materiais de partida estáveis e de fácil obtenção, e não necessitando de condições especiais, sendo insensível a oxigênio e água (KOLB *et al.*, 2001; FREITAS, 2011; HOU *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2016).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

As informações descritas nesta seção correspondem à síntese e a avaliação da atividade antileishmanial dos derivados diidroxilados do eugenol contendo grupos 1,2,3-triazólicos [compostos de estruturas geral **II** e **III** (página 18)]. As informações a respeito da síntese e avaliação da atividade antileishmanial dos compostos denominados de *orto* eugenol 1,2,3-triazólicos, de estrutura geral **IV** (página 19) estão apresentadas no artigo '*Synthesis and Evaluation of the Antileishmanial Activity of Novel Eugenol Analogs Containing 1,2,3-triazoles fragments against Intracellular Leishmania braziliensis*' publicado no periódico *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 34, Nº. 12, 1810–1824, 2023. Uma reprodução do artigo está disponibilizada na Seção 6 deste trabalho.

4.1. Generalidades Metodológicas

Foram utilizados reagentes de grau P.A. para a síntese dos compostos. As substâncias fenilacetileno, 1-etinil-4-nitrobenzeno, 1-etinil-4-metoxibenzeno, 1-etinil-4-metilbenzeno, hex-1-ino, 1-etinilcicloexan-1-ol, 1-etinil-4-fluorobenzeno, 1-etinil-3-fluorobenzeno, 1-etinil-2-fluorobenzeno, 1-etinil-3,5-difluorobenzeno, 1-etinil-3,4-difluorobenzeno, 1-etinil-2,4-difluorobenzeno, 1-etinil-2-(trifluorometil)benzeno, 1-etinil-3-(trifluorometil)benzeno, 1-etinil-4-(trifluorometil)benzeno, 1-etinil-3,5-bis-(trifluorometil)benzeno, eugenol, vanilina, sulfato de cobre(II) pentaidratado, ascorbato de sódio, azida de sódio e ácido *m*-cloroperbenzóico foram adquiridas comercialmente da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos) e utilizados sem prévia purificação. Os alquinos 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (derivado do eugenol) e 3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzaldeído (derivado da vanilina) foram preparados

empregando-se metodologias previamente descritas na literatura (TEIXEIRA *et al.*, 2018; GAZOLLA *et al.*, 2023).

Cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, cloreto de amônio e sulfito de sódio foram adquiridos da FMaia (Belo Horizonte, Brasil). Os solventes metanol, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila e hexano foram adquiridos da Êxodo Científica (Sumaré, São Paulo, Brasil) e utilizados após destilação realizada por meio do evaporador rotativo.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio. Após a eluição, as placas de CCD foram observadas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 , 5 mL de NaOH 5% m v^{-1} , 300 mL de água).

As separações em coluna cromatográfica foram realizadas utilizando-se sílica-gel (70–230 mesh), como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados após prévia purificação por meio do evaporador rotativo.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 e não foram corrigidas.

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660-IR com acessório GladiATR na região de 4000 a 500 cm^{-1} .

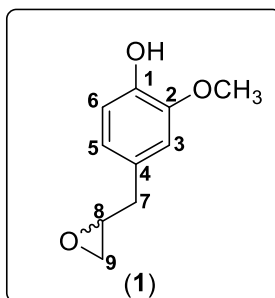
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 MHz, 400 MHz e 600 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 MHz, 100 MHz e 150 MHz) foram obtidos em espectrômetros BRUKER AVANCE. Foram utilizados como solventes clorofórmio (CDCl_3), dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$) e metanol (CD_3OD)

deuterados. As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

A numeração utilizada nas estruturas dos compostos e nas descrições dos dados referentes aos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C não estão necessariamente relacionadas com aquelas recomendadas nas regras de nomenclatura sugeridas pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC).

4.2. PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

4.2.1. Síntese do (\pm)-2-metoxi-4-(oxiran-2-ilmetil)fenol (**1**)



A um balão de fundo redondo (50 mL) foram adicionados eugenol (1,00 g; 6,10 mmol) e ácido *m*-cloroperbenzoico (2,60 g; 11,6 mmol) dissolvidos em clorofórmio (30,0 mL). A mistura de reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 7 h. Decorrido este período, a fase aquosa foi extraída com clorofórmio ($3 \times 20,0$ mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O composto **1** foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v v⁻¹) e com 99% de taxa de conversão (1,08 g; 6,00 mmol).

Característica: óleo amarelo.

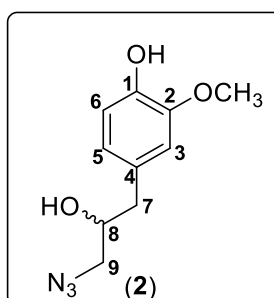
CCD: Rf = 0,46 (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3399, 3057, 2998, 2933, 2842, 2057, 1733, 1603, 1513, 1462, 1431, 1402, 1367, 1269, 1235, 1200, 1150, 1121, 1030, 927, 822, 791, 732, 627, 561, 432. O espectro é apresentado na Figura 10 (página 72).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 2,56 (dd, 1H, $J = 5,0$ Hz e $J = 2,6$ Hz, H-9a); 2,80–2,83 (m, 3H, H-7a, H-7b/H-9b); 3,12–3,17 (m, 1H, H-8); 3,90 (s, 3H, OCH_3); 6,75 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz e $J = 1,8$ Hz, H-5); 6,78 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-3); 6,87 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 11 (página 73).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (C-7); 46,7 (C-9); 52,7 (C-8); 55,9 (OCH_3); 111,6 (C-3); 114,3 (C-6); 121,6 (C-5); 129,1 (C-4); 144,4 (C-1); 146,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 13 (página 75).

4.2.2. Síntese do (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxi-propil)-2-metoxifenol (**2**)



A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados (\pm)-2-metoxi-4-(oxi-ran-2-ilmetil)fenol (**1**) (0,700 g; 3,89 mmol), azida de sódio (1,26 g; 19,4 mmol), cloreto de amônio (0,520 g; 9,73 mmol) e 8,00 mL de metanol-água (4:1 v v⁻¹). A mistura reacional foi mantida sob agitação por 18 horas à temperatura de 60 °C e monitorada por CCD. Terminada a reação, adicionaram-se 10,0 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3 × 30,0 mL), lavada com solução saturada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com

hexano-acetato de etila (2:1 v v⁻¹). O composto (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) foi obtido com 94% de rendimento (0,815 g; 3,66 mmol).

Característica: óleo amarelo.

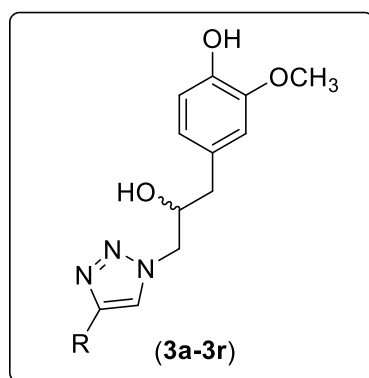
CCD: Rf = 0,33 (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3386, 2957, 2926, 2858, 2097, 1604, 1514, 1462, 1432, 1367, 1269, 1233, 1206, 1152, 1122, 1069, 1032, 927, 858, 814, 795, 741, 633, 557, 451. O espectro é apresentado na Figura 15 (página 79).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 2,70 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-7a); 2,75 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 5,8$ Hz, H-7b); 3,28 (dd, 1H, $J = 12,6$ Hz e $J = 6,6$ Hz, H-9a); 3,37 (dd, 1H, $J = 12,6$ Hz e $J = 3,8$ Hz, H-9b); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 3,92–3,99 (m, 1H, H-8); 6,69 (dd, 1H, $J = 7,8$ Hz e $J = 1,8$ Hz, H-5); 6,71 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-3); 6,85 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 16 (página 80).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 40,4 (C-7); 55,90 (OCH₃); 55,94 (C-9); 71,7 (C-8); 111,8 (C-3); 114,6 (C-6); 121,8 (C-5); 128,7 (C-4); 144,5 (C-1); 146,6 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 17 (página 81).

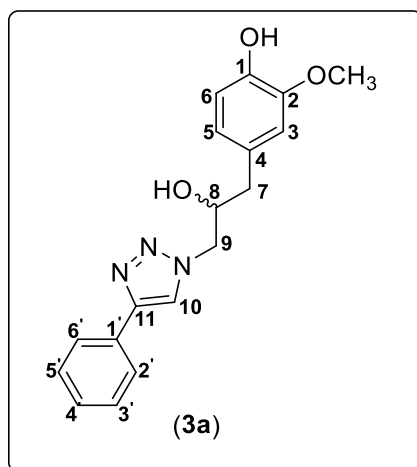
4.2.3. Síntese dos compostos triazólicos 3a–3r



A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados a azida (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (1,00 equivalente), o alquino de interesse (1,00 equivalente), ascorbato de sódio (0,400 equivalente), 2,00 mL de água destilada

e 2,00 mL de diclorometano. Em seguida, adicionou-se o $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,200 equivalente). A mistura de reação permaneceu sob agitação vigorosa por 1 hora à temperatura ambiente. Após o término da reação, determinado via análise por CCD, a mistura resultante foi lavada com solução saturada de Na_2CO_3 e a fase aquosa extraída com diclorometano ($3 \times 20,0$ mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel utilizando como eluente uma mistura de hexano-acetato de etila ($1:1$ v v⁻¹). Os derivados triazólicos do eugenol **3a–3r** foram obtidos com rendimentos variando de 30%–89%. A seguir estão descritas as informações relativas às reações envolvidas na preparação dos compostos e os dados que suportam as estruturas destas substâncias.

Síntese do (\pm)-4-(2-hidroxi-3-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propil)-2-metoxifenol (**3a**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,106 g; 0,326 mmol) com 89% de rendimento empregando-se fenilacetileno (0,0380 g; 0,370 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxi-2-propil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0820 g; 0,370 mmol), ascorbato de sódio (0,0300 g; 0,152 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0190 g; 0,0740 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: Rf = 0,32 (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 132,9–133,4 °C.

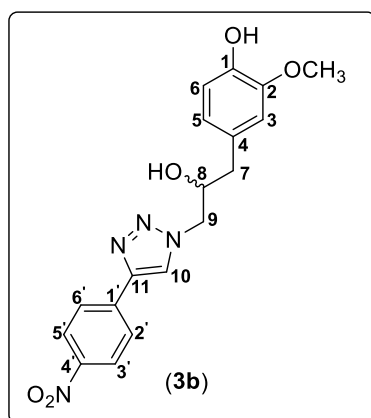
IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}$ /cm⁻¹: 3351, 3159, 3066, 2938, 2840, 2163, 1730, 1605, 1516, 1464, 1445, 1428, 1366, 1273, 1231, 1209, 1154, 1123, 1076, 1034, 976, 897, 862, 817, 767, 693, 632, 560, 510, 469, 433. O espectro é apresentado na Figura 1A (página 122) no anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ : 2,69 (d, 2H, J = 6,4 Hz, H-7); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 4,13–4,20 (m, 1H, H-8); 4,28 (dd, 1H, J = 14,0 Hz e J = 8,0 Hz, H-9a); 4,44 (dd, 1H, J = 14,0 Hz, J = 3,4 Hz, H-9b); 6,66 (dd, 1H, J = 8,1 Hz e J = 1,3 Hz, H-5); 6,69 (d, 1H, J = 8,1 Hz, H-6); 6,81 (d, 1H, J = 1,3 Hz, H-3); 7,27 (t, 1H, J = 7,4 Hz, H-4'); 7,36 (t, 2H, J = 7,4 Hz, H-3'/H-5'); 7,74 (d, 2H, J = 7,4 Hz, H-2'/H-6'); 8,19 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 2A (página 123) no anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ : 40,1 (C-7); 55,0 (C-9); 55,1 (OCH₃); 71,2 (C-8); 112,6 (C-3); 114,8 (C-6); 121,6 (C-5); 122,0 (C-10); 125,2 (C-2'/C-6'); 127,9 (C-4'); 128,5 (C-3'/C-5'); 128,9 (C-1'); 130,3 (C-4); 144,8 (C-1); 147,1 (C-2); 147,4 (C-11). O espectro é apresentado na Figura 3A (página 124) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(2-hidroxi-3-(4-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propil)-2-metoxifenol

(3b)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,0820 g; 0,221 mmol) com 68% de rendimento empregando-se 1-etinil-4-nitrobenzeno (0,0470 g; 0,320 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxipropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0720 g; 0,320 mmol), ascorbato de sódio (0,0250 g; 0,129 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0160 g; 0,0650 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,13$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

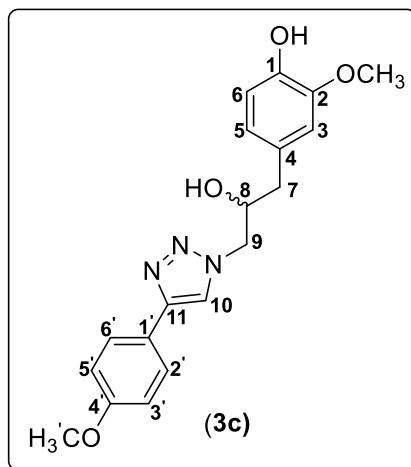
Faixa de fusão: 86,8–87,6 °C.

IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3326, 3132, 2932, 2846, 2163, 2042, 1742, 1604, 1514, 1454, 1430, 1343, 1268, 1235, 1151, 1108, 1053, 1029, 977, 934, 854, 800, 755, 711, 689, 655, 637, 500, 460. O espectro é apresentado na Figura 4A (página 125) no anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ : 2,70 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-7); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 4,13–4,19 (m, 1H, H-8); 4,30 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-9a); 4,48 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 3,4$ Hz, H-9b); 6,65 (dd, 1H, $J = 8,1$ Hz e $J = 1,3$ Hz, H-5); 6,68 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-6); 6,81 (d, 1H, $J = 1,3$ Hz, H-3); 7,98 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H-2'/H-6'); 8,22 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H-3'/H-5'); 8,39 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 5A (página 126) no anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ : 40,4 (C-7); 55,0 (C-9); 55,2 (OCH₃); 71,2 (C-8); 112,6 (C-3); 114,8 (C-6); 121,6 (C-5); 123,8 (C-3'/C-5'); 123,7 (C-10); 125,8 (C-2'/C-6'); 128,7 (C-4); 136,9 (C-1'); 144,9 (C-1); 145,0 (C-2); 147,2 (C-4'); 147,5 (C-11). O espectro é apresentado na Figura 6A (página 127) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(2-hidroxi-3-(4-(4-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propil)-2-metoxifenol (**3c**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,0870 g; 0,245 mmol) com 72% de rendimento empregando-se 1-etinil-4-metoxibenzeno (0,0450 g; 0,340 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0760 g; 0,340 mmol), ascorbato de sódio (0,0270 g; 0,136 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0170 g; 0,0680 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,22$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 136,1–136,8 °C.

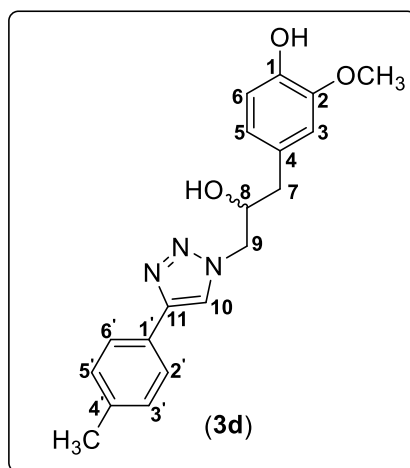
IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3463, 3230, 3020, 2978, 2920, 2842, 2036, 1613, 1560, 1515, 1498, 1439, 1352, 1275, 1240, 1174, 1150, 1123, 1094, 1023, 980, 830, 794, 665, 608, 559, 534, 455. O espectro é apresentado na Figura 18 (página 84) no anexo.

RMN de ¹H (600 MHz, CD₃OD) δ : 2,73 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 4,18–4,23 (m, 1H, H-8); 4,31 (dd, 1H, $J = 14,0$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-9a); 4,48 (dd, 1H, $J = 14,0$ Hz e $J = 3,3$ Hz, H-9b); 6,71 (dd, 1H, $J = 7,9$ Hz e $J = 1,6$ Hz, H-5); 6,74 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 6,86 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz, H-3); 6,97 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3'/H-5'); 7,70 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2'/H-6'); 8,14 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 19 (página 85) no anexo.

RMN de ¹³C (150 MHz, CD₃OD) δ : 44,3 (C-7); 58,3 (C-9); 58,9 (OCH₃); 59,0 (OCH₃); 75,0 (C-8); 116,7 (C-3); 117,9 (C-3'/C-5'); 118,7 (C-6); 125,1 (C-5); 125,5 (C-1'); 126,8

(C-10); 130,7 (C-2'/C-6'); 132,9 (C-4); 148,5 (C-1); 150,9 (C-2); 151,5 (C-11); 163,8 (C-4'). O espectro é apresentado na Figura 20 (página 86) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(2-hidroxi-3-(4-(*p*-tolil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propil)-2-metoxifenol (**3d**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,0970 g; 0,286 mmol) com 81% de rendimento empregando-se 1-etinil-4-metilbenzeno (0,0410 g; 0,35 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxi-2-propil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0780 g; 0,350 mmol), ascorbato de sódio (0,0280 g; 0,140 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0170 g; 0,0700 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,29$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 122,5–123,3 °C.

IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3534, 3238, 2921, 1607, 1513, 1433, 1371, 1267, 1242, 1210, 1140, 1124, 1096, 1078, 1057, 1036, 980, 927, 887, 851, 826, 798, 766, 728, 666, 640, 557, 516, 425. O espectro é apresentado na Figura 7A (página 128) no anexo.

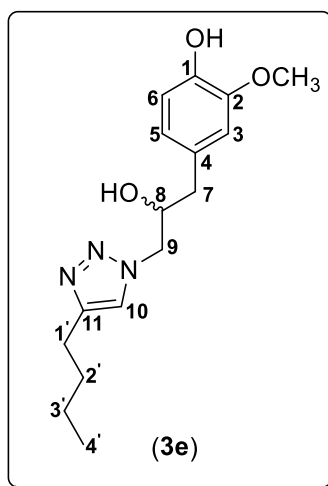
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 2,38 (s, 3H, CH₃); 2,73 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 7,0$ Hz, H-7a); 2,83 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 4,6$ Hz, H-7b); 3,87 (s, 3H, OCH₃); 4,27–4,34 (m, 2H, H-9a/H-8); 4,52 (dd, 1H, $J = 17,2$ Hz e $J = 6,0$ Hz, H-9b); 6,72 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz e $J = 1,4$ Hz, H-5); 6,76 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3); 6,87 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6); 7,21

(d, 2H, $J = 8,0$ Hz, H-3'/H-5'); 7,66 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, H-2'/H-6'); 7,84 (s, 1H, H-10).

O espectro é apresentado na Figura 8A (página 129) no anexo.

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 21,2 (C-CH_3); 40,5 (C-7); 55,2 (C-9); 55,9 (OCH_3); 71,3 (C-8); 111,8 (C-3); 114,6 (C-6); 120,9 (C-5); 122,0 (C-10); 125,6 (C-2'/C-6'); 127,3 (C-1'); 128,4 (C-4); 129,5 (C-3'/C-5'); 138,1 (C-4'); 144,6 (C-1); 146,6 (C-2); 147,3 (C-11). O espectro é apresentado na Figura 9A (página 130) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3e**)



Este composto foi obtido como um óleo incolor (0,098 g; 0,321 mmol) com 82% de rendimento empregando-se hex-1-ino (0,032 g; 0,39 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,087 g; 0,39 mmol), ascorbato de sódio (0,0310 g; 0,156 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0200 g; 0,0780 mmol).

Característica: óleo incolor.

CCD: $R_f = 0,17$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

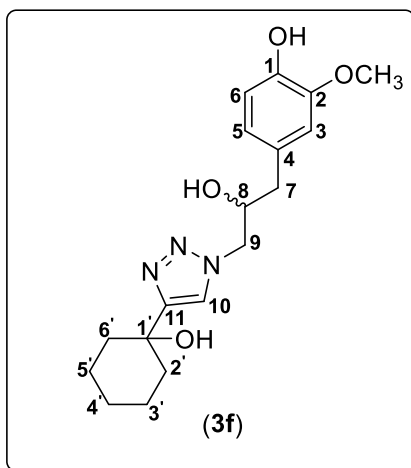
IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3399, 3140, 2954, 2930, 2859, 1704, 1600, 1553, 1514, 1453, 1430, 1365, 1270, 1217, 1153, 1123, 1033, 933, 860, 801, 741, 633, 565, 458.

O espectro é apresentado na Figura 10A (página 131) no anexo.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 0,94 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, H-4'); 1,39 (sext, 2H, $J = 7,4$ Hz, H-3'); 1,66 (quint, 2H, $J = 7,6$ Hz, H-2'); 2,69–2,74 (m, 2H, H-7a/H-1'); 2,80 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 4,6$ Hz, H-7b); 3,89 (s, 3H, OCH_3); 4,22–4,30 (m, 2H, H9a/H-8); 4,47 (dd, 1H, $J = 16,8$ Hz e $J = 6,0$ Hz, H-9b); 6,71 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz e $J = 1,6$ Hz, H-5); 6,76 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz, H-3); 6,87 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6); 7,43 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 11A (página 132) no anexo.

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 13,7 (C-4'); 22,2 (C-3'); 25,1 (C-1'); 31,4 (C-2'); 40,5 (C-7); 55,0 (C-9); 55,9 (OCH_3); 71,3 (C-8); 111,8 (C-3); 114,4 (C-6); 121,8 (C-5); 122,3 (C-10); 128,3 (C-4); 144,6 (C-1); 146,6 (C-2); 148,0 (C-11). O espectro é apresentado na Figura 12A (página 133) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(2-hidroxi-3-(4-(1-hidroxicicloexil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propil)-2-metoxifenol (**3f**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,0920 g; 0,265 mmol) com 77% de rendimento empregando-se 1-etinil-1-cicloexan-1-ol (0,0430 g; 0,350 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxi-2-propil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0780 g; 0,350 mmol), ascorbato de sódio (0,0280 g; 0,140 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0180 g; 0,0700 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,22$ (hexano-acetato de etila 1:1 $v v^{-1}$).

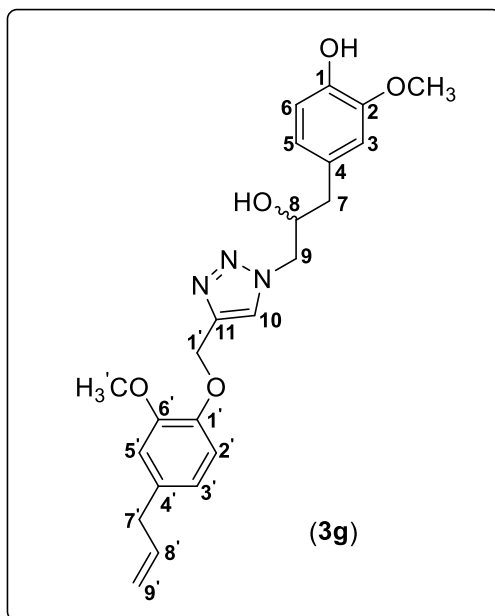
Faixa de fusão: 133,2–133,9 °C.

IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3273, 3158, 3024, 2933, 2852, 1713, 1596, 1527, 1449, 1362, 1283, 1253, 1218, 1153, 1127, 1047, 1034, 963, 914, 846, 811, 798, 756, 689, 623, 555, 509, 478, 455. O espectro é apresentado na Figura 13A (página 134) no anexo.

RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) δ : 1,31–1,86 (m, 10H, H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/ H-6'); 2,69 (dd, 2H, $J = 14,1$ Hz e $J = 6,3$ Hz, H-7a, H-7b); 3,86 (s, 3H, OCH_3); 4,15–4,20 (m, 1H, H-8); 4,29 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-9a); 4,45 (dd, 1H, $J = 13,8$ Hz e $J = 3,3$ Hz, H-9b); 6,71 (dd, 1H, $J = 7,8$ Hz e $J = 1,5$ Hz, H-5); 6,75 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 6,86 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, H-3); 7,84 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 14A (página 135) no anexo.

RMN de ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) δ : 21,4 (C-3'/C-5'); 24,9 (C-4'); 37,4 (C-2'/C-6'); 40,3 (C-7); 54,8 (C-9); 54,9 (OCH_3); 68,7 (C-8); 71,1 (C-1'); 112,8 (C-3); 114,9 (C-6); 121,4 (C-5); 122,1 (C-10); 128,9 (C-4); 144,8 (C-1/C-2); 147,5 (C-11). O espectro é apresentado na Figura 15A (página 136) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-((4-alil-2-metoxifenoxi)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxipropil)-2-metoxifenol (**3g**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,0960 g; 0,226 mmol) com 80% de rendimento empregando-se 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (0,0570 g; 0,280 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0620 g; 0,280 mmol), ascorbato de sódio (0,0220 g; 0,112 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0140 g; 0,0560 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,13$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 54,8–55,6 °C.

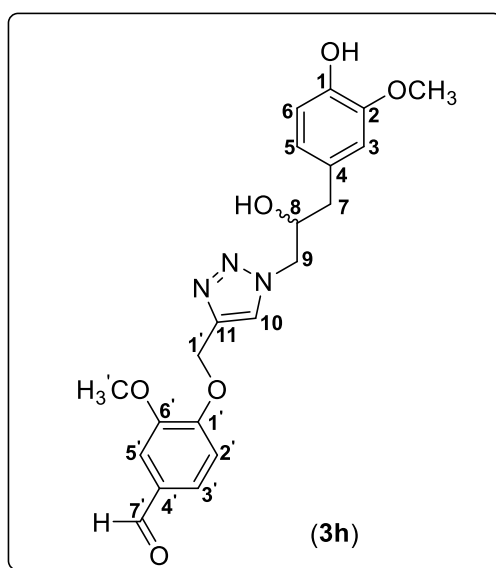
IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3351, 3138, 2933, 2912, 2840, 1638, 1592, 1511, 1463, 1427, 1364, 1258, 1221, 1136, 1057, 1028, 1007, 905, 851, 800, 740, 645, 566, 480, 455. O espectro é apresentado na Figura 16A (página 137) no anexo.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 2,69 (dd, 1H, $J = 14,0$ Hz e $J = 7,6$ Hz, H-7a); 2,78 (dd, 1H, $J = 14,0$ Hz e $J = 5,2$ Hz, H-7b); 3,33 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-7'); 3,85 (s, 3H, OCH_3'); 3,88 (s, 3H, OCH_3); 4,21–4,26 (m, 1H, H-8); 4,30 (dd, 1H, $J = 12,8$ Hz e $J = 5,2$ Hz, H-9a); 4,49 (dd, 1H, $J = 12,8$ Hz e $J = 1,6$ Hz, H-9b); 5,05–5,12 (m, 2H, H-9'); 5,25 (s, 2H, H-12); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J = 16,8$ Hz, $J = 10,0$ Hz e $J = 6,8$ Hz, H-8');

6,68–6,74 (m, 4H, H-3/H-3'/H-5/H-5'); 6,86 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6); 6,96 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2'); 7,76 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 17A (página 138) no anexo.

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 39,8 (C-7'); 40,4 (C-7); 55,0 (C-9); 55,8 (OCH_3); 55,9 (OCH_3); 63,2 (C-12); 71,4 (C-8); 111,8 (C-5'); 112,4 (C-3); 114,5 (C-6); 114,6 (C-9'); 115,6 (C-2'); 120,5 (C-3'); 122,0 (C-5); 124,5 (C-10); 128,1 (C-4); 133,9 (C-4'); 137,5 (C-8'); 144,2 (C-11); 144,6 (C-1); 145,9 (C-2); 146,7 (C-1'); 149,5 (C-6'). O espectro é apresentado na Figura 18A (página 139) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-((1-(2-hidroxi-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)propil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-3-metoxibenzaldeído (**3h**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,0860 g; 0,208 mmol) com 72% de rendimento empregando-se 3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzaldeído (0,0550 g; 0,290 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxi-2-propil)-2-metoxifenol (**2**) (0,0650 g; 0,290 mmol), ascorbato de sódio (0,0230 g; 0,116 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0150 g; 0,0580 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: Rf = 0,30 (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 144,4–145,6 °C.

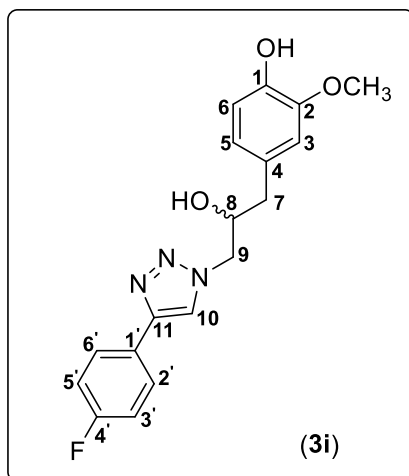
IV (ATR) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3292, 2933, 2840, 2009, 1674, 1582, 1506, 1464, 1424, 1396, 1266, 1234, 1156, 1133, 1093, 1027, 1001, 929, 866, 853, 814, 781, 729, 642, 563, 530, 455. O espectro é apresentado na Figura 19A (página 140) no anexo.

RMN de ¹H (200 MHz, CD₃OD) δ : 1,26 (dd, 2H, $J = 11,3$ Hz e $J = 6,3$ Hz, H-7a, H-7b); 3,13 (s, 3H, OCH₃'); 3,19 (s, 3H, OCH₃); 3,69–3,78 (m, 1H, H-8); 3,95 (dd, 1H, $J = 11,8$ Hz e $J = 6,4$ Hz, H-9a); 4,24 (dd, 1H, $J = 11,7$ Hz e $J = 2,9$ Hz, H-9b); 5,44 (s, 2H, H-12); 8,00 (dd, 1H, $J = 6,8$ Hz e $J = 1,2$ Hz, H-5); 8,08 (s, 1H, H-10); 8,09 (d, 1H, $J = 6,8$ Hz, H-6); 8,26 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-3); 8,45 (dd, 1H, $J = 7,0$ Hz e $J = 1,2$ Hz, H-3'); 8,58 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-5'); 8,62 (d, 1H, $J = 7,0$ Hz, H-2'); 10,2 (s, 1H, CHO). O espectro é apresentado na Figura 20A (página 141) no anexo.

RMN de ¹³C (50 MHz, CD₃OD) δ : 44,2 (C-7); 58,9 (OCH₃'); 58,9 (OCH₃); 66,2 (C-9); 74,9 (C-12); 106,8 (C-8); 114,3 (C-5'); 116,7 (C-3); 118,1 (C-2'); 118,7 (C-6); 122,9 (C-5); 125,5 (C-10); 129,1 (C-3'); 132,8 (C-4); 136,1 (C-4'); 147,2 (C-11); 148,8 (C-1); 151,4 (C-2); 151,7 (C-6'); 153,5 (C-1')*. O espectro é apresentado na Figura 21A (página 142) no anexo.

*O sinal para o grupo carbonila não foi observado no espectro de RMN de ¹³C. Porém, a presença deste grupo funcional pode ser confirmada pela banda intensa em 1674 cm⁻¹ observada no espectro no infravermelho, bem como pelo simpleto observado em δ_H 10,2 no espectro de RMN de ¹H.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3i**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,168 g; 0,510 mmol) com 51% de rendimento empregando-se 1-etinil-4-fluorobenzeno (0,120 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,400 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

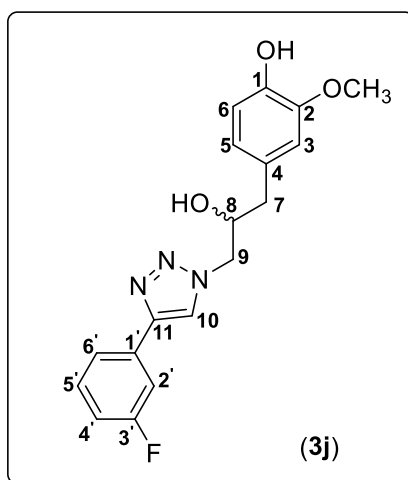
CCD: $R_f = 0,33$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 144,0–147,3 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,63 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz, H-7); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 4,07 (sl, 1H, H-9a); 4,19–4,27 (m, 1H, H-8); 4,37–4,43 (m, 1H, H-9b); 5,20 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz, OH'); 6,63–6,71 (m, 2H, H-5/H-6); 6,83 (s, 1H, H-3); 7,26 (t, 2H, $J = 8,9$ Hz, H-3'/H-5'); 7,85–7,91 (m, 2H, H-2'/H-6'); 8,47 (s, 1H, H-10); 8,72 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 22A (página 143) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40,9 (C-7); 55,5 (C-9); 55,9 (OCH₃); 70,9 (C-8); 114,0 (C-3); 115,7 (C-6); 116,0 (d, $J_{C-F} = 21,8$ Hz, C-3'/C-5'); 122,1 (C-5); 123,0 (C-10); 127,5 (d, $J_{C-F} = 8,3$ Hz, C-2'/C-6'), 127,9 (d, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-1'); 129,3 (C-4); 145,3 (C-1); 145,5 (C-2), 147,4 (C-11), 162,1 (C-4', d, $J_{C-F} = 243$ Hz). O espectro é apresentado na Figura 23A (página 144) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(3-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3j**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,182 g; 0,555 mmol) com 56% de rendimento empregando-se 1-etinil-3-fluorobenzeno (0,120 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,28$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

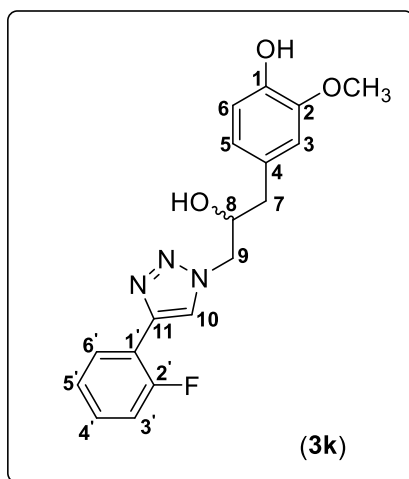
Faixa de fusão: 156,9–159,6 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,62–2,69 (m, 2H, H-7), 3,75 (s, 3H, OCH₃); 4,08 (sl, 1H, H-9a); 4,20–4,28 (m, 1H, H-8); 4,42 (dd, 1H, $J = 10,0$ Hz e $J = 2,2$ Hz, H-9b), 5,21 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H, OH'); 6,64–6,72 (m, 2H, H-5/H-6); 6,84 (s, 1H, H-3); 7,13–7,18 (m, 1H, H-4'); 7,45–7,52 (m, 1H, H-5'); 7,64–7,73 (m, 2H, H-2'/H-6'); 8,56 (s, 1H, OH); 8,74 (s, 1H, H-10). O espectro é apresentado na Figura 24A (página 145) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40,4 (C-7); 55,1 (C-9); 55,5 (OCH₃); 68,8 (C-8); 111,6 (d, $J = 17,3$ Hz, C-2'); 113,6 (C-3); 114,4 (d, $J = 15,8$ Hz, C-4'); 115,3 (C-6); 121,1 (C-6'); 121,6 (C-5); 123,0 (C-10); 128,9 (C-4); 131,0 (d, $J = 6,0$ Hz); 133,3 (d,

$J = 6,8$ Hz, C-5'); 144,9 (C-1, C-2); 147,7 (C-11), 161,7 (d, $J = 147$ Hz, C-3'). O espectro é apresentado na Figura 25A (página 146) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(2-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxypropil)-2-metoxifenol (**3k**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,167 g; 0,508 mmol) com 51% de rendimento empregando-se 1-etinil-2-fluorobenzeno (0,120 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,30$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

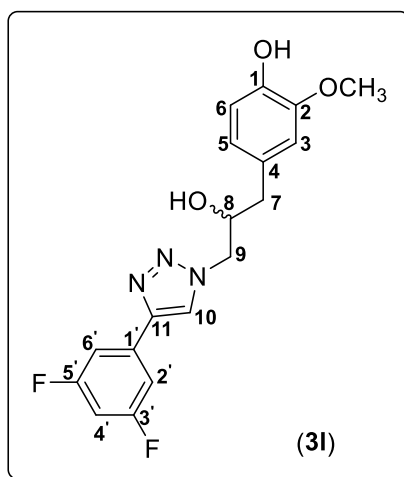
Faixa de fusão: 141,3–142,2 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,63 (s, 2H, H-7), 3,74 (s, 3H, OCH₃); 4,09 (s, 1H, H-9a); 4,30–4,33 (m, 1H, H-8); 4,43–4,67 (m, 1H, H-9b), 5,19 (s, 1H, OH'); 6,65–6,68 (m, 2H, H-5/H-6); 6,83 (s, 1H, H-3); 7,32–7,38 (m, 3H, H-3'/H-4'/H-5'); 8,13 (s, 1H, H-6'); 8,33 (s, 1H, H-10); 8,73 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 26A (página 147) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 40,9 (C-7); 53,9 (C-9); 55,9 (OCH₃); 69,1 (C-8); 114,0 (C-3); 116,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 16,5$ Hz, C-1'); 119,0 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,8$ Hz, C-4'); 122,0 (C-5); 125,1 (d, $J_{\text{C-F}} = 8,3$ Hz, C-3'); 125,4 (C-5'); 127,7 (C-10), 129,3 (C-4), 129,9 (d, $J_{\text{C-F}} = 6,0$ Hz, C-6'); 139,8 (C-11), 145,3 (C-2), 147,8 (C-1), 158,9 (d, $J_{\text{C-F}} = 184,5$ Hz, C-2').

O espectro é apresentado na Figura 27A (página 148) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(3,5-difluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3I**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,100 g; 0,290 mmol) com 30% de rendimento empregando-se 1-etinil-3,5-difluorobenzeno (0,138 g; 1 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,51 (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 186,4–188,8 °C.

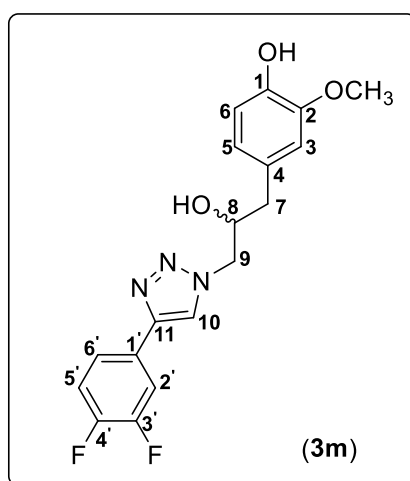
RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2,63–2,65 (m, 2H, H-7), 3,75 (s, 3H, OCH₃); 4,06 (sl, 1H, H-9a); 4,21–4,28 (m, 1H, H-8); 4,41 (dd, 1H, $J = 10,4$ Hz e $J = 2,3$ Hz, H-9b), 5,23 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H, OH'); 6,63–6,71 (m, 2H, H-5/H-6); 6,83 (s, 1H, H-3); 7,15–7,21

(m, 1H, H-4'); 7,58 (d, 2H, $J = 5,1$ Hz, H-2'/H-6'); 8,65 (s, 1H, H-10); 8,74 (s, 1H, OH).

O espectro é apresentado na Figura 28A (página 149) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 40,8 (C-7); 55,6 (C-9); 55,9 (OCH₃); 72,3 (C-8); 102,9 (C-3); 103,0–103,7 (m, H-4'); 108,5 (d, $J = 20,0$ Hz, C-2'/C-6'); 114,0 (C-3); 115,7 (C-6); 122,1 (C-10); 124,1 (C-5); 129,2 (C-4); 134,8–136 (m, C-1'), 143,9 (C-11); 145,3 (C-2); 148,4 (C-1); 163,4 (dd, $J = 183,3$ Hz; $J = 10,0$ Hz; C-3'/C-5'). O espectro é apresentado na Figura 29A (página 150) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(3,4-difluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3m**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,144 g; 0,416 mmol) com 42% de rendimento empregando-se 1-etinil-3,4-difluorobenzeno (0,138 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,36 (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

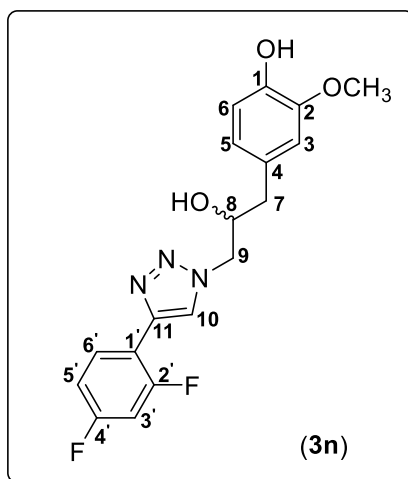
Faixa de fusão: 117,3–119,4 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2,63 (d, $J = 5,1$ Hz, 2H, H-7); 3,73 (s, 3H, OCH₃); 4,05 (sl, 1H, H-9a); 4,18–4,28 (m, 1H, H-8); 4,36–4,43 (m, 1H, H-9b); 5,20 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H, OH'); 6,62–6,71 (m, 2H, H-5/H-6); 6,82 (s, 1H, H-3); 7,45–7,54 (m, 1H, H-5'); 7,67–7,72 (m, 2H, H-2'); 7,84–7,91 (m, 1H, H-6'); 8,54 (s, 1H, H-10); 8,71 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 30A (página 151) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 40,8 (C-7); 55,5 (C-9); 55,9 (OCH₃); 70,9 (C-8); 114,0 (C-3); 114,3 (C-6); 114,4 (d, $J = 18$ Hz, C-5'); 115,7 (C-6); 118,6 (d, $J = 18$ Hz, C-2'); 122,0 (C-5); 122,2–122,4 (m, C-6'); 123,2 (C-10); 129,0–129,2 (m, C-1'); 129,2 (C-4); 144,6 (C-11); 145,3 (C-2); 147,7 (C-1)*. O espectro é apresentado na Figura 31A (página 152) no anexo.

*Para este composto, os sinais para os carbonos C-3' e C-4' não foram observados.

Síntese do (\pm) 4-(3-(4-(2,4-difluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3n**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,140 g; 0,404 mmol) com 40% de rendimento empregando-se 1-etinil-2,4-difluorobenzeno (0,138 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,400 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

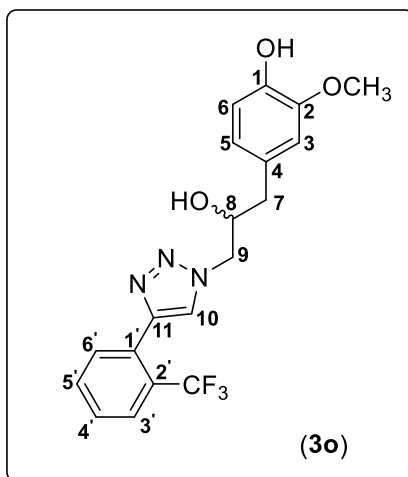
CCD: Rf = 0,54 (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 110,6–111,4 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,60–2,64 (m, 1H, H-7); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 4,04–4,11 (m, H-8); 4,25–4,33 (m, 1H, H-9a); 4,44 (dd, 1H, *J* = 13,8 Hz e *J* = 3,6 Hz, H-9b), 5,16 (d, *J* = 5,7 Hz, 1H, OH'); 6,64 (dd, 1H, *J* = 8,1 Hz e *J* = 1,8 Hz, H-5); 6,69 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-6); 6,81 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H, H-3); 7,17–7,24 (m, 1H, H-3'); 7,34–7,42 (m, 1H, H-6'); 8,09–8,19 (m, 1H, H-5'); 8,31 (d, 1H, *J* = 3,9 Hz, H-10); 8,70 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 32A (página 153) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40,8 (C-7); 55,4 (C-9); 55,9 (OCH₃); 70,8 (C-8); 104,9 (t, *J* = 25,8 Hz, C-3'); 112,7 (dd, *J* = 21,5 Hz e *J* = 3,50 Hz, C-5'); 114,0 (C-3); 115,6 (C-6); 115,8 (dd, *J* = 13,2 Hz e *J* = 3,50 Hz, C-1'); 122,0 (C-5); 124,7 (d, *J* = 10,8 Hz); 128,9 (dd, *J* = 9,7 Hz e *J* = 5,3 Hz, H-6') 129,2 (C-4); 139,1 (C-11), 145,3 (C-2); 147,7 (C-1); 158,9 (dd, *J* = 240,8 Hz e *J* = 12,8 Hz, C-2'); 162,1 (dd, *J* = 240,8 Hz e *J* = 12,8 Hz, C-4'). O espectro é apresentado na Figura 33A (página 154) no anexo.

Síntese do (±)-4-(3-(4-(2-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxi-propil)-2-metoxifenol (**3o**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,229 g; 0,605 mmol) com 61% de rendimento empregando-se 1-etinil-2-(trifluorometil)benzeno (0,170 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

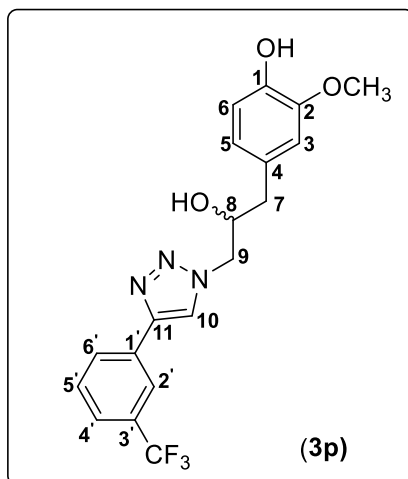
CCD: $R_f = 0,59$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 92,9–94,0 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,60 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H, H-7); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,98–4,16 (m, 1H, H-8); 4,30 (dd, $J = 13,8$ Hz e $J = 7,5$ Hz, 1H, H-9a); 4,44 (dd, $J = 13,8$ Hz e $J = 3,3$ Hz, 1H, H-9b); 5,18 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, OH'); 6,60–6,71 (m, 2H, H-5/H-6); 6,80 (s, 1H, H-3); 7,57–7,64 (m, 1H, H-3'); 7,72–7,86 (m, 3H, H-4'/H-5'/H-6'); 8,22 (s, 1H, H-10); 8,72 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 34A (página 155) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40,8 (C-7); 55,3 (C-9); 55,9 (OCH₃); 70,9 (C-8); 110,7 (C-3); 115,7 (C-6); 122,0 (C-5); 122,4-133,4 (C-10, C-4, C-1', C-2', CF₃, C-3', C-4', C-5', C-6'); 143,8 (C-11); 144,9 (C-2); 147,7 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 35A (página 156) no anexo.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(3-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3p**)

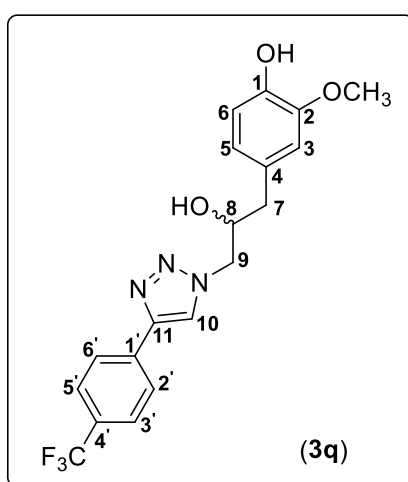


Este composto foi obtido como um sólido branco (0,253 g; 0,667 mmol) com 67% de rendimento empregando-se 1-etinil-3-(trifluorometil)benzeno (0,170 g; 1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,299 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,43$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(4-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**3q**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,113 g; 0,300 mmol) com 30% de rendimento empregando-se 1-etinil-4-(trifluorometil)benzeno (0,170 g; 1,00

mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxipropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: óleo amarelo.

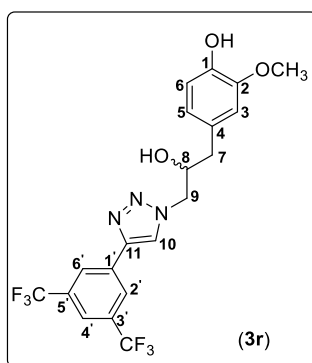
CCD: R_f = 0,48 (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,65 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H, H-7); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 4,09 (sl, 1H, H-9a); 4,22–4,34 (m, 1H, H-8); 4,40–4,46 (m, 1H, H-9b); 5,22 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H, OH'); 6,63–6,72 (m, 2H, H-5/H-6); 6,83 (s, 1H, H-3); 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-2'/H-6'); 8,07 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-3'/H-5'); 8,66 (s, 1H, H-10); 8,72 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 36A (página 157) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40,8 (C-7); 55,6 (C-9); 55,9 (OCH₃); 70,1 (C-8); 114,0 (C-3); 115,7 (C-6); 121,68–129,5 (C-2'/C-6', C-3'/C-5', C-4, C-5, C-10); 135,3 (C-1'); 145,0 (C-1); 145,3 (C-2); 147,7 (C-11)*. O espectro é apresentado na Figura 37A (página 158) no anexo.

*Os sinais para os carbonos C-4' e CF₃ não foram observados.

Síntese do (\pm)-4-(3-(4-(3,5-bis-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2-hidroxi propil)-2-metoxifenol (**3r**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,197 g; 0,441 mmol) com 44% de rendimento empregando-se 1-etinil-3,5-*bis*-(trifluorometil)benzeno (0,238 g;

1,00 mmol), (\pm)-4-(3-azido-2-hidroxiopropil)-2-metoxifenol (**2**) (0,223 g; 1,00 mmol), ascorbato de sódio (0,079 g; 0,399 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,050 g; 0,200 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,79$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

Faixa de fusão: 116,6–118,6 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,65 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H, H-7), 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,95–4,14 (m, 1H, H-8); 4,23–4,31 (m, 1H, H-8); 4,27 (dd, $J = 13,7$ Hz e $J = 8,0$ Hz, 1H, H-9a); 4,44 (dd, $J = 13,5$ Hz e $J = 3,0$ Hz, 1H, H-9b); 5,24 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H, OH'); 6,63–6,71 (m, 2H, H-5/H-6); 6,82 (s, 1H, H-3); 8,02 (s, 1H, H-10); 8,51 (s, 2H, H-2'/H-6'); 8,72 (s, 1H, H-4'); 8,92 (s, 1H, OH). O espectro é apresentado na Figura 38A (página 159) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 40,8 (C-7); 55,7 (C-9); 55,9 (OCH₃); 70,9 (C-8); 114,0 (C-3); 115,7 (C-6); 121,3 (C-4'); 122,0 (C-5); 123,3 (q, $J = 271,5$ Hz, CF₃); 124,8 (C-10); 125,7 (C-1'); 129,2 (C-2'/C-6), 131,5 (q, $J = 33$ Hz, C-3'/C-5'); 133,9 (C-4); 143,8 (C-1); 145,3 (C-2); 147,7 (C-11). O espectro é apresentado na Figura 39A (página 160) no anexo.

4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTILEISHMANIAL

Os ensaios foram realizados em colaboração da doutoranda Larissa Coelho Pereira e pela professora Juliana Lopes Rangel Fietto, utilizando a infraestrutura do Laboratório de Bioquímica Celular e Bioprodutos (LBB₁) do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBB) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Os compostos **3a-3r** foram recebidos no laboratório já purificados (liofilizados) e então, solubilizados em DMSO, que foi utilizado como controle negativo na mesma concentração utilizada na solubilização dos compostos.

4.3.1. Avaliação do efeito dos compostos 3a–3r frente aos macrófagos RAW

264.7

Os ensaios para avaliar a ação dos compostos **3a–3r** frente aos macrófagos RAW 264.7 foram conduzidos em placas de 96 poços. Inicialmente, os macrófagos cultivados em garrafas de 50 mL em meio RPMI completo, com 2 dias de cultivo, foram desaderidos da garrafa com o auxílio de um espalhador de células (Kasvi, 25 cm) e contados em câmara de Neubauer (diluição de 25x em PBS e azul de tripan) a fim de se determinar o número de macrófagos por mililitro. Após a contagem, foram plaqueados 5×10^4 macrófagos por poço, todos em um volume final de 200 μL /poço (macrófagos + meio RPMI completo). Em seguida, foram adicionados os controles anfotericina B ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) (controle positivo) e DMSO 5% (controle negativo) e os compostos **3a–3r**. Também foi utilizado um controle para avaliar o crescimento dos macrófagos na ausência dos compostos, constando apenas de macrófagos e meio RPMI completo. Seguindo-se à adição dos compostos e dos controles, as placas foram incubadas em estufa de CO_2 a 37 °C. Após 47 horas, cada placa foi retirada da estufa e em cada poço foram adicionados 20 μL de resazurina 1 mmol L^{-1} , sendo a placa incubada novamente em estufa de CO_2 por mais 1 hora. Decorridas 48 horas, as placas foram lidas em leitor de microplacas (Spectramax M5) em 570 nm e 600 nm, em intervalos de 1 hora, por 3 horas.

A porcentagem de redução da resazurina, em cada tempo avaliada foi calculada segundo a equação seguinte.

$$\text{Redução da resazurina} = [A_{570} - (A_{600} \times R_0)]$$

Nessa equação, A_{570} significa a absorbância da resazurina a 570 nm, A_{600} equivale à absorbância da resazurina a 600 nm, e R_0 é um fator de correção (branco), representado pela média das absorbâncias do controle negativo contendo somente

meio RPMI completo com resazurina (em quadruplicata), seguindo o protocolo descrito por Bastos e colaboradores (2017). A porcentagem de células viáveis foi calculada segundo a seguinte equação:

$$\% \text{ Células viáveis} = [A_{570} - (A_{600} \times R_0)_{\text{Tratado}}] \times 100 / \text{Média}[A_{570} - (x R_0)]_{\text{Não tratado}} A_{600}$$

4.3.2. Ensaio de infecção de macrófagos por *Leishmania braziliensis* M2904-GFP

Os ensaios de infecção *in vitro* foram realizados em placas de 96 poços, seguindo o protocolo descrito por Bastos e colaboradores (2017). Inicialmente, foram montadas placas com 1×10^5 macrófagos RAW 264.7. Posteriormente, foi feita a infecção dos macrófagos em cultura em fase estacionária contendo formas procíclicas e metacíclicas de *L. braziliensis* M2904-GFP, na proporção de 10 parasitos por macrófago (LIMA *et al.*, 2023). A cultura de fase estacionária contendo as formas promastigotas totais de *L. braziliensis* M2904-GFP foram transferidas para um tubo de fundo cônico esterilizado de 50 mL e centrifugadas (HERAEUS Multifuge 1R, Thermo Scientific) a $1.200 \times g$, a 4°C , durante 10 minutos. O precipitado obtido foi suspenso em 5 mL com RPMI completo e as células foram contadas em Câmara de Neubauer (diluição de $50 \times$ em formalina 4%) a fim de se determinar o número de parasitos/mL. Após a contagem, 1×10^6 parasitos foram adicionados à placa com os macrófagos previamente incubada por 3–4 horas e esta placa foi incubada novamente em estufa de CO_2 por mais 24 horas. Após esse tempo, a placa foi lavada 3 vezes com RPMI base (sem adição de L-glutamina, soro fetal e antibiótico), pH 7,2, sendo adicionados $200 \mu\text{L}$ de RPMI completo por poço na placa e esta foi incubada por 24 horas em estufa de CO_2 . Após este período, o meio RPMI completo metabolizado foi substituído por um novo meio e foram adicionados à placa $4 \mu\text{L}$ dos compostos (das soluções estoque a $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) para concentração final de $10 \mu\text{mol/L}$, $4 \mu\text{L}$ de DMSO $5\% \text{ v v}^{-1}$, (controle negativo) e $2,5 \mu\text{L}$ de anfotericina B ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) (controle positivo),

todos em quadruplicata. A concentração final de DMSO no ensaio foi de 1% para as amostras contendo compostos solubilizados em DMSO e o controle somente com DMSO. Dois controles para avaliar o crescimento dos macrófagos não infectados também foram utilizados. Em um deles foram adicionados 2,5 μL de anfotericina B ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) e no outro nenhuma adição foi realizada.

Posteriormente à adição dos compostos e dos controles, a placa foi incubada em estufa de CO_2 por 48 horas. Decorrido este período, a placa foi retirada da estufa e lavada 3 vezes com RPMI base (sem adição de L-glutamina, soro fetal e antibiótico), pH 7,2. Posteriormente, foram adicionados 50 μL por poço da solução de lise (RPMI base + SDS 0,1%) e a placa foi deixada por 1 hora em temperatura ambiente. Após esse tempo, foram adicionados 150 μL de meio Grace suplementado por poço na placa e esta foi vedada com Parafilm e incubada em estufa B.O.D a 25°C por 5 dias. Após os 5 dias, as placas foram lidas por fluorescência na região de detecção de GFP em leitor de microplacas (Spectramax M5) a 490 nm (excitação) e 520 nm (emissão). Os cálculos para determinar o efeito dos compostos sobre as formas amastigotas foram feitos segundo a seguinte equação.

$$\% \text{ Células viáveis} = \frac{[(\text{Emissão fluorescência})_{\text{Tratado}}]}{[(\text{Emissão fluorescência})_{\text{Não tratado}}]} \times 100 / \text{Média}$$

4.3.3. Determinação da concentração citotóxica (CC_{50}) em macrófagos e da concentração efetiva (IC_{50}) no ensaio de infecção de macrófagos por *Leishmania braziliensis*

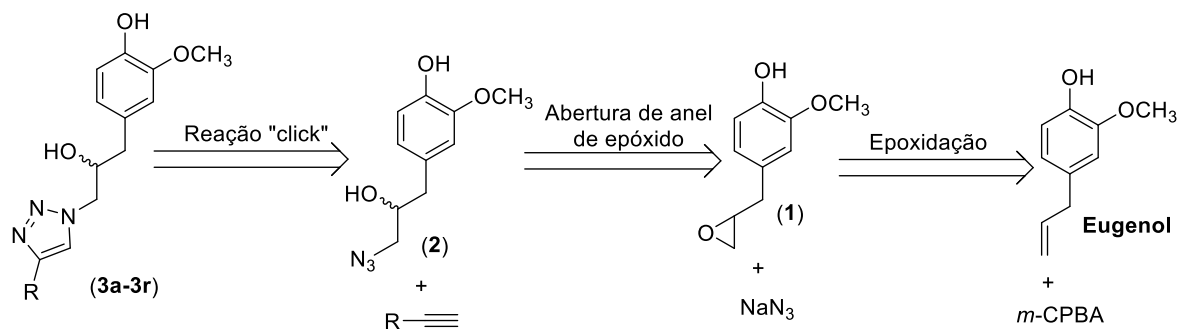
Os testes para determinação dos valores de CC_{50} e IC_{50} dos compostos **3e** e **3h** frente aos macrófagos RAW 264.7 e frente à forma amastigota intracelular de *L. braziliensis*, seguiram o mesmo protocolo descrito por Bastos e colaboradores (2017). Entretanto, as concentrações testadas dos compostos foram: $200 \mu\text{mol L}^{-1}$, $100 \mu\text{mol}$

L⁻¹, 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Anfotericina B (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$; 3,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e DMSO nas mesmas concentrações dos compostos foram utilizados como controles positivo e negativo dos experimentos, respectivamente. Os cálculos para determinação dos valores CC₅₀ e IC₅₀ foram determinados utilizando o software GraphPad Prisma Versão 5.03.

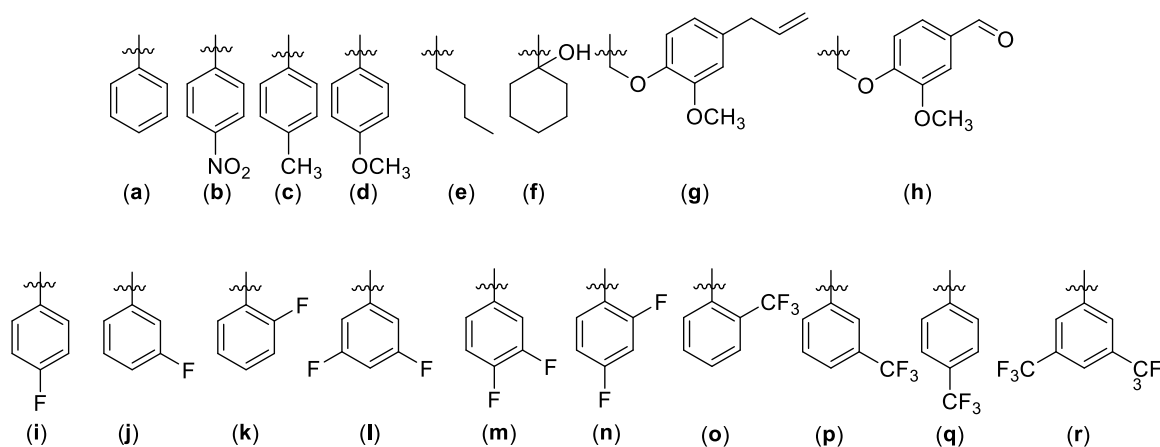
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Esquema 4 (página 65) está representada a análise retrossintética para a obtenção dos derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos (estruturas **3a–3r**).

Esquema 4 - Análise retróssintética para a síntese dos derivados do eugenol **3a–3r.**



Onde R =

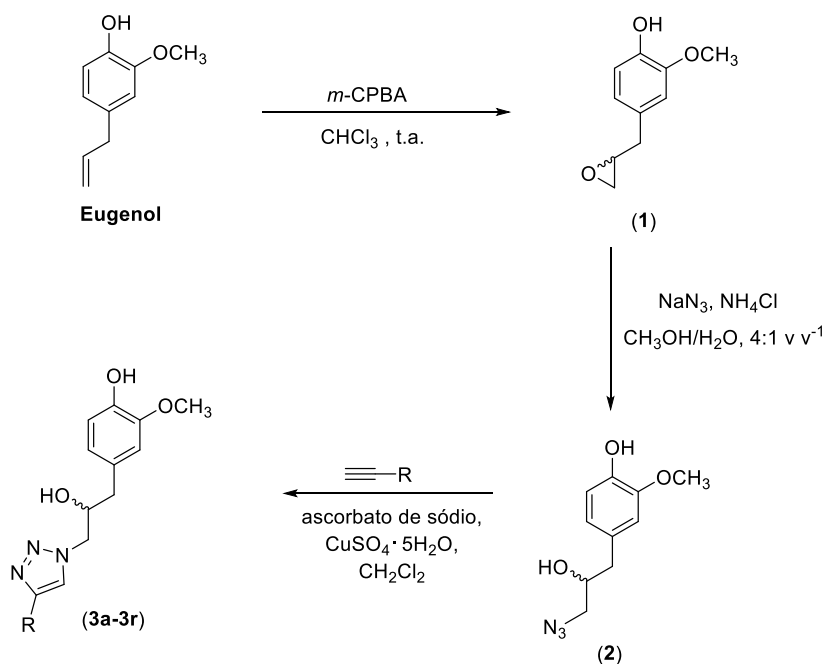


Fonte: Elaborado pela própria autora.

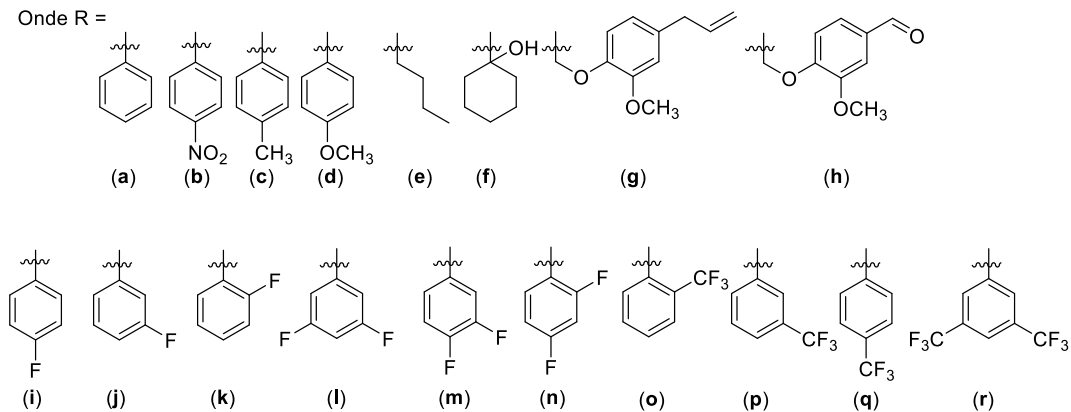
Com base na análise retróssintética apresentada no Esquema 4, a obtenção dos compostos **3a–3r** foi planejada pela utilização da reação "click" (TORNØE *et al.*, 2002; ROSTOVTSE *et al.*, 2002; FREITAS *et al.*, 2011) entre a azida **2** e diferentes alcinos terminais disponíveis comercialmente. A reação de abertura do anel do epóxido **1** com azida de sódio foi escolhida para a obtenção do composto **2**. A síntese de **1** foi planejada via reação de epoxidação do eugenol com ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA).

Com base na análise retróssintética, os compostos **3a–3r** foram preparados de acordo com transformações e condições mostradas no Esquema 5 (página 66).

Esquema 5 - Rota sintética para a preparação dos derivados diidroxilados (**3a–3r**) do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos.



Onde R =

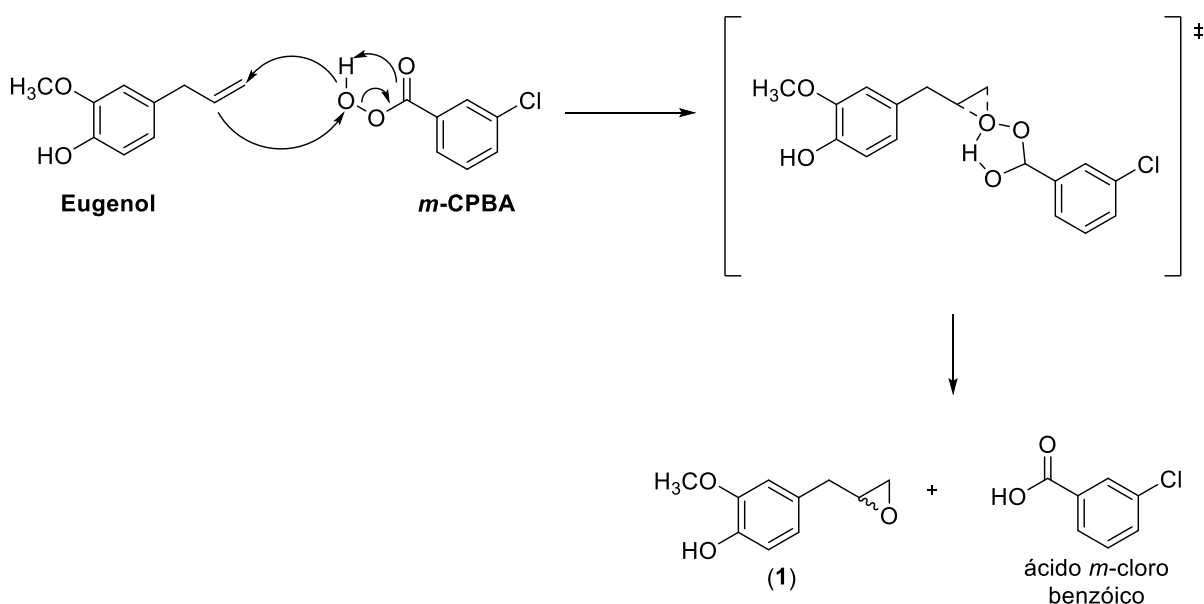


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Considerando a rota sintética apresentado no Esquema 5, a etapa inicial da síntese consistiu na preparação do composto **1** por meio da reação do eugenol com o perácido ácido *m*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA). Uma metodologia bastante utilizada na preparação de epóxidos consiste na reação de alkenos e perácidos, como o ácido

meta-cloroperbenzóico (*m*-CPBA) (CLAYDEN *et al.*, 2001). O eugenol contém um fragmento de alceno (porção alílica do composto) que sofreu epoxidação com o *m*-CPBA. O mecanismo proposto para a formação do epóxido está representado no Esquema 6.

Esquema 6 – Mecanismo para a formação do epóxido **1** a partir da reação do eugenol com *m*-CPBA.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

A reação de epoxidação do eugenol com *m*-CPBA foi submetida a um processo de otimização das condições de reação (Tabela 4, página 68).

Tabela 4 – Otimização das condições da reação entre eugenol e *m*-CPBA.

Experimento	Massa de Eugenol (g)/ quantidade de matéria (mol)	Massa de <i>m</i> -CPBA (g) ^a /quantidade de matéria (mol)	CHCl ₃ (mL)	CH ₂ Cl ₂ (mL)	Volume de solução de Na ₂ SO ₃ (20% mv ⁻¹)	Massa de NaHCO ₃ (g)	T /°C	Tempo (horas)	Porcentagem de conversão
1	1,00/6,10	1,30/5,80	-	60,0	20,0	0,531	t. a.	24	80
2	1,00/6,10	4,10/18,3	30,0	-	20,0	-	50	8	Nd
3	1,00/6,10	2,60/11,6	30,0	-	20,0	-	50	8	Nd
4	1,00/6,10	2,60/11,6	30,0	-	-	-	50	7	84
5	1,00/6,10	2,60/11,6	30,0	-	-	-	t. a.	7	99
6	1,00/6,10	2,60/11,6 ^b	30,0	-	-	-	t. a.	8	98
7	1,00/6,10	2,60/11,6 ^b	30,0	-	-	-	0	6	99

^aO reagente utilizado na reação apresentava 77% de pureza (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

^bAdição fracionada de 10 mL de solução de *m*-CPBA a cada 2 horas.

Nd = Não determinado.

t.a. = Temperatura ambiente.

Em todos os experimentos, 1,00 grama de eugenol (6,10 mmol) foi utilizado como material de partida. O *m*-CPBA utilizado apresentava 77% de grau de pureza. Tipicamente, as reações de epoxidação de alcenos com *m*-CPBA são conduzidas em solventes halogenados como CH₂Cl₂ e CHCl₃ (CLAYDEN *et al.*, 2001). Quando a reação foi realizada em CH₂Cl₂ (Experimento 1) e proporção de equivalentes de eugenol e *m*-CPBA aproximadamente igual a 1:1, o tempo de reação foi de 24 h e a taxa de conversão do eugenol no epóxido **1** de 80%. Resultado similar foi obtido por Li e colaboradores (LI *et al.*, 2020). Bicarbonato de sódio foi utilizado para prevenção de abertura de anel de epóxido pelo sub-produto ácido 3-clorobenzoico formado na reação. Neste experimento, similarmente ao que foi descrito por Li e colaboradores (2020), foi também utilizada solução aquosa de sulfito de sódio (Na₂SO₃) durante a elaboração da reação. Este reagente provoca a conversão do excesso de *m*-CPBA em ácido *m*-clorobenzoico e consequente formação de sulfato de sódio.

Nos Experimentos 2 e 3, variou-se o solvente utilizado (CHCl₃) e os experimentos foram realizados a 50 °C, sendo a proporção entre *m*-CPBA e eugenol iguais 2:1 e 3:1, respectivamente. No processo de elaboração das reações utilizou-se Na₂SO₃. Nestes experimentos não foi possível a determinação da conversão de eugenol no epóxido **1** pois o produto obtido não apresentou pureza satisfatória.

Realizando a reação a 50 °C, com proporção de equivalentes eugenol/*m*-CPBA (~1:2) e sem a utilização de Na₂SO₃ durante a etapa de elaboração, a conversão do eugenol em **1** alcançou 84% (Experimento 4). Realizando a epoxidação do eugenol a 0 °C e mantendo todas as outras condições descritas para o Experimento 4, a conversão alcançou 99% (Experimento 5).

Nos Experimentos 6 e 7, a temperatura foi variada e foram realizadas adições de 10 mL de solução de *m*-CPBA dissolvido em CHCl₃ a cada duas horas de reação.

Embora existiram variações com relação ao tempo de reação, as porcentagens de conversão foram praticamente idênticas. Assim, optou-se por conduzir a reação de epoxidação do eugenol utilizando as condições do Experimento 5.

Após purificação em coluna cromatográfica de sílica gel, a estrutura de **1** foi confirmada por espectroscopia no IV e de RMN de ^1H e ^{13}C .

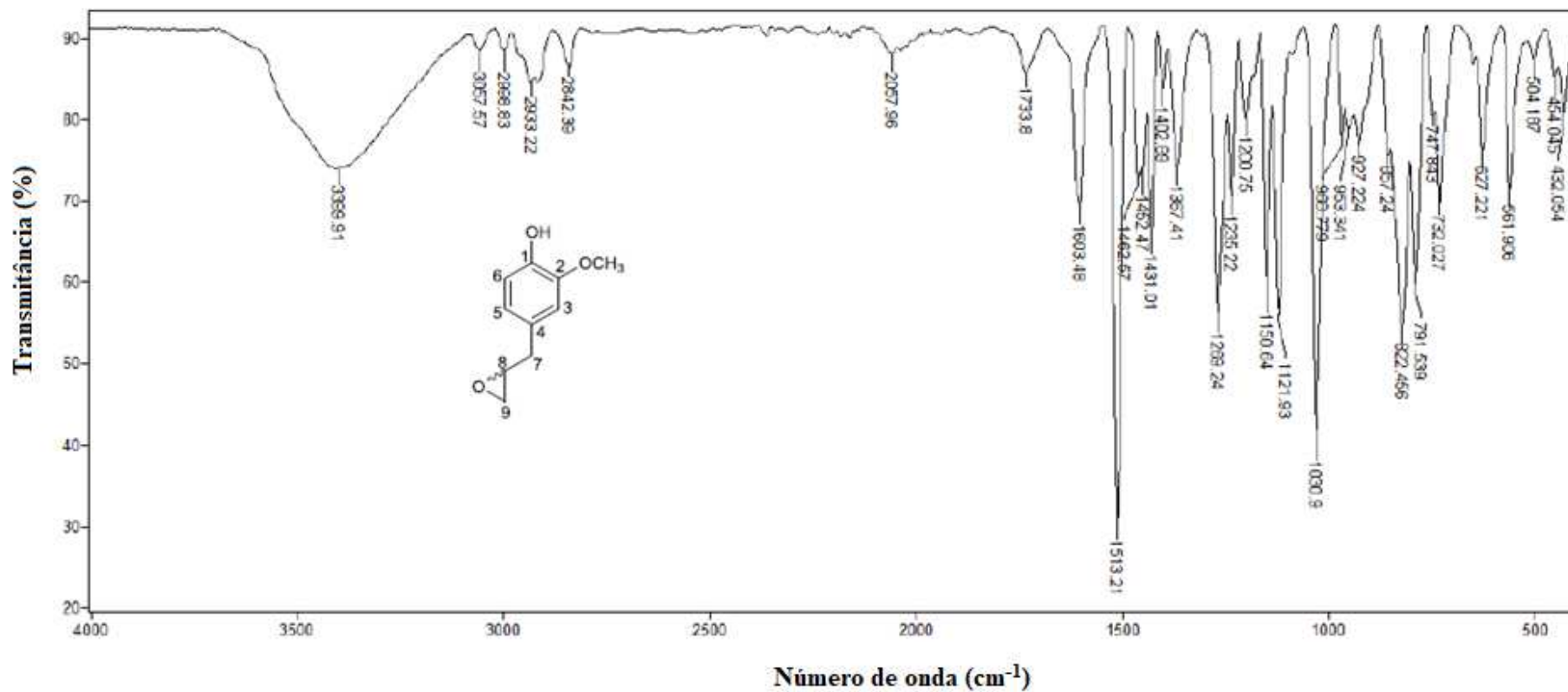
A inspeção do espectro no IV do composto **1** (Figura 10, página 72) confirma a presença do anel de epóxido uma vez que são observadas as bandas em 3057 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C-H, e em 1235 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C-O-C. A banda larga em 3399 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação O-H característica de fenol. As bandas observadas em 2933 e 2842 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento da ligação $\text{C}_{sp^3}\text{-H}$. As bandas em 1603 , 1513 e 1462 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos da ligação C=C de anel aromático. Já a banda em 2998 cm^{-1} foi relacionada ao estiramento da ligação $\text{C}_{sp^2}\text{-H}$. Por fim, as bandas em 1269 e 1030 cm^{-1} referentes aos estiramentos da ligação C-O de éter aromático (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **1** (Figura 11, página 73), é possível observar que os sinais dos hidrogênios H-9 e H-8 tornaram-se mais blindados devido à formação do anel epóxido, com alteração dos deslocamentos comparados aos hidrogênios vinílicos H-8 e H-9 do espectro de de RMN de ^1H do eugenol (Figura 12, página 74), confirmando a formação do composto **1**. O duploduplete observado em δ_{H} 2,56, integrado para um átomo de hidrogênio e com valores de constantes de acoplamento iguais a $J = 5,0\text{ Hz}$ e $J = 2,6\text{ Hz}$ foi atribuído ao átomo de hidrogênio H-9a. Os valores de deslocamento químico e de constantes de acoplamento estão de acordo com os dados típicos descritos na literatura para compostos contendo anéis de três membros (PAVIA *et al.*, 2015). O sinal do hidrogênio H-9b foi observado

sobreposto ao sinal dos átomos H-7a, H-7b, dando origem ao multiplete observado em δ_H 2,80–2,83. O multiplete observado em δ_H 3,12–3,17 foi atribuído ao hidrogênio H-8. O simpleto observado em δ_H 3,90 e integrado para três átomos de hidrogênio foi atribuído aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila (OCH_3). Na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos foi observada a presença do duploduplete em δ_H 6,75 atribuído ao hidrogênio H-5, o qual apresentou constante de acoplamento $J = 8,0$ Hz e $J = 1,8$ Hz. Observou-se também nesta região a presença do duplete em δ_H 6,78 atribuído ao hidrogênio H-3 e o duplete em δ_H 6,87 com constante de acoplamento $J = 8,0$ Hz, atribuído ao hidrogênio H-6. Os valores idênticos de constantes de acoplamento ($J = 8,0$ Hz), encontrados para H-5 e H-6 são típicos para acoplamentos de hidrogênios em posição *orto* e estão em total acordo com a literatura (PAVIA *et al.*, 2015).

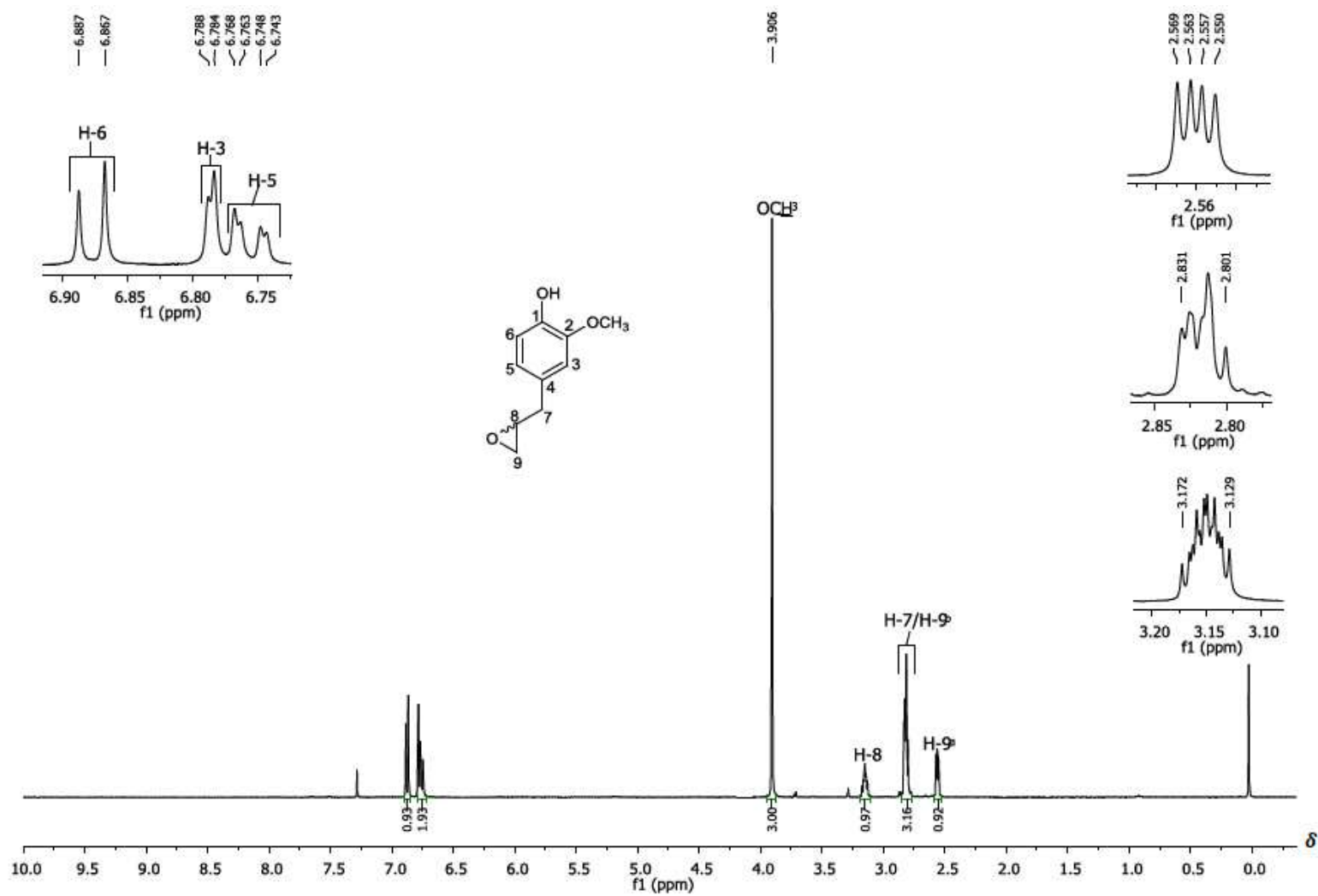
No espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** (Figura 13, página 75) é possível observar que o número de sinais presentes no espectro é condizente com o número de carbonos distintos na estrutura deste composto. Comparando o espectro do composto **1** com o espectro RMN de ^{13}C do eugenol (Figura 14, página 76), [C-9 (δ_C 115,0) e C-8 (δ_C 137,8)], é possível observar que os sinais correspondentes dos carbonos C-9 (δ_C 46,7) e C-8 (δ_C 52,7) tornaram-se mais blindados devido à formação do anel epóxido, confirmando a formação do composto **1**. O sinal observado em δ_C 38,3 foi atribuído ao carbono metilênico (C-7). O sinal observado em δ_C 55,9 foi atribuído ao carbono do grupo metoxila (OCH_3). Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático.

Figura 10 - Espectro no infravermelho (ATR) do composto 1.



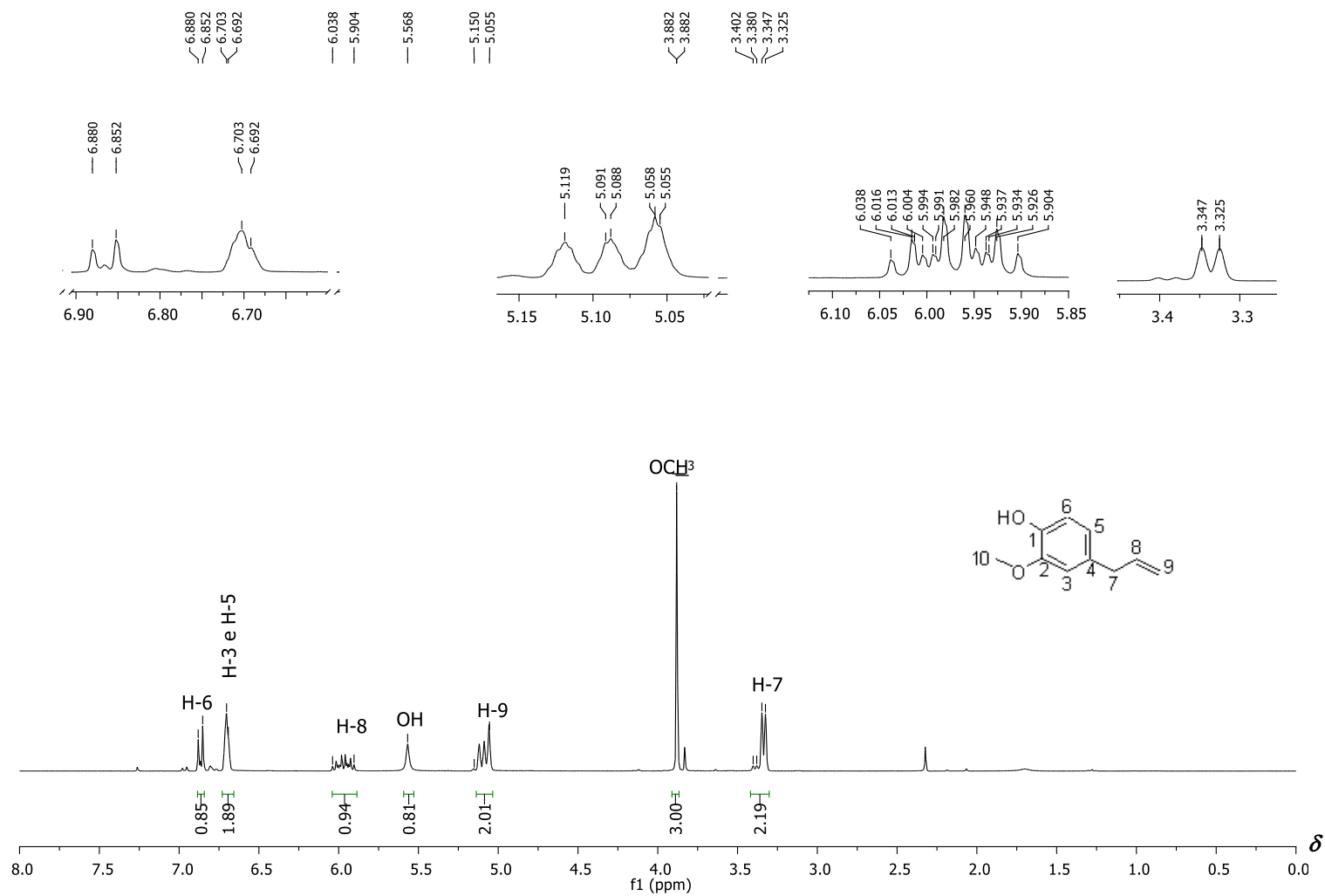
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 11 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 1.



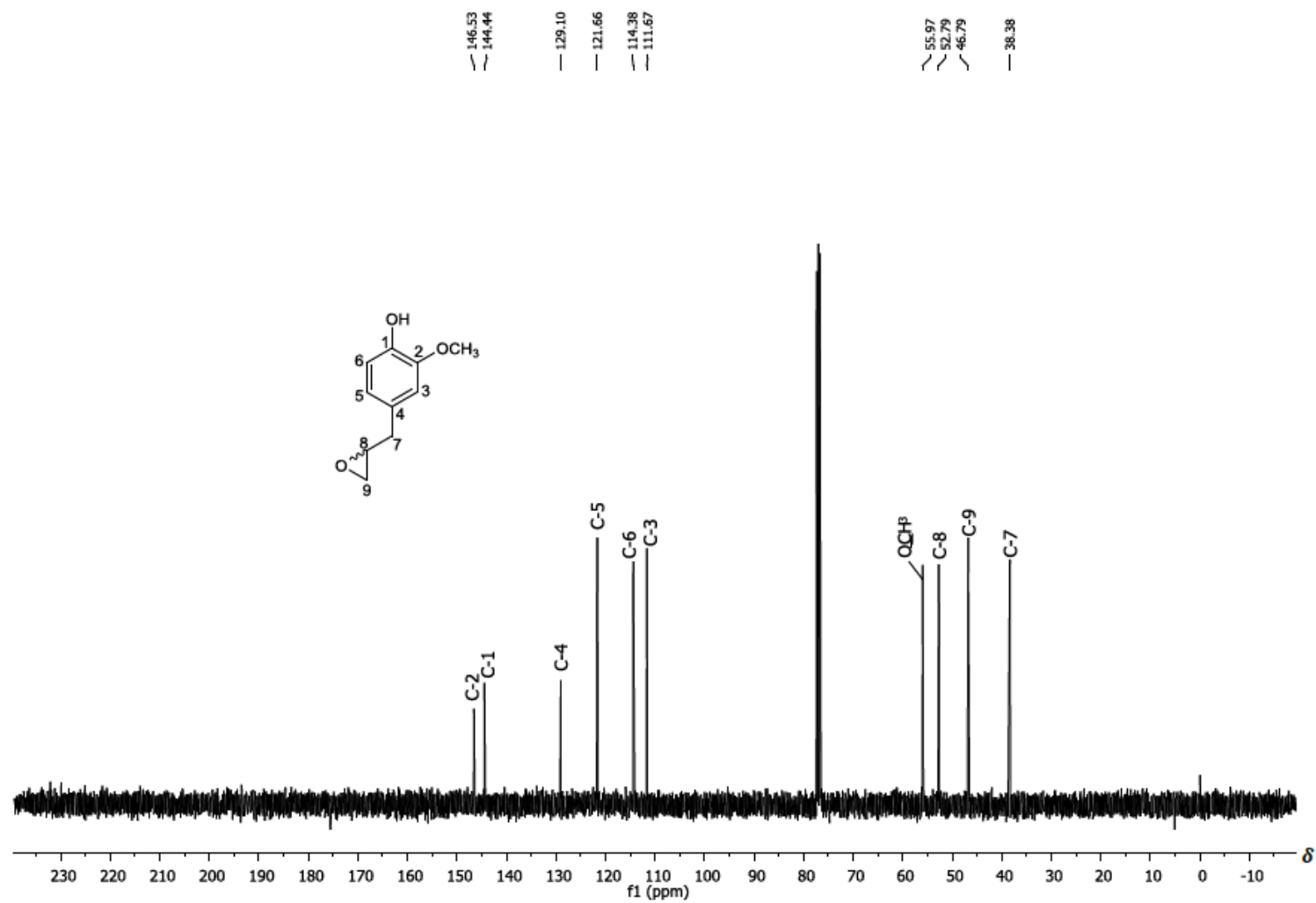
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 12 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do eugenol.



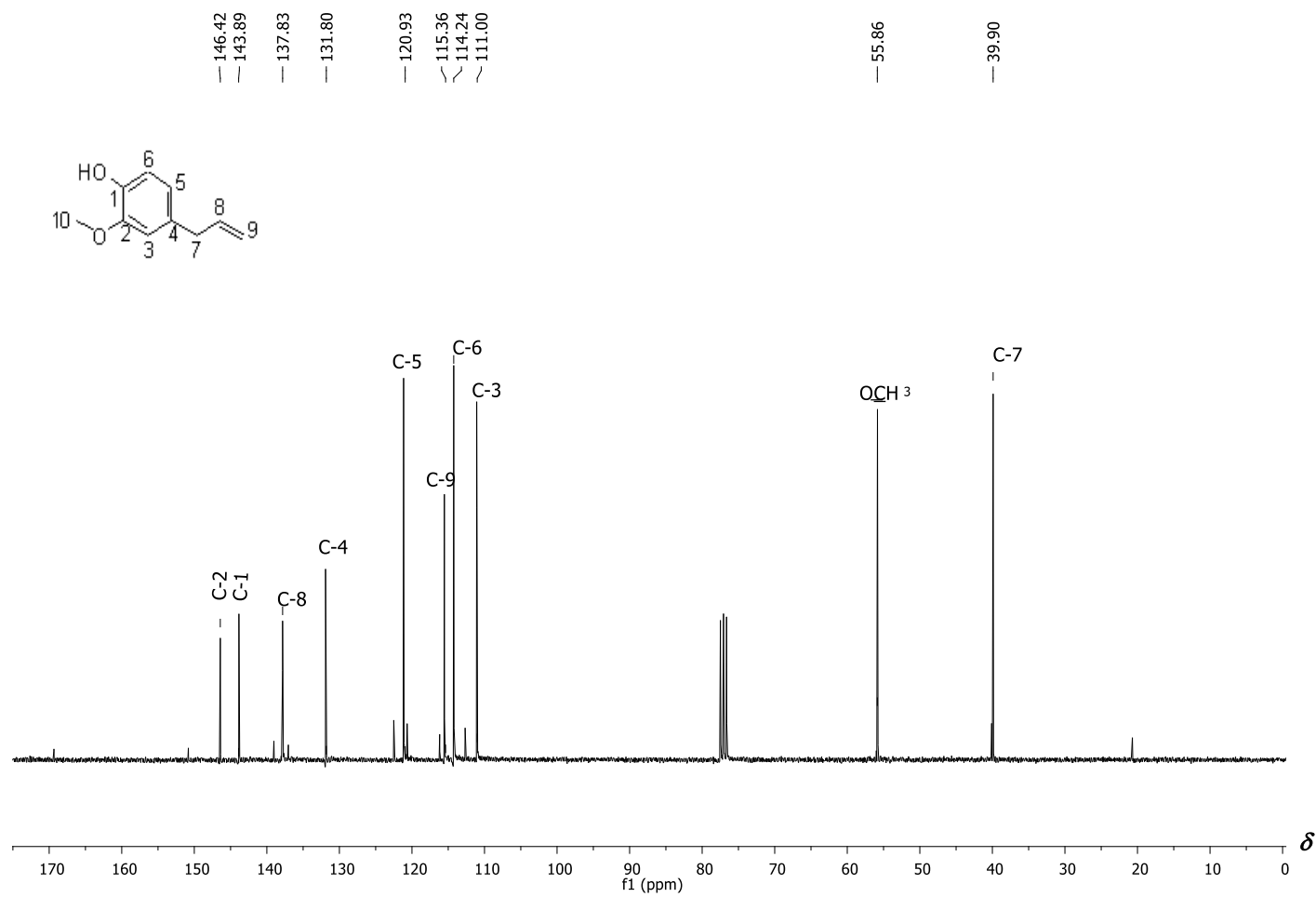
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 13 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 1.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

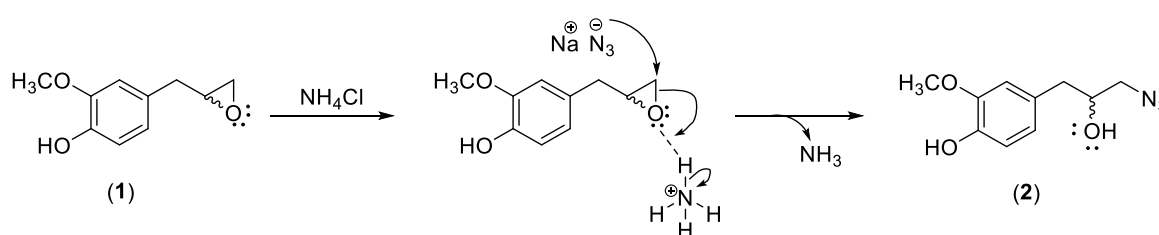
Figura 14 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do eugenol.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Tendo assegurada a obtenção do epóxido **1**, procedeu-se à síntese da azida **2**, por meio da abertura do anel do epóxido de **1**. Para isso, a reação foi realizada na presença de cloreto de amônio e azida de sódio em uma mistura de metanol e água a 60 °C. O composto **2** foi obtido com 86% de rendimento após purificação em coluna cromatográfica de sílica gel. O mecanismo proposto para essa reação está representado no Esquema 7, onde o cloreto de amônio coordena-se ao oxigênio do anel de epóxido de **1**, facilitando o ataque do nucleófilo no carbono menos substituído (FRINGUELLI *et al.*, 1999; AMANTINI *et al.*, 2002).

Esquema 7 – Preparação da azida **2** a partir da abertura de anel de epóxido de **1** por azida de sódio.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

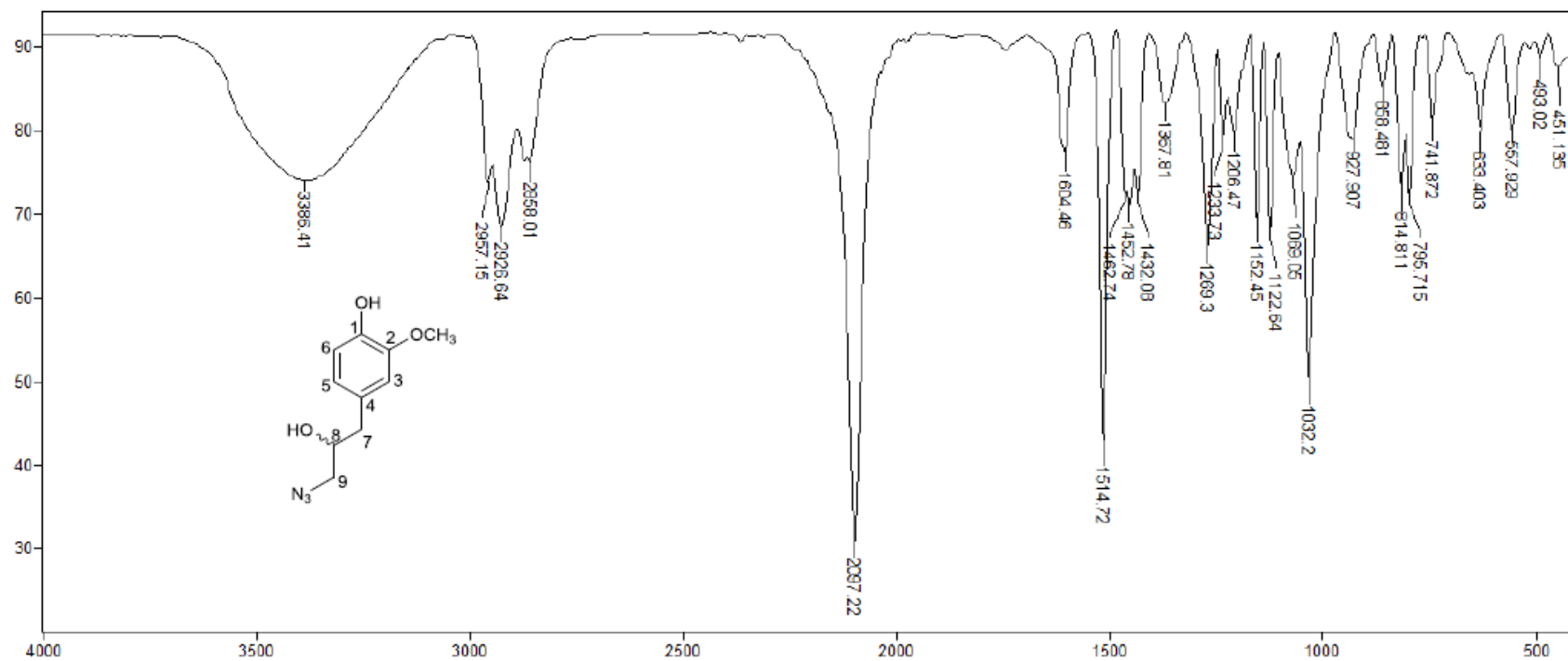
Analisando o espectro no infravermelho dos compostos **1** (Figura 10, página 72) e **2** (Figura 15, página 79), a banda intensa em 2097 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento do grupo N_3 indicando a formação da azida.

No espectro de RMN de ^1H do composto **2** (Figura 16, página 80), os duplosdupletos observados em $\delta_{\text{H}} 2,70$ e $\delta_{\text{H}} 2,75$ foram atribuídos aos átomos de hidrogênio metilênicos diastereotópicos H-7a e H-7b, com constantes de acoplamentos iguais a $J = 13,8 \text{ Hz}$, $J = 7,8 \text{ Hz}$ (H-7a) e $J = 13,8 \text{ Hz}$, $J = 5,8 \text{ Hz}$ (H-7b). Os duplosdupletos observados em $\delta_{\text{H}} 3,28$ ($J = 12,6 \text{ Hz}$ e $J = 6,6 \text{ Hz}$, H-9a) e $\delta_{\text{H}} 3,37$ ($J = 12,6 \text{ Hz}$ e $J = 3,8 \text{ Hz}$, H-9b) foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos H-9a e H-9b, respectivamente. Os sinais para H-9a e H-9b estão

mais desblindados em relação aos hidrogênios H-7a e H-7b devido ao efeito retirador de elétrons, por efeito indutivo, dos átomos de nitrogênio do grupo azida. O sinal do hidrogênio H-8 foi observado como multiplete em δ_H 3,92–3,99, estando mais desblindado em relação aos duplos dupletos uma vez que se encontra ligado diretamente à hidroxila. Os outros sinais foram atribuídos com base nos sinais observados no espectro de RMN de 1H do composto **1** com aqueles observados no espectro do composto **2** (PAVIA *et al.*, 2015).

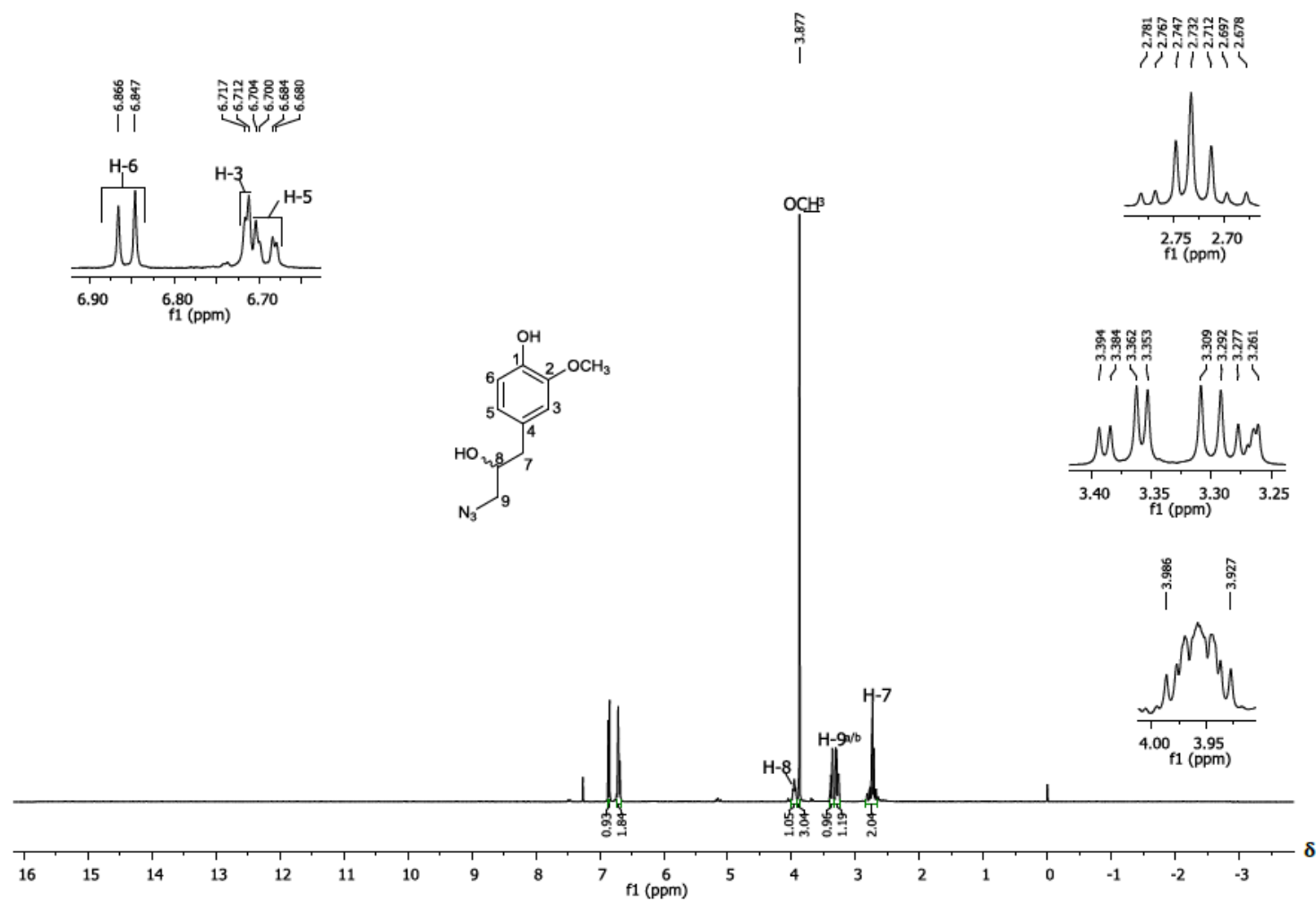
No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17, página 81) observa-se que o número de sinais presentes no espectro está de acordo com a estrutura do composto **2**. O sinal observado em δ_C 55,90 foi atribuído ao grupo metoxila ($-O\text{C}H_3$), enquanto que o sinal em δ_C 55,94 relaciona-se ao carbono C-9 ligado ao grupo funcional azida. Já o sinal em δ_C 71,7 foi relacionado ao carbono C-8 ligado à hidroxila. O sinal observado em δ_C 40,4 foi atribuído ao carbono C-7. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático.

Figura 15 - Espectro no infravermelho (ATR) do composto 2.



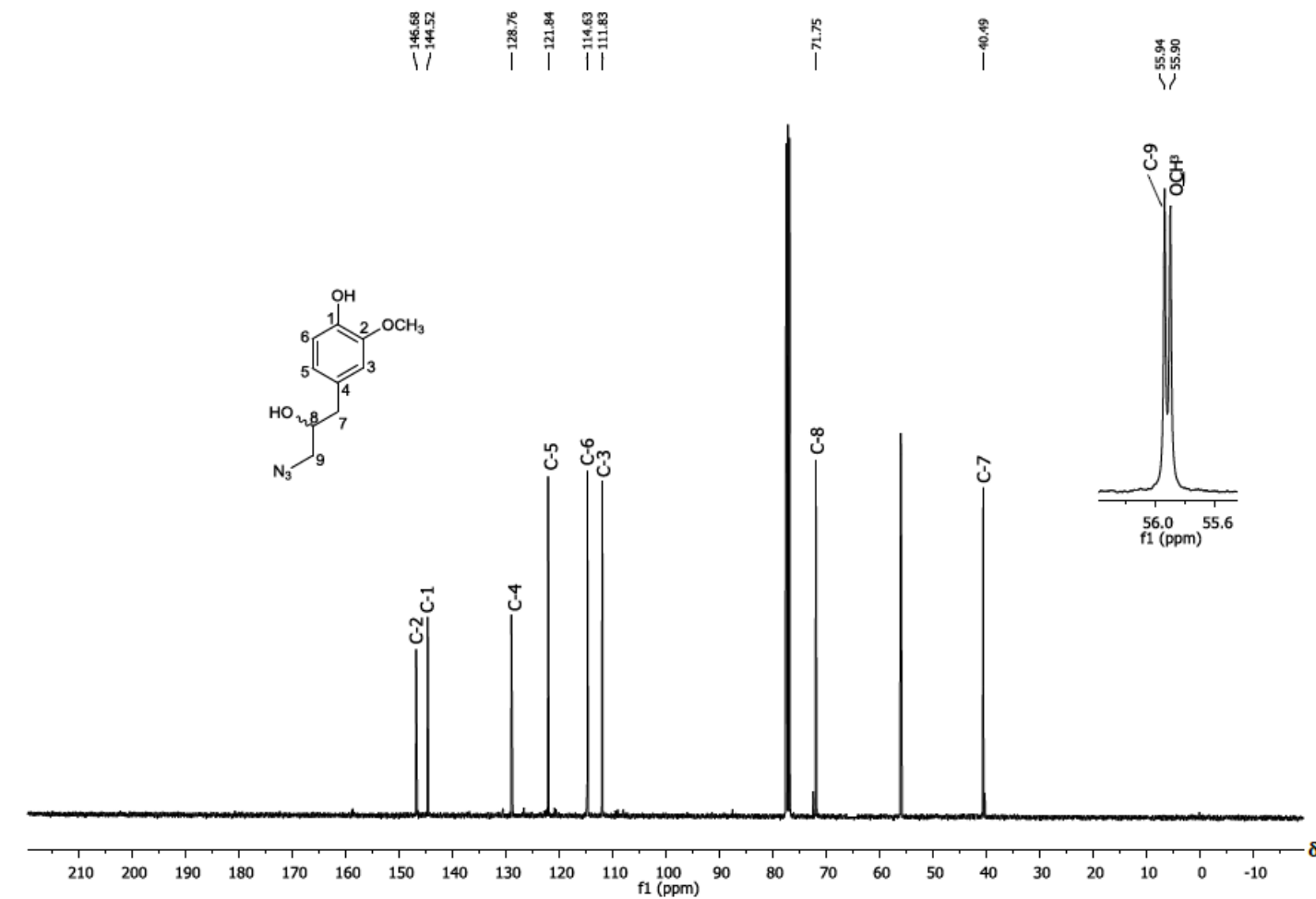
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 2.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 17 - Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 2.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Após a obtenção e caracterização da azida orgânica **2**, procedeu-se a preparação dos derivados dihidroxilados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos. Os compostos **3a–3r** foram preparados por meio de reações CuAAC entre a azida orgânica **2** e diferentes alquinos disponíveis comercialmente (Esquema 5, página 67), e obtidos com rendimentos variando entre 30% e 89%.

Para exemplificar, será realizada a discussão da caracterização estrutural de somente um dos compostos **3a–3r**, os demais espectros estão apresentados no Anexo deste trabalho.

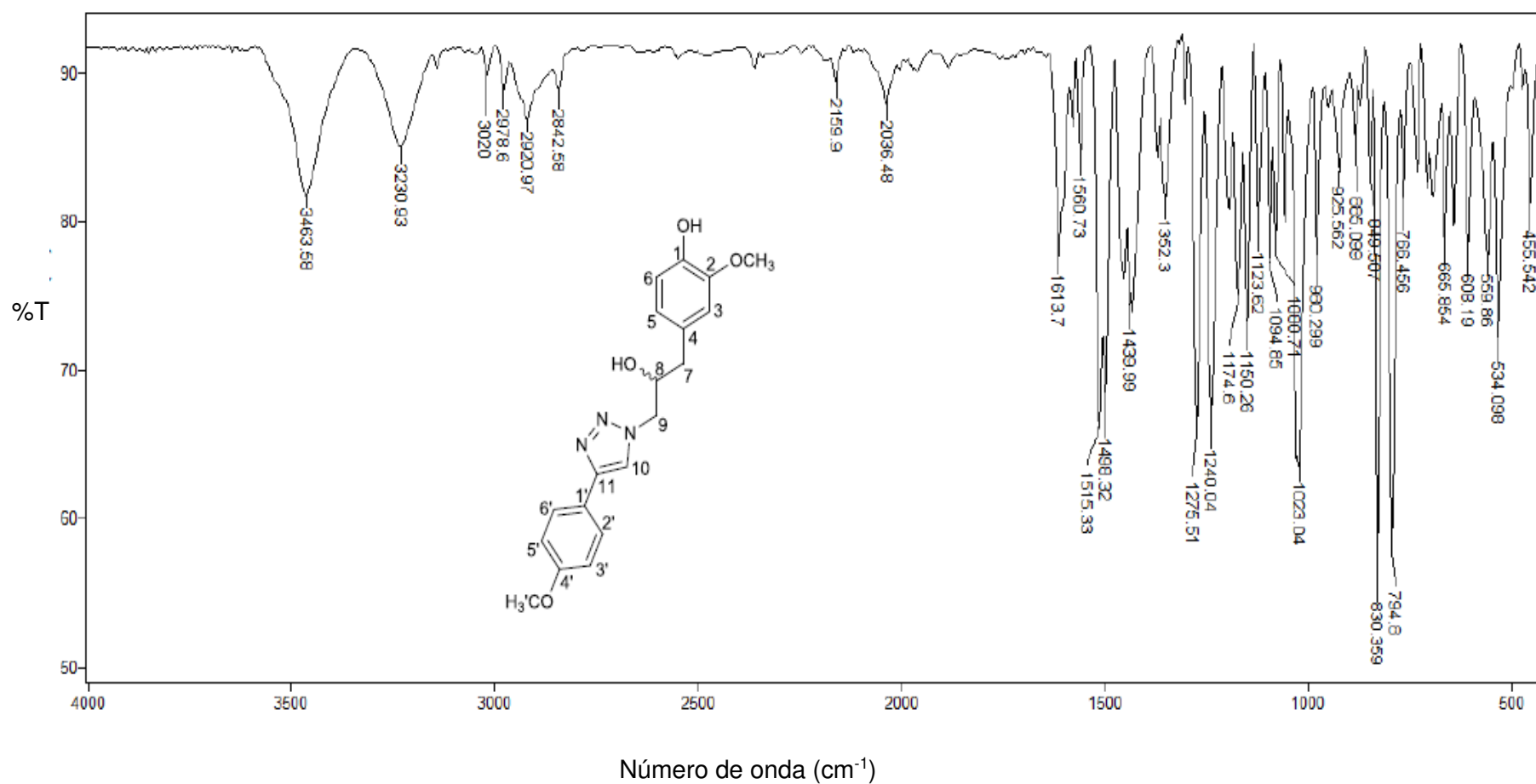
Analisando o espectro no IV do composto **3c** (Figura 18, página 84), é possível observar uma banda larga em 3463 cm^{-1} característica do estiramento do grupo hidroxila. As bandas compreendidas entre $2842\text{--}3230\text{ cm}^{-1}$ são típicas de estiramentos de ligações do tipo $C_{sp^2}\text{-H}$ e $C_{sp^3}\text{-H}$. A banda observada em 1613 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação $C=N$ do anel triazólico. As bandas em 1560 , 1515 , 1498 e 1439 cm^{-1} correspondem a estiramentos das ligações duplas carbono-carbono. A banda em 1240 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico da ligação $=C-O-C$.

No espectro de RMN de ^1H do composto **3c** (Figura 19, página 85), o duplete observado em $\delta_H 2,73$ ($J = 6,6\text{ Hz}$) e integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos hidrogênios H-7. Os simpletos observados em $\delta_H 3,81$ e em $\delta_H 3,84$ foram relacionados aos átomos de hidrogênio dos grupos metoxila OCH_3' e OCH_3 , respectivamente. O multiplete observado em $\delta_H 4,18\text{--}4,23$ e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-8. Os duplodupletos observados em $\delta_H 4,31$ ($J = 13,8\text{ Hz}$ e $J = 7,8\text{ Hz}$) em $\delta_H 4,48$ ($J = 14,1\text{ Hz}$ e $J = 3,3\text{ Hz}$) integrado para um átomo de hidrogênio cada, foram atribuídos aos hidrogênios H-9a e H-9b, respectivamente. O sinal observado em $\delta_H 6,71$ ($J = 7,9\text{ Hz}$ e $J = 1,6\text{ Hz}$) como um

duplo duplete integrado para um átomo de hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio aromático H-5. Os sinais observados em δ_H 6,74 ($J = 7,9$ Hz) e δ_H 6,86 ($J = 1,6$ Hz) como dupletos integrados para um átomo de hidrogênio cada, foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos H-6 H-3, respectivamente. O duplete observado em δ_H 6,97 ($J = 8,7$ Hz), integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos átomos de hidrogênio aromáticos H-3' e H-5'. O duplete observado em δ_H 7,70 ($J = 8,7$ Hz), integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos átomos de hidrogênio H-2' e H-6'. O simpleto observado em δ_H 8,14 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio aromático H-10 presente no anel triazólico.

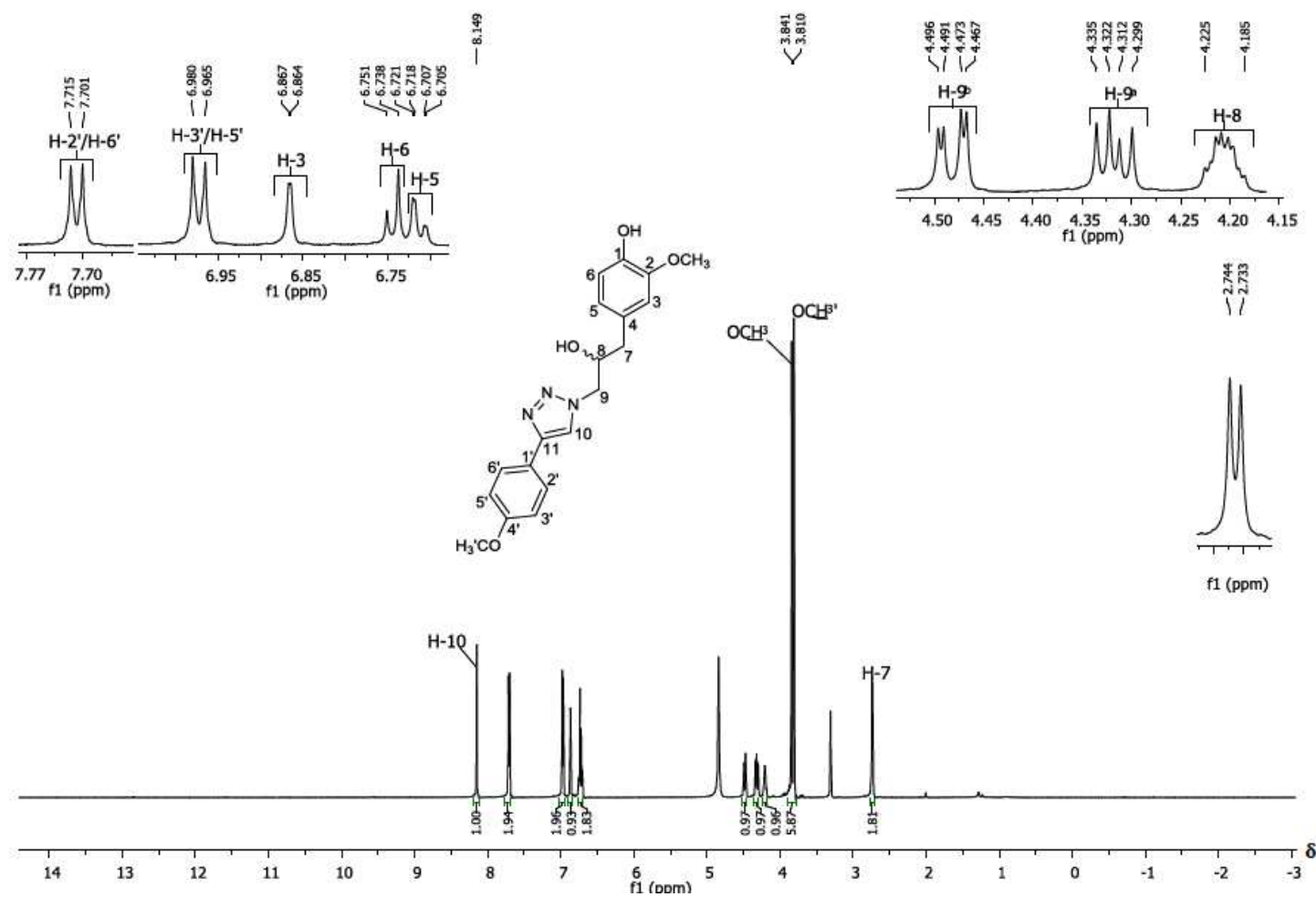
No espectro de RMN de ^{13}C do composto **3c** (Figura 20, página 86), foi possível observar que a quantidade de sinais presentes no espectro está condizente com o número de carbonos distintos da substância. Os sinais observados em δ_C 44,3; δ_C 58,3 e δ_C 75,0 foram atribuídos aos carbonos C-7, C-9 e C-8, respectivamente. Os sinais observados em δ_C 58,9 e δ_C 59,0 relacionam-se aos carbonos dos grupos metoxila OCH_3' e OCH_3 . Os carbonos aromáticos do anel benzílico foram atribuídos como: δ_C 116,7 (C-3); δ_C 118,7 (C-6); δ_C 125,1 (C-5); δ_C 132,9 (C-4); δ_C 148,5 (C-1); δ_C 150,9 (C-2). Os carbonos do anel fenílico foram atribuídos como: δ_C 117,9 (C-3'/C-5'); δ_C 125,5 (C-1'); δ_C 130,7 (C-2'/C-6'); δ_C 163,8 (C-4'). Os sinais observados em δ_C 126,8 e δ_C 151,5 foram atribuídos aos carbonos do anel triazólico C-10 e C-11, respectivamente.

Figura 18 - Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3c**.



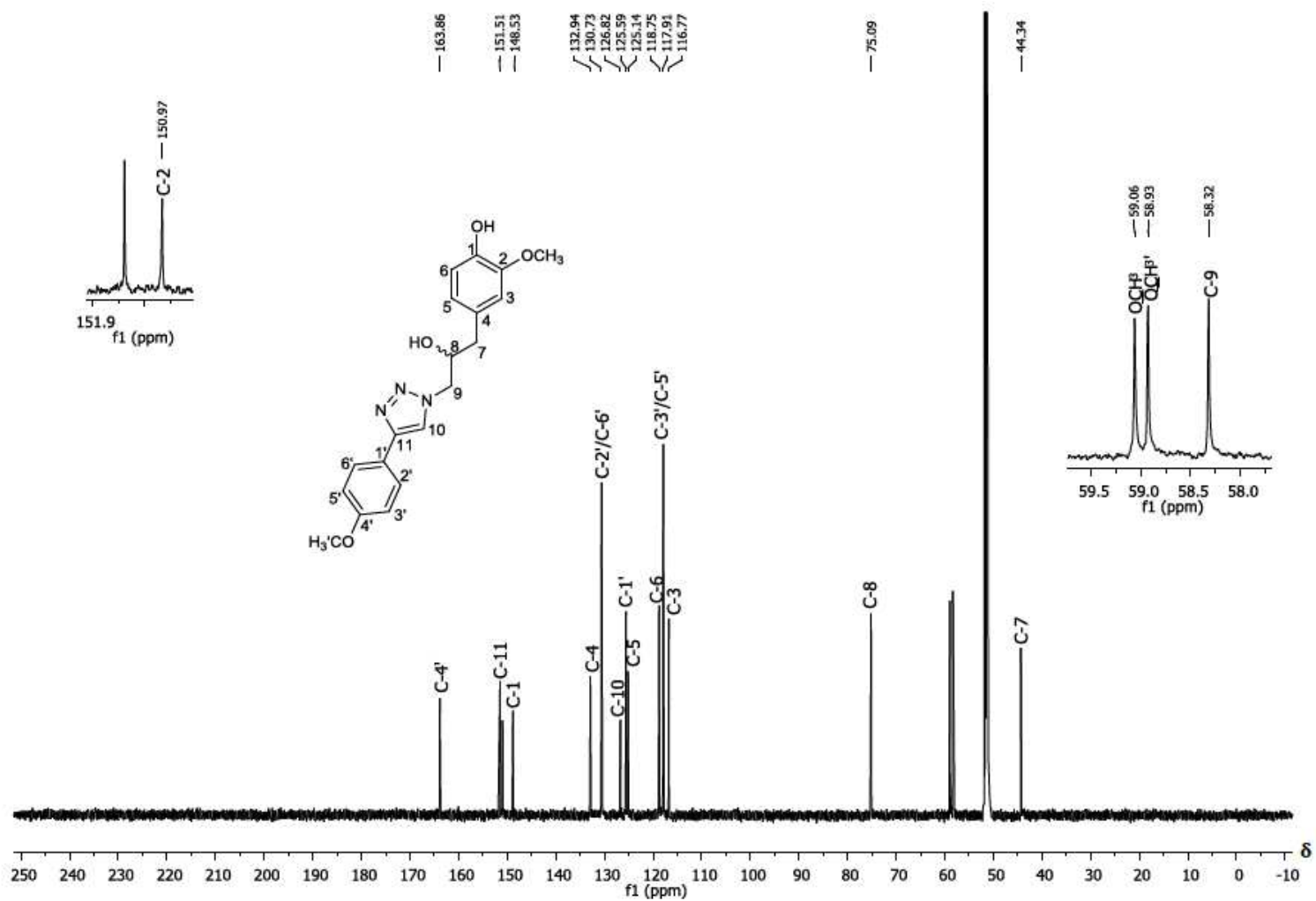
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 19 - Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) do composto **3c**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 20 - Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) do composto **3c**.

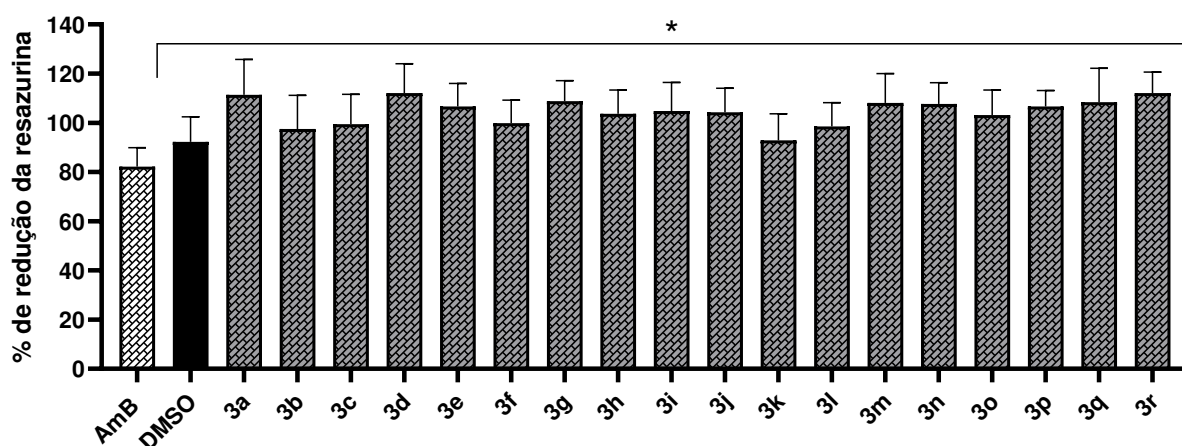


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os alquinos envolvidos nas reações CuAAC foram escolhidos de modo a avaliar o efeito de grupos alifáticos, aromáticos e alicíclicos sobre a atividade antileishmanial. Para os alquinos com grupos aromáticos, foram escolhidos compostos apresentando diferentes padrões de substituição no anel aromático de grupos doadores e retiradores de elétrons no anel. Além disso, alquinos contendo o grupo fluoro e trifluorometila também foram escolhidos. Isto está relacionado à importância que compostos contendo flúor apresentam no campo da química medicinal para o desenvolvimento de compostos bioativos. Devido ao seu pequeno tamanho e forte propriedade de retirada de elétrons, o flúor é amplamente utilizado na química medicinal para melhorar a potência e permeabilidade de uma molécula, modular seu pKa e lipofilicidade, e controlar a conformação molecular (PURSER *et al.*, 2008; GILLIS *et al.*, 2015; HAGMANN, 2008).

Uma vez sintetizados conforme as etapas mostradas no Esquema 5 (página 66), os derivados do eugenol **3a–3r** foram avaliados frente à espécie *L. braziliensis*. Este parasito é o agente etiológico da leishmaniose cutânea. Inicialmente, os compostos tiveram sua toxicidade avaliada na concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ frente a macrófagos RAW 264.7. Conforme descrito anteriormente, os macrófagos estão envolvidos no processo de infecção dos mamíferos pelos parasitos pertencentes ao gênero *Leishmania*. Na Figura 21 (página 88) estão apresentados os resultados da toxicidade dos compostos frente à linhagem celular mencionada anteriormente. A anfotericina B (AmB) foi utilizada como controle positivo e o dimetil sulfóxido (DMSO), utilizado para dissolução dos compostos, foi usado como controle negativo na mesma concentração utilizada na diluição dos compostos.

Figura 21 - Efeito dos compostos **3a–3r** contra macrófagos RAW 264.7 comparado à anfotericina B. Os tratamentos das células foram realizados utilizando a concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ dos compostos por 48 horas usando o método da resazurina. Os dados são representativos da média e do desvio padrão de pelo menos três experimentos independentes que foram realizados com quadruplicatas internas. A barra AmB (controle positivo) representa células tratadas com anfotericina B [$3,125 \mu\text{g mL}^{-1}$; $3,4 \mu\text{mol L}^{-1}$] e a barra DMSO (controle negativo) representa células tratadas com dimetilsulfóxido na mesma concentração utilizada na diluição dos compostos. Os dados foram submetidos à ANOVA unidirecional seguida do teste de Tukey usando GraphPad Prism versão 8.0. Os asteriscos significam a diferença estatística ($p < 0,05$) entre o tratamento e a AmB.



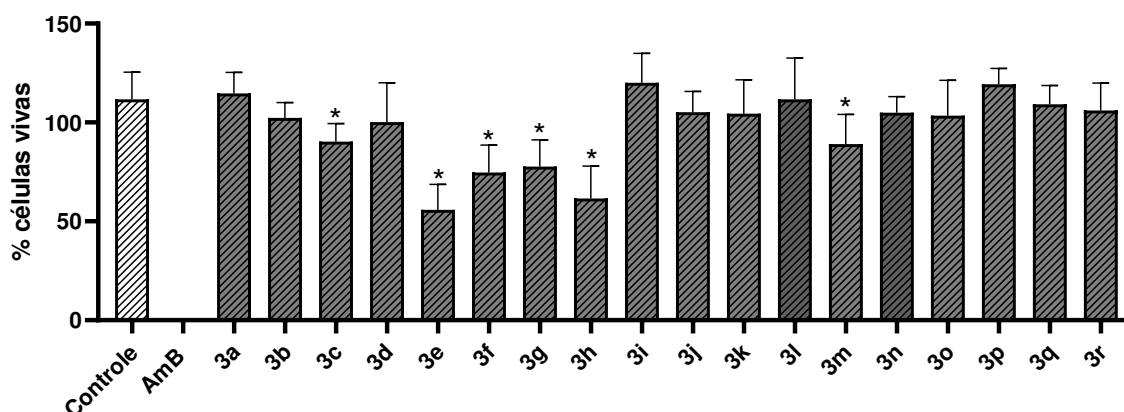
Fonte: Elaborada pela própria autora.

O ensaio de avaliação de citotoxicidade mostrou que os compostos **3a–3r** não possuem citotoxicidade relevante frente aos macrófagos e são menos citotóxicos do que o fármaco comercial anfotericina B. Cumpre ressaltar que é crucial avaliar a atividade dos compostos bioativos contra células de macrófagos em ensaios de avaliação de atividade leishmanicida, pelas seguintes razões:

- i) Fisiopatologia da leishmaniose: As leishmanioses são causadas por parasitas do gênero *Leishmania*, que infectam macrófagos no hospedeiro vertebrado. Portanto, para entender efetivamente o potencial de um composto para tratar a leishmaniose, é essencial avaliar sua atividade contra essas células hospedeiras (SACKS e KAMHAWI, 2001);
- ii) Seletividade e toxicidade: Avaliar a atividade dos compostos contra células de macrófagos também fornece informações cruciais sobre a seletividade do composto. Idealmente, um composto leishmanicida deve ser seletivamente tóxico para as formas parasitárias, sem causar danos significativos às células hospedeiras. Portanto, testar contra macrófagos permite avaliar a toxicidade potencial do composto para as células do hospedeiro (CROFT e COOMBS, 2003);
- iii) Potencial para imunomodulação: Além de seu papel como hospedeiros para *Leishmania*, os macrófagos desempenham um papel crucial no sistema imunológico, incluindo a resposta inflamatória à infecção. Compostos bioativos podem ter efeitos imunomoduladores, alterando a função dos macrófagos. Avaliar a atividade dos compostos contra macrófagos permite identificar qualquer efeito imunomodulador que possa influenciar a resposta do hospedeiro à infecção por *Leishmania* (FREITAS *et al.*, 2024; PEREIRA *et al.*, 2024).

Subsequentemente, os compostos **3a–3r** derivados do eugenol, também na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, tiveram seus efeitos avaliados frente à amastigotas intracelulares de *L. braziliensis* e os resultados estão mostrados na Figura 22 (página 90). Os ensaios foram conduzidos empregando cepas de *Leishmania* expressando a proteína verde fluorescente (*green fluorescent protein* - GFP) seguindo metodologia descrita por BASTOS e colaboradores (2017).

Figura 22 - Efeito dos compostos **3a–3r** contra amastigotas intracelulares de *L. braziliensis*. As células foram tratadas com os compostos na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ dos compostos por 48 horas seguindo a metodologia de ensaio de infecção por *L. braziliensis* – GFP (BASTOS *et al.*, 2017). Os dados são representativos da média e do desvio padrão de pelo menos três experimentos independentes. Os dados foram submetidos à ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Tukey usando GraphPad Prism versão 8.0. Os asteriscos significam a diferença estatística ($p < 0,05$) entre o tratamento e o controle DMSO.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

Dentre os compostos avaliados, os derivados **3e** e **3h** foram os mais efetivos em inibir o parasito, resultando em efeito inibitório de ~ 40%.

Um aspecto merece destaque neste ponto. Katsuno e colaboradores (2015) reportaram critérios específicos para que um composto seja considerado promissor na pesquisa e desenvolvimento de novos agentes químicos para o tratamento da malária, tuberculose, leishmaniose visceral e doença de Chagas. Especificamente no caso da leishmaniose visceral, um dos critérios é que o composto apresente um valor de IC_{50} inferior a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Considerando esta informação, neste trabalho os

derivados do eugenol **3a–3r** foram biologicamente avaliados utilizando a concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Nestas condições, se um composto apresentar efeito antileishmanial nesta concentração, caso dos compostos **3e** e **3h**, considera-se que a substância possui significativa ação leishmanicida. Ainda que os critérios descritos por Katsuno e colaboradores (2015) tenham sido relacionados à leishmaniose visceral, acredita-se que estes critérios possam ser utilizados em investigações envolvendo parasitos causadores da leishmaniose cutânea. É provável que Katsuno e colaboradores(2015) descreveram os critérios para a leishmaniose visceral, pois esta é a manifestação clínica que mais chama a atenção de pesquisadores por ser a forma mais grave das leishmanioses.

Os compostos **3e** e **3h** foram selecionados para determinação dos valores de IC_{50} e CC_{50} e os resultados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Determinação dos valores de CC_{50} e IC_{50} para os compostos **3e** e **3h**. O CC_{50} e o IC_{50} foram determinados em macrófagos e no ensaio de infecção, respectivamente, pelo método de resazurina após 48 horas. O programa GraphPad Prisma versão 5.03 foi usado para determinação dos valores CC_{50} e IC_{50} realizando um ajuste não linear e os dados representam a média e o desvio padrão de pelo menos três experimentos independentes com quadruplicatas internas para cada um deles.

Composto	$\text{CC}_{50} (\mu\text{mol L}^{-1})$ MØ	$\text{IC}_{50} (\mu\text{mol L}^{-1})$ amastigotas intracelulares de <i>L. braziliensis</i>	IS
3e	> 200	17,48	>11,4
3h	> 200	37,87	>5,3

MØ: macrófagos.

IS (Índice de Seletividade) = $\text{CC}_{50}(\text{MØ})/\text{IC}_{50}$ (amastigotas intracelulares de *L. braziliensis*).

Katsuno e coautores (2015) descrevem que deve haver uma janela de seletividade (índice de seletividade) maior que 10 vezes para citotoxicidade usando uma linhagem celular de mamífero, como os macrófagos, como critério geral para a seleção de compostos promissores para o desenvolvimento de novos agentes químicos para o tratamento de doenças negligenciadas, como as leishmanioses. Considerando este critério, o composto **3e** atende a este critério de seleção.

6. SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTILEISHMANIAL DE COMPOSTOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS DERIVADOS DO ORTO-EUGENOL



<https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230073>

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 34, No. 12, 1810-1824, 2023
©2023 Sociedade Brasileira de Química

Article

Synthesis and Evaluation of the Antileishmanial Activity of Novel Eugenol Analogs Containing 1,2,3-Triazole Fragments against Intracellular *Leishmania braziliensis*

Roberta S. Evangelista,^{#a} Larissa C. Pereira,^{#b} Luciana Á. de Souza,^c Adilson V. Costa,^{Ⓜd}
Danilo A. da Silva,^d Fabrício M. de Oliveira,^e Boniek G. Vaz,^{Ⓜf} Gustavo C. Bressan,^b
Juliana L. R. Fietto^b and Róbson R. Teixeira^{Ⓜ*,a}

^aGrupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos (GSPCB), Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa-MG, Brazil

^bDepartamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa-MG, Brazil

^cDepartamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 Viçosa-MG, Brazil

^dGrupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS), Departamento de Química e Física, Universidade Federal do Espírito Santo, 29500-000 Alegre-ES, Brazil

^eGrupo de Química e Bioquímica de Moléculas Bioativas, Instituto Federal de Minas Gerais, 36494-018 Ouro Branco-MG, Brazil

^fDepartamento de Química, Universidade Federal de Goiás, 74690-900 Goiânia-GO, Brazil

This investigation describes the synthesis of eugenol analogs presenting 1,2,3-triazole fragments and evaluation of their antileishmanial activity. The alkylation of guaiacol (**1**) with allyl bromide afforded 1-(allyloxy)-2-methoxybenzene (**2**) (93% yield). The Claisen rearrangement conducted with **1** gave *ortho* eugenol (**3**) (82% yield). Alkylation procedures performed with **3** produced 1-allyl-3-methoxy-2-(prop-2-yn-1-yloxy)benzene (**4**) (73% yield) and 1-allyl-3-methoxy-2-(pent-4-yn-1-yloxy)benzene (**6**) (53% yield). The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) reactions involving alkynes **4** and **6** with different benzylic azides afforded twenty-two eugenol analogs with 1,2,3-triazole functionalities (48-93% yield). We screened the compounds at 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ against *Leishmania braziliensis* intracellular amastigotes during macrophage infection. The action of these compounds was compared with the known leishmanicidal drug amphotericin B. None of the analogs were toxic to macrophages at 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The cytotoxic concentration at 50% (CC₅₀), effective concentration at 50% (EC₅₀), and selectivity index (SI) were determined to the best compounds 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8c**) and 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-trifluoromethoxybenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8h**). They showed a significant leishmanicidal effect, with EC₅₀ of 28.09 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (**8c**) and 52.03 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (**8h**). The SIs were 9.7 for **8c** and > 5.7 for **8h**. These compounds have the potential as new leishmanicidal agents against *L. braziliensis* and may represent a starting point for the development of alternative treatments for cutaneous leishmaniasis.

Keywords: leishmaniasis, eugenol analogs, ortho-eugenol, 1,2,3-triazoles, cutaneous leishmaniasis

Introduction

Leishmaniasis is a group of parasitic infections caused by at least 20 species of the *Leishmania* genus.¹ They are transmitted to mammal hosts during the bite of

vector insects of the genera *Lutzomyia* and *Phlebotomus*, collectively known as sandflies and belonging to the order Diptera. The transmission occurs when infectious metacyclic promastigotes of the parasite in the gut of a female sandfly are inoculated into the host mammal during a blood meal.²

Three main forms of leishmaniasis, visceral, cutaneous, and mucocutaneous, are known, which depend on the

*e-mail: robsonr.teixeira@ufv.br

[#]These authors contributed equally to this work.

Editor handled this article: Teodoro S. Kaufman

virulence of the infecting protozoan, the susceptibility of the host, and co-infections.^{3,4} The clinical manifestation of the disease may occur asymptotically to the lethal form. In the tegumentary forms, the symptoms range from skin infections (cutaneous leishmaniasis), starting with a small lump at the site of protozoan inoculation, which may progress to plaque and ulcer formation, to nose and mouth mucosal deformations and disabilities in the mucosal form. In the most severe visceral form, hemorrhages and severe anemia occur leading to death if not treated.¹

Leishmaniasis is among the top ten neglected tropical diseases. These diseases mainly affect low-income populations in developing countries, causing significant morbidity and mortality.^{5,6} It is estimated that, globally, there are about 12 million people infected with leishmaniasis, 0.9 to 1.6 million new cases each year, between 20,000 and 30,000 deaths, and 350 million people at risk of infection.⁶ Therefore, leishmaniasis is an important public health concern and deserves attention.

The treatment of leishmaniasis is carried out through drug administration, mainly with the use of pentavalent

antimonials, such as meglumine antimoniate and sodium stibogluconate, which are regarded as the first-line drugs.^{7,8} Severe side effects (ranging from injection site pain (administration is parenteral), anorexia, adynamia, and even cardiotoxicity), the need for daily parenteral administration, and drug resistance are important problems related to the use of pentavalent antimonials.^{7,8}

Other alternative drugs for the treatment of leishmaniasis are different formulations of amphotericin B, pentamidine, and paromomycin, which are considered second-line drugs and used in case of antimonial resistance of parasites.^{9,10} There are also problems associated with the use of these drugs such as the need for hospitalization, the high cost of some formulations, and side effects, including fever, renal dysfunction, nausea, abdominal pain, and hepatotoxicity.^{9,10} Figure 1 shows the structures of the main drugs used for leishmaniasis treatment.

In view of the aforementioned problems related to the drugs currently utilized for leishmaniasis treatment, the search and development of alternatives is an important demand. In this sense, the use of compounds obtained from

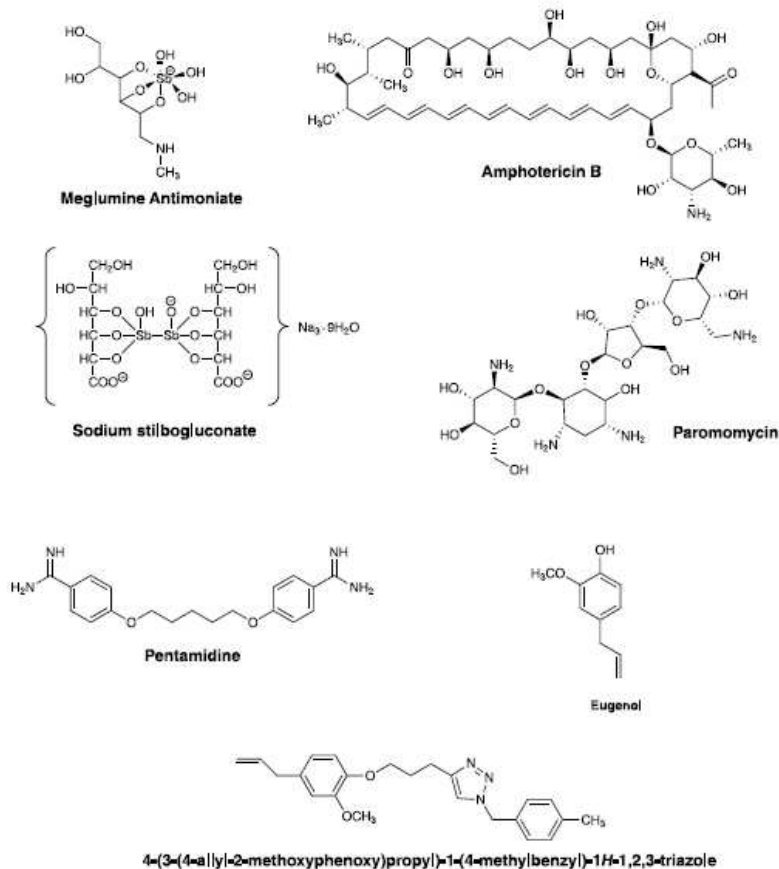


Figure 1. Structures of antileishmanial drugs, eugenol and eugenol derivative with 1,2,3-triazole functionality.

nature is an important approach.^{11,12} The natural compounds can be used directly as drugs or chemically modified to improve their leishmanicidal effect. One of such natural products is eugenol (Figure 1).

Eugenol is a compound present in a variety of plants. However, *Eugenia caryophyllata* (= *Syzygium aromaticum*), known as clove, corresponds to the main natural source since generally 45 up to 90% of the oil obtained from this species is eugenol.¹³ It is a very versatile substance that has several bioactivities, such as anti-inflammatory, antibacterial, antifungal, antiviral, insecticide, anticancer, analgesic, antioxidant, antimalarial, and leishmanicide.¹³ Besides, eugenol is synthetically useful for the preparation of several organic compounds.¹⁴ Our research group prepared a series of eugenol derivatives presenting 1,2,3-triazole fragments and evaluated their antileishmanial activity on *Leishmania amazonensis*.¹⁵ It was found that compound 4-(3-(4-allyl-2-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-methylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (Figure 1) showed the highest efficacy (half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) 7.4 μmol L⁻¹) against promastigote forms. This compound was selected for the evaluation of its effect against the intracellular amastigotes, with an IC₅₀ 1.6 μmol L⁻¹ and a macrophage selectivity index of 132.5.

Based on the premises and in continuation of our efforts to find useful compounds for leishmaniasis treatment by exploring the eugenol/1,2,3-triazole scaffold, it is described in the present investigation the preparation of novel eugenol analogs with 1,2,3-triazole fragments and the results concerning their antileishmanial activity evaluation now against *Leishmania braziliensis* which is the main species related with tegumentary leishmaniasis in the New World.

Experimental

Synthesis

Generalities

Solvents were purchased from F Maia (Mogi das Cruzes, SP, Brazil). Guaiacol, benzyl alcohols, pent-4-yn-1-ol, mesyl chloride, sodium azide, triethylamine, propargyl bromide, allyl bromide, tetrabutylammonium bromide, sodium ascorbate, copper(II) sulfate pentahydrate were procured from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and used as received. The nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded on a Varian Mercury 300 instrument (Varian, Palo Alto, CA, USA) at 300 MHz (¹H) and 75 MHz (¹³C), Bruker Avance DRX NMR (Billerica, Massachusetts, CA, USA) at 400 MHz (¹H) and 100 MHz (¹³C) and Bruker Avance at 600 MHz (¹H) and 150 MHz (¹³C), respectively, using CDCl₃ as solvent. NMR data are

presented as follows: chemical shift (δ) in ppm, multiplicity, the number of hydrogens, *J* values in hertz (Hz), and hydrogen assignment. Multiplicities are shown as the following abbreviations: s (singlet), s_{ap} (apparent singlet), d (doublet), dd (doublet of doublets), dd_{ap} (apparent doublet of doublets), t (triplet), dq (doublet of quartets), ddt_{ap} (apparent doublet of doublets of triplets), t_{ap} (apparent triplet), dt (doublet of triplets), q (quartet), quint (quintet), sept (septet), m (multiplet). Fourier-transformed infrared (FTIR) spectra were obtained using Varian 660-IR (Palo Alto, CA, USA) equipped with GladiATR scanning from 4000 to 500 cm⁻¹. High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a Q-Exactive (Thermo Scientific, Bremen, Germany). The spectra were acquired using the following conditions, ionization source: electron spray (+) and (-); spray voltage: 3.5 kV; capillary temperature: 275 °C; sheath gas: 5 (arbitrary units); auxiliary gas: 0 (arbitrary units). For the mass spectrometry analyses, the samples were prepared as follows: a mass of 1 mg of the compound to be analyzed was dissolved in 1 mL of acetonitrile. Then, the solution was diluted with 1 mL of methanol so that the final concentration corresponded to 1 ppm. The resulting solution was directly injected into the Q-Exactive equipment at 5 μL min⁻¹. The spectra were recorded in full MS mode. Melting points were uncorrected and obtained from an MQAPF-301 melting point apparatus (Microquímica, Palhoça, SC, Brazil). Analytical thin layer chromatography (TLC) analyses were conducted on aluminum-backed precoated silica gel plates using different solvent systems. After elution, the TLC plates were visualized using potassium permanganate solution and ultra-violet (UV) light. Column chromatography was performed using silica gel 60 (60-230 mesh). Solvents were dried using standard procedures described in the literature.¹⁶

Synthesis of 1-allyloxy-2-methoxybenzene (2)

A round bottom (100 mL) was charged with guaiacol (1) (2.25 mL, 20.0 mmol) and toluene (10.0 mL). The mixture was cooled in an ice bath and 10.0 mL of NaOH aqueous solution (35% m v⁻¹) and 0.389 g of tetrabutylammonium bromide (2.00 mmol) were added. The resulting mixture was kept under magnetic stirring for 1 h. Then, 2.07 mL of allyl bromide (24.0 mmol) were added. After that, the ice bath was removed and the reaction mixture was kept under stirring at room temperature. The completion of the reaction was confirmed after 3 h by TLC analysis. Then, brine (7.00 mL) was added to the reaction mixture, and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with diethyl ether (3 × 20 mL). The organic extracts were combined and the resulting organic phase was washed with 1 mol L⁻¹ NaOH aqueous solution, dried

under anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Compound **2** was obtained in 93% yield (3.12 g, 12.0 mmol) and was not subjected to any subsequent purification procedure. Its structure is supported by the following data.

Yellow oil; TLC: $R_f = 0.53$ (hexane-ethyl acetate 6:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3077, 3012, 2942, 2834, 1585, 1501, 1454, 1253, 1121, 1020, 922, 737, 576; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.86 (s, 3H), 4.61 (dt, J 5.2, 1.4 Hz, 2H), 5.28 (dq, J 10.4, 1.4 Hz, 1H), 5.39 (dq, J 17.2, 1.4 Hz, 1H), 6.08 (dd_{ap}, J 5.2, 10.4, 17.2 Hz, 1H), 6.84-6.95 (m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 56.1, 70.0, 111.9, 113.4, 117.5, 120.8, 121.2, 133.3, 148.0, 149.7; HRMS [$M + \text{Na}^+$] calcd. for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{Na}$: 187.07350, found: 187.07299.

Synthesis of *ortho*-eugenol (**3**)

To a sealed tube, it was added 3.00 g (0.018 mol) of 1-allyloxy-2-methoxybenzene (**2**) under a nitrogen atmosphere. Compound **2** was kept under stirring at 200 °C for 10 h. After that, the system was cooled down to room temperature. Compound **3** was purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (8:1 v v⁻¹) and obtained in 82% yield (2.45 g, 14.9 mmol).

Yellow oil; TLC: $R_f = 0.54$ (hexane-ethyl acetate 8:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3525 (broad band), 3081, 2840, 1638, 1616, 1592, 1481, 1436, 1353, 1270, 1214, 1068, 994, 908, 779, 735; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.39-3.43 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 5.02-5.10 (m, 2H), 5.71 (s, 1H, OH), 6.00 (dd_{ap}, J 6.8, 10.0, 16.8 Hz, 1H), 6.71-6.81 (m, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 33.6, 56.1, 108.4, 115.1, 119.3, 122.4, 125.7, 136.6, 143.5, 146.2; HRMS [$M - \text{H}^+$] calcd. for $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_2$: 163.07590, found: 163.07575.

Synthesis of 1-allyl-3-methoxy-2-(prop-2-yn-1-yloxy)benzene (**4**)

To a round bottom flask, it was added *ortho* eugenol (**3**) (1.15 g, 7.00 mmol) and toluene (10.0 mL). The reaction mixture was cooled in an ice bath. Then, NaOH aqueous solution 35% m v⁻¹ (10.0 mL) and tetrabutylammonium bromide (0.225 g, 0.700 mmol) were added to the mixture. The resulting mixture was kept under magnetic stirring for 1 h. After that, propargyl bromide (0.726 mL, 8.40 mmol) was added, the ice bath was removed and the resulting mixture was stirred at room temperature for a further 4 h. Subsequently, toluene was removed under reduced pressure and saturated NaCl aqueous solution (7.00 mL) was added. The layers were separated and the aqueous phase was extracted with diethyl ether (3 × 20 mL). The organic extracts were combined and the resulting organic

phase was dried under anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The product was purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (6:1 v v⁻¹). Compound **4** was obtained in 73% yield (0.798 g, 3.95 mmol).

Yellow oil; TLC: $R_f = 0.65$ (hexane-ethyl acetate 6:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3291, 3087, 3004, 2937, 2840, 2362, 2165, 2125, 1994, 1633, 1584, 1477, 1361, 1270, 1198, 1068, 998, 911, 782, 744, 628, 538; ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 2.44 (t, J 2.6 Hz, 1H), 3.48-3.52 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.70 (d, J 2.6 Hz, 2H), 5.02-5.11 (m, 1H), 5.97 (dd_{ap}, J 6.6, 10.0, 16.8 Hz, 1H), 6.76-6.81 (m, 2H), 7.01 (t, J 7.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 34.2, 55.7, 59.7, 74.7, 79.6, 110.4, 115.7, 122.0, 124.0, 134.6, 137.2, 144.5, 152.5; HRMS [$M + \text{H}^+$] calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{O}_2$: 203.10720, found: 203.10675; [$M + \text{Na}^+$] calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{Na}$: 225.08915, found: 225.08864.

Synthesis of pent-4-yn-1-yl methanesulfonate (**5**)

A round bottom flask (100 mL), under a nitrogen atmosphere, was charged with pent-4-yn-1-ol (1.68 g, 20.0 mmol) and 20.0 mL of dichloromethane. The reaction mixture was cooled to -50 °C and 5.60 mL of triethylamine (40.0 mmol) was added. Then, mesyl chloride (2.30 mL, 30.0 mmol) dissolved in 1.00 mL of dichloromethane was slowly added to the reaction mixture. The resulting mixture was stirred for 4 h and the completion of the reaction after this time was confirmed by TLC analysis. Subsequently, distilled water (10.0 mL) was added and the phases were separated. The organic phase was washed with 0.1 mol L⁻¹ HCl aqueous solution (3 × 15.0 mL), followed by saturated NaHCO_3 aqueous solution (3 × 5.00 mL), dried under anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Compound **5** was purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate-dichloromethane (3:1:3 v v⁻¹). This procedure afforded compound **5** with 92% yield (3.00 g, 18.0 mmol).

Yellow oil; TLC: $R_f = 0.76$ (hexane-ethyl acetate-dichloromethane 3:1:3 v v⁻¹); ¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.93 (quint, 2H, J 6.5 Hz), 1.99 (t, 1H, J 2.7 Hz), 2.33 (dt, 2H, J 6.8, 2.7 Hz), 3.00 (s, 3H), 4.32 (t, 2H, J 6.1 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 14.5, 27.6, 37.1, 68.2, 69.7, 82.0.

Synthesis of 1-allyl-3-methoxy-2-(pent-4-yn-1-yloxy)benzene (**6**)

To a round bottom flask, it was added 2-allyl-6-methoxyphenol (**3**) (1.40 g, 8.50 mmol) and toluene (10.0 mL). The reaction mixture was cooled in an ice bath. Subsequently, NaOH aqueous solution 35% m v⁻¹ (10 mL) and tetrabutylammonium bromide (0.273 g,

0.850 mmol) were added and the resulting mixture was kept under magnetic stirring for 1 h. Then, pent-4-yn-1-ylmethanesulfonate (**5**) (1.65 mL, 10.2 mmol) was added, the ice bath was removed, and the mixture was stirred at room temperature for 24 h. Afterward, toluene was removed under reduced pressure, and a saturated NaCl aqueous solution (7.00 mL) was added. The phases were separated and the aqueous phase was extracted with diethyl ether (3 × 20 mL). The organic extracts were combined and the organic phase was dried under anhydrous Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. Compound **6** was purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (6:1 v v⁻¹) and obtained in 53% yield (1.00 g, 4.34 mmol).

Yellow oil; TLC: Rf = 0.69 (hexane-ethyl acetate 6:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3301, 3081, 3003, 2936, 2837, 2165, 2121, 1638, 1585, 1471, 1437, 1388, 1274, 1213, 1179, 1078, 1040, 998, 914, 830, 752, 630; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 1.95 (d, 1H, *J* 6.0 Hz), 1.98 (quint, 2H, *J* 6.0 Hz), 2.46 (dt, 2H, *J* 7.2, 2.4 Hz), 3.42 (d, 2H, *J* 6.0 Hz), 3.83 (s, 3H), 4.02 (t, 2H, *J* 6.0 Hz), 5.03-5.07 (m, 2H), 5.96 (ddt_{ap}, 1H, *J* 6.0, 12.0, 18.0 Hz), 6.77-6.78 (m, 2H), 6.98 (t, 1H, *J* 6.0 Hz); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 15.2, 29.3, 34.0, 55.8, 68.5, 71.4, 84.1, 110.6, 115.4, 122.1, 123.8, 134.0, 137.4, 146.0, 153.0; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₁₅H₁₉O₂: 231.13850, found: 231.13818; [M + Na⁺] calcd. for C₁₅H₁₈O₂Na: 253.12045, found: 253.12002.

Preparation of benzyl azides

The organic azides benzylazide (**7a**), 4-fluorobenzylazide (**7b**), 4-bromobenzylazide (**7d**), 4-chlorobenzylazide (**7c**), 4-iodobenzylazide (**7e**), 4-nitrobenzylazide (**7f**), 4-methoxybenzylazide (**7g**), 4-trifluoromethoxybenzylazide (**7h**), 4-trifluoromethylbenzylazide (**7i**), 4-methylbenzylazide (**7j**), 4-isopropylbenzylazide (**7k**) utilized in preparation of eugenol analogs were obtained as previously described.¹⁷

General procedure for the preparation of compounds **8a-8k** and **9a-9k** exemplified by synthesis of compound 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazole (**8a**)

To a round bottom flask (10 mL), it was added 1-allyl-3-methoxy-2-(prop-2-yn-1-yloxy) benzene (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), benzylazide (**7a**) (0.0990 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol), 1.00 mL ethanol and 1.00 mL water. Then, CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol) was added. The reaction mixture was kept under vigorous stirring at room temperature. The end of the reaction was confirmed by TLC analysis. The reaction mixture was extracted with dichloromethane (3 × 10.0 mL). The organic phases were combined, washed with saturated

Na₂CO₃ solution, dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. Compound **8a** was purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹). The described procedure afforded compound **8a** in 54% yield (0.134 g, 0.402 mmol).

White solid, mp 76.2-78.2 °C; TLC: Rf = 0.55 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3129, 3095, 3008, 2942, 2888, 2833, 2165, 1972, 1640, 1580, 1471, 1380, 1264, 1200, 1064, 988, 854, 765, 703, 651, 590, 461; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (d, *J* 6.4 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.94-4.98 (m, 2H), 5.13 (s, 2H), 5.52 (s, 2H), 5.80-5.90 (m, 1H), 6.73-6.79 (m, 2H), 6.99 (t, *J* 8.0 Hz, 1H), 7.24-7.39 (m, 5H), 7.50 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 34.2, 54.3, 55.8, 66.3, 110.5, 115.7, 122.1, 122.8, 124.4, 128.2, 128.8, 129.2, 134.4, 134.8, 137.2, 145.3, 145.5, 152.8; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₀H₂₂O₂N₃: 336.17120, found: 336.17065; [M + Na⁺] calcd. for C₂₀H₂₁O₂N₃Na: 358.15315, found: 358.15247; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₀H₂₁O₂N₃)₂Na: 693.31652, found: 693.31460.

Compounds **8b-8k** and **9a-9k** were prepared using a procedure similar to that described for the synthesis of **8a**. The structures of these were confirmed by NMR (¹H and ¹³C), FTIR and HRMS analyses. Information regarding the reactions involved in the preparation of the aforementioned compounds and data that support their structures are described below.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-fluorobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8b**)

White solid (0.227 g, 0.644 mmol) obtained in 87% yield from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-fluorobenzylazide (**7b**) (0.111 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate-dichloromethane (3:1:3 v v⁻¹), mp 62.0-63.3 °C, TLC: Rf = 0.48 (hexane-ethyl acetate-dichloromethane 3:1:3 v v⁻¹) FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3117, 3077, 3003, 2888, 2844, 1994, 1901, 1639, 1594, 1511, 1477, 1257, 1205, 1125, 1060, 998, 914, 854, 765, 642, 526, 480; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.29-3.31 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.94-4.99 (m, 2H), 5.14 (s, 2H), 5.49 (s, 2H), 5.80-5.90 (m, 1H), 6.73-6.79 (m, 2H), 6.97-7.07 (m, 3H), 7.22-7.26 (m, 2H), 7.50 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 34.0, 53.3, 55.7, 66.1, 110.4, 115.6, 116.0 (d, *J* 22 Hz), 121.9, 122.5, 124.2, 129.8 (d, *J* 8 Hz), 130.5 (d, *J* 3 Hz), 134.2, 137.0, 145.2, 145.5, 152.6, 162.8 (d, *J* 246 Hz); HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₀H₂₁O₂N₃F: 354.16178; found: 354.16148; [M + Na⁺] calcd. for C₂₀H₂₀O₂N₃FNa: 376.14372, found: 376.14334.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8c**)

White solid, obtained in 68% yield (0.170 g, 0.460 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.137 g, 0.680 mmol), 4-chlorobenzylazide (**7c**) (0.111 g, 0.680 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate-dichloromethane (3:1:3 v v⁻¹), mp 72.7-75.0 °C, TLC: Rf = 0.48 (hexane-ethyl acetate-dichloromethane 3:1:3 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3143, 3072, 2998, 2937, 2883, 2832, 1960, 1633, 1577, 1467, 1429, 1265, 1205, 1060, 961, 914, 857, 755, 664, 572, 496; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.29-3.31 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.94-4.99 (m, 2H), 5.14 (s, 2H), 5.49 (s, 2H), 5.80-5.91 (m, 1H), 6.73-6.79 (m, 2H), 7.00 (t, *J* 8.0 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* 8.4 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* 8.4 Hz, 2H), 7.50 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 34.0, 53.3, 55.7, 66.0, 110.4, 115.6, 122.0, 122.6, 124.2, 129.3, 129.3, 133.2, 134.2, 134.7, 137.0, 145.2, 145.6, 152.6; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₀H₂₁O₂N₃Cl: 370.13223, found: 370.13199.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-bromobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8d**)

White solid, obtained in 74% yield (0.228 g, 0.551 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-bromobenzylazide (**7d**) (0.120 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 82.2-83.2 °C, TLC: Rf = 0.47 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3147, 3077, 2996, 2966, 2937, 2882, 2832, 2362, 2161, 1967, 1639, 1581, 1467, 1436, 1264, 1199, 1060, 981, 914, 792, 752, 651, 476; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.32-3.33 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 4.97-5.02 (m, 2H), 5.16 (s, 2H), 5.50 (s, 2H), 5.84-5.92 (m, 1H), 6.76-6.82 (m, 2H), 7.02 (t, *J* 6.4 Hz, 1H), 7.14 (d, 2H, *J* 6.8 Hz), 7.51 (d, 2H, *J* 6.8 Hz), 7.53 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 34.0, 53.4, 55.7, 66.0, 110.4, 115.6, 122.0, 122.6, 122.8, 124.3, 129.6, 132.2, 133.7, 134.2, 137.0, 145.1, 145.6, 152.6; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₀H₂₁O₂N₃Br, 414.08171; found: 414.08171; [M + Na⁺] calcd. for C₂₀H₂₀O₂N₃BrNa, 436.06366; found: 436.06322.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-iodobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8e**)

White solid, obtained in 75% yield (0.216 g, 0.469 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.128 g, 0.630 mmol), 4-iodobenzylazide (**7e**) (0.163 g, 0.630 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column

chromatography eluted with hexane-ethyl acetate-dichloromethane (3:1:3 v v⁻¹), mp 91.0-92.7 °C, TLC: Rf = 0.53 (hexane-ethyl acetate-dichloromethane 3:1:3 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3143, 3077, 3002, 2937, 2894, 2840, 2161, 1976, 1639, 1581, 1488, 1477, 1429, 1312, 1264, 1195, 1053, 980, 913, 862, 793, 755, 651, 472; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.30-3.32 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 4.95-5.01 (m, 2H), 5.15 (s, 2H), 5.47 (s, 2H), 5.81-5.91 (m, 1H), 6.74-6.80 (m, 2H), 6.98-7.03 (m, 3H), 7.51 (s, 1H), 7.70 (d, *J* 8.4 Hz, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 34.0, 53.5, 55.7, 66.0, 94.4, 110.4, 115.6, 121.9, 122.6, 124.2, 129.7, 134.2, 134.3, 137.0, 138.2, 145.1, 145.6, 152.6; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₀H₂₁O₂N₃I, 462.06784, found: 462.06762; [M + Na⁺] calcd. for C₂₀H₂₀O₂N₃INa, 484.04979, found: 484.04935; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₀H₂₀O₂N₃)₂Na, 945.10981, found: 945.10565.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-nitrobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8f**)

White solid, obtained in 72% yield (0.203 g, 0.535 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-nitrobenzylazide (**7f**) (0.132 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 40.0-42.0 °C, TLC: Rf = 0.21 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3127, 3077, 3008, 2971, 2898, 2838, 2366, 2156, 1932, 1646, 1605, 1515, 1472, 1423, 1340, 1278, 1178, 1060, 976, 923, 809, 775, 727, 647, 453; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.34 (d, *J* 8.0 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 4.97-5.01 (m, 2H), 5.19 (s, 2H), 5.67 (s, 2H), 5.85-5.93 (m, 1H), 6.76-6.82 (m, 2H), 7.03 (t, *J* 6.4 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* 6.8 Hz, 2H), 7.63 (s, 1H), 8.23 (d, *J* 6.8 Hz, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 34.1, 53.0, 55.7, 65.9, 110.4, 115.7, 122.0, 123.0, 124.2, 124.3, 128.5, 134.1, 137.0, 141.7, 145.0, 146.0, 148.0, 152.6; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₀H₂₁O₄N₃: 381.15628, found: 381.15620; [M + Na⁺] calcd. for C₂₀H₂₀O₄N₃Na, 403.13822, found: 403.13780.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-methoxybenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8g**)

White solid, obtained in 72% yield (0.270 g, 0.740 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-methoxybenzylazide (**7g**) (0.120 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 49.9-53.5 °C, TLC: Rf = 0.50 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3129, 3074, 3007, 2936, 2835, 2165, 1976, 1731, 1643, 1608, 1581, 1506, 1479, 1436, 1243, 1175, 1064, 996, 919, 850, 769, 645,

560, 516; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.29-3.31 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 4.93-4.99 (m, 2H), 5.12 (s, 2H), 5.45 (s, 2H), 5.80-5.90 (m, 1H), 6.71-6.79 (m, 2H), 6.89 (d, J 8.7 Hz, 2H), 6.99 (t, J 8 Hz, 1H), 7.21 (d, J 8.7 Hz, 2H), 7.47 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 34.0, 53.6, 55.3, 55.7, 66.2, 110.4, 114.4, 115.6, 121.9, 122.4, 124.2, 126.6, 129.6, 134.2, 137.0, 145.2, 145.3, 152.6, 159.9; HRMS $[\text{M} + \text{H}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{N}_3$; 366.18177, found: 366.18184; $[\text{M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_3\text{Na}$; 388.16371, found: 388.16310; $[\text{M} + \text{K}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_3\text{K}$; 404.13765, found: 404.13714; $[\text{2M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $(\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N}_3)_2\text{Na}$; 753.33765, found: 753.33569.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-trifluoromethoxybenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8h**)

White solid, obtained in 61% yield (0.165 g, 0.394 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.128 g, 0.630 mmol), 4-trifluoromethoxybenzylazide (**7h**) (0.136 g, 0.630 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate-dichloromethane (3:1:3 v v⁻¹), mp 59.5-61.5 °C, TLC: Rf = 0.56 (hexane-ethyl acetate-dichloromethane 3:1:3 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3120, 3073, 3004, 2923, 2840, 2169, 2011, 1976, 1643, 1585, 1511, 1481, 1257, 1205, 1151, 1068, 989, 923, 858, 765, 647, 507; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.30-3.31 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.94-4.99 (m, 2H), 5.15 (s, 2H), 5.53 (s, 2H), 5.81-5.91 (m, 1H), 6.73-6.79 (m, 2H), 7.00 (t, J 8.0 Hz, 1H), 7.21 (d, J 8.4 Hz, 2H), 7.27 (t, J 8.4 Hz, 2H), 7.52 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 34.0, 53.5, 55.7, 66.0, 110.4, 115.6, 121.5, 122.0, 122.6, 124.2, 129.5, 133.4, 134.2, 137.0, 145.1, 145.7, 149.4, 152.6; HRMS $[\text{M} + \text{H}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{N}_3\text{F}_3$; 420.15350, found: 420.15320; $[\text{M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_3\text{F}_3\text{Na}$; 442.13545, found: 442.13471. $[\text{2M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $(\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_3\text{F}_3)_2\text{Na}$; 861.28112, found: 861.27889.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-trifluoromethylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8i**)

White solid obtained in 63% yield (0.189 g, 0.468 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-trifluoromethylbenzylazide (**7i**) (0.223 g, 1.11 mmol), sodium (0.0590 g, 0.300 mmol) and $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 69.5-71.5 °C, TLC: Rf = 0.45 (hexane-ethyl acetate-dichloromethane 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3135, 3074, 3009, 2938, 2837, 1976, 1646, 1591, 1476, 1382, 1330, 1270, 1199, 1126, 1057, 998, 920, 855, 775, 748, 651, 501; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.32-3.34 (m,

2H), 3.85 (s, 3H), 4.97-5.01 (m, 2H), 5.18 (s, 2H), 5.61 (s, 2H), 5.84-5.92 (m, 1H), 6.76-6.82 (m, 2H), 7.02 (t, J 6.4 Hz, 1H), 7.37 (d, J 6.4 Hz, 4H), 7.57 (s, 1H), 7.65 (d, J 6.4 Hz, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 34.0, 53.4, 55.6, 66.0, 110.2, 115.6, 121.9, 122.8, 124.3, 126.1 (q, J 3.0 Hz), 128.1, 131.0 (q, J 26.0 Hz), 134.2, 137.0, 138.6, 145.1, 145.8, 152.6, 123.8 (J 217.0 Hz); HRMS $[\text{M} + \text{H}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{N}_3\text{F}_3$; 404.15859, found: 404.15824; $[\text{M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_3\text{F}_3\text{Na}$; 426.14053, found: 426.13975; $[\text{2M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $(\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_3\text{F}_3)_2\text{Na}$; 829.29129, found: 829.28877.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-methylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8j**)

White solid, obtained in 88% yield (0.228 g, 0.652 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-methylbenzylazide (**7j**) (0.147 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 64.5-66.5 °C, TLC: Rf = 0.56 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3139, 3081, 3002, 2950, 2888, 2840, 2165, 1980, 1637, 1580, 1511, 1471, 1432, 1384, 1270, 1205, 1124, 1054, 988, 923, 858, 757, 650, 511, 460; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 2.37 (s, 3H), 3.32-3.33 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.97-5.01 (m, 2H), 5.15 (s, 2H), 5.50 (s, 2H), 5.84-5.92 (m, 1H), 6.75-6.81 (m, 2H), 7.01 (t, J 6.4 Hz, 1H), 7.19 (s, 4H), 7.50 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 21.1, 34.0, 53.9, 55.6, 66.1, 110.3, 115.6, 121.9, 122.6, 124.2, 128.1, 129.7, 131.6, 134.2, 137.0, 138.6, 145.2, 145.3, 152.6; HRMS $[\text{M} + \text{H}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{N}_3$; 350.18685; found: 350.18635. $[\text{M} + \text{Na}^+]$ calcd. for $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{N}_3\text{Na}$; 372.16880; found: 372.16836.

4-((2-Allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl)-1-(4-isopropylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8k**)

White solid, obtained in 57% yield (0.159 g, 0.422 mmol) from the reaction of alkyne (**3**) (0.150 g, 0.740 mmol), 4-isopropylbenzylazide (**7k**) (0.130 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 49.0-51.8 °C, TLC: Rf = 0.59 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}} / \text{cm}^{-1}$ 3122, 3077, 2954, 2867, 2156, 1972, 1643, 1577, 1511, 1477, 1316, 1265, 1199, 1127, 1054, 998, 910, 850, 765, 734, 642, 539; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 1.27 (d, J 5.6 Hz, 6H), 2.93 (sept, J 5.6 Hz, 1H), 3.32-3.33 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 4.96-5.01 (m, 2H), 5.16 (s, 2H), 5.51 (s, 2H), 5.84-5.92 (m, 1H), 6.75-6.81 (m, 2H), 7.02 (t, J 6.2 Hz, 1H), 7.21-7.28 (m, 4H), 7.52 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz,

CDCl₃) δ 23.9, 33.8, 34.0, 53.9, 55.6, 66.2, 110.3, 115.6, 121.9, 122.6, 124.2, 127.1, 128.2, 131.9, 134.3, 137.0, 145.2, 145.3, 149.6, 152.6; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₃H₂₈O₂N₃: 378.21815, found: 378.21757; [M + Na⁺] calcd. for C₂₃H₂₇O₂N₃Na: 400.20010, found: 400.19908; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₃H₂₇O₂N₃)₂Na: 777.41042, found: 777.40807.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazole (**9a**)

Yellow oil, obtained in 73% yield (0.196 g, 0.540 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), benzylazide (**7a**) (0.133 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹); TLC: R_f = 0.61 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3136, 3073, 2942, 2840, 2165, 1633, 1585, 1477, 1270, 1213, 1060, 913, 782, 725, 572, 458; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 2.93 (t, *J* 7.8 Hz, 2H), 2.10-2.14 (m, 2H), 3.36-3.37 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.95 (t, *J* 6.6 Hz, 2H), 4.99-5.02 (m, 2H), 5.49 (s, 2H), 5.88-5.95 (m, 1H), 6.74-6.76 (m, 2H), 6.96 (t, *J* 8.4 Hz, 1H), 7.25-7.26 (m, 3H), 7.34-7.36 (m, 2H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 22.3, 29.9, 34.0, 54.0, 55.6, 72.0, 110.4, 115.5, 120.4, 122.0, 123.7, 127.9, 128.6, 129.0, 133.9, 134.9, 137.2, 146.0, 148.2, 152.7; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₂H₂₂O₂N₃: 364.20250, found: 364.20183; [M + Na⁺] calcd. for C₂₂H₂₅O₂N₃Na: 386.18445, found: 386.18364; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₂H₂₅O₂N₃)₂Na: 749.37912; found: 749.37698.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-fluorobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9b**)

White solid, obtained in 71% yield (0.199 g, 0.524 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-fluorobenzylazide (**7b**) (0.151 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 46.5-48.6 °C, TLC: R_f = 0.41 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3108, 3055, 3002, 2950, 2885, 2836, 1643, 1598, 1608, 1467, 1432, 1383, 1344, 1275, 1216, 1170, 1054, 919, 848, 761, 665, 537, 480; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 2.15 (quint, *J* 6.4 Hz, 2H), 2.95 (t, *J* 7.9 Hz, 2H), 3.39-3.40 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.98 (t, *J* 5.2 Hz, 2H), 5.01-5.02 (m, 2H), 5.48 (s, 2H), 5.89-5.99 (m, 1H), 6.78 (d, *J* 8.4 Hz, 2H), 6.99 (t, *J* 7.6 Hz, 1H), 7.07 (t, *J* 8.4 Hz, 2H), 7.25-7.28 (m, 4H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 23.3, 30.0, 34.0, 53.2, 55.6, 72.0, 110.5, 115.5, 116.0 (d, *J* 22 Hz), 120.6, 122.0, 123.8, 129.8 (d, *J* 8 Hz), 130.8 (d, *J* 3 Hz), 133.9, 137.2, 146.1,

148.3, 152.7, 162.8 (d, *J* 247 Hz); HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₂H₂₅O₂N₃F: 382.19308, found: 382.19243; [M + Na⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₂N₃FNa: 404.17502, found: 404.17418; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₂H₂₄O₂N₃F)₂Na: 785.36028, found: 785.35841.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9c**)

White solid, obtained in 66% yield (0.195 g, 0.490 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-chlorobenzylazide (**7c**) (0.370 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 37.5-38.5 °C, TLC: R_f = 0.44 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3126, 3070, 2933, 1640, 1577, 1473, 1429, 1348, 1265, 1199, 1072, 1006, 915, 769, 657, 502; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 2.12 (quint, *J* 6.6 Hz, 2H), 2.94 (t, *J* 7.2 Hz, 2H), 3.37 (d, *J* 6.6 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.96 (t, *J* 6.0 Hz, 2H), 4.99-5.03 (m, 2H), 5.46 (s, 2H), 5.89-5.96 (m, 1H), 6.75-6.76 (m, 2H), 6.97 (t, *J* 7.8 Hz, 1H), 7.18 (t, *J* 8.4 Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.32-7.33 (m, 2H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 22.4, 30.0, 34.1, 53.2, 55.8, 72.1, 110.4, 115.6, 120.7, 122.1, 123.8, 129.3, 133.5, 133.9, 134.6, 137.4, 146.0, 148.7, 152.7; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₂H₂₅O₂N₃Cl: 398.1635, found: 398.1630; [M + Na⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₂N₃ClNa: 420.1455, found: 420.1450; [M + K⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₂N₃ClK: 436.1194, found: 436.1181. [2M + H⁺] calcd. for (C₂₂H₂₄O₂N₃Cl)₂H: 795.3192, found: 795.3180; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₂H₂₄O₂N₃Cl)₂Na: 817.3012, found: 817.2985.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-bromobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9d**)

White solid, obtained in 64% yield (0.208 g, 0.471 mmol) from the reaction of the alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-bromobenzylazide (**7d**) (0.210 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 46.0-49.0 °C, TLC: R_f = 0.37 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3118, 3070, 3016, 2931, 2840, 1643, 1577, 1473, 1432, 1261, 1208, 1072, 1010, 907, 778, 738, 656, 493. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.11-2.18 (m, 2H), 2.96 (t, *J* 7.6 Hz, 2H), 3.39-3.40 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.98 (t, *J* 6.4 Hz, 2H), 5.01-5.06 (m, 2H), 5.47 (s, 2H), 5.90-6.00 (m, 1H), 6.78 (d, *J* 7.6 Hz, 2H), 6.99 (t, *J* 8.4 Hz, 1H), 7.14 (d, *J* 8.4 Hz, 2H), 7.27 (s, 1H), 7.50-7.52 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22.3, 30.0, 34.0, 53.3, 55.7, 72.1,

110.6, 115.6, 120.7, 122.0, 122.7, 123.7, 129.5, 132.4, 133.9, 133.9, 137.2, 146.0, 152.8; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₂H₂₅O₂N₃Br: 442.1130, found: 442.1125; [M + Na⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₂N₃BrNa: 464.0950, found: 464.0934; [M + K⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₂N₃BrK: 480.0689, found: 480.0681.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-iodobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9e**)

White solid, obtained in 93% yield (0.337 g, 0.690 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-iodobenzylazide (**7e**) (0.191 g, 0.740 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 57.0-58.0 °C, TLC: Rf = 0.37 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3110, 3059, 2937, 2871, 2840, 1639, 1585, 1481, 1437, 1371, 1265, 1208, 1064, 1033, 1010, 907, 748, 647, 485; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.11-2.18 (m, 2H), 2.96 (t, *J* 7.2 Hz, 2H), 3.38-3.40 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.98 (t, *J* 6.4 Hz, 2H), 5.01-5.06 (m, 2H), 5.45 (s, 2H), 5.89-5.99 (m, 1H), 6.78 (d, *J* 8.2 Hz, 2H), 6.97-7.02 (m, 3H), 7.27 (s, 1H), 7.71 (d, *J* 8.2 Hz, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22.3, 30.0, 34.0, 53.4, 55.7, 72.0, 94.3, 110.5, 115.5, 120.8, 122.0, 123.7, 129.7, 133.9, 134.6, 137.2, 138.2, 146.0, 152.7; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₂H₂₅O₂N₃I: 490.09915, found: 490.09891.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-nitrobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9f**)

Yellow oil, obtained in 68% yield (0.205 g, 0.503 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-nitrobenzylazide (**7f**) (0.178 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), TLC: Rf = 0.19 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3139, 3074, 2939, 2832, 1629, 1606, 1585, 1519, 1457, 1446, 1344, 1261, 1213, 1120, 1054, 919, 857, 787, 731, 651, 524; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.13-2.20 (m, 2H), 2.99 (t, *J* 7.6 Hz, 2H), 3.39 (d, *J* 6.4 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 4.00 (t, *J* 6.4 Hz, 2H), 5.01-5.06 (m, 2H), 5.63 (s, 2H), 5.89-5.99 (m, 1H), 6.78 (d, *J* 8.4 Hz, 2H), 7.00 (t, *J* 7.6 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.39 (d, *J* 8.6 Hz, 2H), 8.22 (d, *J* 8.6 Hz, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22.4, 29.9, 34.0, 52.9, 55.7, 72.0, 110.5, 115.6, 121.1, 122.0, 123.8, 124.2, 128.4, 133.9, 137.2, 142.1, 146.0, 148.0, 148.8, 152.7; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₂H₂₅O₄N₄: 409.1876, found: 409.1873; [M + Na⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₄N₄Na: 431.1695, found: 431.1690; [M + K⁺] calcd. for C₂₂H₂₄O₄N₄K: 447.1435, found: 447.1425.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-methoxybenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9g**)

White solid, obtained in 67% yield (0.194 g, 0.495 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-methoxybenzylazide (**7g**) (0.163 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 61.7-63.0 °C, TLC: Rf = 0.45 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3112, 3064, 3012, 2937, 2832, 1639, 1612, 1577, 1515, 1472, 1440, 1371, 1282, 1246, 1176, 1065, 1024, 1020, 910, 822, 744, 682, 555, 507; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 2.11 (quint, *J* 6.6 Hz, 2H), 2.91 (t, *J* 7.8 Hz, 2H), 3.36 (d, *J* 6.6 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.95 (t, *J* 6.0 Hz, 2H), 4.99-5.02 (m, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.89-5.95 (m, 1H), 6.75 (d, *J* 8.1 Hz, 2H), 6.88 (d, *J* 8.4 Hz, 2H), 6.96 (t, *J* 8.1 Hz, 1H), 7.20-7.22 (m, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 22.3, 30.2, 34.0, 53.5, 55.3, 55.6, 72.1, 110.4, 114.4, 115.6, 120.7, 122.1, 123.7, 126.9, 129.5, 134.0, 137.4, 146.3, 148.2, 152.7, 159.9; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₃H₂₈O₃N₃: 394.2131, found: 394.2124; [M + Na⁺] calcd. for C₂₃H₂₇O₃N₃Na: 416.1950, found: 416.1936; [M + K⁺] calcd. for C₂₃H₂₇O₃N₃K: 432.1689, found: 432.1671; [2M + H⁺] calcd. for (C₂₃H₂₇O₃N₃)₂H: 787.4183, found: 787.4169; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₃H₂₇O₃N₃)₂Na: 809.4002, found: 809.3997.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-trifluoromethoxybenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9h**)

Yellow oil, obtained in 51% yield (0.169 g, 0.377 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-trifluoromethoxybenzylazide (**7h**) (0.217 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), TLC: Rf = 0.40 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3139, 1078, 2942, 2836, 1638, 1581, 1510, 1471, 1261, 1213, 1164, 1051, 1010, 914, 779, 744, 659, 608, 528; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.12-2.19 (m, 2H), 2.97 (t, *J* 7.2 Hz, 2H), 3.39-3.40 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.99 (t, *J* 6.4 Hz, 2H), 5.01-5.06 (m, 2H), 5.52 (s, 2H), 5.90-6.00 (m, 1H), 6.78 (d, *J* 7.8 Hz, 2H), 7.00 (t, *J* 7.8 Hz, 1H), 7.22-7.24 (m, 2H), 7.28-7.30 (m, 3H); HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₃H₂₅O₃N₃F₃: 448.1848, found: 448.1843; [M + Na⁺] calcd. for C₂₃H₂₅O₃N₃F₃Na: 470.1668, found: 470.1655; [M + K⁺] calcd. for C₂₃H₂₅O₃N₃F₃K: 486.1407, found: 486.1401; [2M + H⁺] calcd. for (C₂₃H₂₄O₃N₃F₃)₂H: 895.3618, found: 895.3598; [2M + Na⁺] calcd. for (C₂₃H₂₄O₃N₃F₃)₂Na: 917.3437, found: 917.3430.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-trifluoromethylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9i**)

Yellow oil, obtained in 48% yield (0.154 g, 0.357 mmol) from the reaction alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-trifluoromethylbenzylazide (**7i**) (0.201 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), TLC: Rf = 0.45 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3143, 3077, 2950, 2836, 1625, 1585, 1477, 1436, 1265, 1163, 1126, 1072, 1006, 919, 817, 752, 593, 494; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₃H₂₅O₂N₃F₃: 432.1899, found: 432.1887; [M + Na⁺] calcd. for C₂₃H₂₄O₂N₃F₃Na: 454.1718, found: 454.1703; [M + K⁺] calcd. for C₂₃H₂₄O₂N₃F₃K: 470.1458, found: 470.1474; [2M + H⁺] calcd. for (C₂₃H₂₄O₂N₃F₃)₂H: 863.3720, found: 863.2698.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-methylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9j**)

White solid, obtained in 66% yield (0.183 g, 0.485 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-methylbenzylazide (**7j**) (0.147 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 34.5-36.8 °C, TLC: Rf = 0.50 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3126, 3077, 3016, 2942, 2844, 1633, 1585, 1516, 1477, 1378, 1266, 1205, 1064, 998, 910, 817, 744, 659, 532, 471; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.08-2.15 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.91 (t, *J* 7.2 Hz, 2H), 3.36-3.38 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.95 (t, *J* 6.0 Hz, 2H), 4.99-5.03 (m, 2H), 5.44 (s, 2H), 5.87-5.97 (m, 1H), 6.75 (d, *J* 8.0 Hz, 2H), 6.96 (t, *J* 8.0 Hz, 1H), 7.16 (s, 4H), 7.22 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 21.3, 22.5, 30.1, 34.2, 54.0, 55.8, 72.2, 110.7, 115.6, 120.8, 122.2, 123.9, 128.2, 129.9, 132.1, 134.1, 137.5, 138.7, 146.3, 148.3, 152.9; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₃H₂₈O₂N₃: 378.21815, found: 378.21807; [M + Na⁺] calcd. for C₂₃H₂₇O₂N₃Na: 400.20010, found: 400.19962.

4-(3-(2-Allyl-6-methoxyphenoxy)propyl)-1-(4-isopropylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**9k**)

White solid, obtained in 61% yield (0.184 g, 0.454 mmol) from the reaction of alkyne (**5**) (0.170 g, 0.740 mmol), 4-isopropylbenzylazide (**7k**) (0.175 g, 1.00 mmol), sodium ascorbate (0.0590 g, 0.300 mmol) and CuSO₄·5H₂O (0.0370 g, 0.150 mmol). Purified by silica gel column chromatography eluted with hexane-ethyl acetate (2:1 v v⁻¹), mp 35.5-37.0, TLC: Rf = 0.50 (hexane-ethyl acetate 2:1 v v⁻¹); FTIR (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ / cm⁻¹ 3116, 3074, 2964,

2875, 2835, 1646, 1581, 1477, 1388, 1265, 1205, 1064, 906, 854, 782, 752, 665, 541; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.23 (d, *J* 6.8 Hz, 6H), 2.08-2.16 (m, 2H), 2.85-2.95 (m, 3H), 3.36-3.38 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.95 (t, *J* 6.4 Hz, 2H), 4.98-5.03 (m, 2H), 5.45 (s, 2H), 5.87-5.97 (m, 1H), 6.75 (d, *J* 8.0 Hz, 2H), 6.96 (t, *J* 8.0 Hz, 1H), 7.17-7.21 (m, 4H), 7.24 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 22.5, 24.0, 30.1, 34.0, 34.2, 54.0, 55.8, 72.2, 110.7, 115.7, 120.9, 122.2, 123.9, 127.3, 128.2, 132.5, 134.1, 137.5, 146.3, 148.3, 149.7, 152.9; HRMS [M + H⁺] calcd. for C₂₅H₃₂O₂N₃: 406.24945, found: 406.24909.

Biological assays

Mammalian cells and parasite strain

Raw 264.7 macrophages (ATCC, Gaithersburg, MD, USA) were kept in RPMI medium (RPMI-1640, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) supplemented with 10% inactivated fetal calf serum (LGC Biotecnologia, Cotia, SP, Brazil), penicillin (100 μ g mL⁻¹) (USB Corporation, Cleveland, OH, USA) and L-glutamine (2 mmol L⁻¹) (Serva Electrophoresis & Life Science Products, Heidelberg, Germany), pH 7.2, filtered through a 0.22 μ m membrane and incubated at 37 °C in a humid atmosphere containing 5% CO₂ (Forma Series II Water-Jacketed CO₂ Incubators, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The promastigote forms of *L. braziliensis* - M2904-GFP (this cell line constitutively expresses the Green Fluorescent Protein "GFP") were maintained in Grace's medium (Grace's Insect medium, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA),¹⁸ supplemented with 10% inactivated fetal calf serum (LGC Biotecnologia, Cotia, SP, Brazil), penicillin (100 μ g mL⁻¹) (USB Corporation, OH, USA) and L-glutamine (2 mmol L⁻¹) (Serva Electrophoresis & Life Science Products, Heidelberg, Germany), pH 6.5, filtered through a 0.22 μ m membrane and incubated in a B.O.D incubator (B.O.D 411D Incubator, New Ethics, São Paulo, SP, Brazil) at 25 °C.

Dilution of eugenol analogs

The eugenol analogs were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) to obtain a concentration of 10 mmol L⁻¹. Then, these solutions were diluted with sterilized ultrapure water to prepare 0.30 mmol L⁻¹ solutions that were stored at -20 °C until use.

Cytotoxicity to mammalian cells

The evaluation of the cytotoxic action of the compounds was performed using the resazurin method in 96 well microplates as previously described.¹⁸ Positive and

negative controls were amphotericin B ($3.125 \mu\text{g mL}^{-1}$; $3.4 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and DMSO ($0.1\% \text{ v v}^{-1}$) (Neon Comercial Reagentes Analíticos Ltda, Suzano, SP, Brazil), respectively. The concentration of $0.1\% \text{ (v v}^{-1}\text{)}$ of DMSO in the control samples is the same final amount of DMSO used in the assays with eugenol analogs. The eugenol analogs were assayed at a final concentration of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. The choice of this concentration was based on the guidelines in a hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases.¹⁹ For the cytotoxic concentration at 50% (CC_{50}) determination assay, the compounds were tested at concentrations of 300, 270, 240, 210, 180, 80, 40, 30, 20, 10, 5, 2.5, and $1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Experiments were performed independently at least 3 times in quadruplicates. GraphPad Prism version 6²⁰ was used for eugenol analogs CC_{50} determination.

Macrophage infection assay

The macrophage infection assays were performed using a previously described methodology based on *L. braziliensis*-M2904-GFP.¹⁸ All eugenol analogs were tested at $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, based on the guidelines in a hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases and the best compounds were used for determination of the effective concentration at 50% (EC_{50}).¹⁹ The EC_{50} was

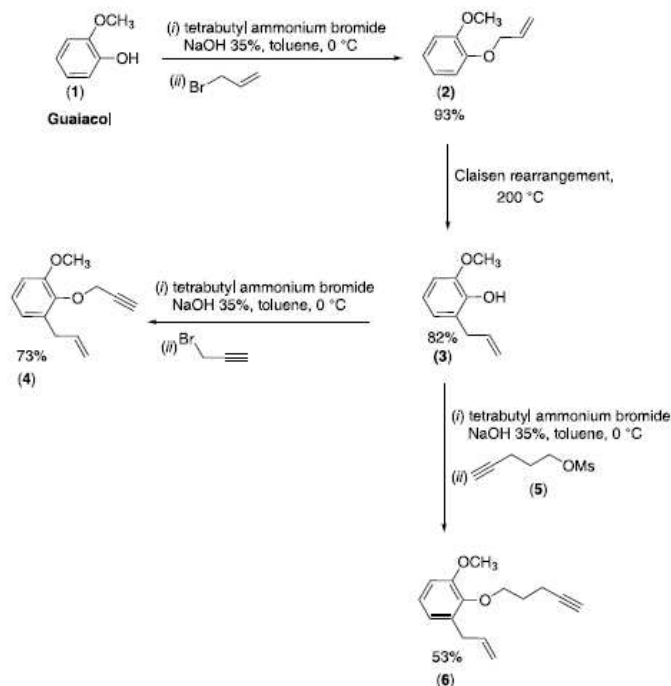
determined using the concentrations: 80, 40, 30, 20, 10, 5, 2.5, and $1 \mu\text{mol L}^{-1}$, according to the percentage of live cells after screening at $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Positive and negative controls were amphotericin B $3.125 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($3.4 \mu\text{mol L}^{-1}$) and $0.1\% \text{ (v v}^{-1}\text{)}$ DMSO, respectively. Experiments were performed independently at least 3 times in quadruplicates. GraphPad Prism version 6²⁰ was used for eugenol analogs EC_{50} determination.

Selectivity index

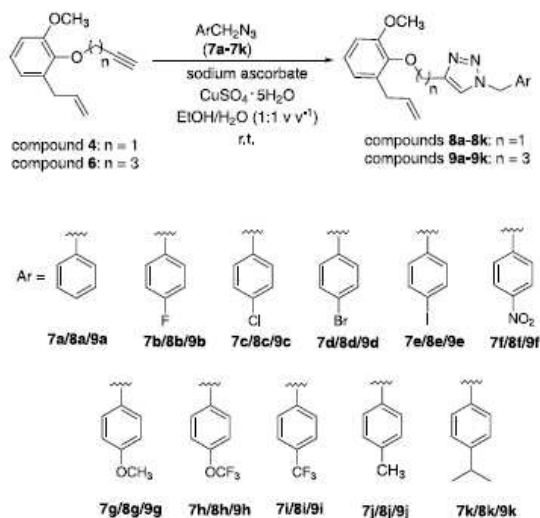
The selectivity indexes (SI) were calculated as the ratio obtained on raw macrophages/*L. braziliensis* values ($\text{CC}_{50}/\text{EC}_{50}$).

Results and Discussion

The transformations used to synthesize the eugenol analogs **8a-8k** and **9a-9k** are depicted in Schemes 1 and 2. As shown in Scheme 1, the preparation of terminal alkynes **4** and **6** started with alkylation of guaiacol (**1**), using allyl bromide, affording compound **2** in 93% yield. Then, the sigmatropic Claisen rearrangement²¹ was conducted with compound **2** and gave *ortho* eugenol (**3**) in 82% yield. Subsequently, the alkylation of **3** with propargyl bromide or mesilate **5** provided compounds **4** (73% yield) and **6** (53%



Scheme 1. Steps involved in the preparation of alkynes **4** and **6**.



Scheme 2. CuAAC reaction involved in the preparation of eugenol analogs 8a-8k and 9a-9k.

yield), respectively. The preparation of mesylate 5 has been previously described.¹⁵ The alkylation procedures were carried out using the phase transfer catalysis approach,²²⁻²⁴ which gave the alkylated compounds with satisfactory yields.

The compounds 4 and 6 were submitted to the copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) reaction²⁵⁻²⁹ with different benzyl azides (Scheme 2) affording the eugenol analogs 8a-8k and 9a-9k with yields ranging from 48 to 93%. In general, the reactions lasted about two hours. The benzyl azides 7a-7k were prepared according to the previous published procedure.¹⁷ They were chosen since their employment in the preparation of 1,2,3-triazole derived from eugenol afforded compounds with leishmanicidal activity.¹⁵

All eugenol analogs 8a-8k and 9a-9k were characterized by ¹H and ¹³C NMR, FTIR, and high-resolution mass

spectrometry. In ¹H NMR spectra, the signals for hydrogens present in the triazole ring were observed within the range of 7.20-7.63 ppm. Allylic hydrogens were observed as doublets, while hydrogen atoms of the methylene groups bound to nitrogen or oxygen were observed as singlets in the ¹H NMR spectra. In IR spectra, the expected bands for the functional groups were observed. The molecular formulas of eugenol analogs were confirmed by high-resolution mass spectrometry analyses.

Once prepared, the compounds 8a-8k and 9a-9k were submitted to biological assays to evaluate their toxicity to macrophages and antileishmanial activity against *L. braziliensis* during *in vitro* infection of macrophages.

Macrophages are the main mammalian host cells of *Leishmania* and so they are used in the evaluation of *in vitro* infection assays with *L. braziliensis*.³⁰ To be used in infection assays, all the eugenol analogs with 1,2,3-triazole fragments were previously tested at 10 μmol L⁻¹ to evaluate their cytotoxicity on macrophages. The results are shown as survival rates after 48 h of treatment with the compounds (Figure 2). Amphotericin B was used as an anti-leishmanial control drug and DMSO was used as a negative control. As expected, the amphotericin B (3.125 μg mL⁻¹; 3.4 μmol L⁻¹) and the negative control (0.1% v v⁻¹ DMSO) were not significantly toxic to macrophages. In addition, none of the twenty-two compounds tested were significantly cytotoxic to macrophages at 10 μmol L⁻¹ concentration.

Amastigotes are the parasitic forms that persist in the host and are responsible for the symptoms caused by the disease. Therefore, this should be the main chemotherapeutic target in *in vitro* studies of new leishmanicidal agents.³¹ Based on that, all compounds were evaluated against *L. braziliensis* amastigotes in *in vitro* macrophage infection. Figure 3 shows the parasite's survival rate after 48 h of treatment with the compounds.

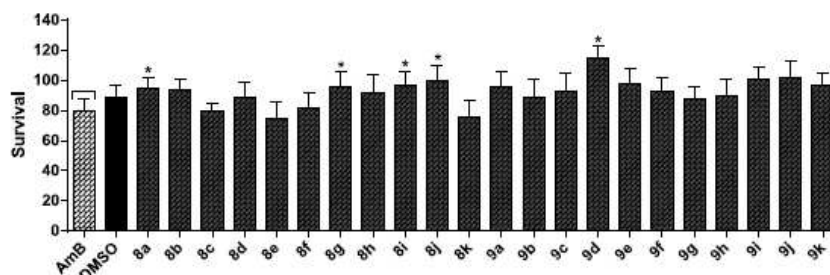


Figure 2. Effect of the compounds against macrophages Raw 264.7 compared to amphotericin B. Cells were treated with 10 μmol L⁻¹ of the compounds for 48 h. The data are representative of the mean and the standard deviation of at least three independent experiments that were performed with internal quadruplicates. The amphotericin B (AmB) bar (positive control) represents cells treated with amphotericin B (3.125 μg mL⁻¹; 3.4 μmol L⁻¹) and the dimethyl sulfoxide (DMSO) bar (negative control) represents cells treated with DMSO at the same concentration used in the dilution of compounds. The data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test using GraphPad Prism version 6.³⁰ The asterisks mean the statistical difference (*p* < 0.05) between the treatment and the AmB.

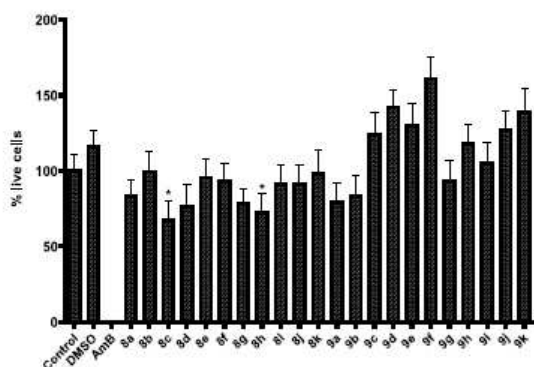


Figure 3. Effect of the eugenol analogue compounds against intracellular amastigotes of *Leishmania braziliensis*. Cells were treated with $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ of the compounds for 48 h following the *L. braziliensis*-GFP infection assay methodology previously described.¹⁸ The data represent the mean and standard deviation of at least three independent experiments. The data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test using GraphPad Prism version 6.²⁰ The asterisks mean statistical difference with $p < 0.05$. The asterisks mean the difference between the treatment and the dimethyl sulfoxide (DMSO).

As can be seen, the compounds **8c** and **8h** showed a significant leishmanicidal effect, **8c** (33%) and **8h** (27%).

Since compounds **8c** and **8h** were non-toxic to macrophages and displayed the most significant leishmanicidal effect upon *L. braziliensis* intracellular amastigotes, they were selected to be used in further assays. Thus, the CC_{50} was determined for macrophage and the EC_{50} was determined against *Leishmania* intracellular amastigote for both compounds (Table 1). For macrophages, the CC_{50} of **8c** was $274.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ and of **8h** higher than $300 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The EC_{50} were 28.09 and $52.3 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively (Table 1).

The selectivity index (SI) is an indication of how much a compound is most effective against the parasite over the host mammalian cells. The higher the SI, the more selective

Table 1. Effective concentration at 50% (EC_{50}) and cytotoxic concentration at 50% (CC_{50}) for the selected compounds **8c** and **8h** to *L. braziliensis* intracellular amastigotes and for macrophages

Compound	CC_{50} MØ / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	EC_{50} <i>L. braziliensis</i> amastigotes (infection assay) / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Selectivity index (SI)
8c	274.5	28.09	9.7
8h	> 300	52.03	> 5.7

The cytotoxic concentration at 50% (CC_{50}) and effective concentration at 50% (EC_{50}) were determined after 48 h by resazurin assay to macrophages and by GFP fluorescence methodology to the infection assay.¹⁸ GraphPad Prism version 6²⁰ was used for compounds CC_{50} and EC_{50} performing a nonlinear fitting and data representing the median and standard deviation of at least two independent assays with internal quadruplicates for each of them. MØ: macrophages. Selective index (SI) = CC_{50} (MØ)/ EC_{50} (*L. braziliensis* amastigotes).

the drug is on the parasite and less toxic to mammalian cells. For **8c** and **8h**, the SI were 9.7 and greater than 5.7, respectively (Table 1).

As quoted above, the objective of this investigation was to continue exploring the eugenol/1,2,3-triazole scaffold towards the discovery of new potential antileishmanial agents. Previously, our research group demonstrated the leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole, showing that these compounds represent a scaffold that can be explored for the development of new agents for the treatment of leishmaniasis.^{15,32} In this regard, the preparation of *ortho* eugenol, a constitutional isomer of eugenol, gave us the opportunity to evaluate new compounds within the aforementioned scaffold. *Ortho* eugenol was linked to 1,2,3-triazole functionality affording new eugenol analogs. The 1,2,3-triazoles are heterocycles that have attracted great scientific interest because they have a wide field of applications, including in medicinal chemistry. There are several biological activities reported for 1,2,3-triazole derivatives,³³⁻⁴² among them the leishmanicidal activity.⁴³ The activity of the 1,2,3-triazole nucleus against *Leishmania* parasites has been compared to other trypanocidal sterols, such as azasterols, which have been synthesized as inhibitors of sterol methyltransferase, an enzyme that has been validated as a target for leishmanicidal and trypanocidal drugs.^{44,45}

Among the twenty-two synthesized compounds, we identified the compounds 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8c**) and 4-((2-allyl-6-methoxy)phenoxy)methyl-1-(4-trifluoromethoxybenzyl)-1*H*-1,2,3-triazole (**8h**) as the most actives. They present as a common feature the presence of an electron-withdrawing group attached to the *para* position of the benzyl ring. In addition, they displayed low toxicity to macrophages and selective index values that showed that the compounds are more toxic to the parasite than to mammalian cells. These are important features considering the research and development of new antileishmanial agents.

Conclusions

By using a four-step synthetic route, it was possible to synthesize twenty-two new eugenol analogs, which had their structures firmly confirmed. The evaluation of these compounds against *L. braziliensis*, which is the main species related with tegumentary leishmaniasis in the New World, revealed that they are not cytotoxic on macrophages. Besides, it was found two compounds that present significant activity and selectivity against amastigote forms of *L. braziliensis*. The data described in the present

investigation point to the fact that these eugenol analogs are promising leishmanicidal candidates against *L. braziliensis* and may represent a starting point for further development of alternative treatments for Cutaneous Leishmaniasis.

Supplementary Information

Supplementary information (spectroscopic data of eugenol analogs) is available free of charge at <http://jbc.sbq.org.br> as PDF file.

Acknowledgments

We are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, Grant Number APQ-02957-17), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for JLRf fellowship 306140/2021-7.

Author Contributions

Roberta S. Evangelista was responsible for data curation, investigation, validation, writing original draft, writing-review and editing; Larissa C. Pereira for data curation, investigation, validation, writing-review and editing; Luciana Â. de Souza for data curation, investigation, validation, writing original draft, writing-review and editing; Adilson V. Costa for investigation, validation, visualization, writing-review and editing; Danilo A. da Silva for data curation, investigation, validation, writing original draft, writing-review and editing; Fabrício M. de Oliveira: investigation, validation, visualization, writing-review and editing; Boniek G. Vaz for data curation, investigation, validation, visualization, writing-review and editing; Gustavo C. Bressan for data curation, investigation, validation, writing-review and editing; Juliana L. R. Fietto for data curation, investigation, validation, writing-review and editing; Róbson R. Teixeira for conceptualization, data curation, formal analysis funding acquisition, investigation, project administration, validation, visualization, writing original draft, writing-review and editing.

References

- Burza, S.; Croft, S. L.; Boelaert, M.; *Lancet* **2018**, *392*, 951. [Crossref]
- Serafim, T. D.; Coutinho-Abreu, I. V.; Dey, R.; Kissinger, R.; Valenzuela, J. G.; Oliveira, F.; Kamhawi, S.; *Trends Parasitol.* **2021**, *37*, 976. [Crossref]
- Kobets, T.; Grekov, I.; Lipoldová, M.; *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 1443. [Crossref]
- Ashford, R. W.; *Int. J. Parasitol.* **2000**, *30*, 1269. [Crossref]
- Feasey, N.; Wansbrough-Jones, M.; Mabey, D. C. W.; Solomon, A. W.; *Br. Med. Bull.* **2010**, *93*, 179. [Crossref]
- Pan American Health Organization, <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis>, accessed in May 2023.
- Frézard, F.; Demicheli, C.; Ribeiro, R. R.; *Molecules* **2009**, *14*, 2317. [Crossref]
- Haldar, A. K.; Sen, P.; Roy, S.; *Mol. Biol. Intern.* **2011**, *2011*, 571242. [Crossref]
- Wiwanitkit, V.; *Theor. Clin. Risk Manage.* **2012**, *8*, 323. [Crossref]
- Lindoso, J. A. L.; Costa, J. M. L.; Queiroz, I. T.; Goto, H.; *Res. Rep. Trop. Med.* **2012**, *3*, 69. [Crossref]
- Rocha, L. G.; Almeida, J. R. G. S.; Macêdo, R. O.; Barbosa-Filho, J. M.; *Phytomedicine* **2005**, *12*, 514. [Crossref]
- Gervazoni, L. F. O.; Barcellos, G. B.; Ferreira-Paes, T.; Almeida-Amaral, E. E.; *Front. Chem.* **2020**, *8*, 579891. [Crossref]
- Kamatou, G. P.; Vermaak, I.; Viljoen, A. M.; *Molecules* **2012**, *17*, 6953. [Crossref]
- Kaufman, T. S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2015**, *26*, 1055. [Crossref]
- Teixeira, R. R.; Gazolla, P. A. R.; Silva, A. M.; Borsodi, M. P. G.; Bergmann, B. R.; Ferreira, R. S.; Vaz, B. G.; Vasconcelos, G. A.; Lima, W. P.; *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *146*, 274. [Crossref]
- Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed.; Pergamon: Oxford, U.K., 1988.
- Borgati, T. F.; Alves, R. B.; Teixeira, R. R.; de Freitas, R. P.; Perdigão, T. G.; da Silva, S. F.; dos Santos, A. P.; Bastidas, A. J.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, *24*, 953. [Crossref]
- Bastos, M. S.; de Souza, L. A.; Onofre, T. S.; Silva-Júnior, A.; de Almeida, M. R.; Bressan, G. C.; Fietto, J. L. R.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2017**, *112*, 155. [Crossref]
- Katsuno, K.; Burrows, J. N.; Duncan, K.; Hooft van Huijsduijnen, R.; Kaneko, T.; Kita, K.; Mowbray, C. E.; Schmatz, D.; Warner, P.; Slingsby, B. T.; *Nat. Rev. Drug Discovery* **2015**, *14*, 751. [Crossref]
- GraphPad Prism*, version 6.0; GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA, 2012.
- Freitas, J. J. R.; Avelino, R. A.; Mata, M. M. S.; Santos, C. S.; Almeida, C. L. A.; Freitas, J. C. R.; Freitas Filho, J. R.; *Rev. Virtual Quim.* **2017**, *9*, 1597. [Crossref]
- Lucchese, A. M.; Marzorati, L.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 641. [Crossref]
- Lima, A. M. A.; Teixeira, R. R.; da Silva, B. F.; Siqueira, R. P.; da Silva, I. E. P.; Santos, E. G.; Fernandes, M. C.; Gonçalves, V. H. S.; Bressan, G. C.; Mendes, T. A. O.; de Paula, S. O.; Costa, A. V. C.; dos Santos, M. H.; *Quim. Nova* **2019**, *42*, 473. [Crossref]
- de Sousa, S. M.; Teixeira, R. R.; Costa, A. V.; de Aguiar, A. R.; Fonseca, V. R.; Lacerda Jr., V.; Romão, W.; Oliveira, L. A. M.; Ribeiro, I. M. L.; Nogueira, K. O. P. C.; do Nascimento, C. J.; Junker, J.; *Quim. Nova* **2021**, *44*, 1268. [Crossref]
- Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004. [Crossref]
- Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin V. V.; Sharpless K. B.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596. [Crossref]

27. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M.; *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057. [Crossref]
28. Singh, M. S.; Chowdhury, S.; Koley, S.; *Tetrahedron* **2016**, *72*, 5257. [Crossref]
29. Meldal, M.; Diness, F.; *Trends Chem.* **2020**, *2*, 569. [Crossref]
30. Tomiotto-Pellissier, F.; Bortoleti, B. T. D. S.; Assolini, J. P.; Gonçalves, M. D.; Carlotto, A. C. M.; Miranda-Sapla, M. M.; Conchon-Costa, I.; Bordignon, J.; Pavanelli, W. R.; *Front Immunol.* **2018**, *9*, 2529. [Crossref]
31. de Morais, S. M.; Vila-Nova, N. S.; Bevilacqua, C. M. L.; Rondon, F. C.; Lobo, C. H.; Moura, A. A. N.; Sales, A. D.; Rodrigues, A. P. R.; de Figueiredo, J. R.; Campello, C. C.; Wilson, M. E.; de Andrade Jr., H. F.; *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6250. [Crossref]
32. Teixeira, R. R.; Gazolla, P. A. R.; Borsodi, M. P. G.; Ferreira, M. M. C.; Costa, M. C. A.; Costa, A. V.; Grijó, B. C. A.; Bergmann, B. R.; Lima, W. P.; *Exp. Parasitol.* **2022**, *238*, 108269. [Crossref]
33. Dheer, D.; Singh, V.; Shankar, R.; *Bioorg. Chem.* **2017**, *71*, 30. [Crossref]
34. Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H. A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 3511. [Crossref]
35. Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G.; Genazzani, A. A.; *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278. [Crossref]
36. Zhang, B.; *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *168*, 357. [Crossref]
37. Agalave, S. G.; Maujan, S. R.; Pore, V. S.; *Chem. Asian J.* **2011**, *6*, 2696. [Crossref]
38. Kabi, A. K.; Sravani, S.; Gujjarappa, R.; Garg, A.; Vodnala, N.; Tyagi, U.; Kaldhi, D.; Singh, V.; Gupta, S.; Malakar, C. C. In *Nanostructured Biomaterials*; Swain, B. P., ed.; Springer Nature: Singapore, 2022, ch. 11.
39. Jiang, X.; Hao, X.; Jing, L.; Wu, G.; Kang, D.; Liu, X.; Zhan, P.; *Expert Opin. Drug Discovery* **2019**, *14*, 779. [Crossref]
40. Alam, M. M.; *Arch. Pharm.* **2021**, *355*, e2100158. [Crossref]
41. Xu, Z.; Zhao, S.-J.; Liu, Y.; *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *183*, 111700. [Crossref]
42. Forezi, L. S. M.; Lima, C. G. S.; Amaral, A. A. P.; Ferreira, P. G.; Souza, M. C. B. V.; Cunha, A. C.; da Silva, F. C.; Ferreira, V. F.; *Chem. Rec.* **2021**, *21*, 2782. [Crossref]
43. Razzaghi-Asl, N.; Sepehri, S.; Ebadi, A.; Nejatkhani, N.; Johari-Ahar, M.; *Mol. Diversity* **2020**, *24*, 525. [Crossref]
44. Ferreira, S. B.; Costa, M. S.; Boechat, N.; Bezerra, R. J. S.; Genestra, M. S.; Canto-Cavalheiro, M. M.; Kover, W. B.; Ferreira, V. F.; *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1388. [Crossref]
45. Porta, E. O. J.; Carvalho, P. B.; Avery, M. A.; Tekwani, B. L.; Labadie, G. R.; *Steroids* **2014**, *79*, 28. [Crossref]

Submitted: March 4, 2023

Published online: May 12, 2023



CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Embora o presente estudo tenha avançado com relação à síntese e à avaliação da atividade antileishmanial de derivados do eugenol, há ainda oportunidades para ampliar nosso entendimento e maximizar o potencial terapêutico desses compostos. Para alcançar uma caracterização completa e detalhada de todos os compostos elaborados, é fundamental adquirir mais dados espectroscópicos e espectrométricos. Além disso, para os derivados diidroxilados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos, planeja-se realizar um estudo de citometria de fluxo, microscopia eletrônica, dosagem de óxido nítrico e de citocinas para avaliação da resposta imune Th1 ou Th2. Este estudo visa avaliar como os compostos mais ativos **3e** e **3h** interferem nos parasitos de *Leishmania braziliensis*, causador da leishmaniose tegumentar. A citometria de fluxo proporcionará insights valiosos sobre os mecanismos de ação dos compostos e sua capacidade de combater a infecção parasitária. Essas investigações adicionais são essenciais para aprimorar nossa compreensão das propriedades farmacológicas dos derivados do eugenol e para identificar candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes leishmanicidas. Ao explorar o *scaffold* eugenol/1,2,3-triazol, espera-se não apenas contribuir para a expansão do arsenal terapêutico contra a leishmaniose tegumentar, mas também fornecer uma base sólida para o desenvolvimento de tratamentos alternativos eficazes e acessíveis para essa doença debilitante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGALAVE, S.G.; MAUJAN, S.R.; PORE, V.S.; Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores. *Chemistry na AsianJournal*, v.6, p.2696-2718, 2011.
- AMANTINI, D.; FRINGUELLI, F.; PIERMATTI, O.; TORTOIOLI, S.; VACCARO, L. Nucleophilic ring opening of 1,2-epoxides in aqueous medium. *Archive for Organic Chemistry*, v. xi, p. 293-311, 2002.
- ASTRUC, D.; LIANG, L.; RAPAPOULOS, A.; RUIZ, J. Click dendrimers and triazole related/aspects: catalysts, mechanism, synthesis, and functions. A bridge between dendritic architectures and nanomaterials. *Accounts of Chemical Research*, v.45, p. 630–640, 2012.
- BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Editora UFV, 2008.
- BASTOS, M. M.; BOECHAT, N.; HOELZ, L. V. B.; DE OLIVEIRA, A. P. Quimioterapia Antileishmania: Uma Revisão da Literatura, *Revista Virtual de Química*, v. 8 (6), p. 2072-2104, 2016.
- BASTOS, M. S.; SOUZA, L. A.; ONOFRE, T. S.; SILVA-JÚNIOR A.; ALMEIDA, M. R.; BRESSAN, G. C.; FIETTO, J. L. R. Achievement of constitutive fluorescent pLEXY-egfp *Leishmania Braziliensis* and its application as an alternative method for drug screening in vitro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ*, v. 112 (2), p. 155-159, 2017.
- BEASLEY, E. A.; MAHACHI, K. G.; PETERSEN, C. A. Possibility of *Leishmania* Transmission via *Lutzomyia* spp. Sand Flies Within the USA and Implications for Human and Canine Autochthonous Infection. *Current Tropical Medicine Reports*, v. 9, p. 160–168, 2022.

Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), 2024. Disponível em

<https://bvsm.sau.de.gov.br/agir-agora-agir-juntos-investir-em-dtns-30-01-dia-mundial-das-doencas-tropicais-negligenciadas/#:~:text=Hansen%C3%ADase%2C%20dengue%2C%20leishmaniase%2C%20esquistossomose,conhecidas%20como%20doen%C3%A7as%20infecciosas%20negligenciadas>. Acesso: Março de 2024.

BORGATI, T. F. Síntese e avaliação da atividade herbicida de triazóis. Tese (Doutorado em Ciências – Química) – Departamento de Química do Instituto Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

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

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. *Seminar*, v. 392, p. 951-970, 2018.

CANDUZINI, H. A. Síntese e funcionalização de 1,2,3-triazóis via reação de cicloadição [3+2] de azidas e acetilenos terminais/ Hugo Antonio Canduzini – 2012. 178 f. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9138/tde-07032013-094439/pt-br.php>>

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. Organic Chemistry. Ed. Oxford University Press, Oxford, 2001.

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *TRENDS in Parasitology*, v. 19 (11), 2003.

- DE MENEZES, J. P. B.; GUEDES, C. E. S.; PETERSEN, A. L. O. A.; FRAGA, D. B. M.; VERAS, P. S. T. Advances in Development of New Treatment for Leishmaniasis. *BioMed Research International*, v. 2015, p. 1-11, 2015.
- DE MORAIS, S. M.; VILA-NOVA, N. S.; BEVILAQUA, C. M. L.; RONDON, F. C.; LOBO, C. H.; MOURA, A. A. A. N.; SALES, A. D.; RODRIGUES, A. P. R.; FIGUEIREDO, J. R.; CAMPELLO, C. C.; WILSON, M. E.; ANDRADE JÚNIOR, H. F. Thymol and eugenol derivatives as potencial antileishmanial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 22, p. 6250–6255, 2014.
- DE OLIVEIRA, L. F. G.; PEREIRA, B. A. S.; GILBERT, B.; CORRÊA, A. L.; ROCHA, L.; ALVES, C. R. Natural products and phytotherapy: na innovative perspective in leishmaniasis treatment. *Phytochemistry Reviews*, v. 16, p. 219-233, 2017.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. *Bioorganic Chemistry*, v. 71, p. 30-54, 2017.
- Ebiomedice, 2023. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(23\)00005-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(23)00005-1/fulltext). Acesso: Março, 2024.
- FEASEY, N.; WANSBROUGH-JONES, M.; MABEY, D. C. W.; SOLOMON, A. W. Neglected tropical diseases. *British Medical Bulletin*, v. 93, p. 179–200, 2010.
- FREITAS, C. S.; PEREIRA, I. A. G.; LAGE, D. P.; VALE, D. L.; PIMENTA, B. L.; SOARES, N. P.; SANTIAGO, S. S.; MARTINS, V. T.; CÂMARA, R. S.B.; JESUS, M. M.; TAVARES, G. S. V.; RAMOS, F. F.; LUDOLF, F.; MAGALHÃES, L. N. D.; OLIVEIRA, F. M.; DUARTE, M. C.; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M. A.; COSTA, A. V.; ROATT, B. M.; TEIXEIRA, R. R.; COELHO, E. A. F. New synthetic molecules incorporated into polymeric micelles used for treatment against visceral leishmaniasis. *Cytokine*, v. 177, 156543, 2024.

- FREITAS, R. P.; FREITAS, L. B. O.; RUELA, F.A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. *Química Nova*, v. 34, p. 1791-1804, 2011.
- FRÉZARD, F.; DEMICHELI, C.; RIBEIRO, R. R. Pentavalent Antimonials: New Perspectives for Old Drugs. *Molecules*, v. 14, p.2317-2336, 2009.
- FRINGUELLI, F.; PIERMATTI, O.; PIZZO, F.; VACCARO, L. Ring Opening of Epoxides with Sodium Azide in Water. A Regioselective pH Controlled Reaction. *Journal of Organic Chemistry*, v. 64, p. 6094-6096, 1999.
- GAZOLLA, P. A. R. Síntese e Avaliação das Atividades Leishmanicida, Citotóxica, Fungicida e Inseticida de derivados da vanilina contendo o núcleo 1,2,3-triazólico e obtenção de novos derivados 1,2,3-triazólicos do eugenol. (Doutorado em Agroquímica) – Departamento de Química do Instituto Ciências Exatas, Universidade Federal de Viçosa, 2020.
- GAZOLLA, P. A. R.; LIMA, W. P.; AGUIAR, A. R.; BORSODI, M. P. G.; COSTA, A. V.; DE OLIVEIRA, F. M.; DE OLIVEIRA, O. V.; COSTA, M. C. A.; FERREIRA, M. M. C.; DO NASCIMENTO, C. J.; JUNKER, J.; VAZ, B. G.; TEIXEIRA, R. R. Leishmanicidal activity and 4D quantitative structure-activity relationship and molecular docking studies of vanillin- containing 1,2,3-triazole derivatives. *Future Medicinal Chemistry*, v. 16 (2), p. 139-155, 2023.
- GERVAZONI, L. F. O.; BARCELLOS, G. B.; FERREIRA-PAES, T.; ALMEIDA-AMARAL, E. E. Use of Natural Products in Leishmaniasis Chemotherapy: Na Overview, *Frontiers in Chemistry*, v. 8, p. 1-43, 2020.
- GILLIS, E. P.; EASTMAN, K. J.; HILL, M. D.; DONNELLY, D. J.; MEANWELL, N. A. Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58 (21), p. 8315-8359, 2015.

- GOMES, A. C. A.; SILVA, E. D. O.; PITA NETO, I. C.; BEZERRA, T. P. Leishmaniose muco-cutânea: Relato de caso clínico. *Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial*, v.4 (4), p. 223-228, 2004.
- HAGMANN, W. K. The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 51 (15), p. 4359-4369, 2008.
- HEIN, J. E.; FOKIN, V.V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper (I) acetylides. *Chemistry Society Review*, v. 39, p. 1302–1315, 2010.
- HOU, J.; LIU, X.; SHEN, J.; ZHAO, G.; WANG, P. G. The impact of click chemistry in medicinal chemistry. *Expert Opinion on Drug Discovery*, v. 7, p. 489-501, 2012.
- HUGHES, K.; LE, T. B.; SMISSEN, P. V. D.; TYTECA, D.; MINGEOT-LECLERCQ, M. P.; QUETIN-LECLERCQ. The Antileishmanial Activity of Eugenol Associated with Lipid Storage Reduction Rather Than Membrane Properties Alterations. *Molecules*, v. 28, p. 3871-3887, 2023.
- ISLAMUDDIN, M.; SAHAL, D.; AFRIN, F. Apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes induced by eugenol-rich oil of *Syzygium aromaticum*. *Journal of Medical Microbiology*, v. 63, p. 74-85, 2014.
- KAMATOU, G. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol – From the remote Maluku Islands to the International marketplace: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, v. 17, p. 6953-6981, 2012.
- KAUFMAN, T. S. The Multiple Faces of Eugenol. A Versatile Starting Material and Building Block for Organic and Bio-Organic Synthesis and a Convenient Precursor Toward Bio-Based Fine Chemicals. *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 26 (6), p. 1055-1086, 2015.

- KATSUNO, K.; BURROWS, J. N.; DUNCAN, K.; HUIJSDUIJNEN, R. H. V.; KANEKO, T.; KITA, KIYOSHI, MOWBRAY, C. E.; SCHUMATZ, D.; WARNER, P.; SLINGSBY, B. T. Hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases of the developing world. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 14 (11), p. 751-758, 2015.
- KOLB, H. C.; SHARPLESS, K. B.; FINN, M. G. Click Chemistry: Diverse Chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 40, p. 2004-2021, 2001.
- KOKO, W. S.; NASR, I. S. A.; KHAN, T. A.; SCHOBERT, R.; BIRSACK, B. Na Update on Natural Antileishmanial Treatment Options from Plants, fungi and Algae. *Chemistry Biodiversity*, v.19, e202100542, 2022.
- LE, T. B.; BEAUFAY, C.; NGHIEM, D. T.; MINGEIT-LECLERCQ, M. P.; QUETIN-LECLERCQ. In Vitro Anti-Leishmanial Activity of Essential Oils Extracted from Vietnamese Plants. *Molecules*, v. 22, p. 1071-1082, 2017.
- LI, C.; CHEN, Y.; CAI, X.; YANG, G.; SUN, X. S. Eugenol-Derived Molecular Glass: A Promising Biobased Material in the Design of Self-Healing Polymeric Materials. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*, vol. 8 (9), 3553–3560, 2020.
- LI, H.; ANEJA, R.; CHAIKEN, I. Click chemistry in peptide-based drug design, *Molecules*, v. 18, p. 9797–9817, 2013.
- LIMA, A. C.; MENDES, V. G.; FERREIRA, R. R.; NISIMURA, L. M.; HORITA, S. I. M.; VELOSO, H. H.; COSTA, A. R.; SILVA, G. M.; SANGENIS, L. H. C.; HOLANDA, M. T.; RIMOLO, L.; CUNHA, A. B.; GARSONI, L. R.; HASSLOCHER-MORENO, A. M.; MEDIANO, M. F. F.; MOREIRA, O. C.; BRITTO, C.; SARAIVA, R. M. Predictors of *Trypanosoma cruzi* PCR positivity in patients with chronic Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 118, e230115, p. 1-9, 2023.

- LIMA, J. A. C.; FREITAS, J. R.; SILVA, J. F.; FILHO, M. C.; FREITAS, J. C. R. O Estado da Técnica do Eugenol: Uma Prospecção Tecnológica Fundamentada em Base de Dados de Patentes e Periódicos. *Revista Virtual de Química*, v. 11(3), p.699-719, 2019.
- LINDOSO, J. A. L.; COSTA, J. M. L.; QUEIROZ, I. T.; GOTO, H. Review of the current treatments for leishmaniasis. *Research and Reports in Tropical Medicine*, v. 3, p. 69–77, 2012.
- LINDOSO, J. A. L.; LINDOSO, A. A. B. P. Neglected Tropical Diseases in Brazil, *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, vol. 51 (5), p. 247-253, 2009.
- MAO, M.; LI, Y.; LIU, Q.; XIONG, L.; ZHANG, X.; LI, Z. Synthesis and biological evaluation of novel N-pyridylpyrazole derivatives containing 1,2,3-triazole moieties. *Journal of Pesticide Science*, v. 40, p. 138-142, 2015.
- MEGHANI, N. M.; AMIN, H. H.; JINLEE, B. Mechanistic applications of click chemistry for pharmaceutical drug Discovery and drug delivery. *Drug Discovery Today*, v. 22, p. 1604–1619, 2017.
- MELDAL, M.; TORNØE, C. W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chemical Review*, v. 108, p. 2952–3015, 2008.
- MELO, J. O. F.; DOONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológica, *Química Nova*, v. 29, p. 569-579, 2006.
- Ministério da Saúde, 2024. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/agosto/leishmanioses-ministerio-da-saude-alerta-para-prevencao>. Acesso: Marco, 2024.

- MORGADO, F. N.; DE CARVALHO, M. V.; LEITE-SILVA, J.; SEBA, A. J.; PIMENTEL, M. I. F.; FAGUNDES, A.; MADEIRA, M. F.; LYRA, M. R.; OLIVEIRA, M. M.; SCHUBACH, A. O.; CONCEIÇÃO-SILVA, F. Unbalanced inflammatory reaction could increase tissur destruction and worsen skin infectious diseases – a comparative study of leishmaniasis and sporotrichosis. *Scientific Reports*, v. 8, p. 2898-2908, 2018.
- MOSES, J. E.; MOORHOUSE, A. D. The growing applications of click chemistry, *Chemical Society Reviews*, v. 36, p. 1249-1262, 2007.
- National Center for Biotechnology Information, 2024. PubChem Compound Summary for CID 3314, Eugenol. Disponível em <https://pubchem.ncbi.nlm.gov/compound/Eugenol>. Acesso em 5 de Março de 2024.
- OUYANG, T.; LIU, X.; OUYANG, H.; REN, L. Recent trends in click chemistry as a promising technology for virus-related research. *Virus Research*, v. 256, p. 21–28, 2018.
- PAVIA, D. L. LAMPMAN, G. M. KRIZ, G. S. VYVYAN, J. R. Introdução à espectroscopia. Cengage Learning, 2015.
- PEREIRA, G. R.; SANTOS, L. J.; LUDUVICO, I.; ALVES, R. B. DE FREITAS, R. P. “Click” chemistry as a tool for the facile synthesis of fullerene glycoconjugate derivatives. *Tetrahedron Letters*, v. 51, p. 1022-1025, 2010.
- PEREIRA, I. A. G.; FREITAS, C. S.; CÂMARA, R. S. B.; JESUS, M. M.; LAGE, D. P.; TAVARES, G. S. V.; SOYER, T. G.; RAMOS, F. F.; SOARES, N. P.; SAMIRA, S. S.; MARTINS, V. T.; VALE, D. L.; PIMENTA, B. L.; LUDOLF, F.; OLIVEIRA, F. M.; DUARTE, M. C.; CHAVÉZ-FUMAGALLI, M. A.; COSTA, A. V.; GONÇALVES, D. U.; ROATT, B. M.; TEIXEIRA, R. R.; COELHO, E. A. F. Treatment using vanillin-derived synthetic molecules incorporated into polymeric micelles is effective against

infection caused by *Leishmania amazonensis* species. *Experimental Parasitology*, v. 260, 108743, 2024.

PRAVEENA, K. S. S.; MURTHY, N. Y. S.; PAL, S. Synthesis and biological activities of 1,4-disubstituted-1,2,3-triazoles. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 7, p. 506-522, 2015.

PURSER, S.; MOORE, P. R.; SWALLOW, S.; GOUVERNEUR, V. Fluorine in medicinal chemistry. *Chemical Society Reviews*, v. 37, p. 320-330, 2008.

RAJ, S.; SASIDHARAN, S.; BALAJI, S. N.; DUBEY, V. K.; SAUDAGAR, P. Review on natural products as an alternative to contemporary anti-leishmanial therapeutics. *Journal of Proteins and Proteomics*, v. 11, p. 135-158, 2020.

RAJA, M. R. C.; VELAPPAN, A. B.; CHELLAPPAN, D.; DEBNATH, J.; MAHAPATRA, S. K. Eugenol derived immunomodulatory molecules against visceral Leishmaniasis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 139, p. 503-518, 2017.

RAZZAGHI-ASL, N.; SEPEHRI, S.; EBADI, A.; KARAMI, P.; NEJATKHAH, N.; JOHARI-AHAR, M. Insights into the current status of privileged *N*-heterocycles as antileishmanial agents. *Molecular Diversity*, v. 24, p. 525–569, 2020.

ROCHA, L. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MACÊDO, R. O.; BARBOSA FILHO, J. M. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine*, v. 12 (6-7), p. 514-535, 2005.

ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper (I) – Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes, *Angewandte Chemie International Edition*, v. 41, p. 2596-2599, 2002.

- SACKS, D.; KAMHAWI, S. Molecular Aspects of Parasite-Vector and Vector- Host Interactions in Leishmaniasis. *Annual Reviews in Microbiology*, v. 55, p. 453-483, 2001.
- SILVEIRA, F. T.; LIMA, L. V. R.; DOS SANTOS, T. V.; RAMOS, P. K. S.; CAMPOS, M. B. Revendo a trajetória da leishmaniose visceral americana na Amazônia, Brasil: de Evandro Chagas aos dias atuais. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 7, p. 15-22, 2016.
- VENEPALLY, V.; REDDY JALA, R. C. An insight into the biological activities of heterocyclic-fatty acid hybrid molecules. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 141, p. 113–137, 2017.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; BORSODI, M. P. G.; FERREIRA, M. M. C.; COSTA, M. C. A.; COSTA, A. V.; GRIJÓ, B. C. A.; BERGMANN, B. R.; LIMA, W. P. Eugenol derivatives with 1,2,3-triazole moieties: Oral treatment of cutaneous leishmaniasis and a quantitative structure-activity relationship model for their leishmanicidal activity. *Experimental Parasitology*, v. 238, p. 108269, 2022.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; SILVA, A. M.; BORSODI, M. P. G.; BERGMANN, B. R.; FERREIRA, R. S.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; LIMA, W. P., Synthesis and leishmanicida activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities, *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 146, p. 274-286, 2018.
- TORNØE, C. W.; CHRISTENSEN, C.; MELDAL, M. Peptido triazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper (I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *Journal of Organic Chemistry*, v. 67, p. 3057-3064, 2002.
- TRON, G. C.; PIRALI, T.; BILINGTON, R. A.; CANONICO, P. L.; SORBA, G.; GENAZZANI, A. A. Click Chemistry reactions in medical chemistry: Applications of

the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes, *Medicinal Research Reviews*, v. 28, p. 278-308, 2008.

UEDA-NAKAMURA, T.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; MORGADO-DIAZ, J. A.; MAZA, P. K.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; ALVIANO, D. S.; ROSA, M. S. S.; LOPES, A. H. C. S.; ALVIANO, C. S.; NAKAMURA, C. V. Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. *Science Direct*, v. 55, p. 99-105, 2006.

ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol - A Review. *Internacional Journal of Molecular Sciences*. v. 22, p. 3671-3684, 2021.

WANG, C.; IKHLEF, D.; KAHLAL, S.; SAILLARD, J. Y.; ASTRUC, D. Metal-catalyzed azide-alkyne — “click” reactions: Mechanistic overview and recente trends. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 316, p. 1–20, 2016.

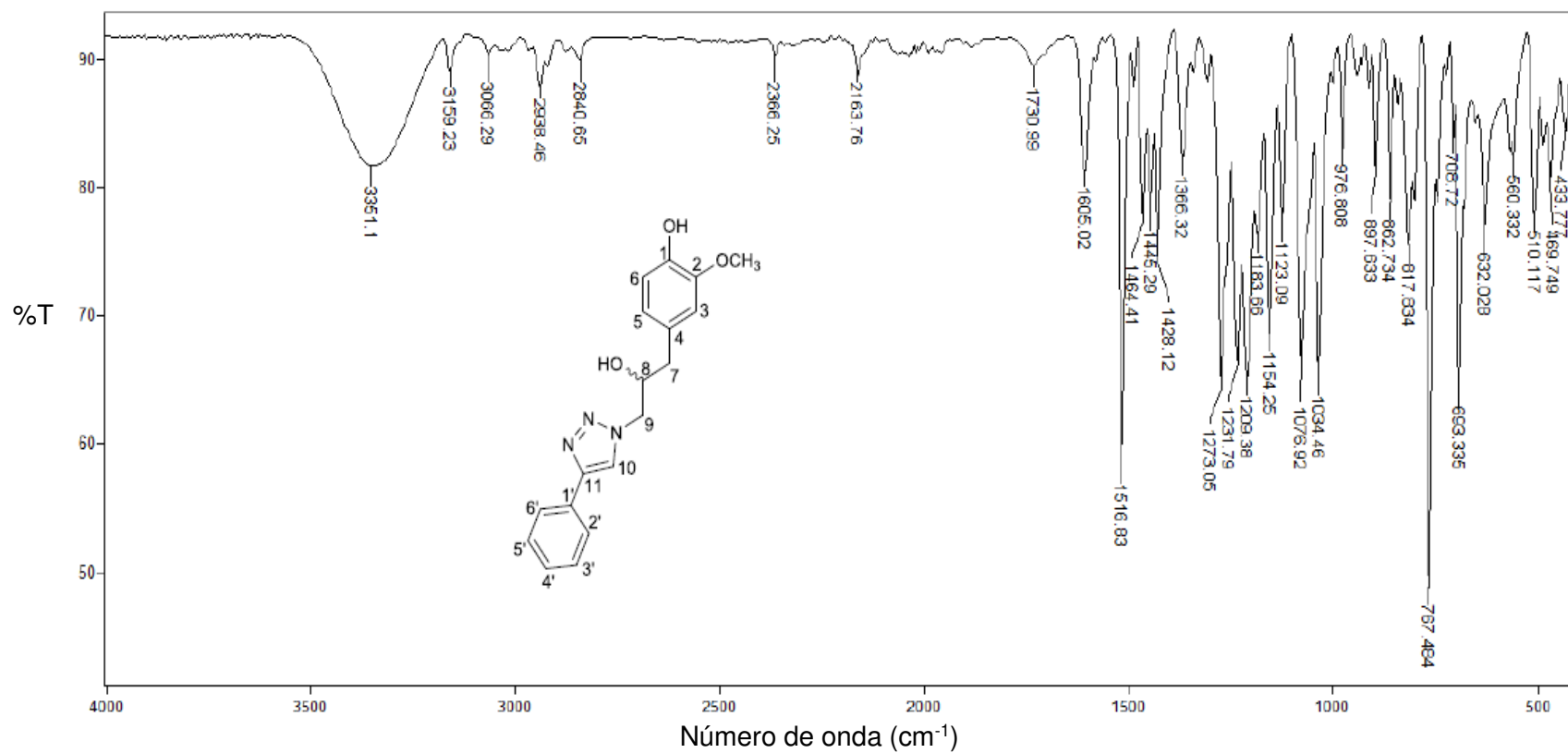
World Health Organization (WHO), 2024. Disponível em https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1. Acesso: Março de 2024.

World Health Organization (WHO), 2023. Disponível em: [Leishmaniasis \(who.int\)](https://www.who.int/leishmaniasis). Acesso: Março, 2024.

ZARI, A. T.; ZARI, T. A.; HAKEEM, K. R. Anticancer Properties of Eugenol: A Review. *Molecules*, v. 26, p. 7407- 7423, 2021.

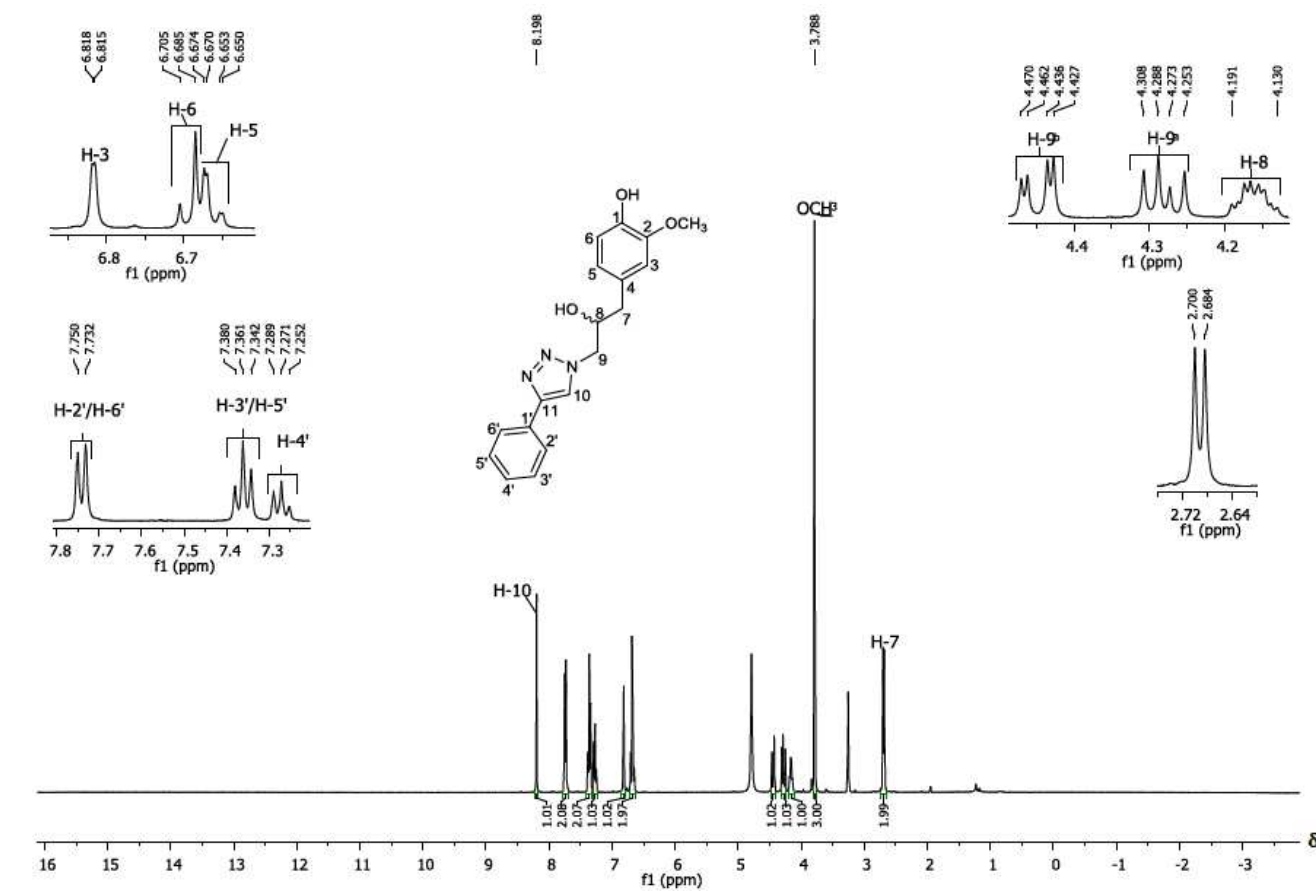
ZHANG, W. LI, Z.; ZHOU, M.; WU, F.; HOU, X.; LUO, H.; LIU, H.; HAN, X.; YAN, G.; DIN, Z.; LI, R. Synthesis and biological evaluation of 4-(1,2,3-triazol-1-yl) coumarin derivatives as potential antitumor agents. *Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters*, v. 24, p.799-807, 2014.

ANEXO A – ESPECTROS

Figura 1A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3a**.

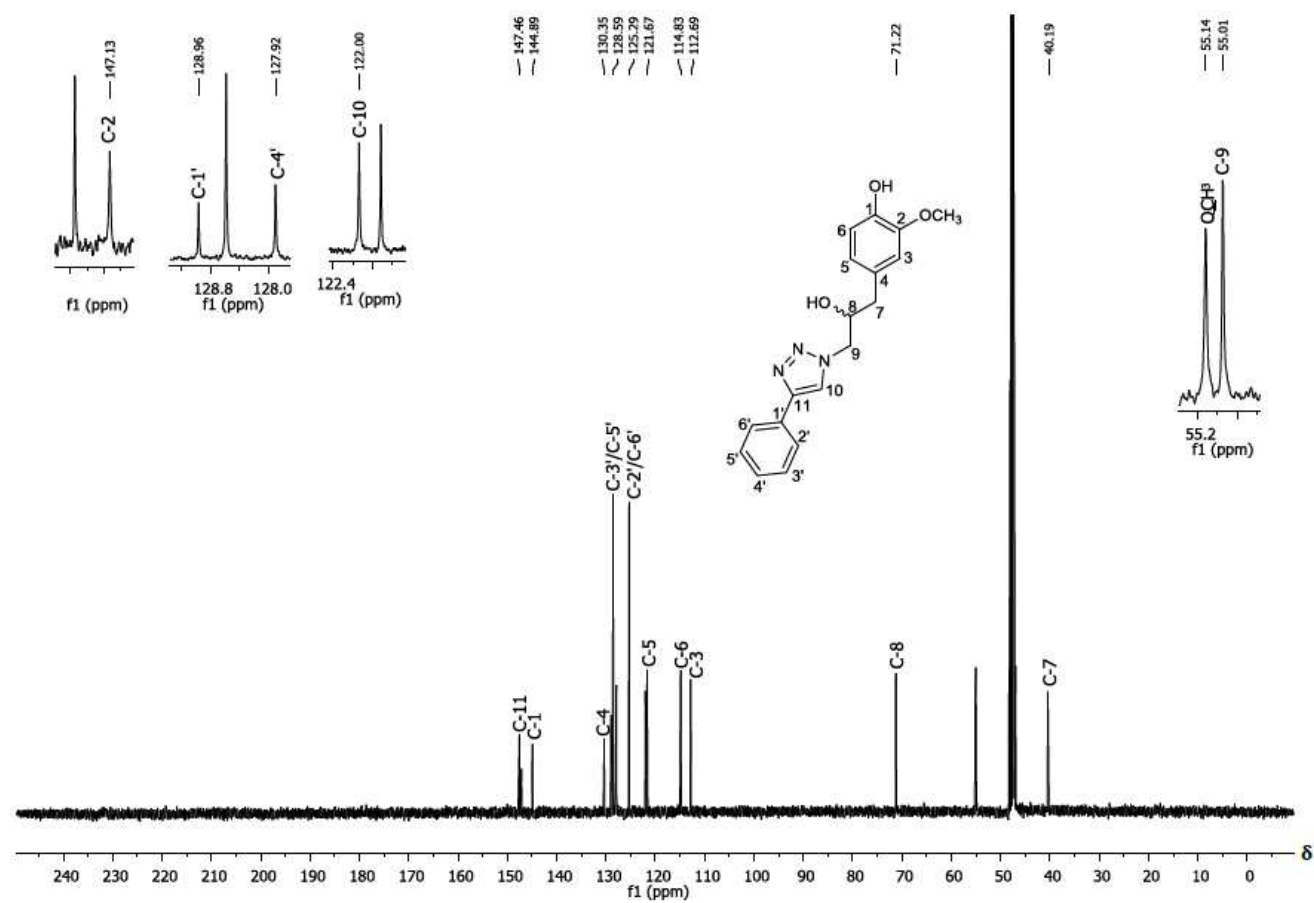
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 2A - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto **3a**.

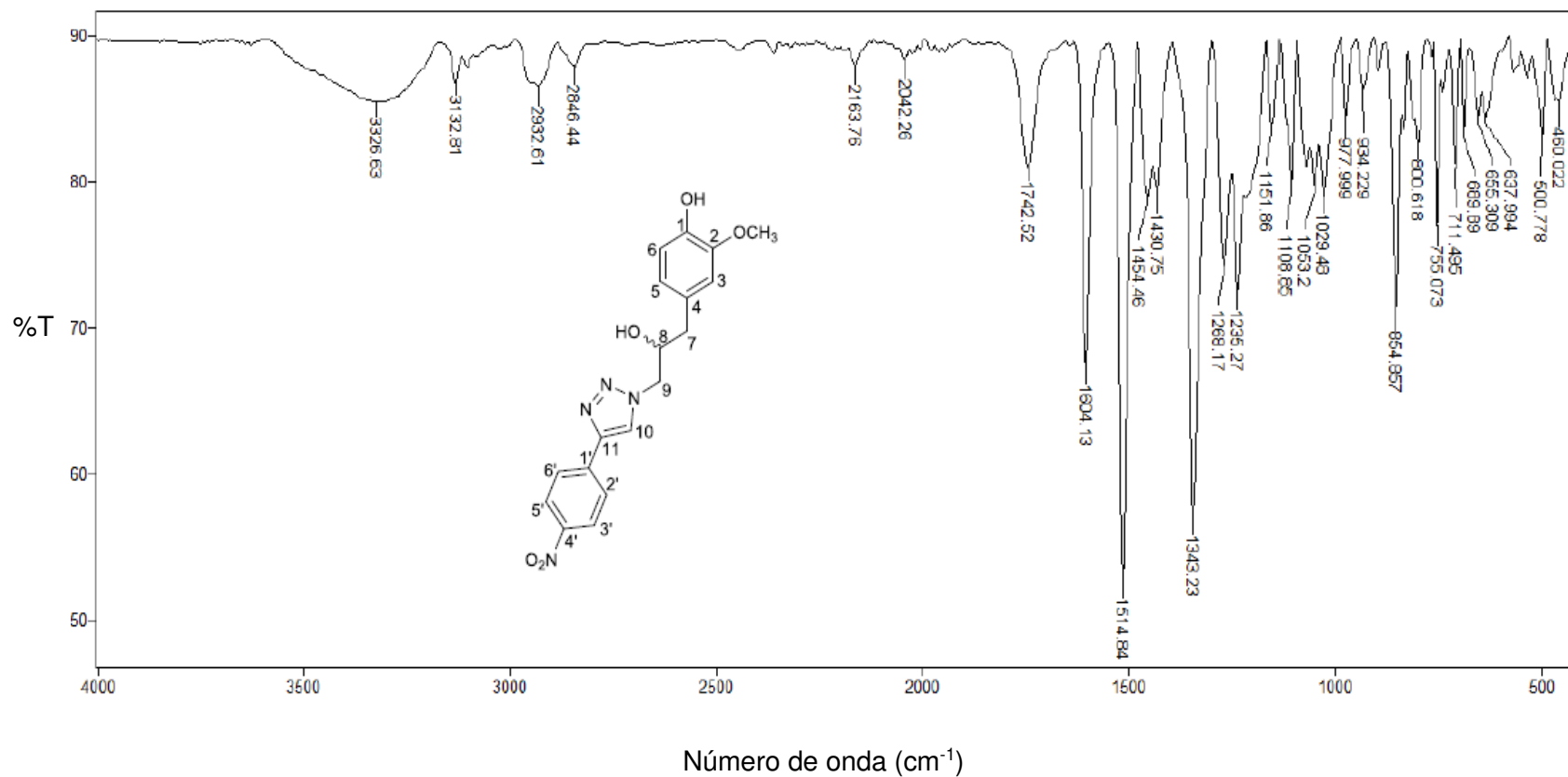


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 3A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto 3a.

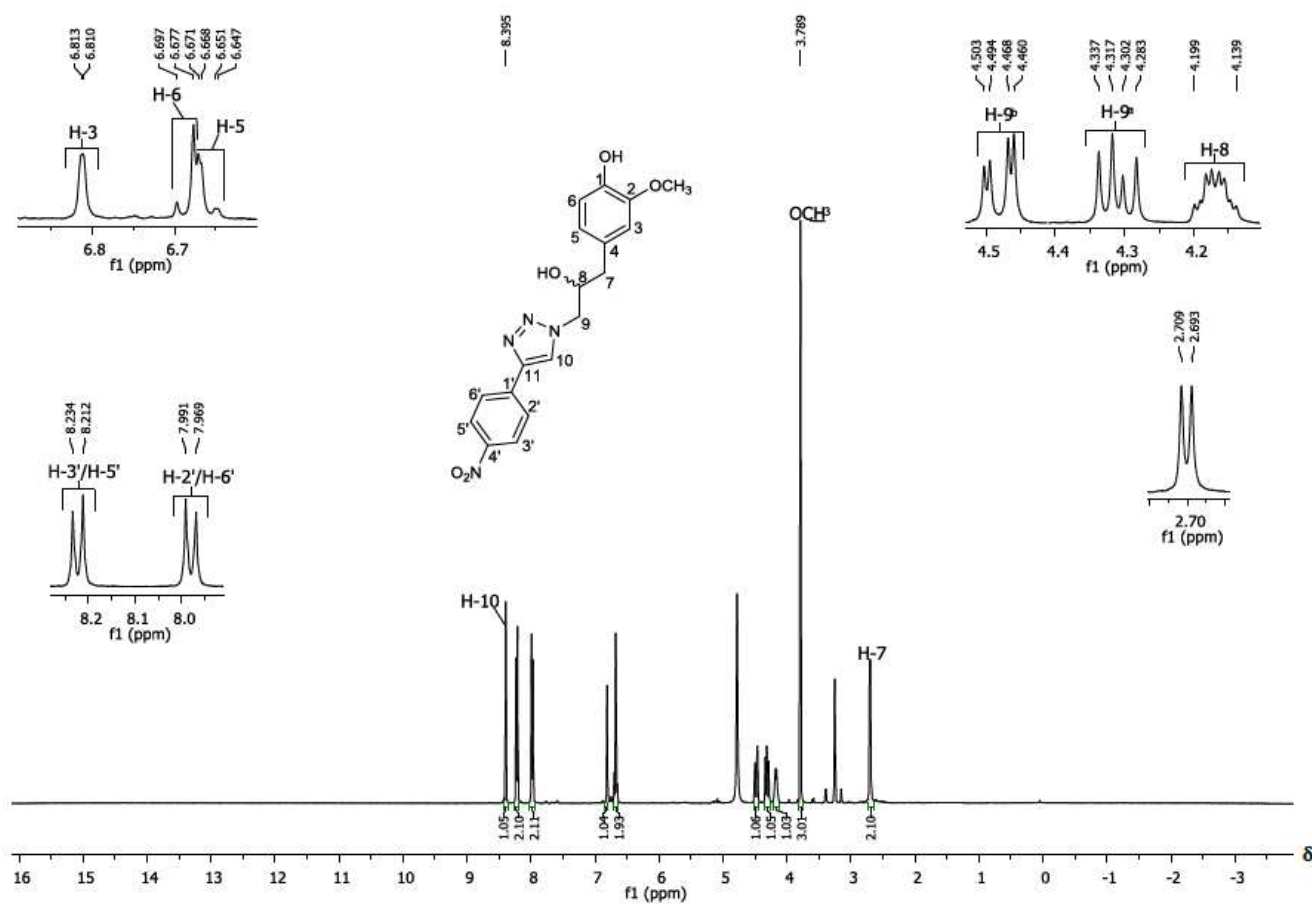


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 4A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3b**.

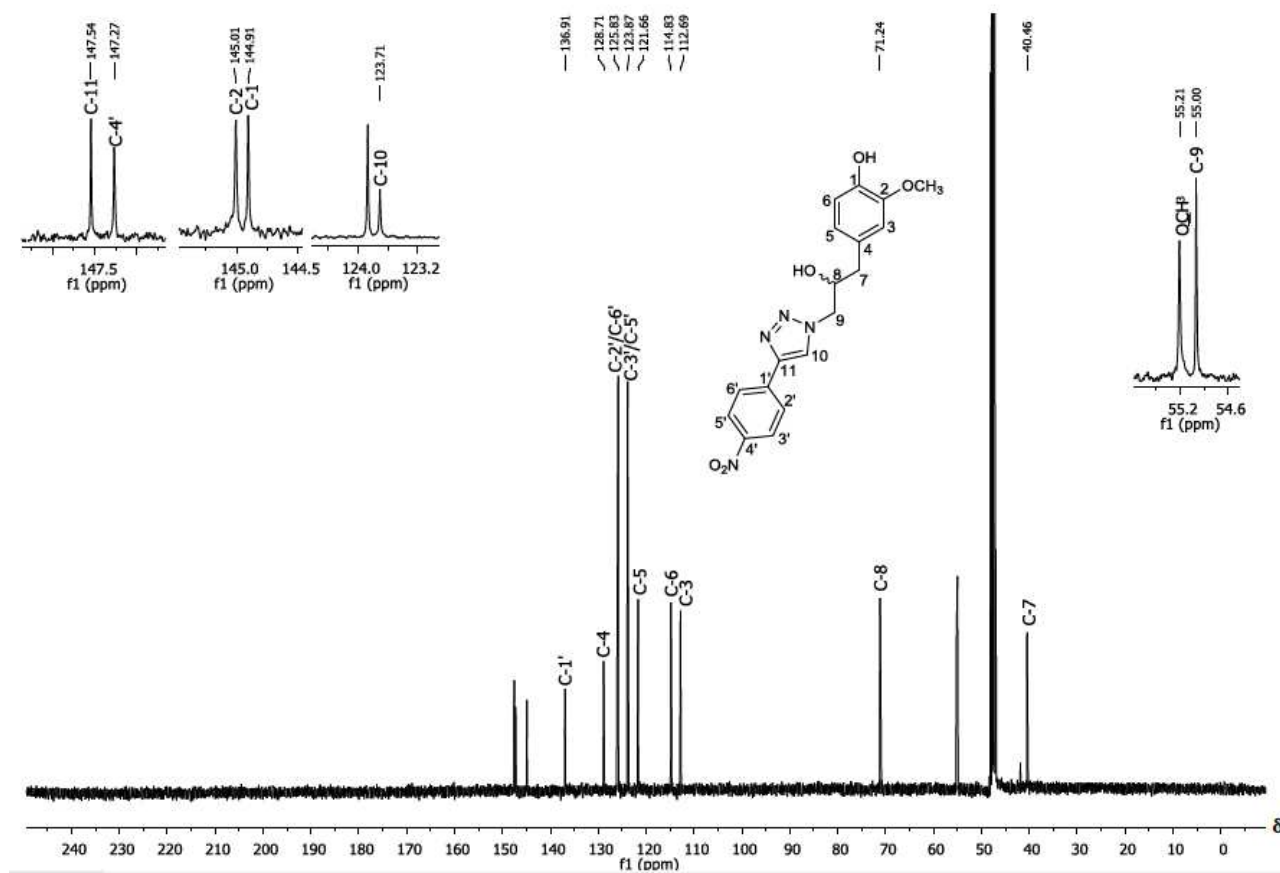
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 5A - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto **3b**.

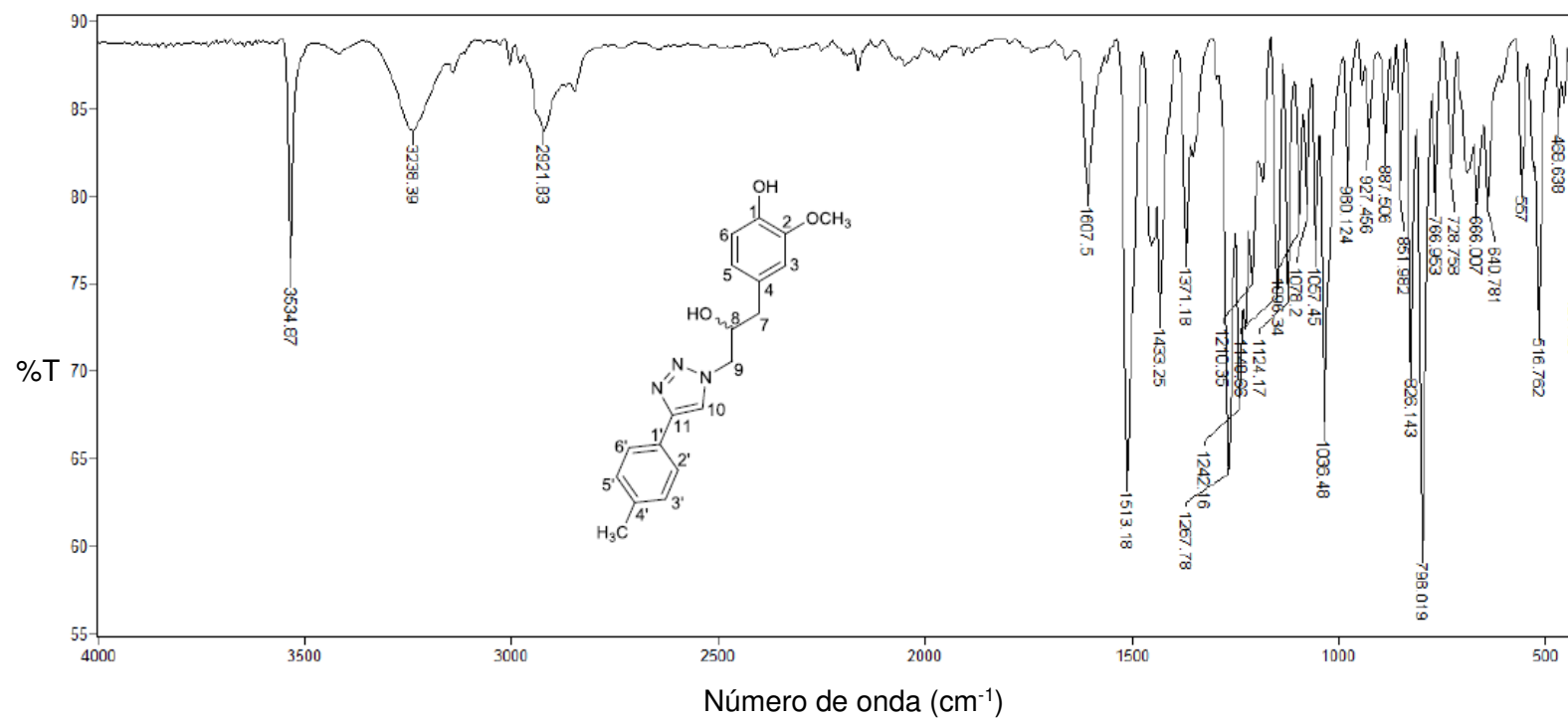


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 6A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do composto **3b**.

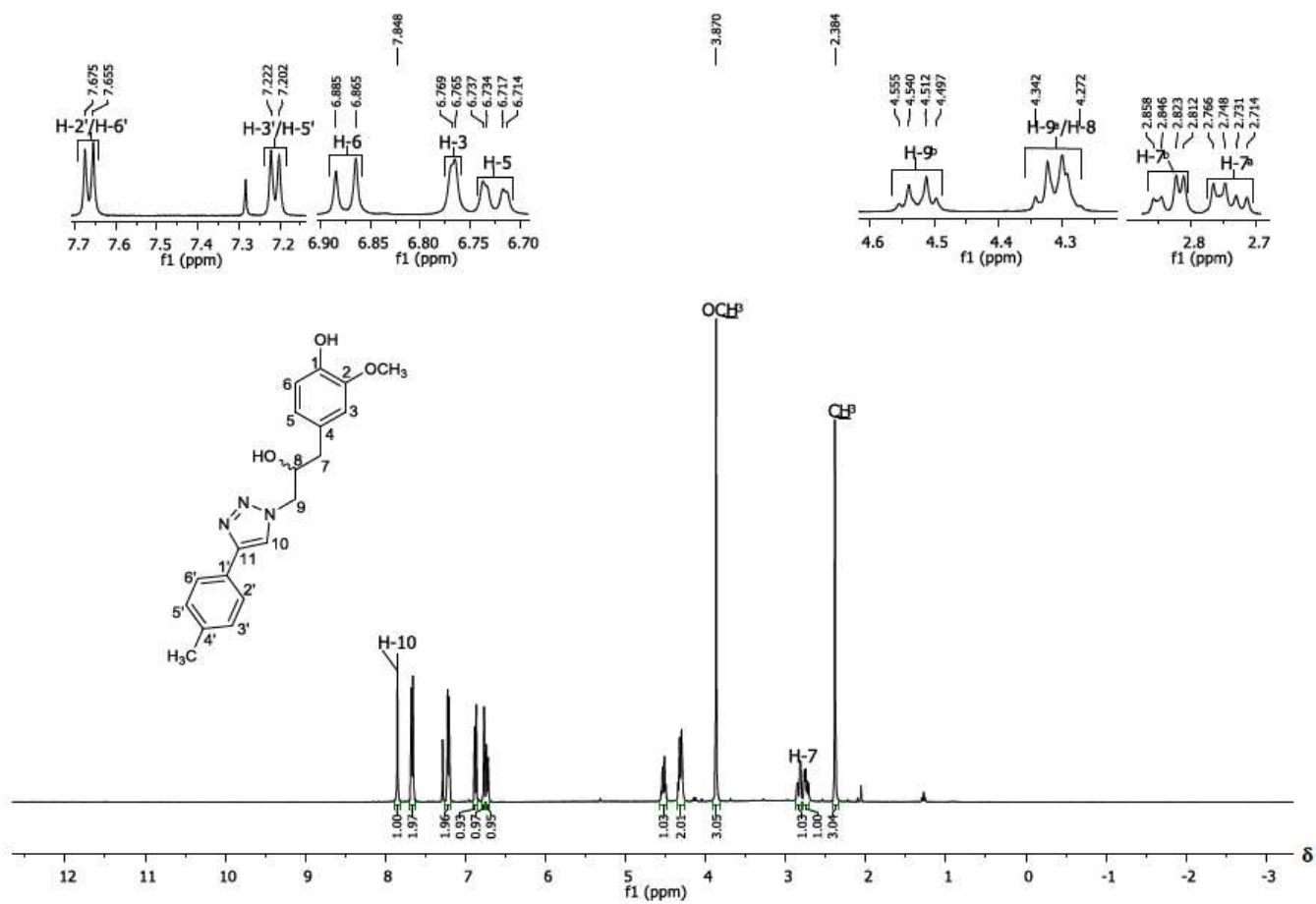


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 7A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3d**.

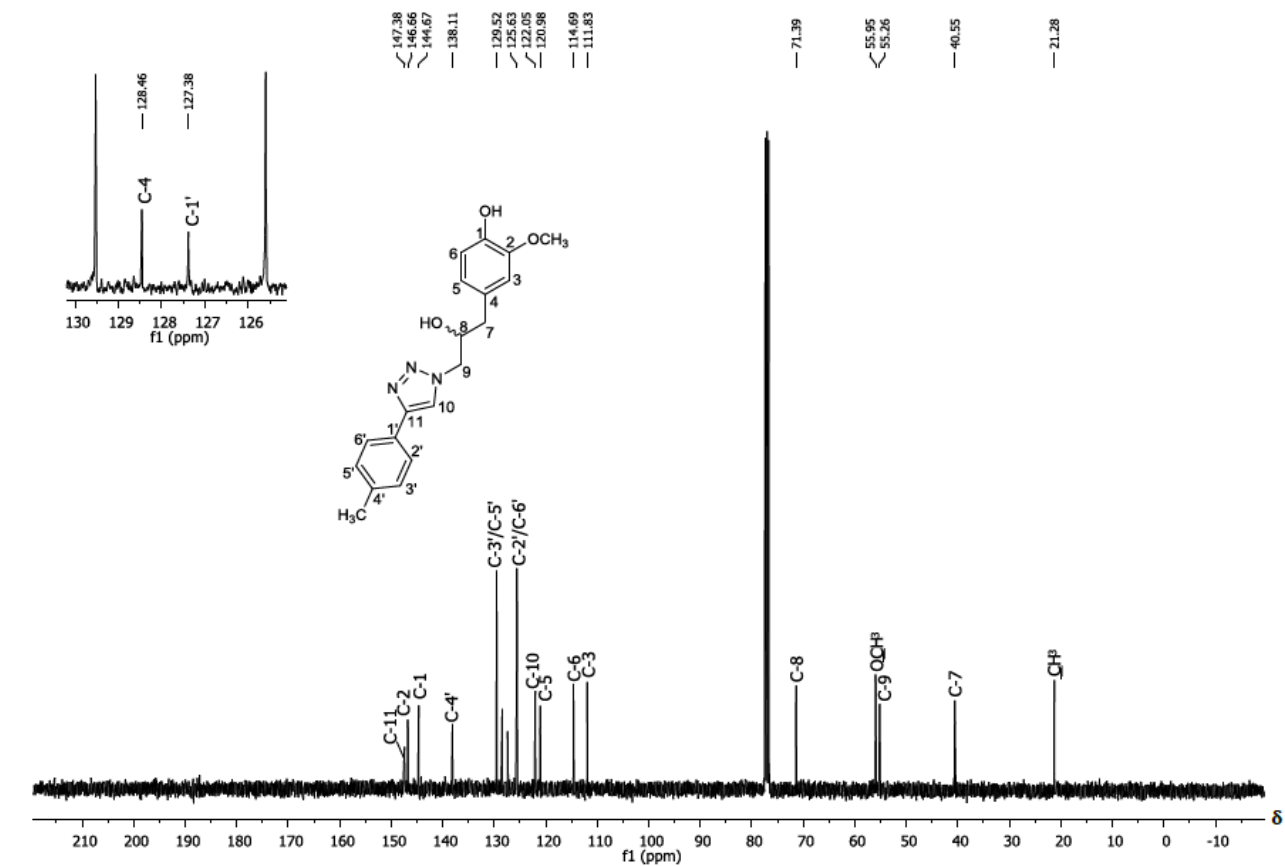
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 8A - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **3d**.

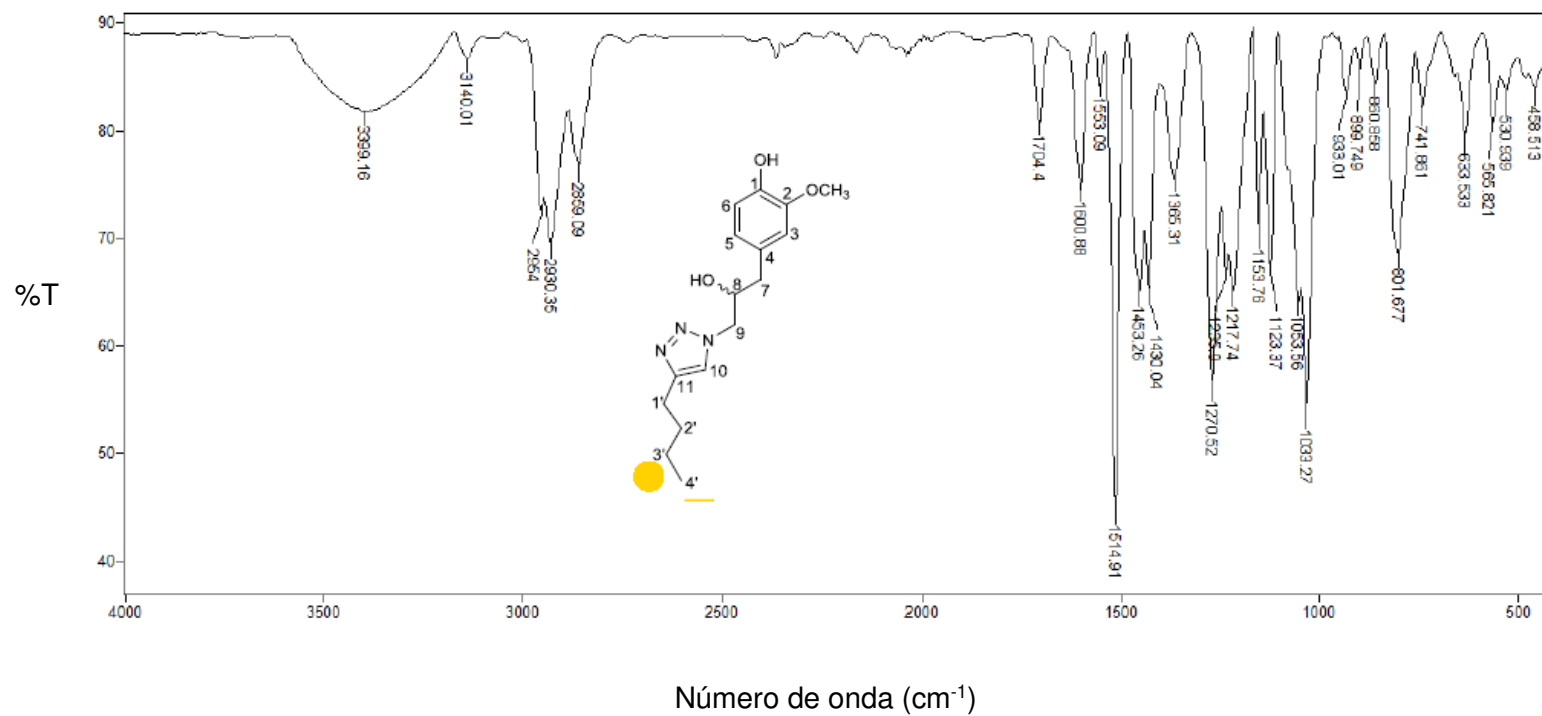


Fonte: Elaborada pela própria autora.

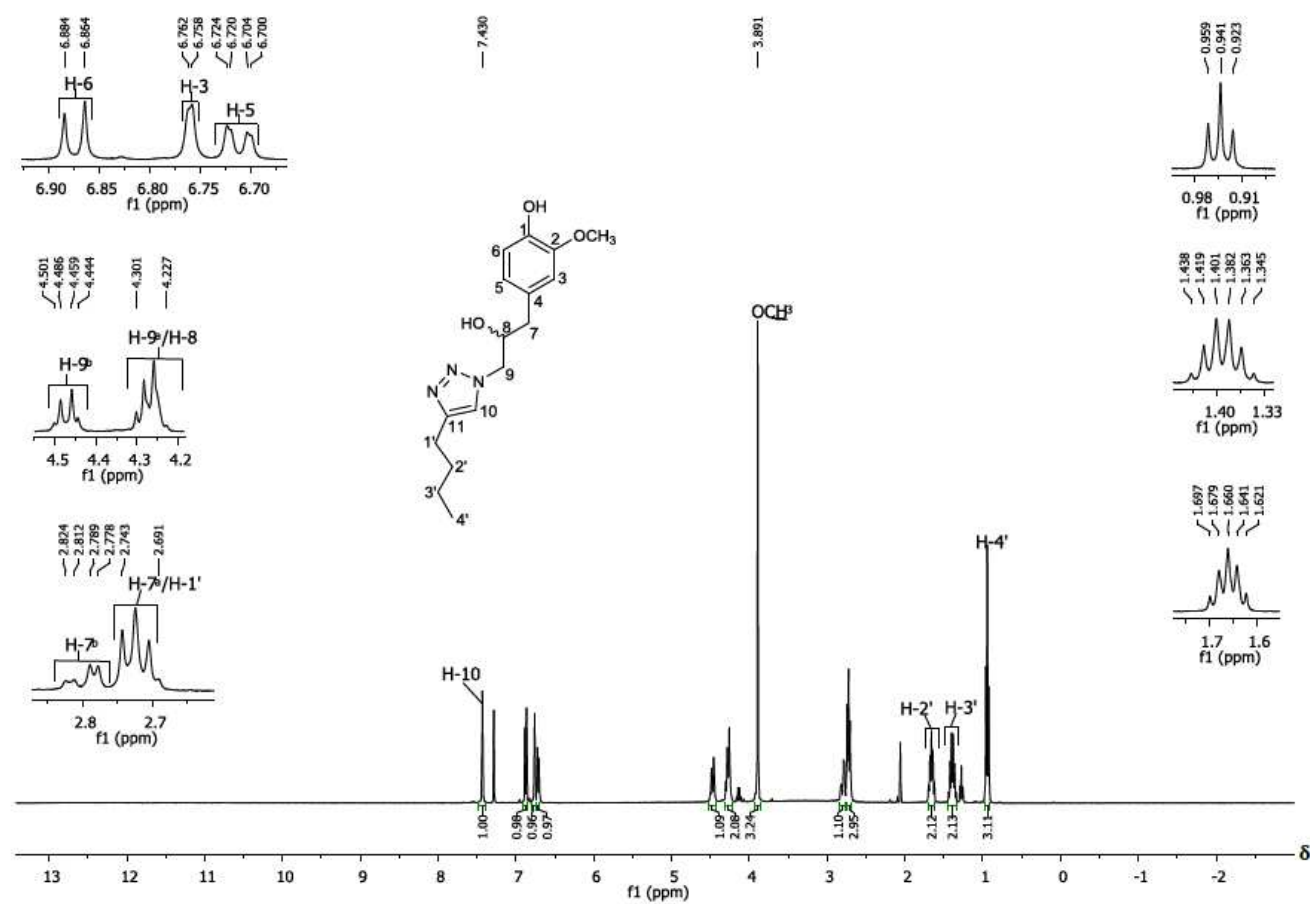
Figura 9A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **3d**.



Fonte: Elaborada pela própria autora.

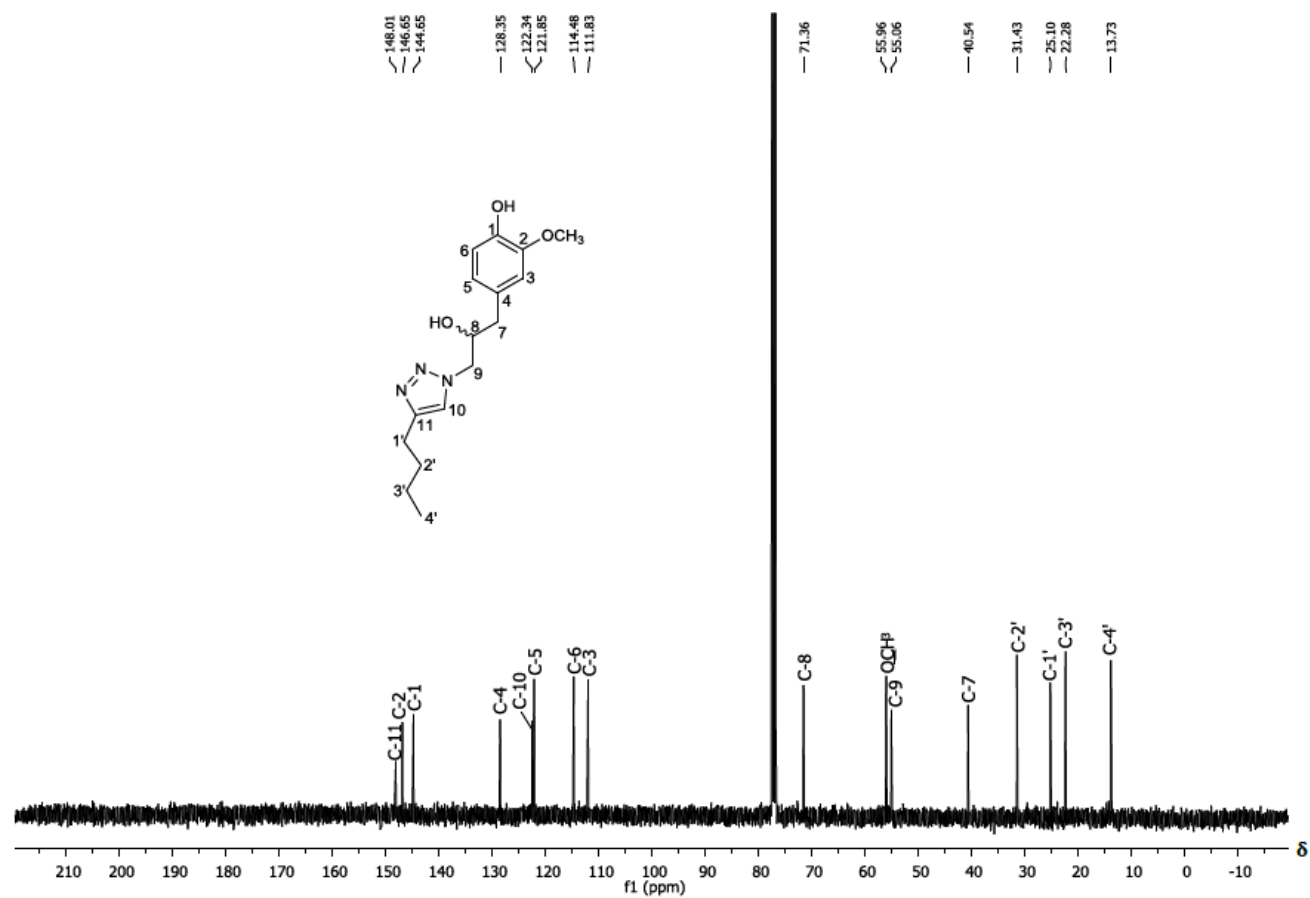
Figura 10A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3e**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

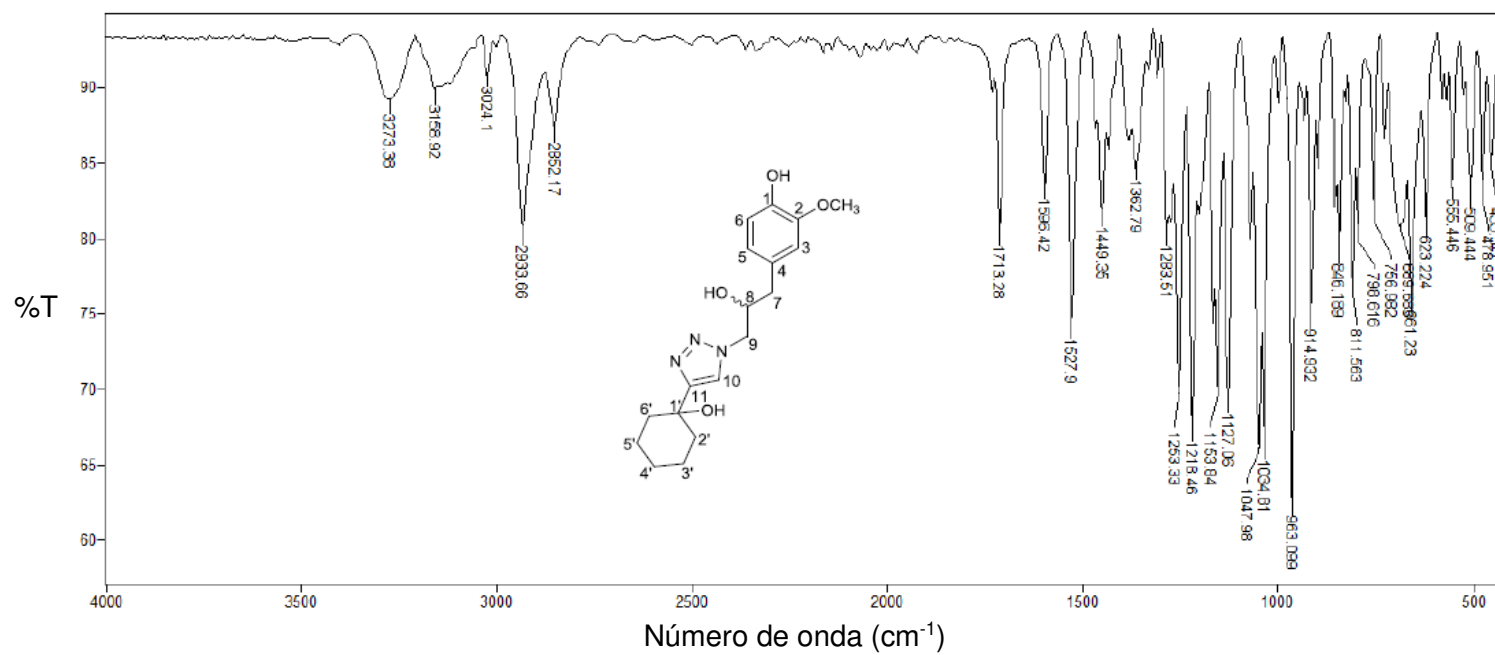
Figura 11A - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **3e**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 12A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **3e**.

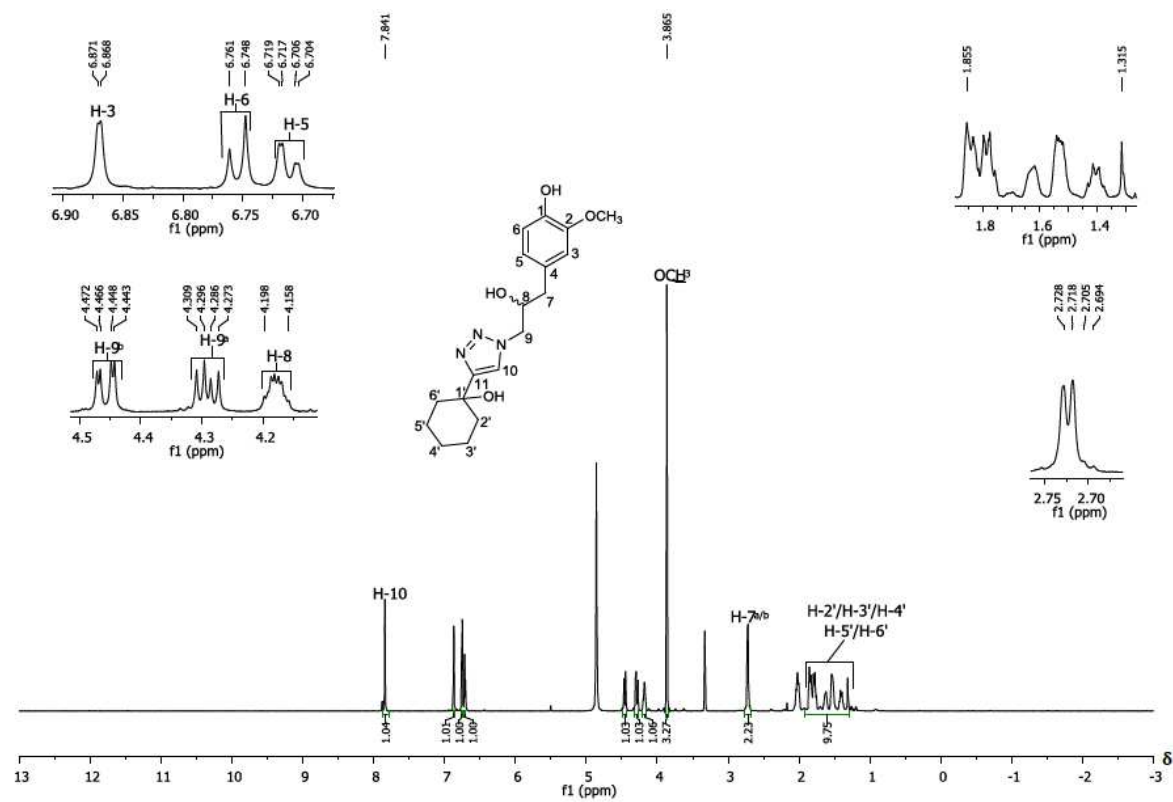


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 13A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3f**.

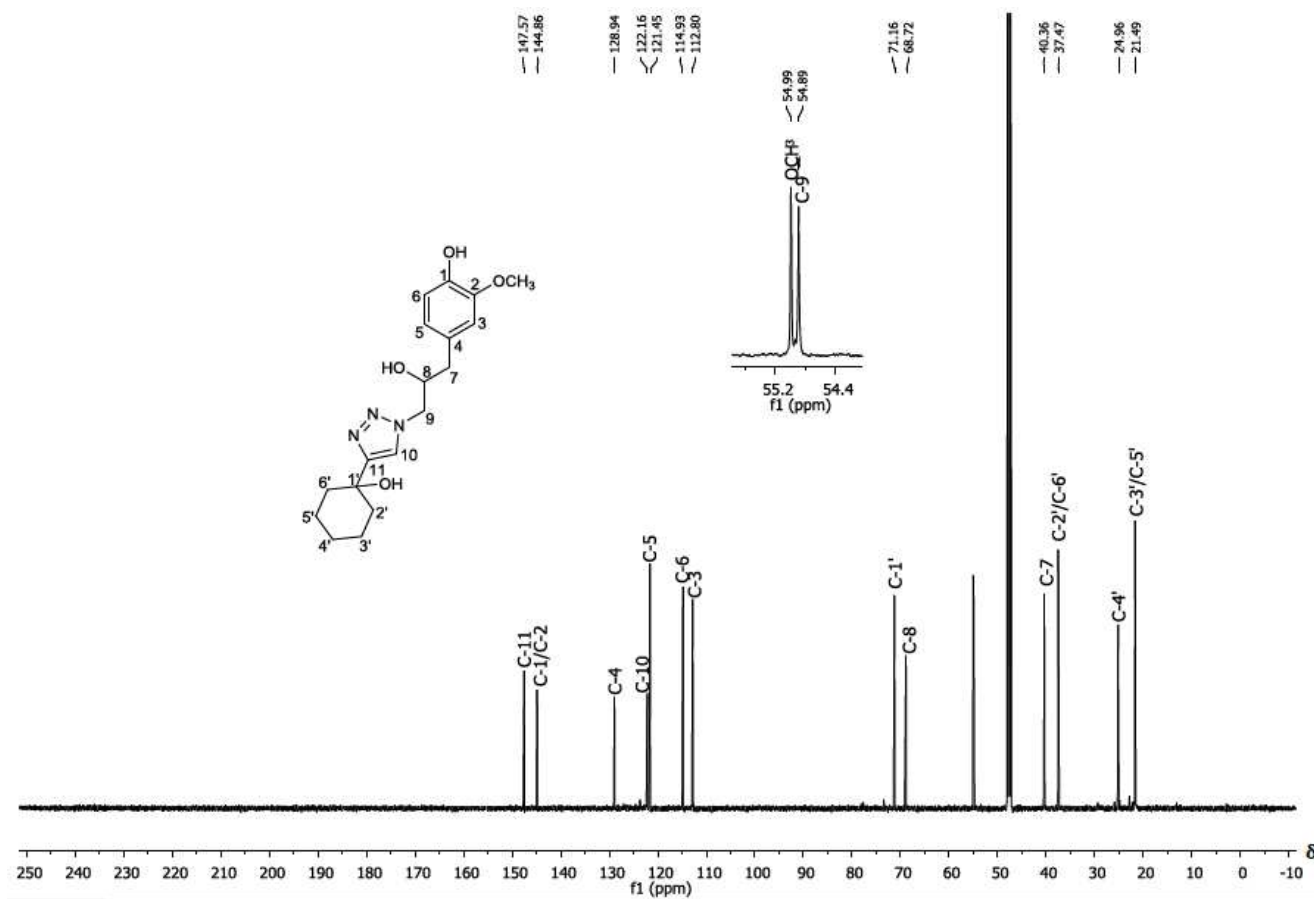
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 14A - Espectro de RMN de ^1H (600 MHz, CD_3OD) do composto **3f**.

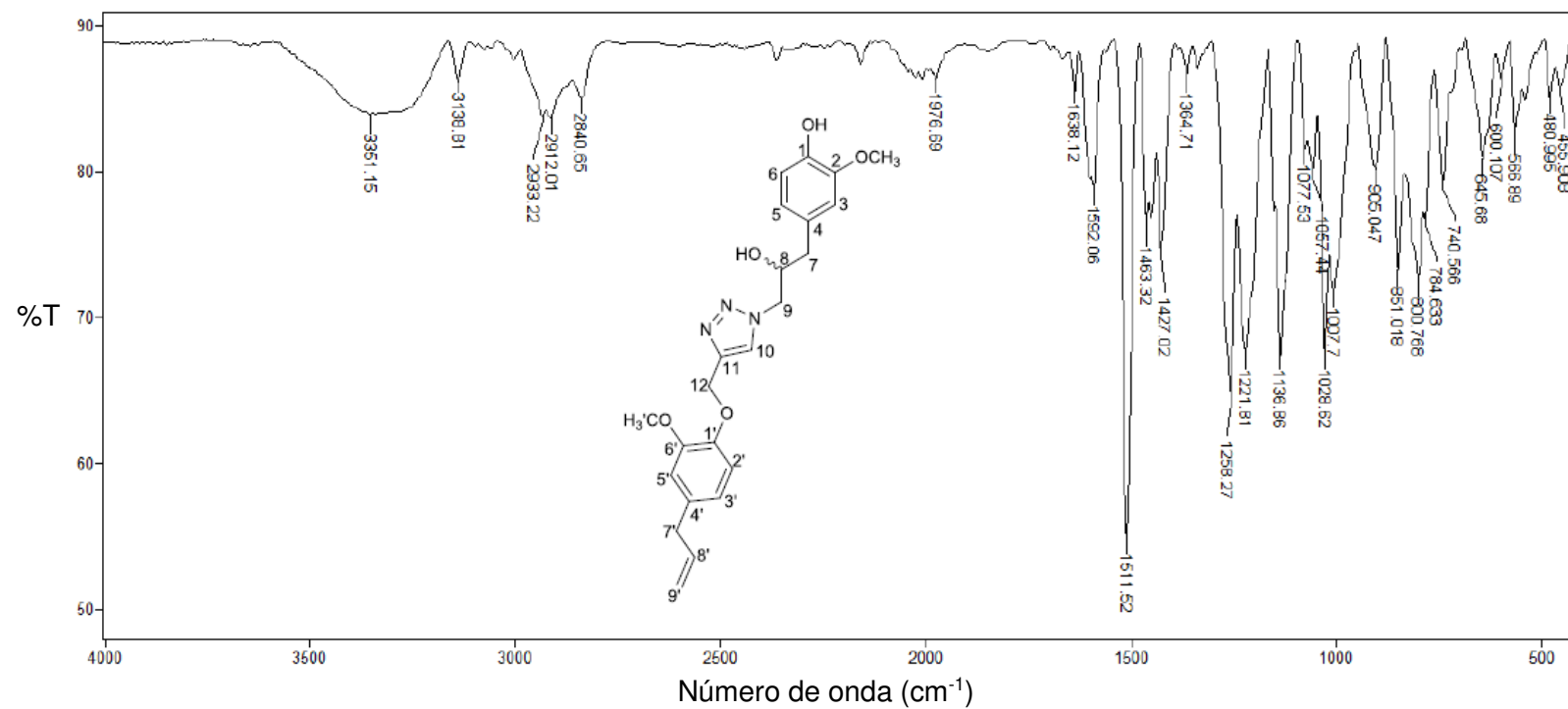


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 15A – Espectro de RMN de ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) do composto **3f**.

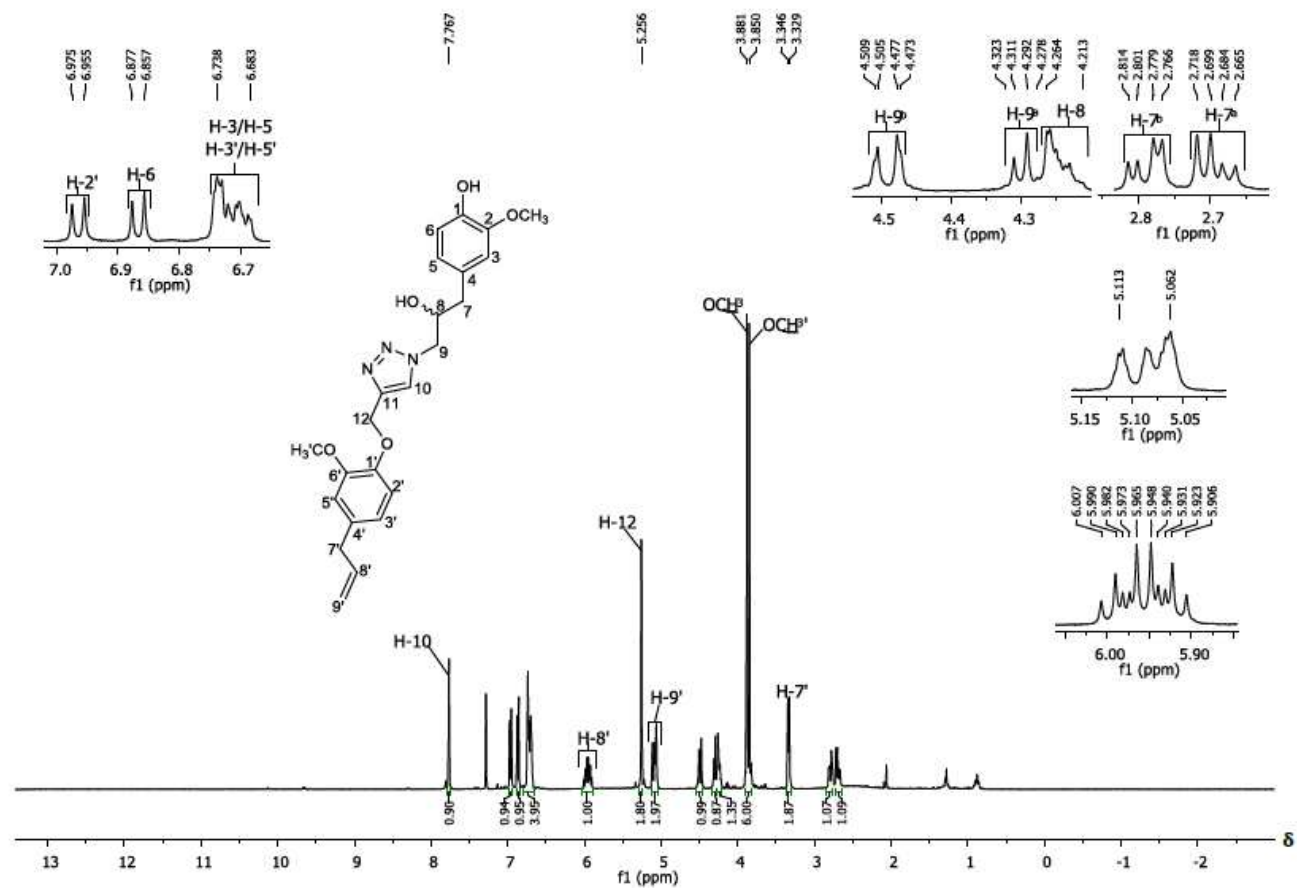


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 16A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3g**.

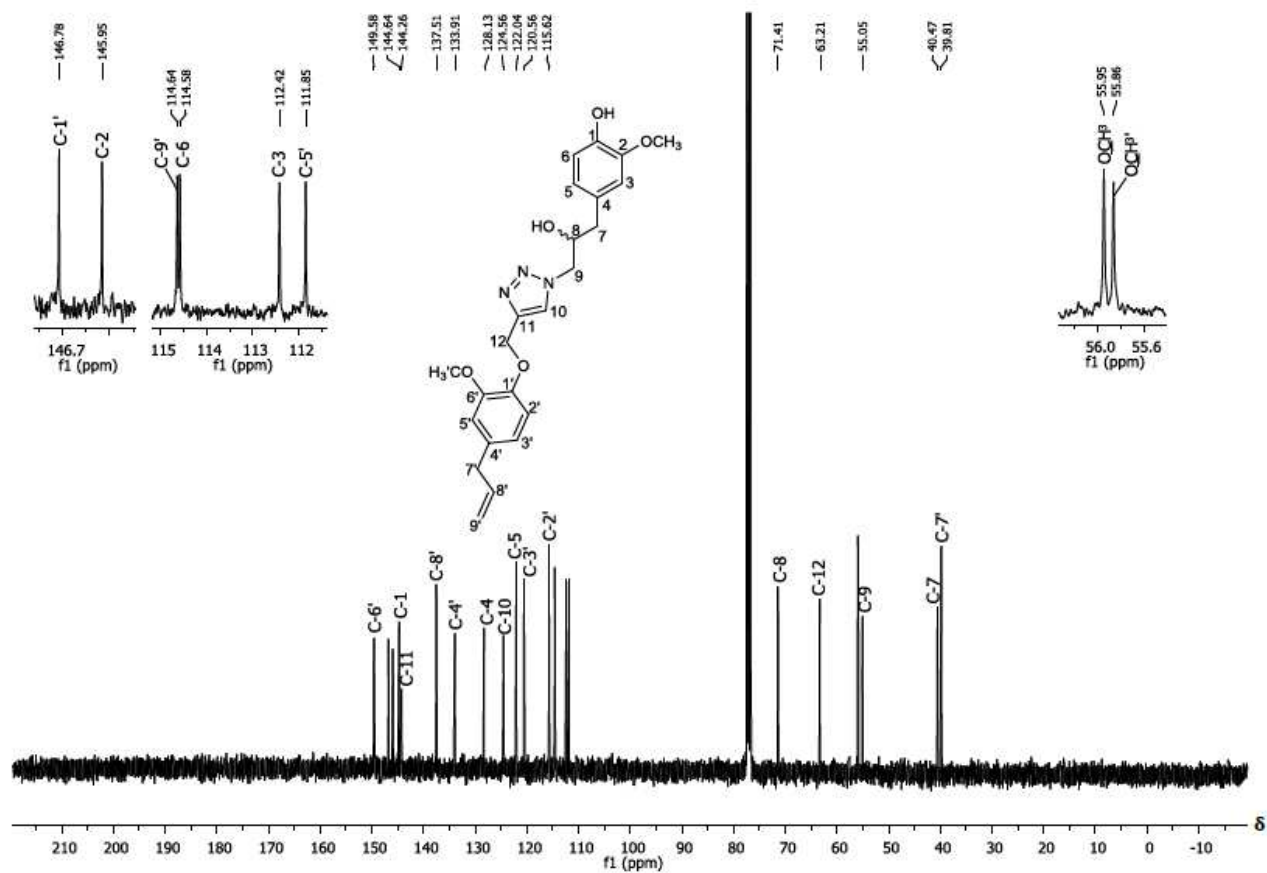
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 17A - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **3g**.

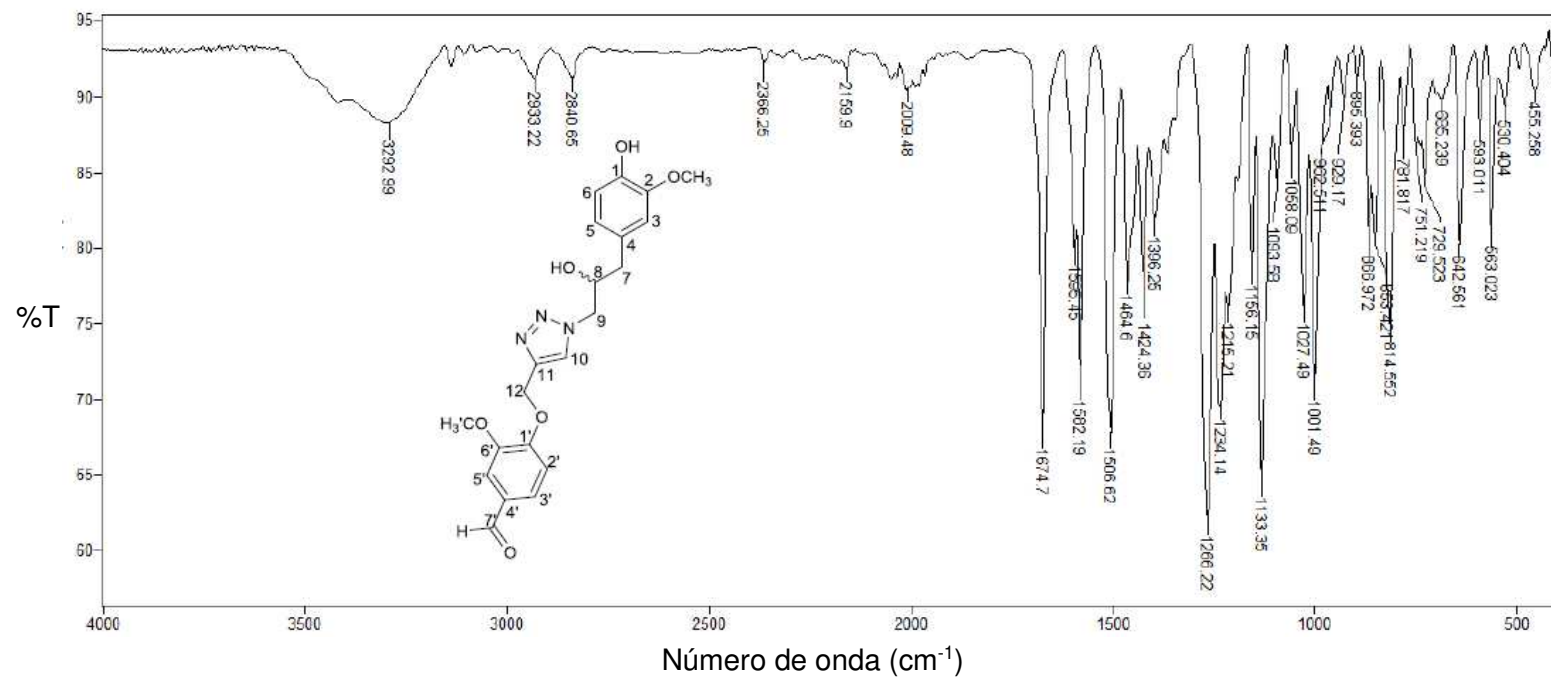


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 18A – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **3g**.

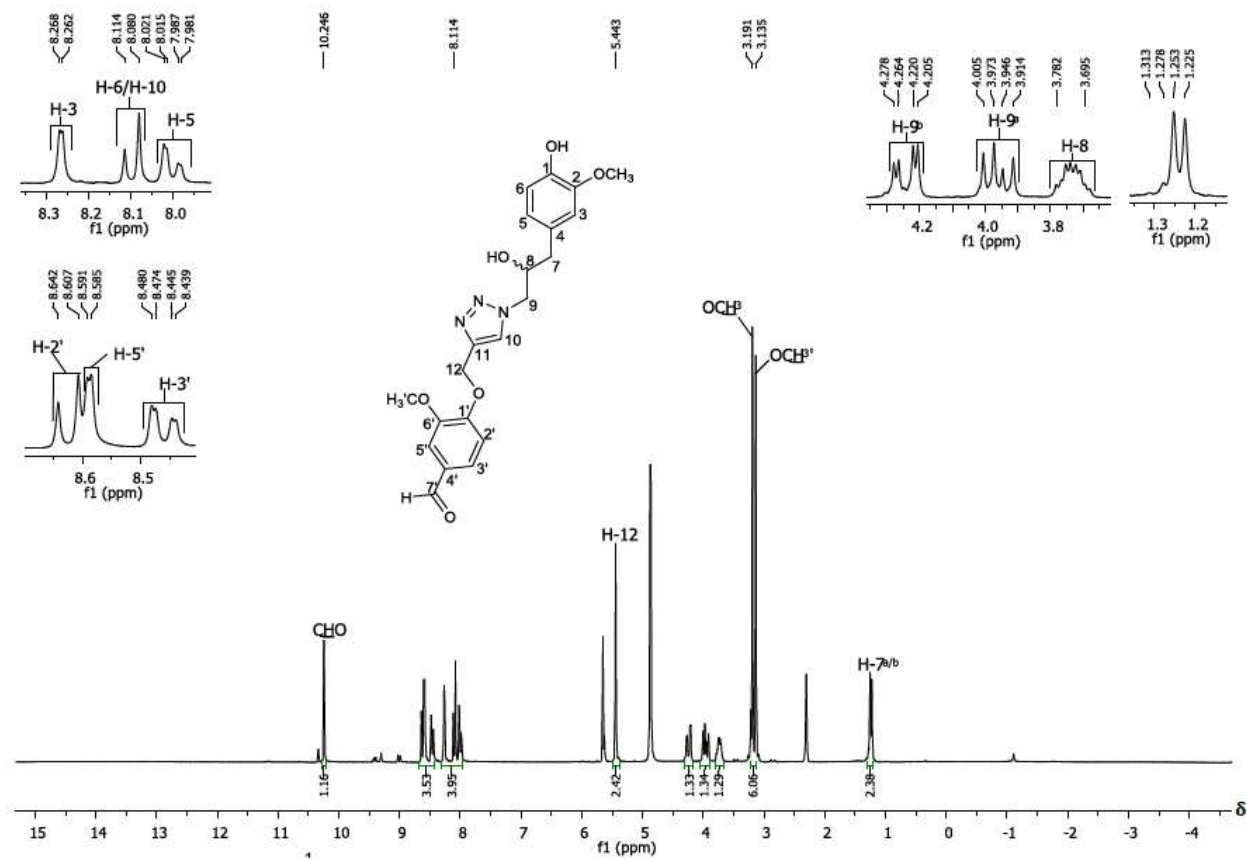


Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 19A – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3h**.

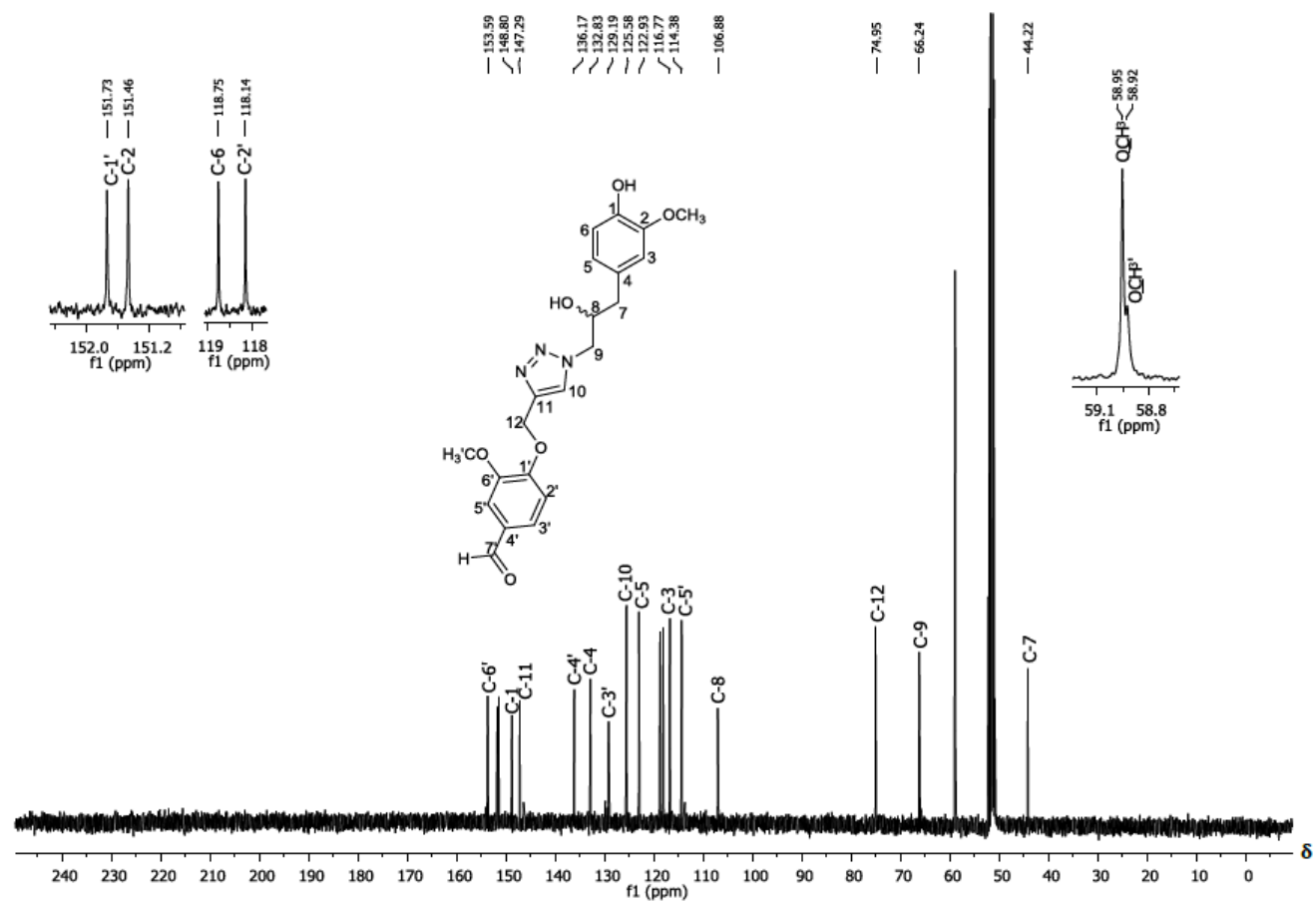
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 20A - Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CD_3OD) do composto **3h**.



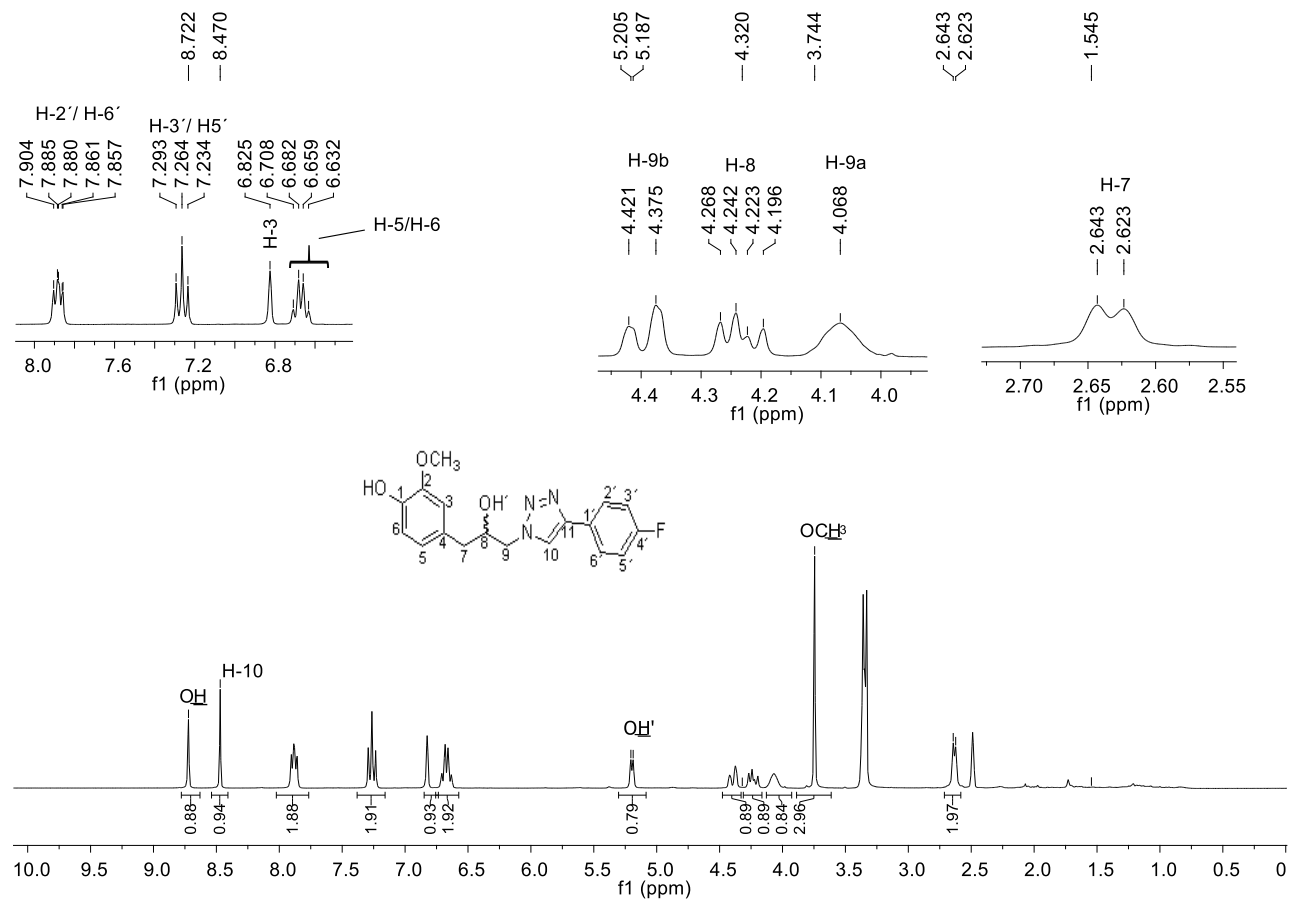
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 21A – Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) do composto **3h**.



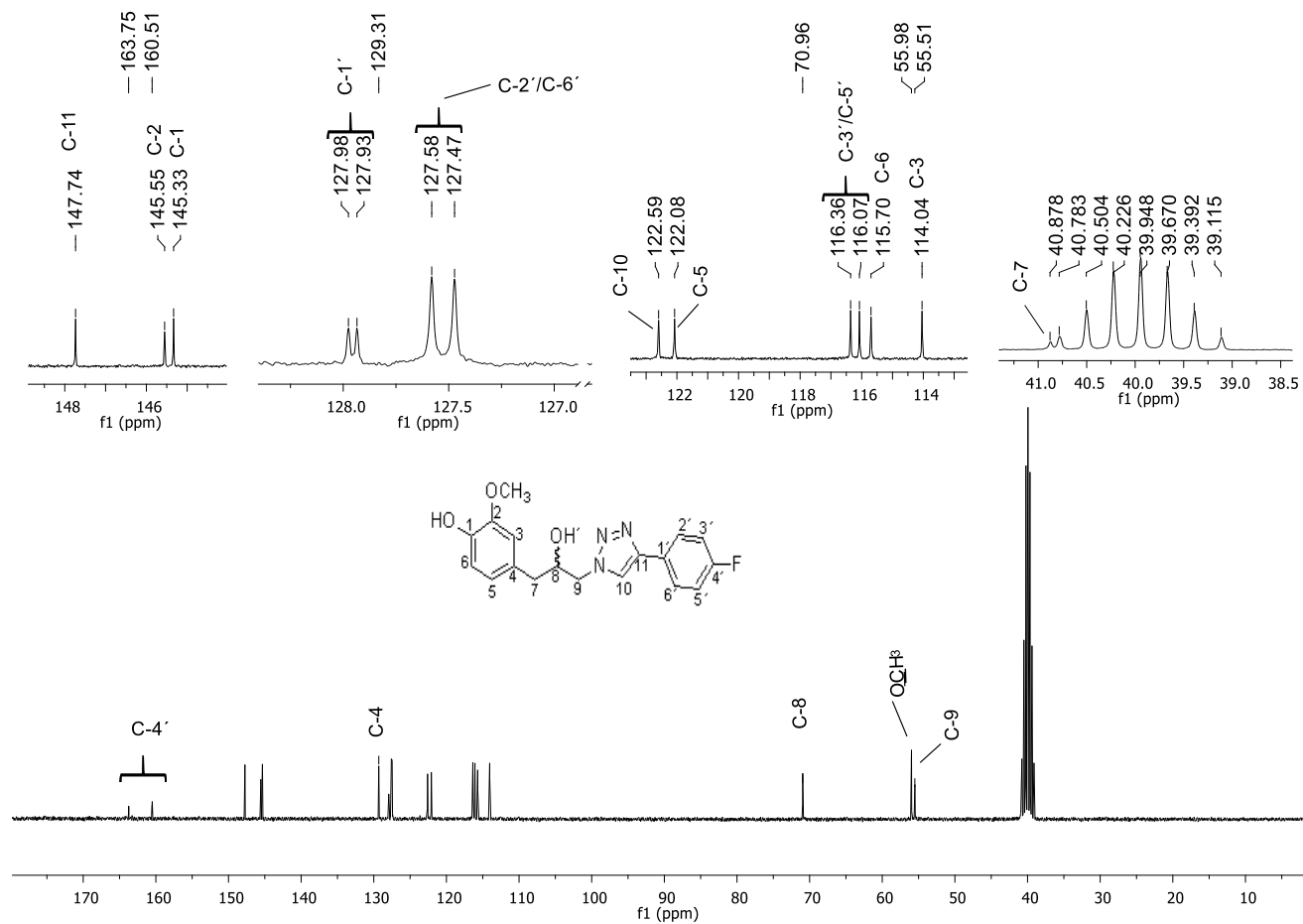
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 22A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3i**.



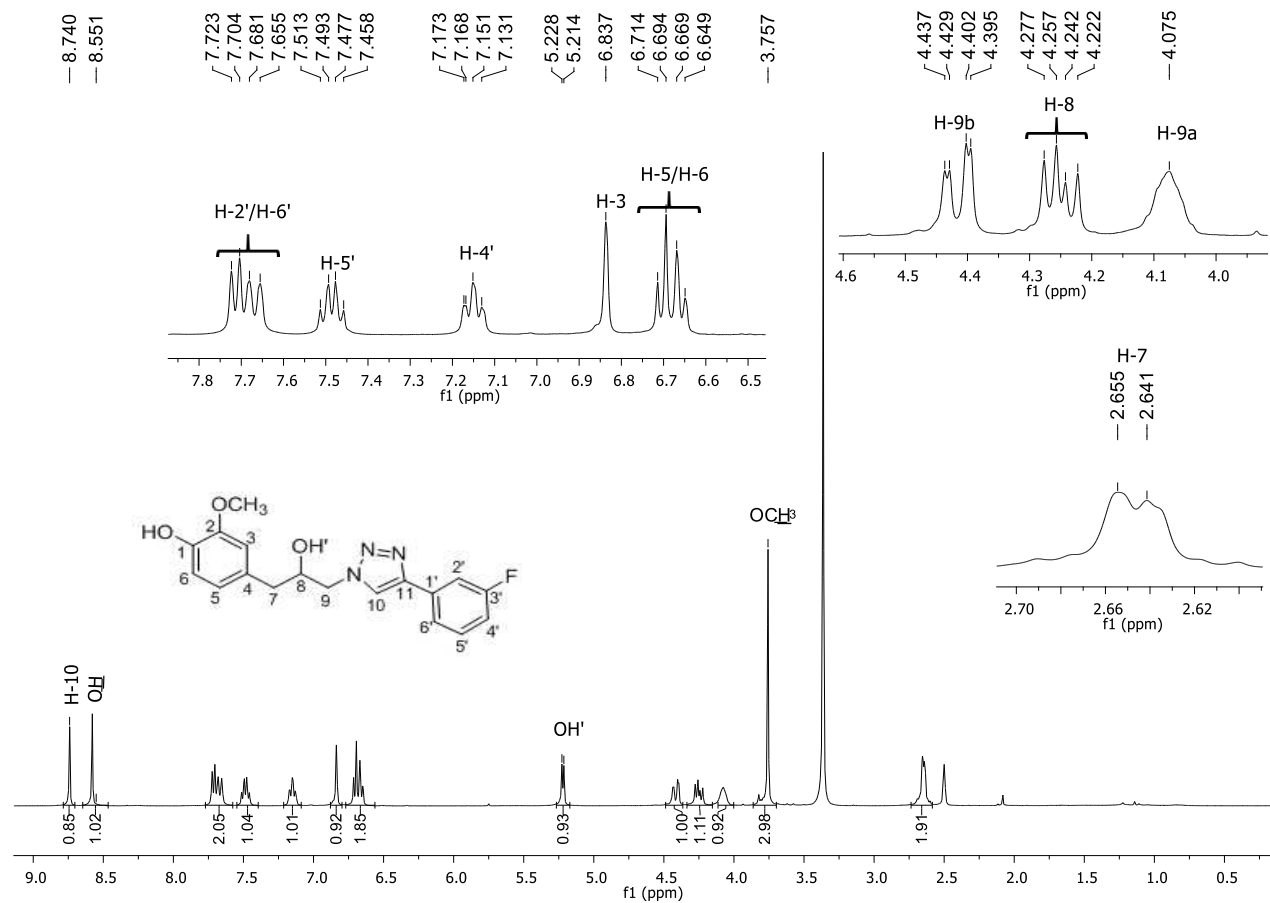
Fonte: Elaborada pela própria autora

Figura 23A - Espectro de RMN de ^1H (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3i**.



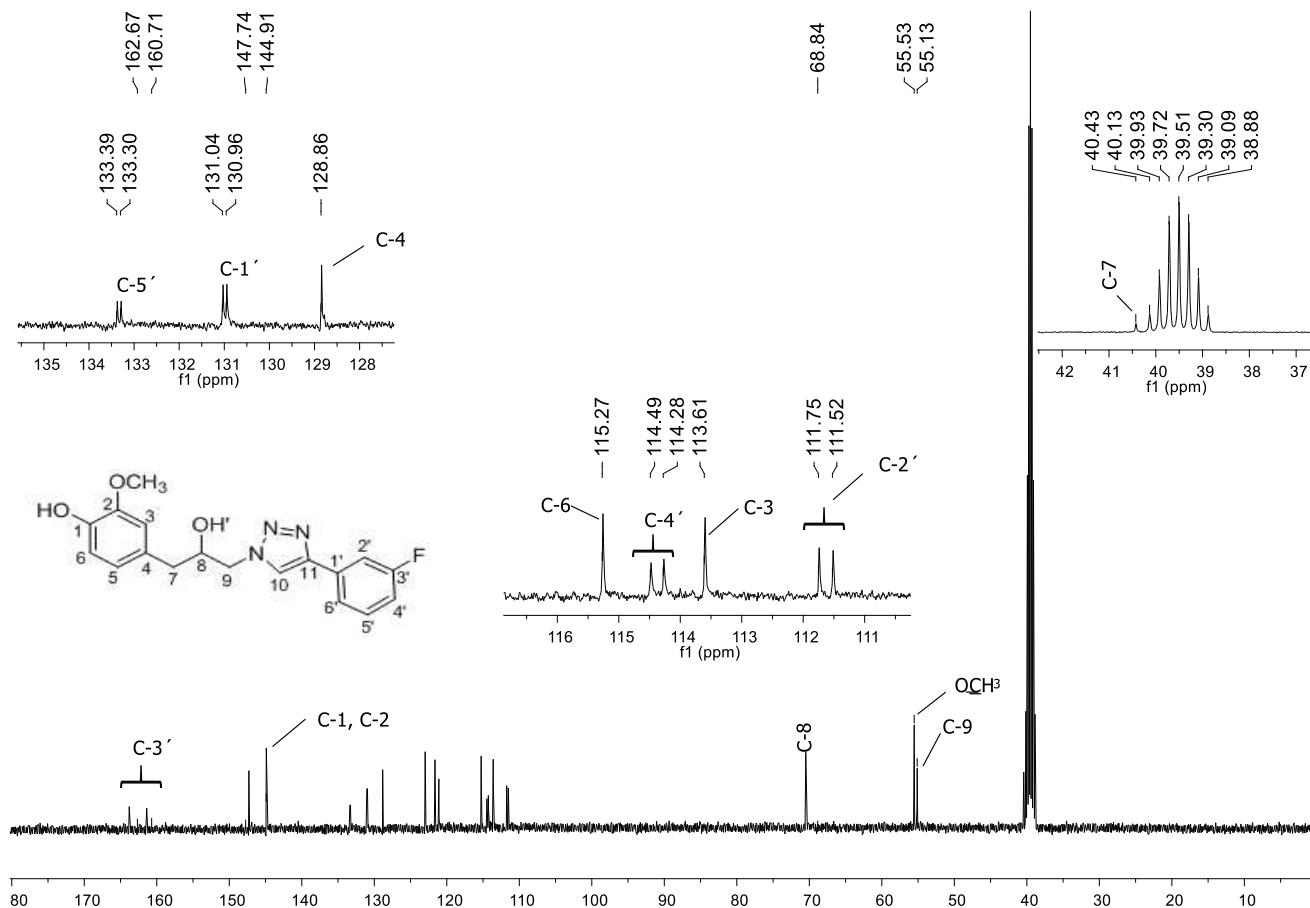
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 24A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3j**.



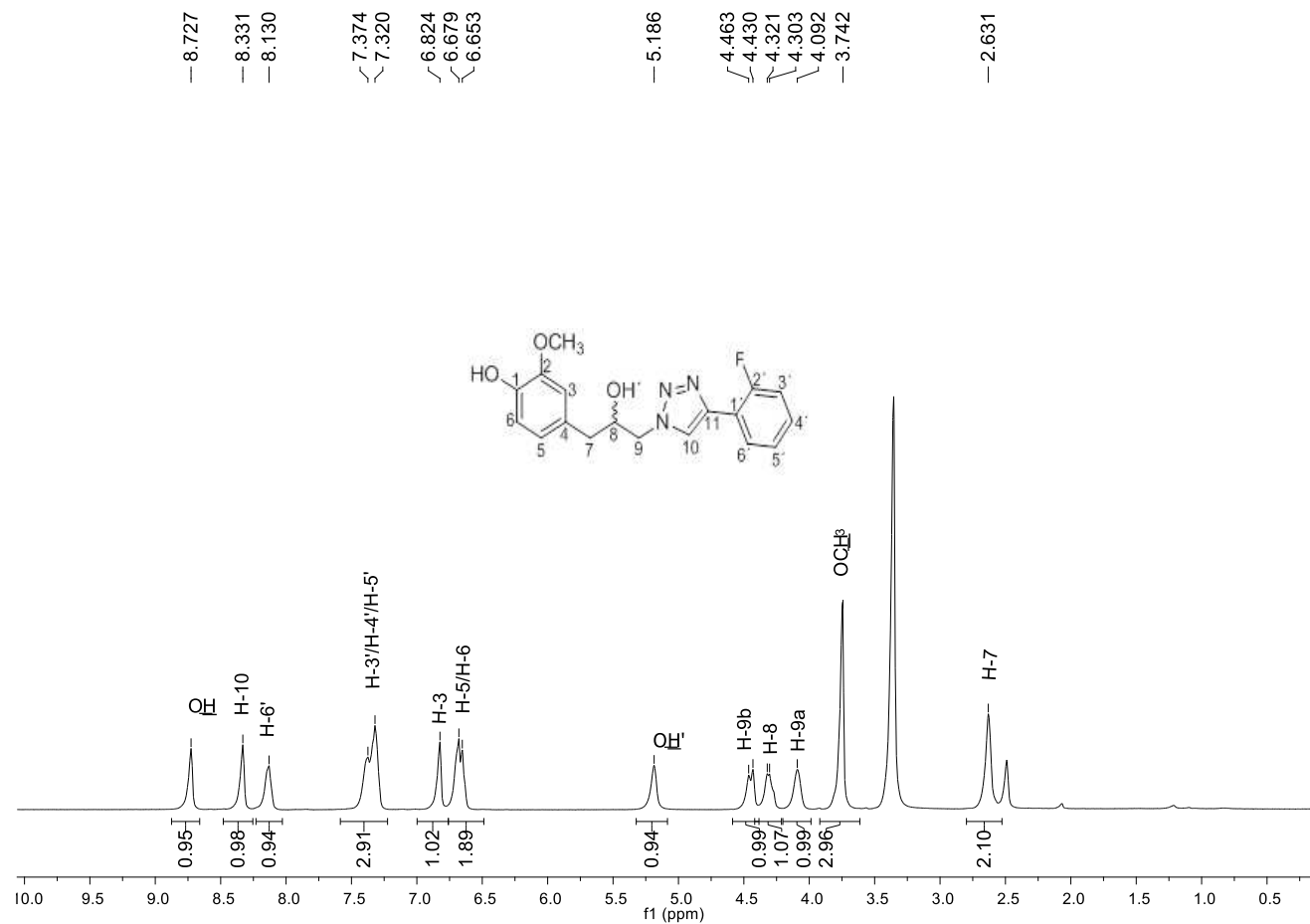
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 25A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3j**.



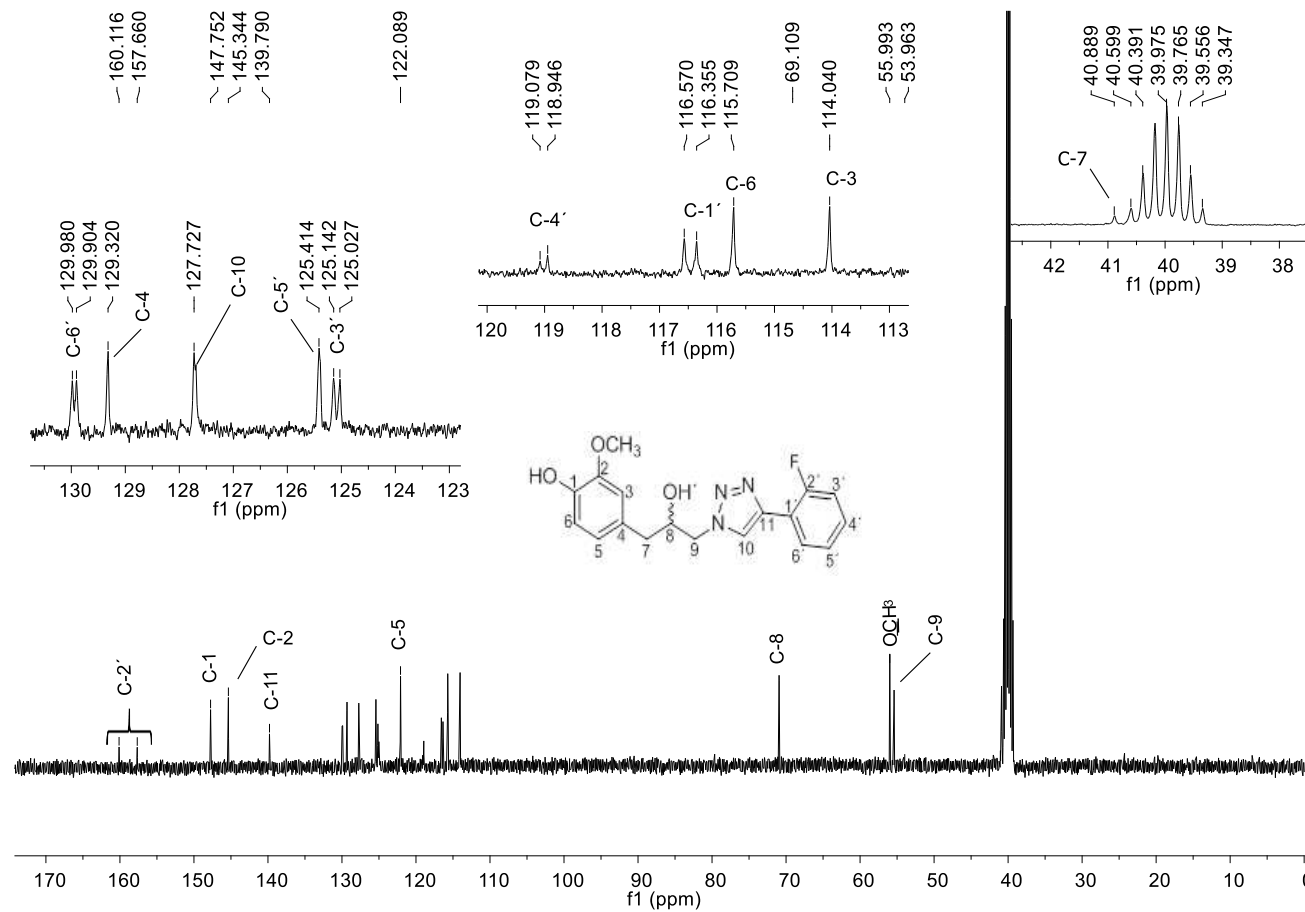
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 26A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3k**.



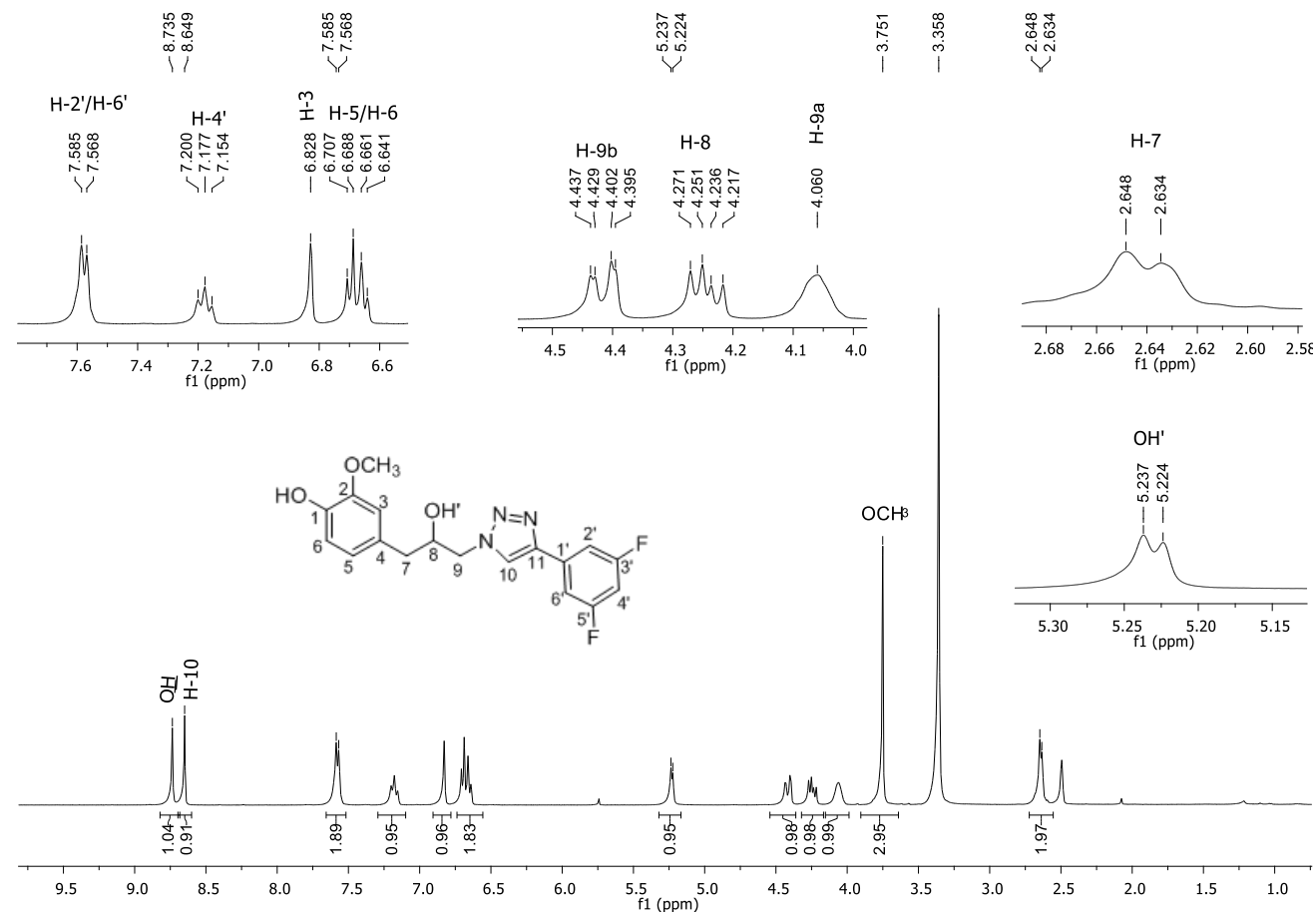
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Figura 27A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3k**.



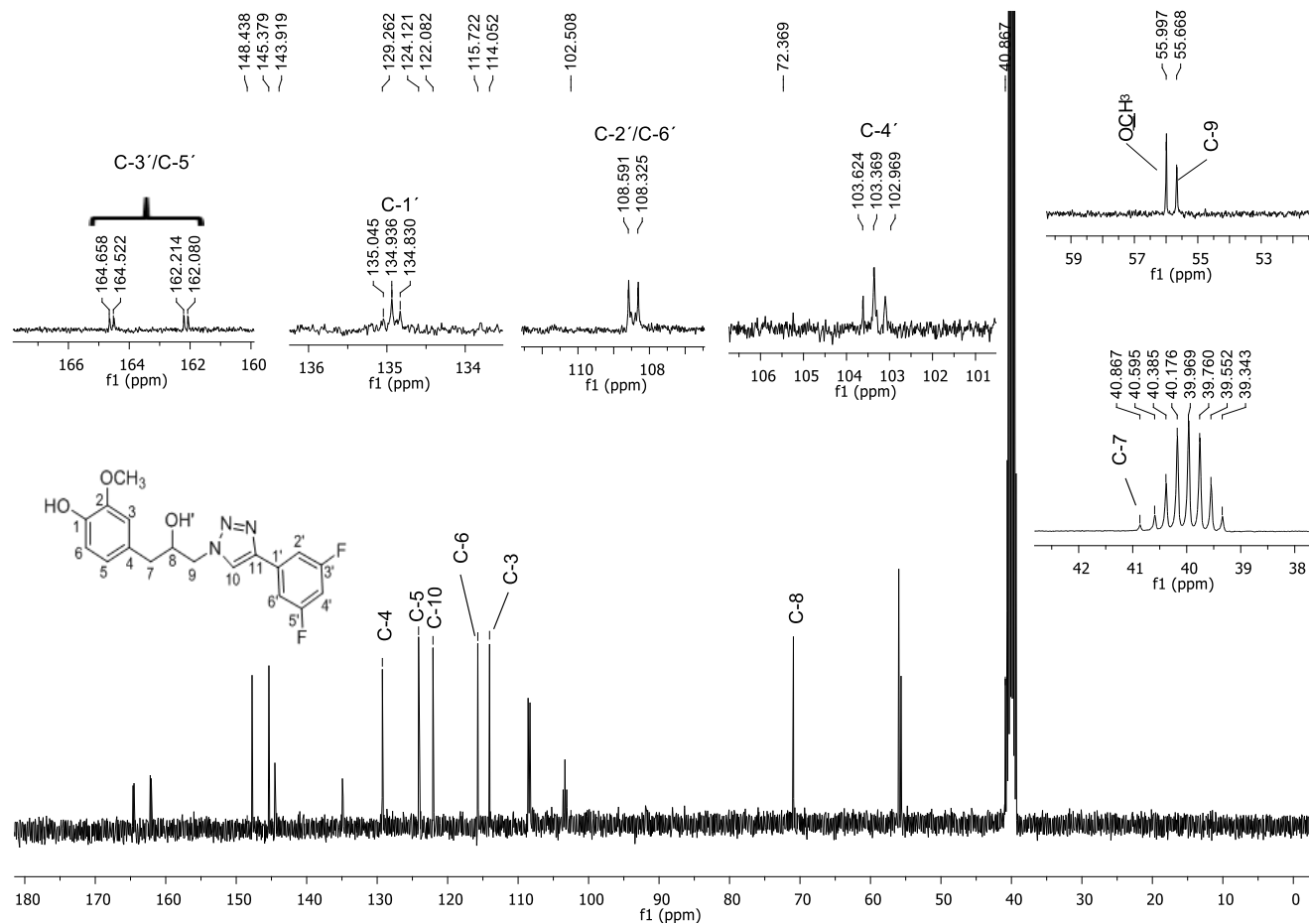
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 28A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3I**.



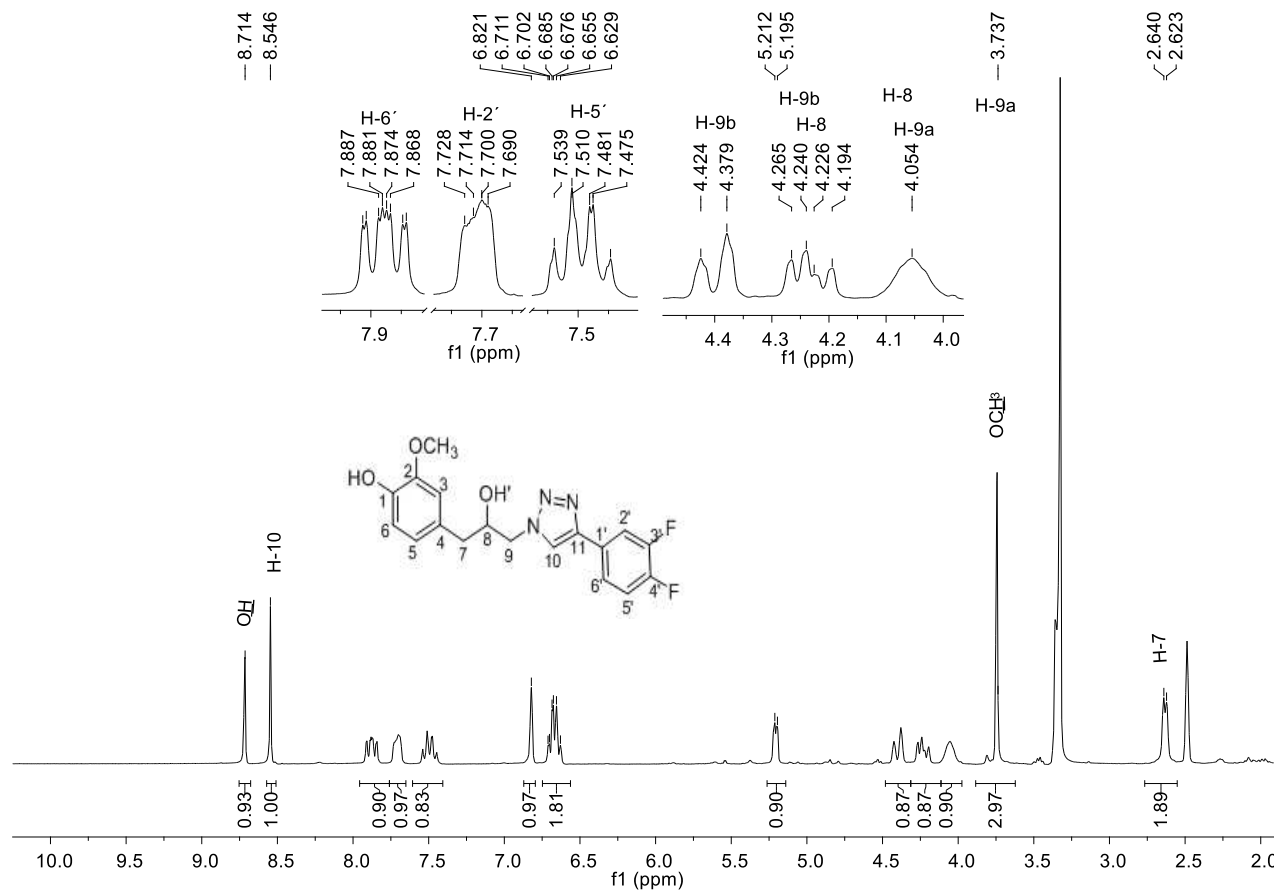
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 29A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3I**.



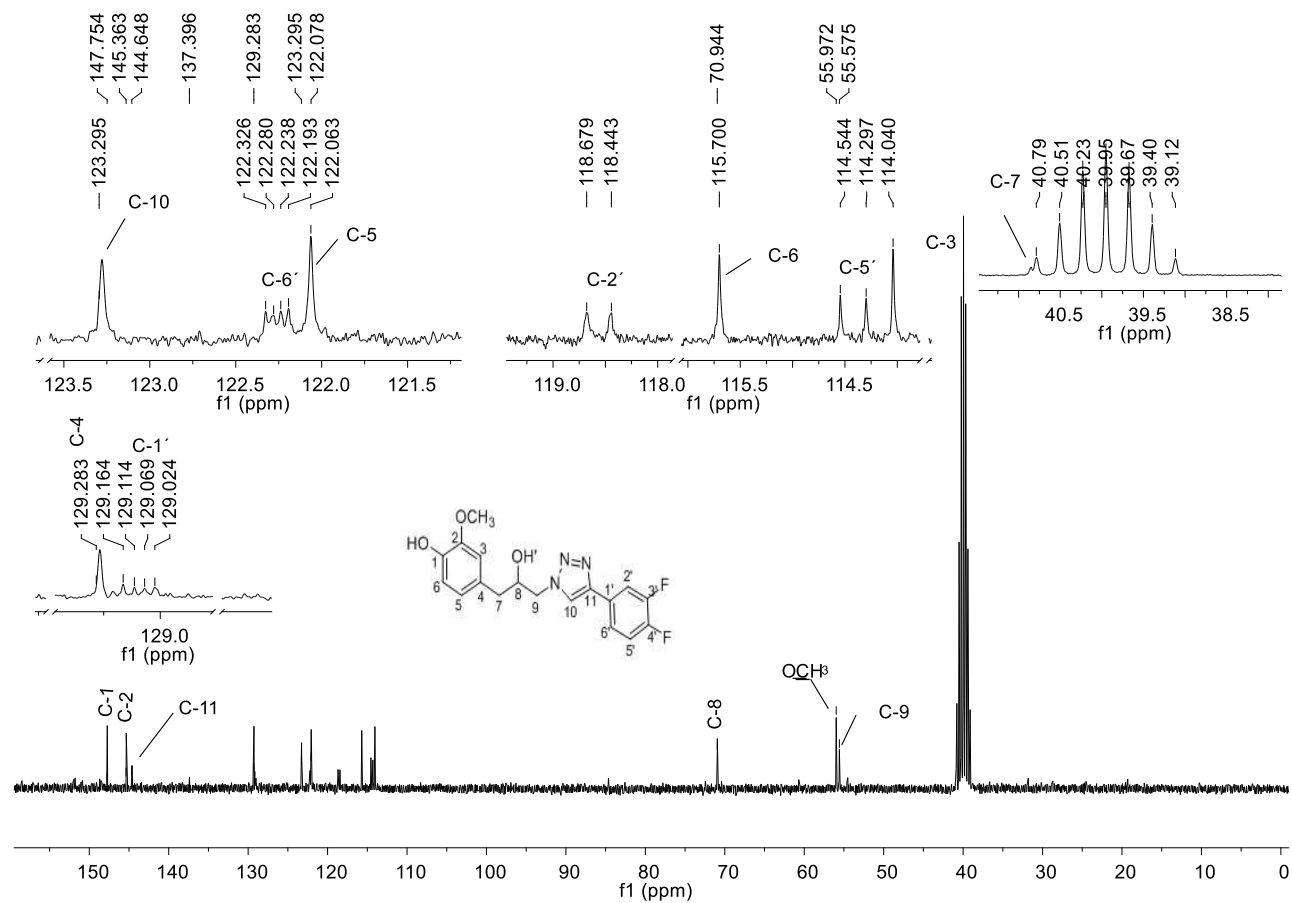
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 30A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3m**.



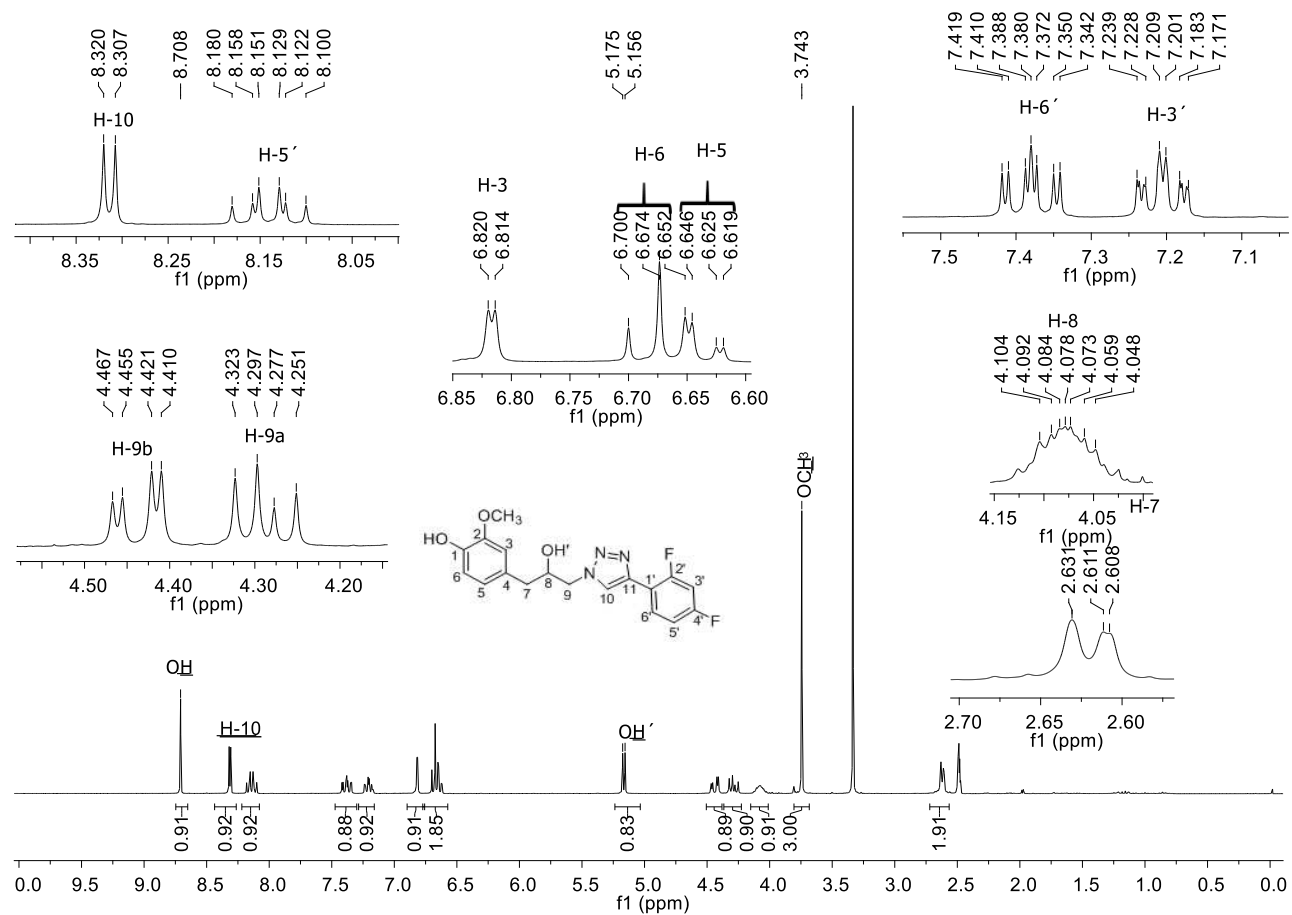
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 31A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3m**.



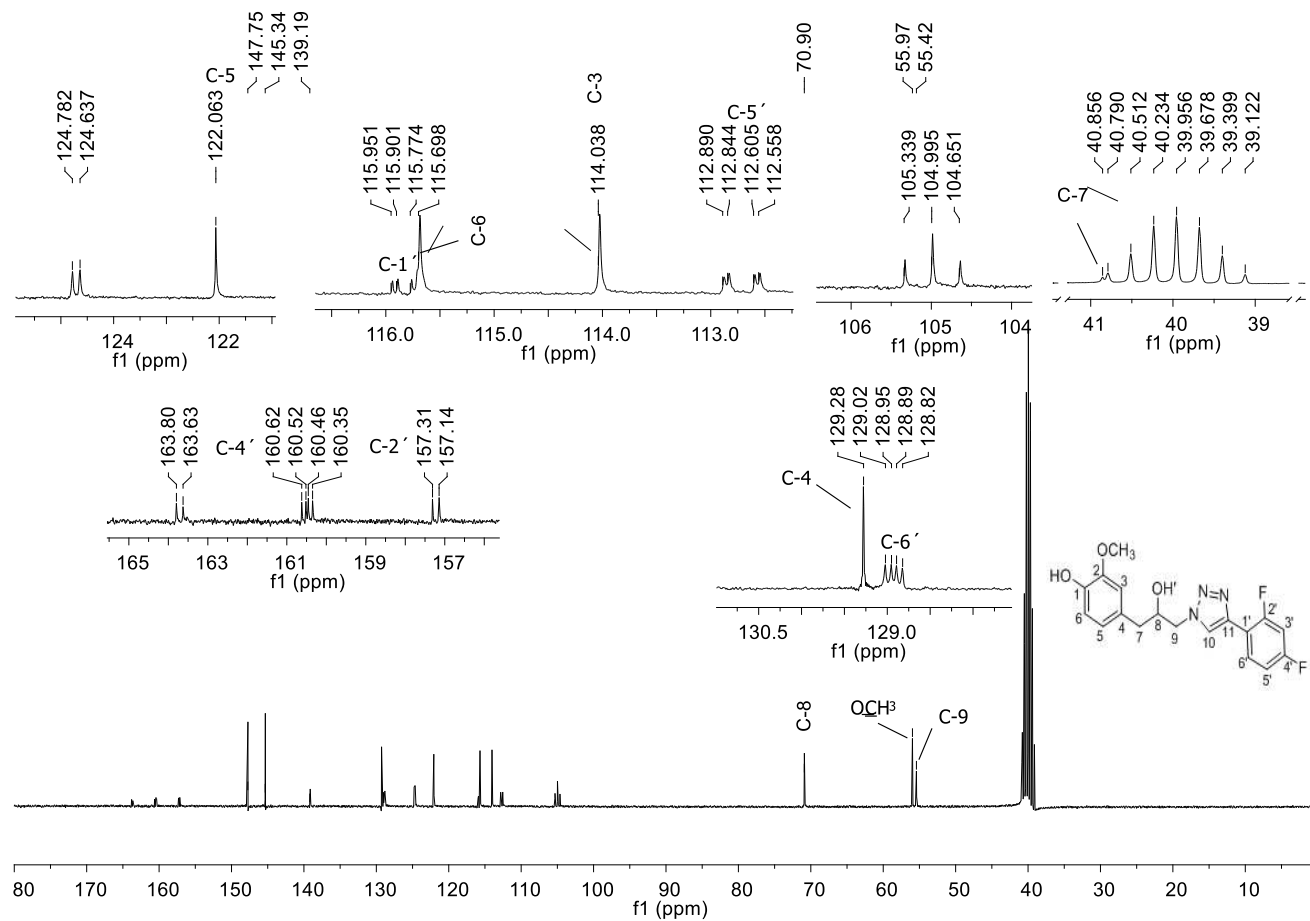
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 32A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3n**.



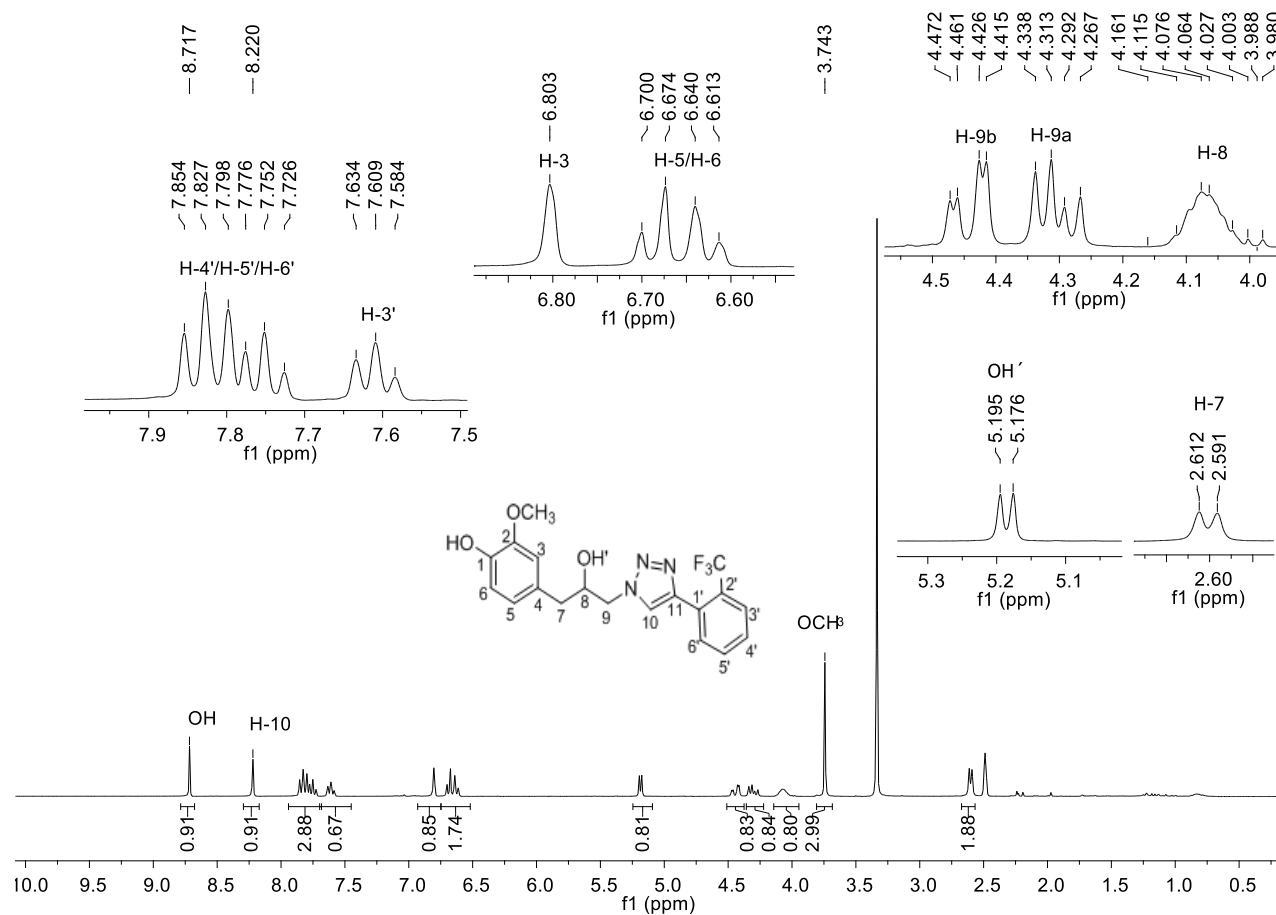
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 33A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3n**.



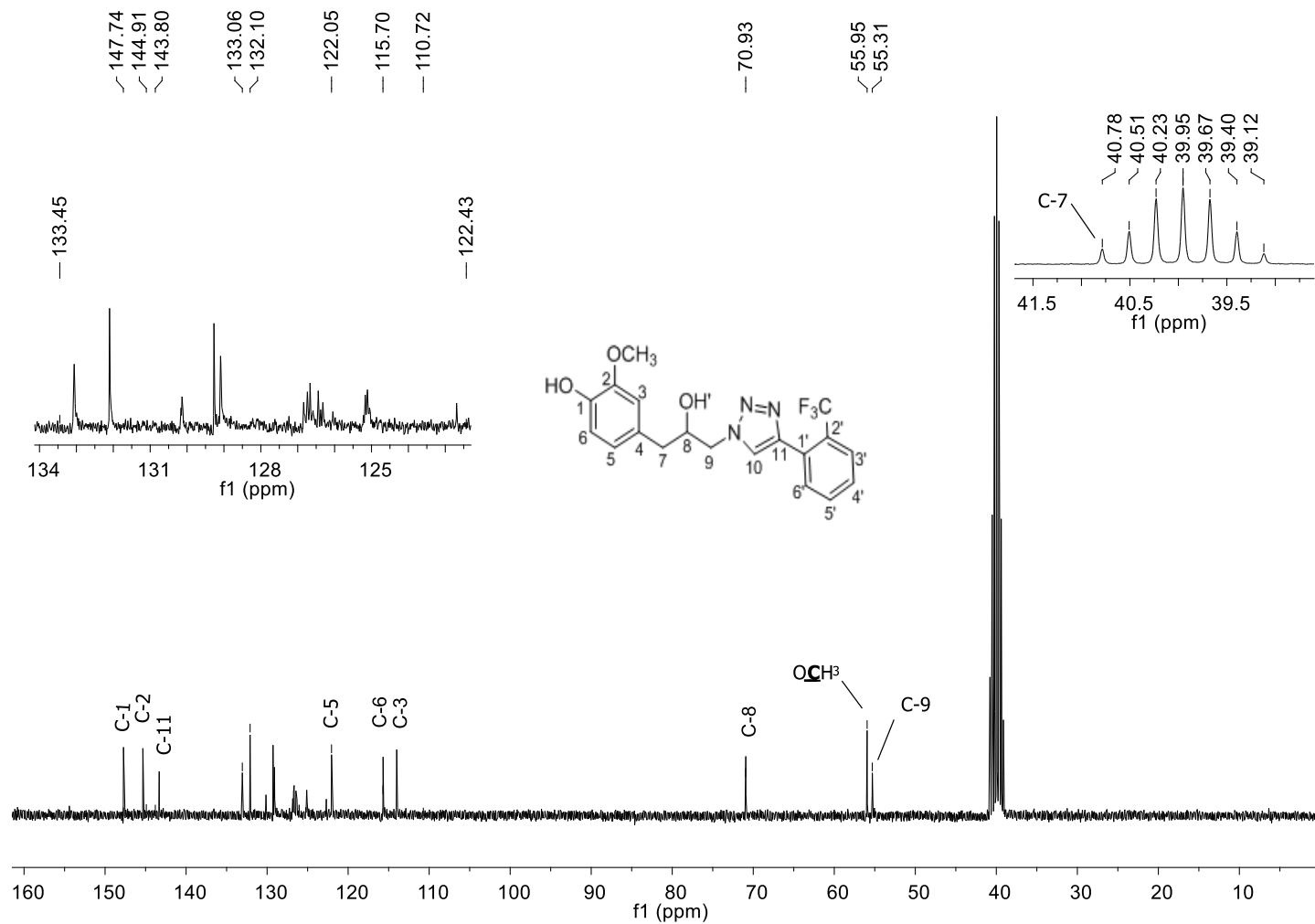
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 34A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3o**.



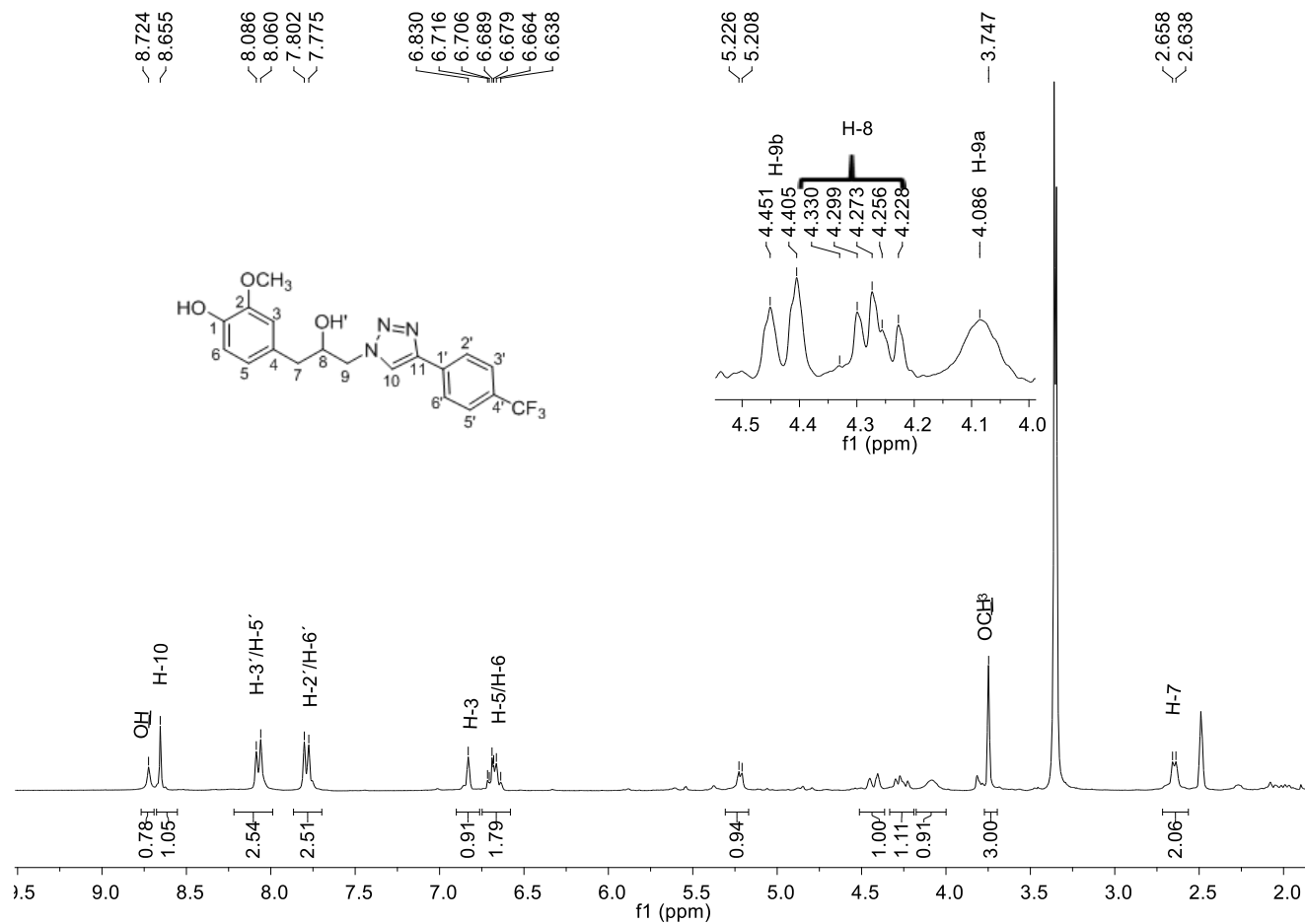
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 35A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3o**.



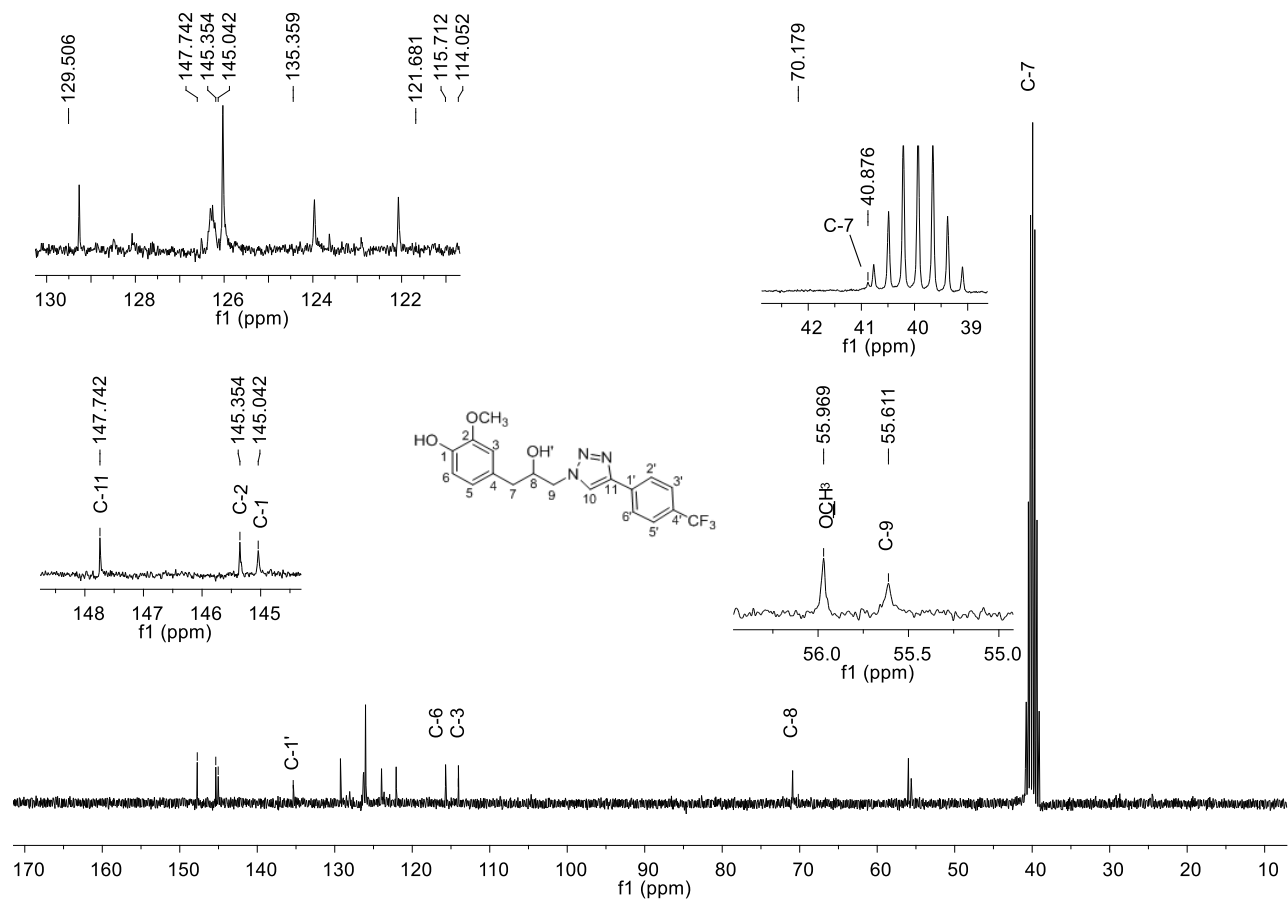
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 36A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3q**.



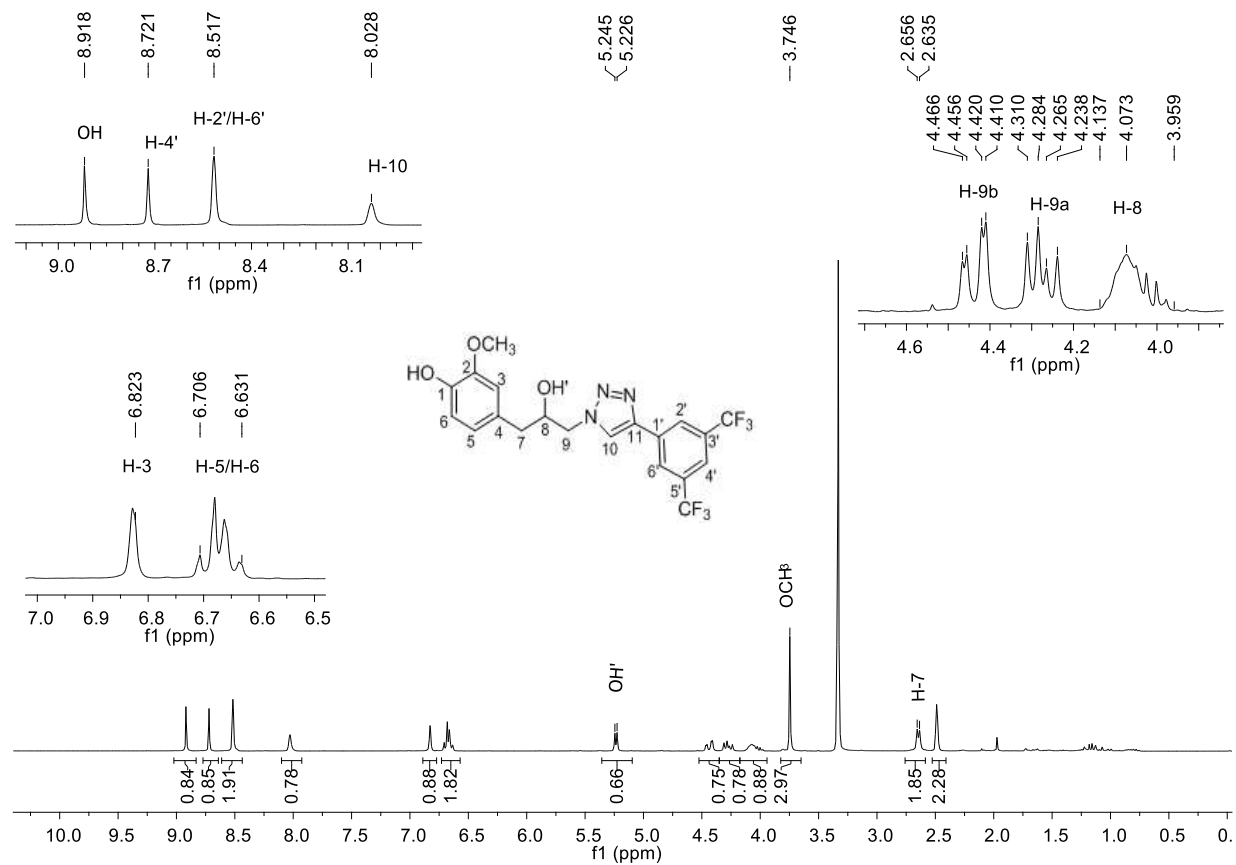
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 37A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3q**.



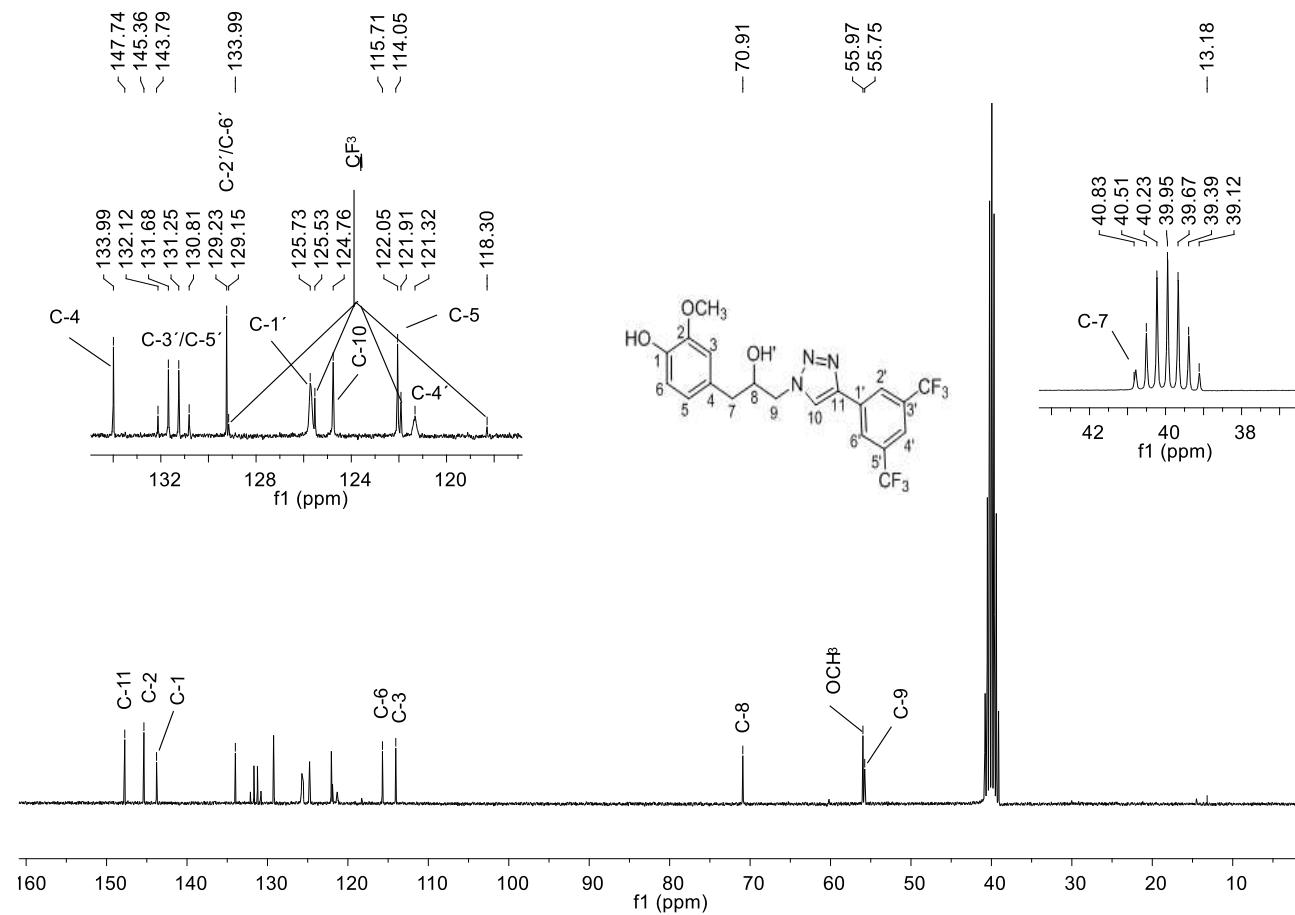
Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 38A – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3r**.



Fonte - Elaborada pela própria autora.

Figura 39A – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **3r**.



Fonte - Elaborada pela própria autora.

ANEXO B
CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO

Chapter 8

Bioactive 1,2,3-Triazoles: Applications in Agrochemistry

Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla¹, PhD

Ângela Maria Almeida Lima², PhD

Alex Ramos de Aguiar¹, PhD

Samira Soares Santiago¹

Danilo Aniceto da Silva²

Roberta Silva Evangelista¹

Adilson Vidal Costa², PhD

and Róbson Ricardo Teixeira^{1,*}, PhD

¹Grupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos (GSPCB), Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil

²Grupo de Estudo Aplicado em Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS), Departamento de Química e Física, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, Espírito Santo, Brazil

Abstract

In modern agriculture, farmers continuously face a battle to increase quality and productivity of crops. The optimization of agricultural efficiency demands, along with other requirements, the application of chemical crop protection agents (pesticides) to control a variety of pests, such as weeds, insects, and fungi. Nowadays, there are several available pesticides that help farmers to keep under control a myriad of pests. However, the use of pesticides typically results in the development of species resistance to them. Moreover, increasing public concern with regard to environmental pollution deriving from agricultural practice strictly requires that pesticides would be endowed with low recalcitrance, and thus may be rapidly mineralized by the soil microflora. Low toxicity to mammals, high specificity, low application rates, and fast soilborne microorganism degradation are thus important characteristics sought in the development of new pesticides. In the search and development of new pesticides, researchers have prepared compounds containing the 1,2,3-triazole functionality and investigated their potential as agrochemicals. This book chapter will focus on the developments that have been reported concerning the bioactivities of 1,2,3-triazole in the agrochemistry field. Compounds presenting phytotoxic, insecticide, and fungicide activities will be covered. Results regarding the fungicide activity of 1,2,3-triazole based compounds from our research group will be described. In addition, the synthetic steps involved in the preparation of the bioactive 1,2,3-triazoles will be discussed.

Keywords: insecticides, fungicides, herbicides, click chemistry, CuAAC reaction, agrochemicals, 1,2,3-triazole

* Corresponding Author's Email: robsonr.teixeira@ufv.br.

In: Triazoles and Their Uses Editor: Karl Roland

ISBN: 979-8-88697-800-1

©2023 Nova Science Publishers, Inc

Introduction

The world population reached 8 billion people on 15th November 2022, having grown by 1 billion since 2010. It is projected that the population will surpass 9 billion around 2037 and 10 billion around 2058 (UN DESA, 2022).

The increase in world population poses several challenges to be faced by humanity, including scarcity of water, environmental degradation, adequate education, housing, and an increase in food production (United Nations, 2022a).

Food production needs to double by 2050 to feed an ever-increasing world population (United Nations, 2022b; Dijk et al., 2021). In this regard, productivity in agriculture must be increased which, among other necessities, requires the control of several pests. The most common strategy used in this regard corresponds to the employment of chemical agents collectively called pesticides. Herbicides (for the control of weeds) (Krämer and Shimer, 2007a), fungicides (that control fungi) (Krämer and Shimer, 2007b), and insecticides (that control insects) (Krämer and Shimer, 2007c) are the most consumed pesticides around the world (Phillips, 2020).

Nowadays, several available pesticides help farmers to keep control of a myriad of pests (Chio and Li, 2022). However, the use of pesticides typically results in the development of species resistant to them (HRAC, 2023; IRAC, 2023; FRAC, 2023). Moreover, increasing public concern about environmental pollution deriving from agricultural practice strictly requires that pesticides would be endowed with low recalcitrance, and thus may be rapidly mineralized by the soil microflora. Low toxicity to mammals, high specificity, low application rates, and fast soilborne microorganism degradation are thus important characteristics in the development of new pesticides. All these facts demonstrate that there is a demand for the development of new pesticides (Sparks and Lorschach, 2017; Sparks et al., 2018).

In the search and development of new pesticides, researchers have prepared compounds containing the 1,2,3-triazole functionality and investigated their potential as agrochemicals. This book chapter will focus on the developments that have been reported concerning the bioactivities of 1,2,3-triazoles containing compounds in the agrochemistry field.

1,2,3-Triazoles

The five-membered ring heterocyclic compounds containing three nitrogen atoms are termed triazoles. There are two isomeric forms of triazoles: 1,2,3-triazole and 1,2,4-triazole (Figure 1).



Figure 1. Structures of 1,2,3- and 1,2,4-triazole rings.

Considering the 1,2,3-triazoles, they present aromatic character and remarkable stability under hydrolytic, oxidative, or reductive conditions. They are also stable towards enzymatic degradation. Besides, the 1,2,3-triazoles are capable of establishing hydrogen bonds and dipole-dipole interactions with biological receptors, mimics the amide group, and presents high dipole moment (Ali, 2021). All these features make this ring attractive to be employed in the research of new bioactive compounds. Numerous medicinal attributes have been described for compounds bearing this type of heterocyclic ring (Dheer, Singh, and Shankar, 2017; Bozorov, Zhao, and Aisa, 2019; Tron et al., 2008; Zhang, 2019; Agalave, Maujan, and Pore, 2011; Jiang et al., 2019; Ali, 2021; da Silva et al., 2014; Alam, 2021; Xu, Zhao, and Liu, 2019; Forezzi et al., 2021; Razzaghi-Asl et al., 2020). Several drugs utilized nowadays in the clinical present the 1,2,3-triazole ring in their structures (Figure 2).

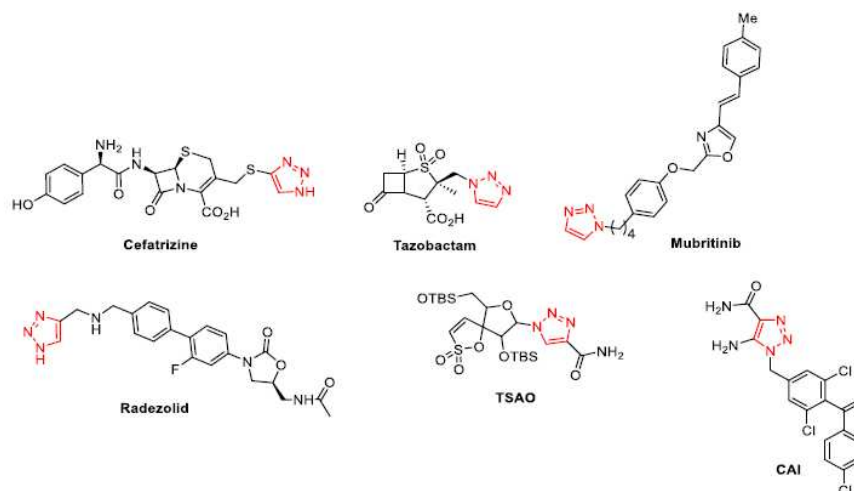


Figure 2. Structures of commercial drugs containing 1,2,3-triazole rings. The 1,2,3- triazole moiety is highlighted in red.

In addition to pharmaceuticals, the 1,2,3-triazoles have found applications in several fields such as organic synthesis, polymer, supramolecular, and carbohydrate chemistry, and material science (Liang and Astruc, 2011; Sykam, Donempudi, and Basak, 2022; Moses and Moorhouse, 2007; Kuswaha et al., 2013; Xi et al., 2014; Nandiva, Jiang, and Lahann, 2007).

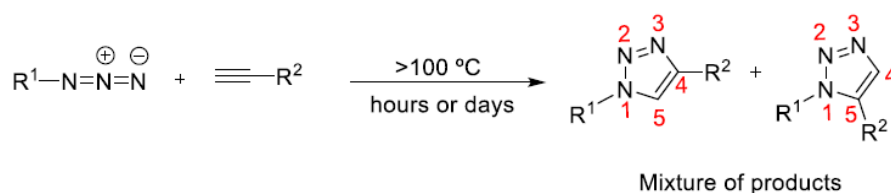


Figure 3. Huisgen cycloaddition reaction.

From the preparation standpoint, there are several available methodologies to synthesize 1,2,3-triazoles (Aswar, 2014; Haldón, Nicasio, and Pérez, 2015; Ali, 2021; Dai et al., 2022). However, the most widely used methodology is the 1,3-dipolar cycloaddition reaction between alkynes and azides. This transformation was discovered by Huisgen and collaborators in 1960 (Heravi et al., 2016; Breugst and Reissig, 2020). They reported that the thermal reaction between a terminal alkyne and an organic azide afforded 1,2,3-triazoles (Figure 3).

This reaction presented several drawbacks such as long reaction times, the necessity of high temperatures for its occurrence, and the formation of regioisomers (1,4- and 1,5-disubstituted 1,2,3-triazoles) as shown in Figure 3.

Independent investigations conducted by the research groups of Sharpless (Rostovtsev et al., 2002) and Meldal (Tørnøe, Christensen, and Meldal, 2002) demonstrated that the presence of copper(I) species in the reaction media not only accelerate the cycloaddition but also afforded exclusively the 1,4-disubstituted-1,2,3-triazole (Figure 4). Since then, this reaction has been called the copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition reaction (CuAAC reaction).

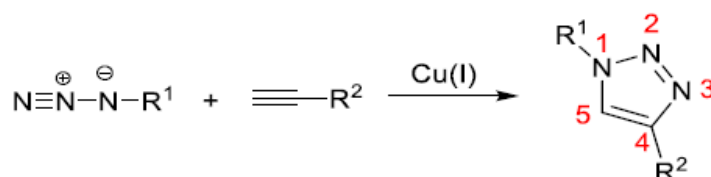


Figure 4. General scheme for the CuAAC reaction.

It should be mentioned that in 2001, Sharpless and co-workers published a paper introducing the concept of click chemistry reaction. They defined a series of criteria that a reaction has to meet to be considered a click process.

“The reaction must be modular, wide in scope, give very high yields, generate only inoffensive byproducts that can be removed by nonchromatographic methods, and be stereospecific (but not necessarily enantioselective). The required process characteristics include simple reaction conditions (ideally, the process should be insensitive to oxygen and water), readily available starting materials and reagents, the use of no solvent or a solvent that is benign (such as water) or easily removed, and simple product isolation. Purification -if required -must be by nonchromatographic methods, such as crystallization or distillation, and the product must be stable under physiological conditions.” (Kolb, Finn, and Sharpless, 2001). The CuAAC reaction is one of the best examples of processes that meet the clickreaction criteria. Therefore, the CuAAC reaction has also been called the clickreaction.

In Figure 5, it is shown the catalytic cycle of the CuAAC reaction (Meldal and Tornøe, 2008).

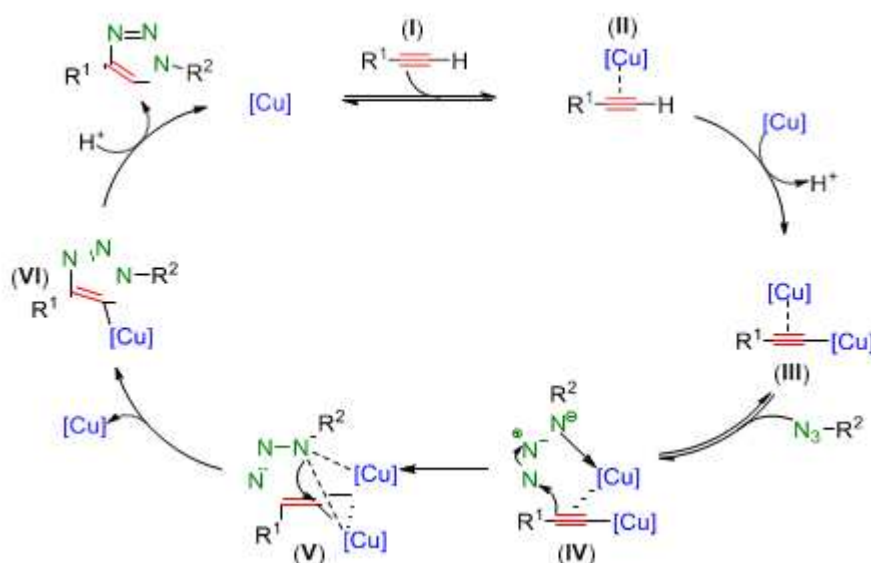


Figure 5. Catalytic cycle of CuAAC reaction.

The first step involves the coordination of terminal alkyne (**I**) with Cu(I) species to give the complex (**II**). This coordination decreases the pKa of the terminal alkyne from 26 to approximately 9, which facilitates the removal of a proton from species (**II**). Coordination of a second Cu(I) species gives rise to complex (**III**) which, in turn, coordinates with azide affording the complex (**IV**). From the dicopper species (**IV**) there is the first C-N bond formation in a six-membered metallacycle (**V**). Then, an intramolecular C-N bond formation yields the triazolyl-Cu(I) intermediate and dissociation of one of the two coppers lead to the formation of (**VI**). In the last step of the catalytic cycle, a proton release affords the 1,2,3-triazole-1,4-disubstituted and the regeneration of Cu(I) species.

The CuAAC reaction is affected by several factors including Cu(I) source, ligands on Cu(I) catalyst, and reactivity of alkyne and azide substrates (Haldón, Nicasio, and Pérez, 2015; Meldal and Tornøe, 2008, Singh, Chowdhury, and Koley, 2016; Freitas et al., 2011).

As quoted above, the 1,2,3-triazoles have found applications in several fields, including agrochemistry. In the following sections, it will be described the advances in this field regarding the use of 1,2,3-triazole functionality in the preparation of compounds endowed with phytotoxic, insecticide, and fungicide activities.

1,2,3-Triazoles with Phytotoxic Activity

The compound known as tyrosol (**1**) was isolated from cultures of the fungus *Alternaria euphorbii-cola*. This natural product caused bleaching and necrotic lesions on leaves of the weed species *Euphorbia heterophylla* at a concentration as low as $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Varejão et al., 2013). The structure of (**1**) was modified to produce a series of tyrosol 1,2,3-triazole derivatives (compounds **3-25**), Figure 6). The preparation of compounds (**3-17**) involved the conversion of tyrosol (**1**) into 4-(2-bromoethyl)phenol via treatment of (**1**) with HBr. After that, the reaction of 4-(2-bromoethyl)phenol with sodium azide gave (**2**). A series of phenols, a 2-pyridone, and a coumarin were propargylated with propargyl bromide to afford the corresponding terminal alkynes. The CuAAC reaction between these alkynes and azide (**3**) afforded the compounds (**3-25**). On the other hand, tyrosol (**1**) was propargylated to furnish alkyne (**18**). The CuAAC reaction involving (**18**) and benzylic azides (obtained from benzyl bromides) gave 1,2,3-triazolic compounds (**19-25**). The triazolic derivatives were evaluated against the weed species *E. heterophylla*, *Conyza sumatrensis*, and *Cammelia benghalensis*. The tyrosol derivatives did not present herbicidal effect on *C. benghalensis* and *C. sumatrensis*. On the contrary, almost all the derivatives produced yellowing, bleaching, and necrosis on the leaves of *E. heterophylla* as determined by the perforated leaf assay. The compounds (**12**), (**18**), (**23**), and (**25**) had effects that were statistically equal or higher than diquat (herbicide used as positive control). These four compounds were also evaluated with respect to their capability of interfering with photosynthetic parameters. Among them, compounds (**12**) and (**25**) stood out interfering with stomatal conductance, net photosynthesis, internal carbon concentration, transpiration rate, water-use efficiency, and chlorophyll *a* and *b* contents. The most active compounds (**12**) and (**25**) were also tested on leaves of corn and soybean. These crops are among the ones that suffer from intense competition with *E. heterophylla*. None of the compounds produced lesions on the leaves of both crops, suggesting that the compounds are endowed with selectivity. No direct correlation between structure of the compounds and their activities were found (Franco et al., 2022).

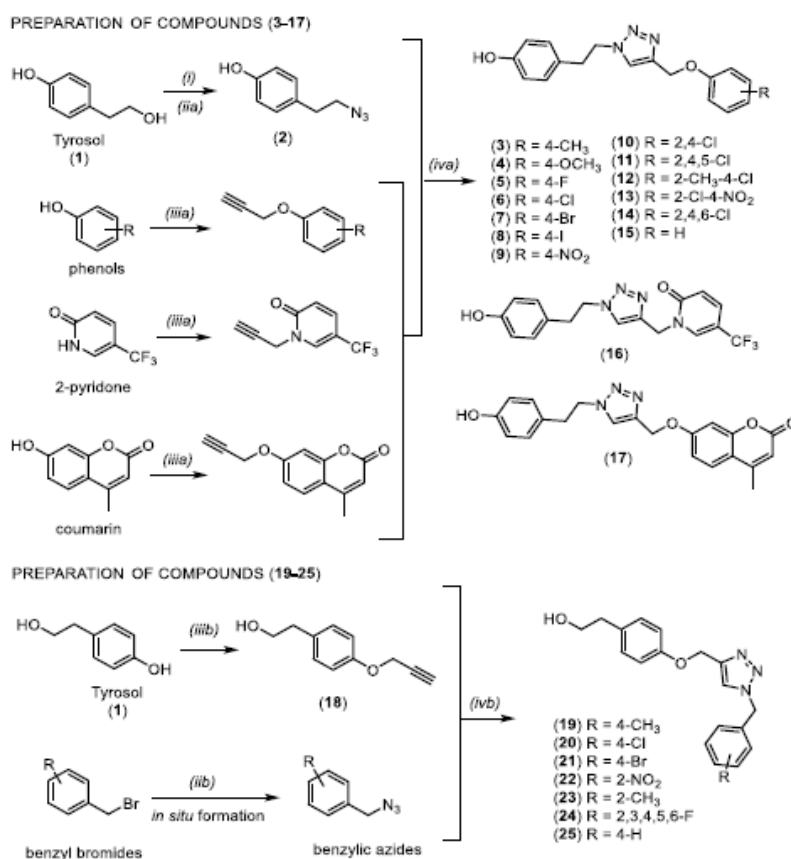


Figure 6. Synthesis of tyrosol 1,2,3-triazole derivatives. Reagents and conditions: (i) HBr 48% (w w⁻¹), 80 °C, 70% yield; (ii) NaN₃ (1.5 eq.), dimethylacetamide (DMAC), r.t., 4-5 h; (iii) propargyl bromide solution in toluene (80% w w⁻¹, 1. eq.), anhydrous K₂CO₃ (2.0 eq.), anhydrous acetonitrile, nitrogen atmosphere, 50 °C, 24 h, 55-99% yield;

(*iva*) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.15 eq.), sodium ascorbate (0.3 eq.), DMAC/ H_2O (4:1 v v⁻¹), r.t., 12 h, 27-98% yield (one-pot); (*iib*), sodium azide (1.5 eq.), DMSO (6 mL), r.t., 12 h; (*iiib*) propargyl bromide solution in toluene (80% w w⁻¹, 2.0 eq.) dissolved in anhydrous acetone (2.5 mL), anhydrous K_2CO_3 (3.0 eq.), anhydrous KI (10 mol%), anhydrous acetone (7.5 mL), nitrogen atmosphere, 50 °C, 24 h, 90% yield; (*ivb*) azide, alkyne (1.0 eq.), sodium ascorbate (0.4 eq.), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.2 eq.), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (4:1 v v⁻¹), r.t., 12 h, 70-83% yield.

One aspect deserves comment at this point. Looking at the conditions used to carry out the CuAAC reaction (Figure 6), someone realizes that the copper source corresponds to $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, which is a Cu(II) containing species.

However, the presence of sodium ascorbate in the reaction media reduces Cu(II) to Cu(I), generating *in situ* the species that accelerates and makes the CuAAC reaction regioselective. In fact, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /sodium ascorbate is the most utilized combination to carry out cycloaddition reactions involving terminal alkynes and azides.

Borgatti and co-workers (2013) synthesized a series of thirteen 1,2,3-triazoles, most of them containing halogen atoms. Figure 7 depicts the steps involved in the preparation of ten of those compounds (triazoles **29a-j**).

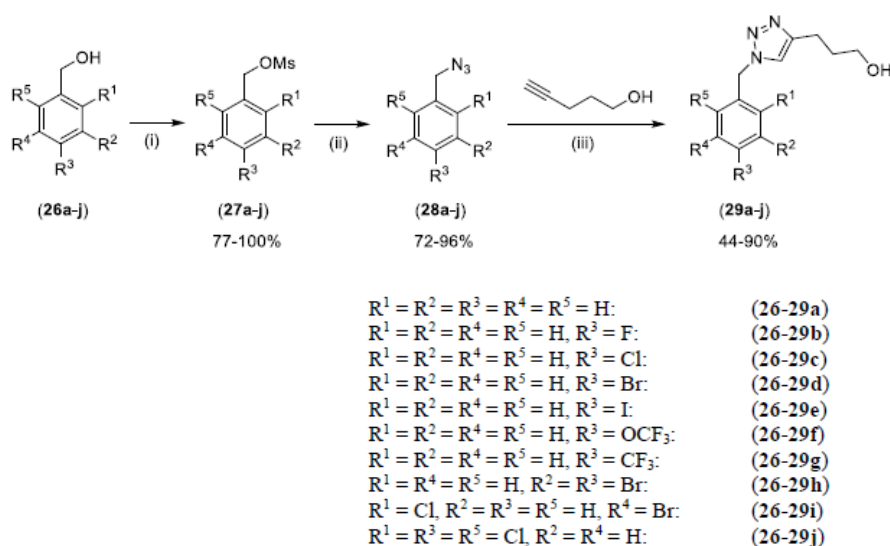


Figure 7. Synthetic steps involved in the preparation of compounds (**29a-j**). Reagents and conditions: (i) MsCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , -50 °C, 30 min; (ii) NaN_3 , DMSO, r.t., 15 h; (iii) pent-4-yn-1-ol, sodium ascorbate (40 mol%), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (20 mol%), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (50% v v⁻¹), r.t., 24 h.

Thus, commercially available benzylic alcohols (**26a-j**) were converted into the mesylates (**27a-j**) via treatment of the alcohols with mesyl chloride. Then, the $\text{S}_{\text{N}}2$ reaction between compounds (**27a-j**) and sodium azide gave the benzylic azides (**28a-j**). In the last step, the CuAAC reaction involving azides (**28a-j**) and pent-4-yn-1-ol resulted in the 1,2,3-triazoles (**29a-j**). The other three 1,2,3-triazoles (**30a**, **30b**, and **33**) were obtained according to the steps shown in Figure 8. The reactions utilized in the preparation of these three compounds were similar to that shown in Figure 7 (Borgatti et al., 2013).

The phytotoxicity of 1,2,3-triazoles were evaluated against the target species *Allium cepa* (onion, monocotyledonous species), *Lactuca sativus* (lettuce, dicotyledonous species), and *Cucumis sativus* (cucumber, dicotyledonous species). These species were chosen since they are sensitive and fast-responsive, even at low toxicity levels. It produces small seeds in large quantities, which present standardized germination and rapid initial development, in addition to having low cost and being easily purchased at most local markets. The effect of the compounds (inhibition or stimulation) on germination and radicle growth (shoot and root growth) were evaluated at $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, and $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. At the highest concentration, the evaluated compounds (**29a-j**), (**30a-b**), and (**33**) showed predominantly inhibitory effects against the evaluated species. The most active compound corresponded to the derivative (**32**), which inhibited almost completely the parameters evaluated. Compared to 2,4-D (a positive control), the derivative (**33**) presented similar activity on *L. sativus* and *C. sativus* and superior effect on *A. cepa* (Borgatti et al., 2013).

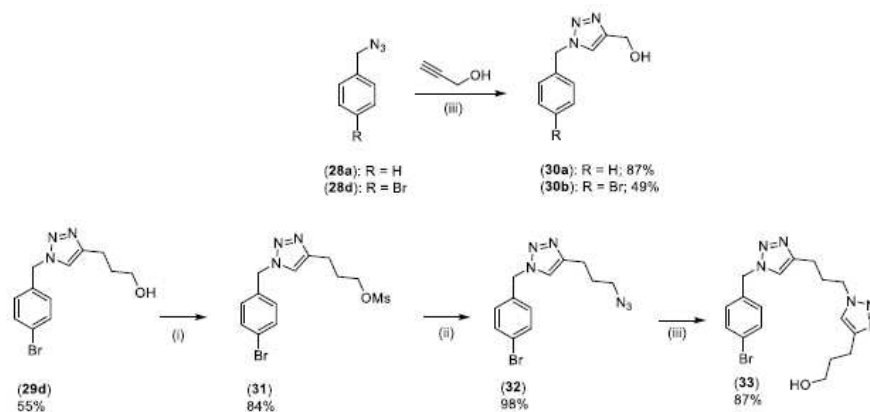


Figure 8. Steps involved in the preparation of 1,2,3-triazole (**30a**, **30b**, and **33**). Reagents and conditions: (i) MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, -50 °C, 30 min; (ii) NaN₃, DMSO, r.t., 15 h; (iii) pent-4-yn-1-ol, sodium ascorbate (40 mol%), CuSO₄·5H₂O (20 mol%), CH₂Cl₂/H₂O (50% v v⁻¹), r.t., 24 h.

Our research group has explored the glycerol containing 1,2,3-triazole scaffold. Within this scenario, the glycerol derivatives (**38a-i**) were prepared according to the steps shown in Figure 9. Thus, glycerol (**34**) was initially converted into the acetonide (**35**). Then, treatment of (**35**) with tosyl chloride gave the tosylate (**36**). The S_N2 reaction involving compound (**36**) and sodium azide resulted in the formation of organic azide (**37**). Finally, the CuAAC reaction between (**37**) and different terminal alkynes afforded the glycerol-containing 1,2,3-triazole derivatives (**38a-i**) (Costa et al., 2020).

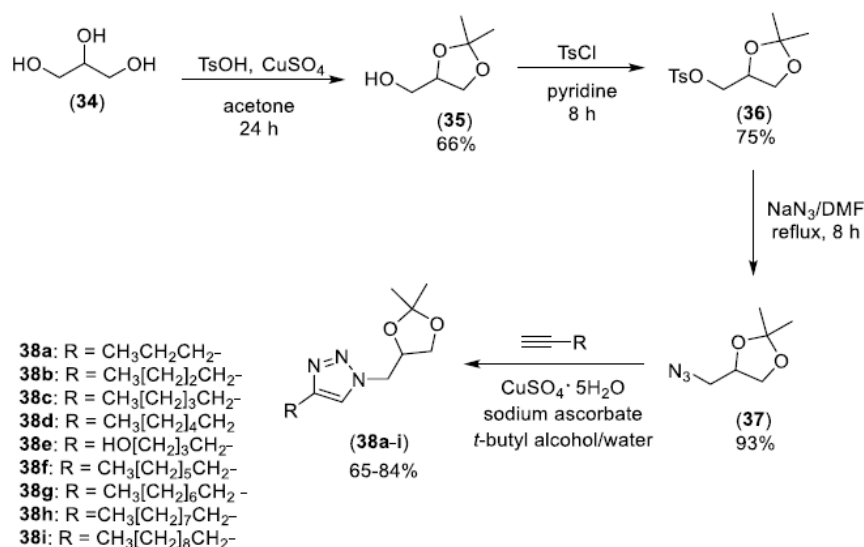


Figure 9. Preparation of glycerol containing 1,2,3-triazole derivatives (**38a-i**).

The phytotoxicity of compounds (**38a-i**) were evaluated against *L. sativa* at five different concentrations (1, 10, 100, 500, and 1000 μg mL⁻¹). The parameters percentage of germination and germination speed index were evaluated every 8 h for 48 h. After 48 h, the root length was measured for the indication of root growth. The germination was the less affected parameter. Except for compound (**38c**) at 1000 μg mL⁻¹ (35% of germination inhibition), the other treatments were statistically identical to the negative control (dichloromethane + water). The derivatives (**38a**), (**38b**), (**38c**), (**38d**), (**38f**), and (**38h**) influenced the speed index and root length, particularly at 500 μg mL⁻¹ and 1000 μg mL⁻¹. The most active compound corresponded to (**37c**), which at 1000 μg mL⁻¹ reduced germination index and root growth by 68.53% and 85.78%, respectively. Those results were statistically similar to the herbicide pichloran used as a positive control (Costa et al., 2020).

Maslinic acid (**39**) is a triterpene found in *Olea europea* L. (Oleaceae). This natural compound was converted into 1,2,3-triazole hybrid derivatives (**46a-g**) as depicted in Figure 10. The hybrids present a

phthalimide moiety tethered to maslinic acid by a 1,2,3-triazole functionality. Initially, maslinic acid (**39**) was converted into the propargylated derivative (**40**). The azides (**42-44** and **45a-d**) were obtained from phthalimide (**41**) according to the reactions shown in Figure 10. Then, the CuAAC reaction involving these azides and alkyne (**39**) derived from maslinic acid gave the hybrid compounds (**46a-g**) (Nejma et al., 2018).

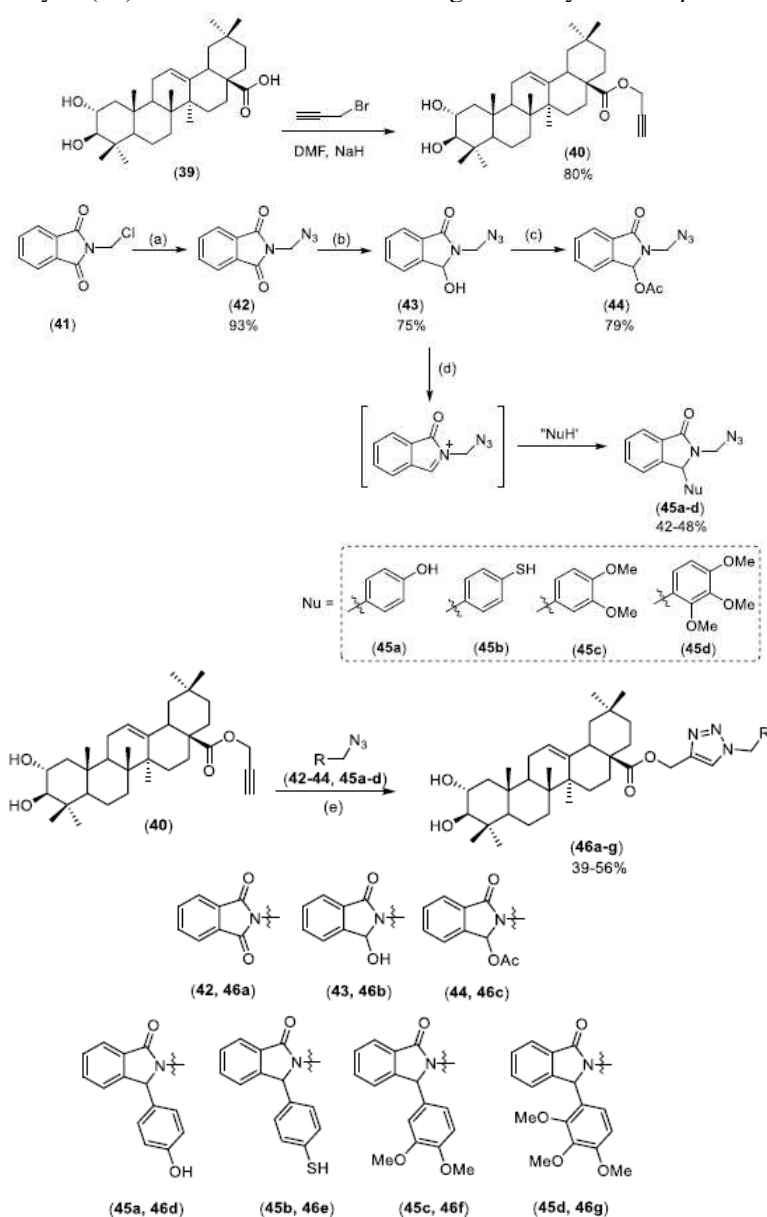


Figure 10. Conversion of maslinic acid (**39**) in 1,2,3-triazole derivatives (**46a-g**). (a) NaN_3 , DMSO, 24 h, r.t.; (b) LiEt_3BH , CH_2Cl_2 , 30 min, $-80\text{ }^\circ\text{C}$; (c) Ac_2O , pyridine, 24 h, r.t.; (d) CH_2Cl_2 , r.t., $\text{Bi}(\text{OTf})_3$; (e) CuI , Et_3N , DMF, MW-250 W, 3-5 min.

The phytotoxicity of compounds (**46a-g**) was assessed against the model plant *L. sativa*. The authors also evaluated the effects of maslinic acid (**39**), the propargylated derivative (**40**), and the azides (**42-44** and **45a-d**). At $500\mu\text{g mL}^{-1}$, the hybrid derivatives presented superior effect on germination than the other evaluated compounds, showing percentages of germination inhibition varying from 91.79% to 100%. Seed germination was completely suppressed by compound (**46e**). The authors did not use a positive control in the experiments. In this sense, a comparison of the efficiency of the evaluated compounds and a commercial herbicide was not determined.

Insecticide Activity of 1,2,3-Triazoles

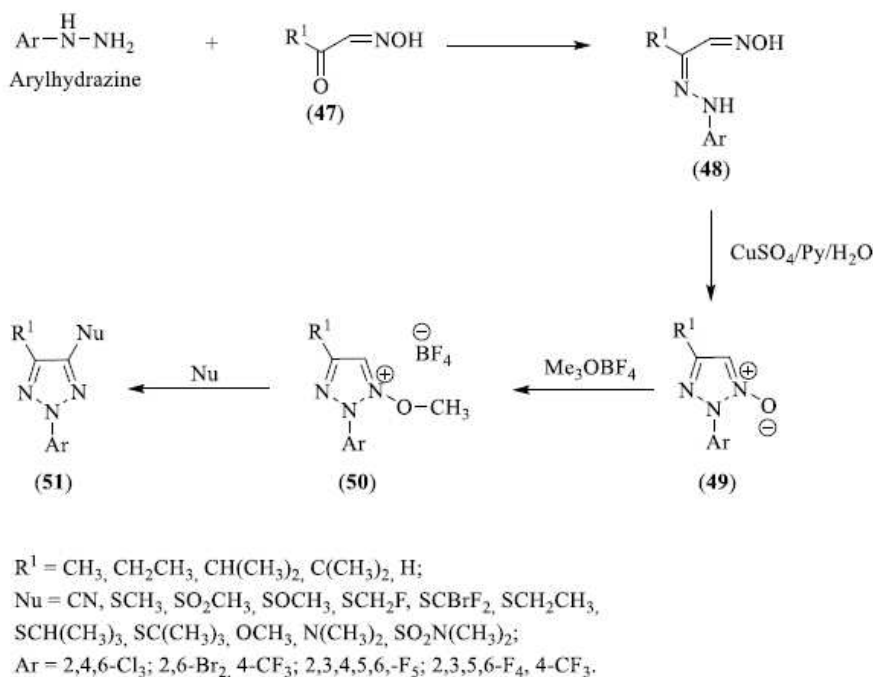


Figure 11. First synthetic route described by Boddy and co-workers (1996) for the preparation of 1,2,3-triazoles (51).

It is outlined in Figures 11 and 12, two synthetic routes described by Boddy and co-workers for the preparation of 2-aryl-1,2,3-triazoles. In these cases, the preparation of the compounds did not involve the use of the CuAAC reaction. In the first synthetic route, arylhydrazine (ArNHNH₂) reacted with keto-oxime (47), affording oximinohydrazone (48). Compound (48) underwent copper-catalyzed cyclization to give cyclic N-oxide (49). Methylation of (49) gave rise to (50) that, in turn, reacted with suitable nucleophiles resulting in the formation of 1,2,3-triazoles (51) (Boddy et al. 1996).

The second route (Figure 12) involved the reaction of arylhydrazines (ArNHNH₂) with bis-oxime (52) to give hydrazone (53). Then, the monoacetylation of (53) followed by cyclization of (54) promoted by K₂CO₃ or Cs₂CO₃ afforded triazole-4-carbaldoxime (55). Hydrolyses of (55) gave the aldehyde (56), that was subsequently reacted with NaBH₄ to afford alcohol (57). Finally, conversion of the alcohol (57) into the corresponding mesylate followed by reaction of it with nucleophiles resulted in 1,2,3-triazoles (58) (Boddy et al. 1996).

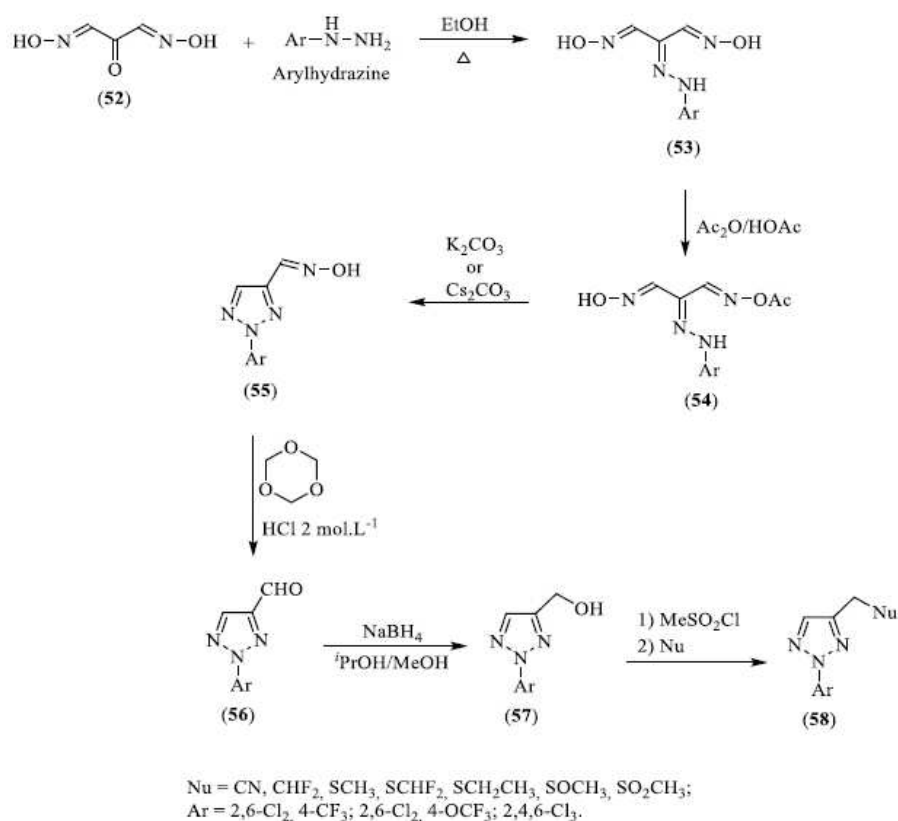


Figure 12. Second synthetic route described by Boddy and co-workers (1996) for the preparation of 1,2,3-triazoles (58).

A total of thirty-eight 1,2,3-triazole compounds were synthesized using the two synthetic routes aforementioned. The compounds were biologically evaluated against ticks (*Boophilus microplus*), sheep blowfly (*Lucilia sericata*), housefly (*Musca domestica*), and cockroach (*Blattella germanica*). The activity of the compounds was particularly good against housefly and the structure of the most effective against this species is presented in Figure 13.

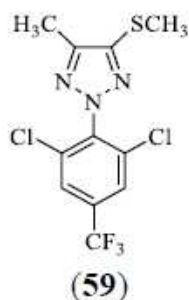


Figure 13. Structure of the most active 1,2,3-triazole (59) against housefly as described by Boddy and co-workers.

The triazole (59) presented three important characteristics, namely spectrum of activity (it was active against all the evaluated species, Table 1), potency, and residual activity (Boddy et al. 1996).

Table 1. Biological activity data concerning compound 59.

Compound	Activity against				
	<i>B. Microplus</i>		<i>L. sericata</i> ^a	<i>M. domestica</i> ^c	<i>B. germanica</i> ^c
	Larval ^a	Reproductive ^b			
59	30	3	3	0.3-1	10-30

^aCorresponds do lethal dose (LD₅₀) in mg L⁻¹.

^bCorresponds do effective dose (ED₅₀) in μg per tick.

^cCorresponds do lethal dose (LD₅₀) in mg m⁻².

According to the *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), bioisoster can be defined as “a compound resulting from the exchange of an atom or group of atoms with another, broadly similar, atom or group of atoms” (Wermuth et al., 1998). The amide group and the 1,2,3-triazole ring are bioisosteres which is associated with the similarities between them, namely *i*) their size (distance between substituents 3.8-3.9 Å in amides, 5.0-5.1 Å in triazoles), *ii*) their dipolar character (amide *ca.* 4 debye, triazole *ca.* 5 debye), and *iii*) their H-bond acceptor capacity (the lone pairs of the amide O as well as of the triazole nitrogens as illustrated in (A) and (B) in Figure 14). The triazole C(5)-H was considered to act as an H-bond donor similar to the amide NH.

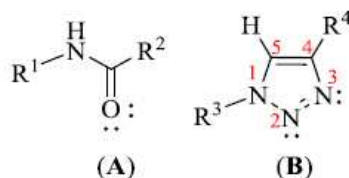


Figure 14. The bioisosters amide and 1,2,3-triazole ring.

Bioisosterism is an effective way to design bioactive compounds (Lima and Barreiro, 2005).

Taking the structure of chlorantraniliprole as the source of inspiration and considering the bioisosterism concept, Mao and co-workers (2015) designed the synthesis of a series of 1,2,3-triazoles presenting the general structure (60), Figure 15.

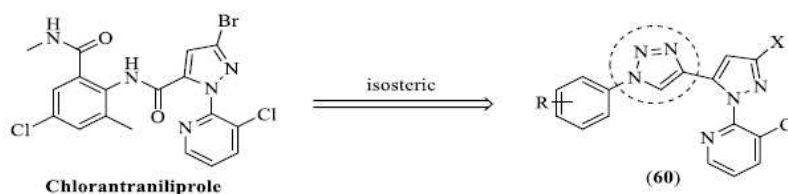


Figure 15. Chlorantraniliprole and 1,2,3-triazole of general structure (60).

The key step involved in the preparation of the compounds corresponded to the CuAAC reaction as depicted in Figure 16 (Mao et al., 2015).

When evaluated against the oriental army work (*Mythimna separata*), a severe pest in cereals, the compounds presented different degrees of efficiency. The triazoles were tested at 200, 100, 50, 25, and 5 mg mL⁻¹ and the results are presented in Table 2.

The derivatives (60c-f, 60h-l) were active only at the highest concentration. The most active was compound (60b), which at 200, 100, 50, 25, and 10 mg L⁻¹ displayed 100% larvicidal activity, a result which is comparable to the positive control chlorantraniliprole. It also deserves comment the activity presented by compound (60g), albeit it is less active than (60b) (Mao et al., 2015).

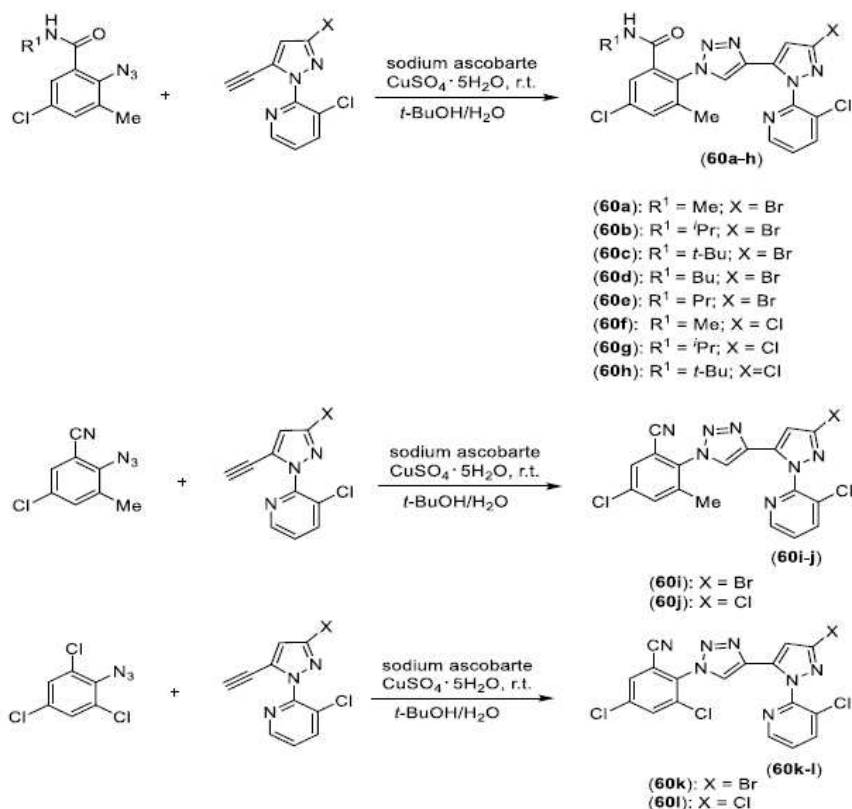


Figure 16. Preparation of 1,2,3-triazoles (**60a-l**).

Table 2. Biological activity data of compounds (**60a-l**) on *M. separata*.

Compound	Larvicidal activity (%) at a concentration of (mg mL ⁻¹)					
	200	100	50	25	10	5
60a	100	13.3	-	-	-	-
60b	100	100	100	100	100	40
60c	60	-	-	-	-	-
60d	15	-	-	-	-	-
60e	56.7	-	-	-	-	-
60f	80	-	-	-	-	-
60g	100	100	100	100	60	-
60h	80	-	-	-	-	-
60i	20	-	-	-	-	-
60j	60	-	-	-	-	-
60k	40	-	-	-	-	-
60l	30	-	-	-	-	-
Chlorantraniliprole	100	100	100	100	100	100

(-): no activity

Su and collaborators (2013) modified the commercial pesticide mandipropamid by replacing the 4-chlorophenyl group by a 1,2,3-triazole functionality (Figure 17).

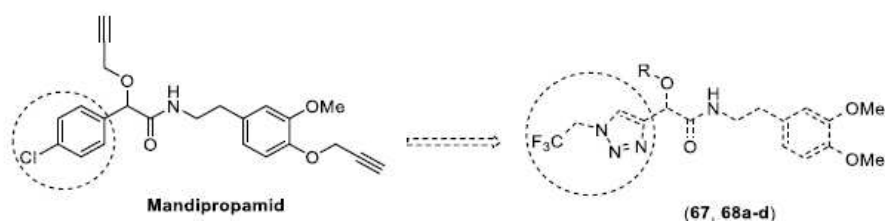


Figure 17. Mandipropamid and general structures of the analogues prepared by Su and collaborators (2013).

The synthetic steps involved in the preparation of triazolic derivatives (**67**) and (**68a-d**) are depicted in Figure 18. The CuAAC reaction was utilized to prepare the intermediate (**66**), which upon standard functional group interconversions gave rise to compounds (**67**) and (**68a-d**) (Su et al., 2013).

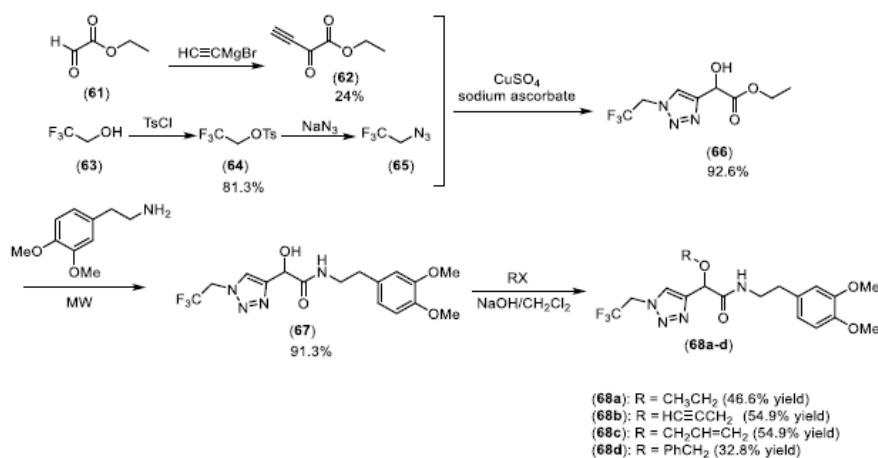


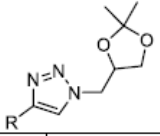
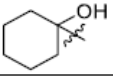
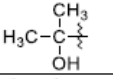
Figure 18. Steps involved in the preparation of mandipropamid analogues (**67**) and (**68ad**).

The 1,2,3-triazoles (**67**) and (**68a-d**) presented moderate larvicidal activity (30-50%) against the fourth-instar larvae of *Culex pipiens pallens*, also known as common house mosquito (Su et al., 2013).

Fungicide Activity of 1,2,3-Triazoles

As quoted above, our research group has explored the bioactivity profile of glycerol containing 1,2,3-triazole derivatives. Within this scenario and utilizing a synthetic route similar to that shown in Figure 9, we have investigated the fungicide activity of several 1,2,3-triazoles derived from glycerol. Table 3 shows the general structure of compounds belonging to this scaffold synthesized and biologically evaluated by us. The compounds (**37a-37i**), (**69ah**), and (**70a-k**) were evaluated against *Colletotrichum* fungal species which cause papaya anthracnose. Regarding the compounds (**37a-37i**), they were assessed against *Colletotrichum gloeosporioides* and presented lower efficiency in inhibiting the mycelial growth compared to the commercial fungicide tebuconazole. The compounds (**37d**, ED₅₀ = 18.14 ppm) and (**37i**, ED₅₀ = 10.14 ppm) were the most active, although less efficient than tebuconazole (ED₅₀ = 0.26 ppm) used as a positive control. On the contrary, the derivatives (**37a-37i**) displayed inhibitory activity on sporulation compared to tebuconazole (ED₅₀ < 1 ppm). It stood out compound (**37e**) which presented ED₅₀ = 0.0002 ppm (Costa et al., 2020).

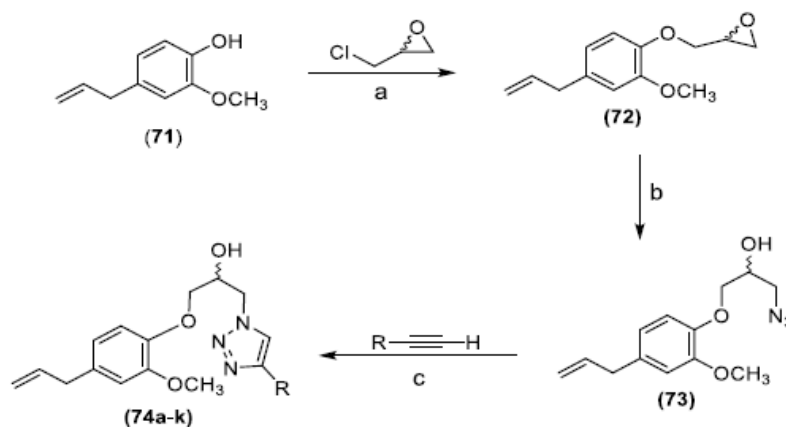
Table 3. Structures of 1,2,3-triazoles derived from glycerol.

			
Compound	R group	Compound	R group
37a	CH ₃ CH ₂ CH ₂ -	69f	CH ₃ CH(OH)CH ₃
37b	CH ₃ [CH ₂] ₂ CH ₂ -	69g	
37c	CH ₃ [CH ₂] ₃ CH ₂ -	69h	
37d	CH ₃ [CH ₂] ₄ CH ₂ -	70a	Phenyl
37e	HO[CH ₂] ₃ CH ₂ -	70b	3-fluorophenyl
37f	CH ₃ [CH ₂] ₅ CH ₂ -	70c	4-fluorophenyl
37g	CH ₃ [CH ₂] ₆ CH ₂ -	70d	2-fluorophenyl
37h	CH ₃ [CH ₂] ₇ CH ₂ -	70e	3,4-difluorophenyl
37i	CH ₃ [CH ₂] ₈ CH ₂ -	70f	2,4-difluorophenyl
69a	HOCH ₂ -	70g	3,5-difluorophenyl
69b	HOCH ₂ CH ₂ -	70h	4-trifluoromethylphenyl
69c	HOCH ₂ CH ₂ CH ₂ -	70i	3-trifluoromethylphenyl
69d	CH ₃ CH(OH)CH ₂ -	70j	2-trifluoromethylphenyl
69e	CH ₃ CH(OH)-	70k	3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl

The glycerol derivatives (**69a-69h**) were also evaluated against *C. gloeosporioides* and the compounds (**69f**) ($ED_{50} = 394.80 \mu\text{g mL}^{-1}$) and (**69g**) ($ED_{50} = 492.02 \mu\text{g mL}^{-1}$) were the more efficient in controlling the mycelial growth of the fungal species, albeit their activity was much lower than tebuconazole ($ED_{50} = 0.26 \mu\text{g mL}^{-1}$). In terms of sporulation, compounds (**69g**) ($ED_{50} = 0.44 \mu\text{g mL}^{-1}$) and (**69h**) ($ED_{50} = 0.83 \mu\text{g mL}^{-1}$) inhibited it with efficiency compared to tebuconazole ($ED_{50} < 1 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Costa et al., 2017).

More recently, we prepared a series of glycerol-fluorinated triazole derivatives (**70a-k**) (Barcelos et al., 2022). Evaluation of them against *C. gloeosporioides* showed that (**70d**) ($ED_{50} = 59.14 \mu\text{g mL}^{-1}$) was slightly more active than commercial fungicide tebuconazole ($ED_{50} = 61.35 \mu\text{g mL}^{-1}$). Compound (**70d**) presented attractive physicochemical features for agrochemical purposes as revealed by the calculated physicochemical parameters.

Considering fluorinated-triazole derivatives, our research group prepared several compounds derived from eugenol (**71**) (Figure 19).



- (74a): R = phenyl;
 (74b): R = 3-fluorophenyl;
 (74c): R = 4-fluorophenyl;
 (74d): R = 2-fluorophenyl;
 (74e): R = 3,4-difluorophenyl;
 (74f): R = 2,4-difluorophenyl;
 (74g): R = 3,5-difluorophenyl;
 (74h): R = 4-(trifluoromethyl)phenyl;
 (74i): R = 3-(trifluoromethyl)phenyl;
 (74j): R = 2-(trifluoromethyl)phenyl;
 (74k): R = 3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl

Figure 19. Synthesis of 1,2,3-triazole compounds (**74a-k**) derived from eugenol. (a) KOH, (Bu)₄NBr, 0 °C → r.t. (yield 88%); (b) ammonium chloride, NaN₃, CH₃OH, H₂O, reflux, 60 °C (yield 94%); (c) sodium ascorbate, CuSO₄·5H₂O, CH₂Cl₂, H₂O, r.t. (yield 48-80%).

In the first step, epoxide (**72**) was prepared via S_N2 reaction between eugenol (**71**) and epichlorohydrin, in the presence of potassium hydroxide and tetrabutylammonium bromide. Subsequently, epoxide was treated with sodium azide and ammonium chloride, resulting in the formation of azide (**73**). In the third and last step, aiming to evaluate the effect of the R-group linked to the triazole portion on the biological activity of the compounds, eleven eugenol derivatives (**74a-k**) were synthesized via CuAAC reaction between azide (**73**) and different fluorinated aromatic alkynes (Lima et al., 2022). The evaluation of eugenol (**71**) and derivatives (**74a-k**) against *Colletotrichum* sp. (CM01) utilizing the well-diffusion method showed that derivatives exhibited a moderate inhibitory effect (inhibition zone 2.3 · 5.1 mm) on the mycelial growth of the phytopathogen, when compared with the effect of the fungicide tebuconazole (inhibition zone 19.0 mm) and eugenol itself (10.7 mm). The most active eugenol derivative corresponded to (**74d**). When the derivatives were evaluated in terms of their inhibitory effect on conidial germination and fungal growth, the minimum inhibitory concentration (MIC) values were within 1.00 and 5.00 mg mL⁻¹, being compounds (**74d**) (MIC = 1.50 mg mL⁻¹) and (**77f**) (MIC = 1.02 mg mL⁻¹) the most effective derivatives. Eugenol (MIC < 0.500 mg mL⁻¹) and tebuconazole (MIC < 0.500 mg mL⁻¹) were again more active than derivatives (**74a-k**). Eugenol (**71**) presents recognized fungicide activity and the results described above demonstrated that it is more active on *Colletotrichum* sp. than compounds (**74a-k**). However, it should be mentioned that the use of eugenol (**71**) for agrochemical purposes has limitations due to its low stability since it is easily oxidized or decomposed in the presence of oxygen, light, or heat (Lima et al., 2022).

By using the synthetic sequence shown in Figure 20, Dai and collaborators obtained twenty-six 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives.

In the first step, aromatic anilines were converted into aromatic azides via the diazotization process. Then, the CuAAC reaction between azides and propargyl alcohol gave 1,2,3-triazoles (**75**). After oxidation with MnO₂, the triazoles were converted to aldehydes (**76**) that, in turn, were condensed with different substituted phenylhydrazines to afford derivatives (**77**). The R₁ and R₂ in the structures of compounds (**77**) corresponded to halogens (F, Cl, Br), OMe, Me, and CF₃ at different positions of the aromatic rings. The fungicide activity of 1,2,3-triazoles (**77**) was assessed on *Rhizoctonia solani*, *Sclerotiniasclerotiorum*, *Fusarium graminearum*, and *Phytophthora capsici*. The most active compound (**78**) (Figure 20) exhibited significant *in vitro* antiphytopathogenic activity, with EC₅₀ values of 0.18 (*R. solani*), 2.28 (*S.sclreotiorum*), 1.01 (*F. graminearum*), and 1.85 (*P. capsici*) μg mL⁻¹. 1.01 (*F.graminearum*), and 1.85 (*P.capsici*) μg mL⁻¹.

Considering the species *R. solani*, the mentioned compound was more effective than the commercial fungicide carbendazim (1.42 μg mL⁻¹) and validamycin A (5.07 μg mL⁻¹). *In vivo* assessment demonstrated that (**78**) was effective in the control of rice sheath blight, rape sclerotinia rot, and fusarium head blight. This investigation also described the built of tridimensional Quantitative-Structure Activity Relationship (3D-QSAR), so that it allows the exploitation of this scaffold to obtain more active 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives (Dai et al., 2015).

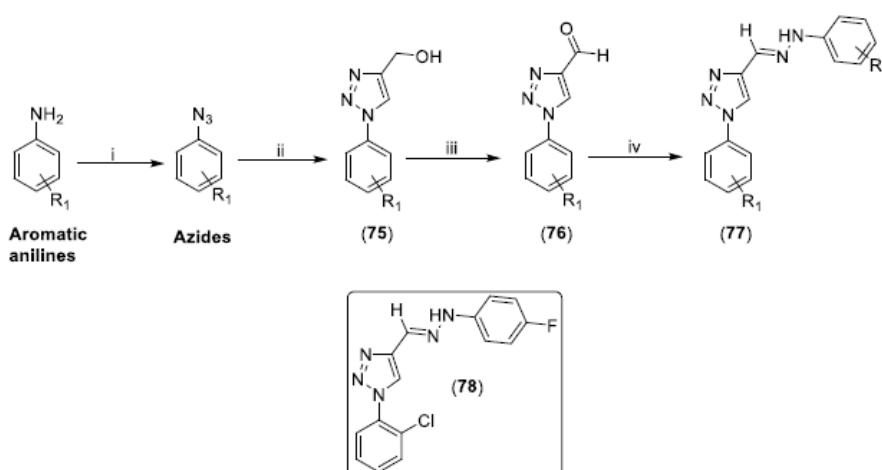


Figure 20. Preparation of 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives (**77**) and structure of the more active compound (**78**) described by Dai and collaborators (2015). Reagents and conditions: (i) NaNO_2 , HCl (10%), 0–5 °C; NaN_3 , 24 h, r.t. (60–100% yield); (ii) propargyl alcohol, CuSO_4 , sodium ascorbate, $\text{H}_2\text{O}/t\text{-butanol} = 1:1$ v v⁻¹, 24 h, r.t. (40–80% yield); (iii) $\text{MnO}_2/\text{EtOAc}$, 1 h, r.t. (85–100% yield); (iv) MeOH , substituted phenylhydrazine, 0.5 h (68–85% yield).

In a subsequent investigation, Chen and co-workers continued to explore the 1,2,3-triazole phenylhydrazone scaffold. After a bioactive-guided investigation, it was found that compound (**79**) was a promising fungicide candidate for further development. This compound displayed an EC_{50} value of $0.28 \mu\text{g mL}^{-1}$ against *F. graminearum*, which is 3.6 times lower than the aforementioned reported EC_{50} ($1.01 \mu\text{g mL}^{-1}$). In addition, derivative (**79**) also exhibited good inhibitory activities against *R. solani* and *S. sclerotiorum* with EC_{50} values of 0.86 and $1.66 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. *In vivo* evaluation of (**79**) at $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ demonstrated that it effectively suppresses the disease development of fusarium head blight, one of the most serious diseases in cereals, with a protective efficacy of 80.6% (Chen et al., 2020).

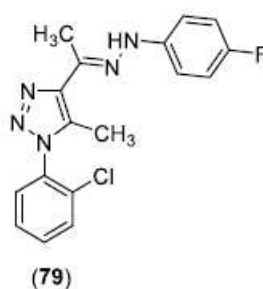


Figure 21. Structure of 1,2,3-triazole phenylhydrazone (**79**).

Oleanolic acid (**80**) was used as starting material for the preparation of eighteen 1,2,3-triazoles, according to the transformations outlined in Figure 22 (Chen et al., 2022).

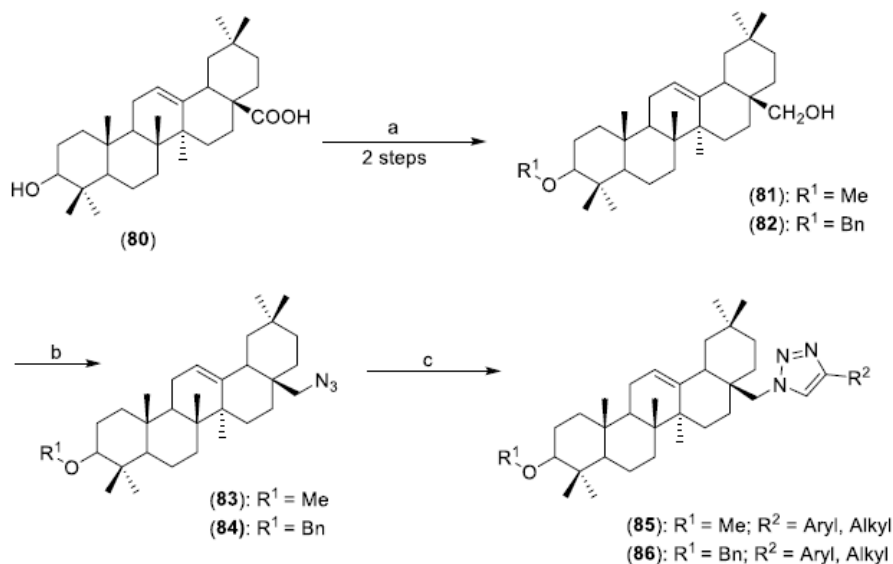


Figure 22. Synthetic steps involved in the preparation of 1,2,3-triazoles derived from oleanolic acid (**80**). Reagents and conditions: (step a): (1) MeI/BnBr , NaH , THF , 0 °C to 40 °C, 12 h; (2) LAH , THF , 0 °C to r.t., 4 h; 75% for (**81**), 72% for (**82**); (step b): Under N_2 protection, Tf_2O , pyridine, 0 °C to r.t., 15 min, then NaN_3 , DMF , 60 °C; 87% to (**83**), 89% to (**84**); (step c): $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodium ascorbate, then substituted phenylacetylene or alkyl alkyne, $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1 v v⁻¹), r.t., 1 h, 77–86% for (**85**), 74–89% for (**86**).

Compound (**80**) was converted into (**81**) and (**82**) after alkylation and reduction reactions. Conversion of (**81**) and (**82**) into the corresponding triflates followed by reaction with sodium azide resulted in the preparation of (**83**) and (**84**). The CuAAC reaction between azides and different terminal alkynes resulted in triazolic oleanolic acid derivatives (**85**) and (**86**). The antifungal activity of compounds (**85**) and (**86**) was tested on six target species, *S. sclerotiorum*, *Phytophthora boehmeriae* Saw, *Botrytis cinerea* Pers, *R. solani*

Kuhn, *Pyricularia oryzae* Cav., and *Fusarium oxysporum* Schl. *F.sp.vasinfectedum* (Atk.) Snyder & Hans, at 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, using the mycelial growth inhibition bioassay. The best inhibitory effects were observed on *R. solani* Khun for compounds (**85a-c**) and (**86a-c**) as presented in Table 4.

Table 4. Results of the antifungal activity on *R. solani* Khun of the most active 1,2,3-triazole oleanolic acid derivatives.

Compound	R ¹	R ²	Growth inhibition (%)
85a	CH ₃	4-Cl-C ₆ H ₄	85.6
85b	CH ₃	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	83.1
85c	CH ₃	4-F-C ₆ H ₄	87.6
86a	Bn	4-Cl-C ₆ H ₄	86.8
86b	Bn	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	87.7
86c	Bn	4-F-C ₆ H ₄	89.6
Oleanolic acid (80)	-	-	20.1
Chlorothalonil	-	-	92.7

R¹ and R² correspond to the groups shown in structures (**88**) and (**89**) in Figure 22.

It should be noted that the most active compounds on *R. solani* present as a common feature electro-negative atoms (Cl or F) or group (NO₂) attached to the *para*-position of the aromatic ring in the structures of these compounds. The fungicide activity of triazolic derivatives (**85a-c**) and (**86a-c**) are superior than the parent compound oleanolic acid (**80**). Besides, the derivatives presented lower efficiency than the commercial fungicide chlorothalonil used as a positive control (Chen et al., 2022).

Two synthetic routes were designed to prepare a series of 1,2,3-carboxamides. In the synthetic route show in Figure 23, aromatic azides (prepared from aromatic anilines) were converted into 1,2,3-triazolic amines (**87a-h**). The amidation reactions of compounds (**87a-h**) with acyl chlorides gave the carboxamides (**88Aa-h**, **88Ba-h**, and **88Ca-h**) (Yan et al., 2019).

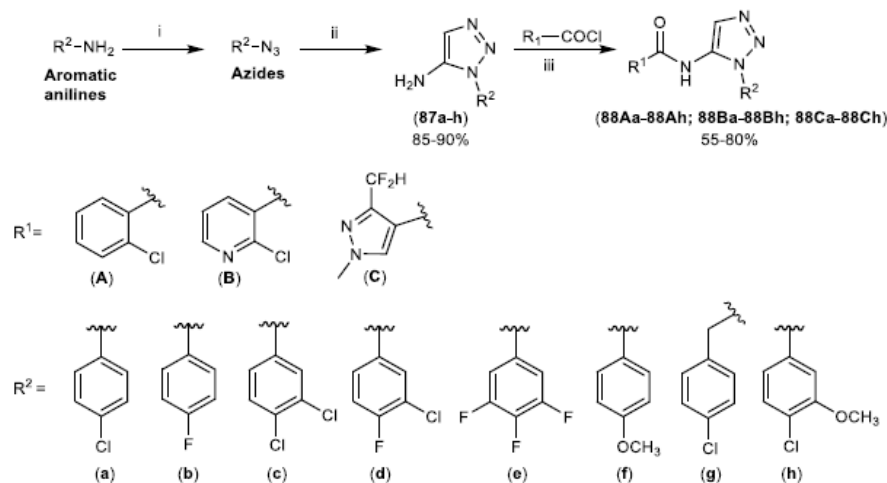


Figure 23. Synthetic steps involved in the preparation of carboxamides (**88Aa-88Ah**, **88Ba-88Bh**, and **88Ca-88Ch**). Reagents and conditions: (i) NaNO_2 , HCl (3 mol L^{-1}), 0 °C; NaN_3 , 2-3 h; (ii) acetonitrile, BuLi , THF, -78 °C; (iii) THF, NaH , acyl chloride, r.t.

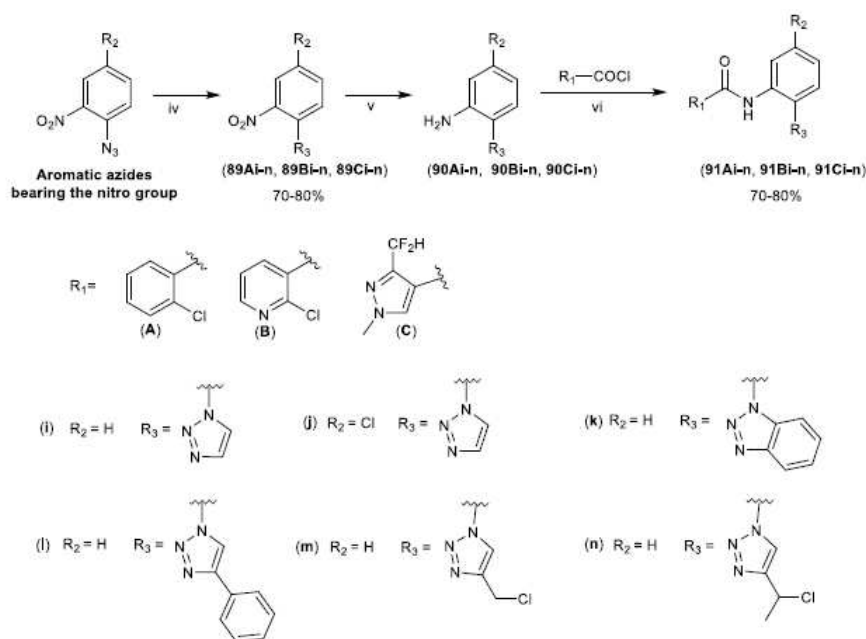


Figure 24. Synthetic steps involved in the preparation of carboxamides (**91Ai-n**, **91Bi-n**, and **91Ci-n**). iv) different methodologies; (v) NH_4Cl , Fe, $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (3:1 v v⁻¹); (vi) acyl chlorides, triethyl amine, CH_2Cl_2 , r.t.

In the second synthetic approach (Figure 24), aromatic azides bearing the nitro group were converted into triazolic derivatives (**89Ai-n**, **89Bi-n**, and **89Ci-n**) by means of the CuAAC reaction. Reduction of nitro groups present in the aforementioned compounds provided the compounds (**90Ai-n**, **90Bi-n**, and **90Ci-n**), followed by amidation reactions with different carboxylic acids resulted in carboxamides (**91Ai-n**, **91Bi-n**, and **91Ci-n**) (Yan et al., 2019).

The obtained carboxamides were screened *in vitro* via mycelial growth inhibition assay against *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia cerealis*, *Gaeumannomyces graminis*, *Alternaria solani*, *Colletotrichum orbiculare*, *Fusarium moniliforme*, and *P. capsii* at $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. This initial screening selected compound (**88Ac**) as the most active carboxamide, which displayed relevant fungicidal activity with EC_{50} values of 1.08 (*S. sclerotiorum*), 8.75 (*B. cinerea*), 1.67 (*R. cerealis*), and 5.30 (*G. graminis*) $\mu\text{g mL}^{-1}$. Boscalid, an antifungal commercial carboxamide, was used as a positive control and the IC_{50} against *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *R. cerealis*, and *G. graminis* were, respectively, 0.21, 1.04, 0.20, and 22.03 $\mu\text{g mL}^{-1}$. At $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, carboxamide (**88Ac**) was effective in suppressing rape sclerotinia rot, cucumber grey mold, and wheat powdery mildew, that are caused, respectively, by *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, and *B. graminis*. Besides, it was demonstrated the efficiency of (**89Ac**) against the succinate dehydrogenase (SDH, $\text{IC}_{50} = 41.9 \mu\text{mol L}^{-1}$), which is the target of fungicides belonging to the carboxamide class. The authors also reported a docking study that revealed the interaction of (**88Ac**) with ARG43, TYR58, and TRP173 amino-acid residues of SDH through hydrogen bond and pi-pi interaction, which could explain the probable mechanism of action between the inhibitor and the target enzyme (Yan et al., 2019).

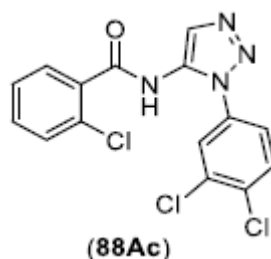


Figure 25. Structure of carboxamide (**88Ac**).

Benzamidines displaying 1,2,3-triazole moieties were prepared according to the steps outlined in Figures 26-28 (Chen et al., 2014). Conversion of 4-bromomethyl benzonitrile (**92**) in triazol (**94**) was accomplished after reaction of (**92**) with sodium azide followed by CuAAC reaction of (**93**) with propargyl alcohol. Then, the Pinner reaction of (**94**) followed by treatment of Pinner salt with different amines produced the benzamidines (**95a-e**) (Figure 25).

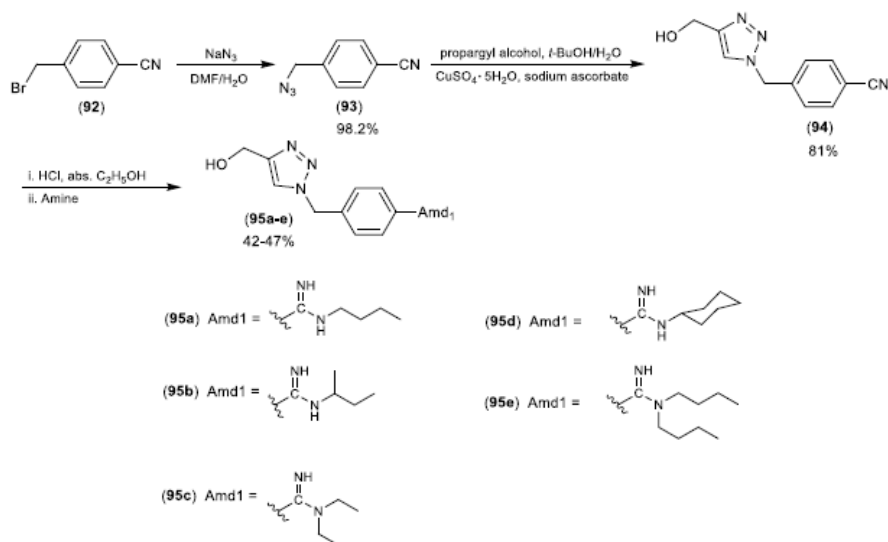


Figure 26. Preparation of benzamidines (**95a-e**).

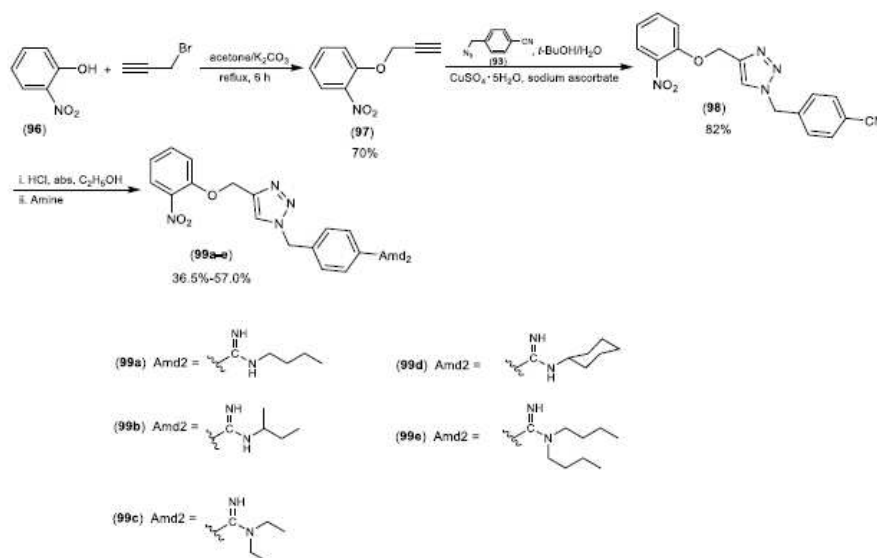


Figure 27. Synthesis of benzamidines (**99a-e**) from phenol (**96**).

Similar procedures converted phenol (**96**) to benzamidines (**99a-e**) (Figure 27), and phenol (**100**) and nitrile (**102**) in benzamidines (**105a-d**), and (**106a-d**) (Figure 28).

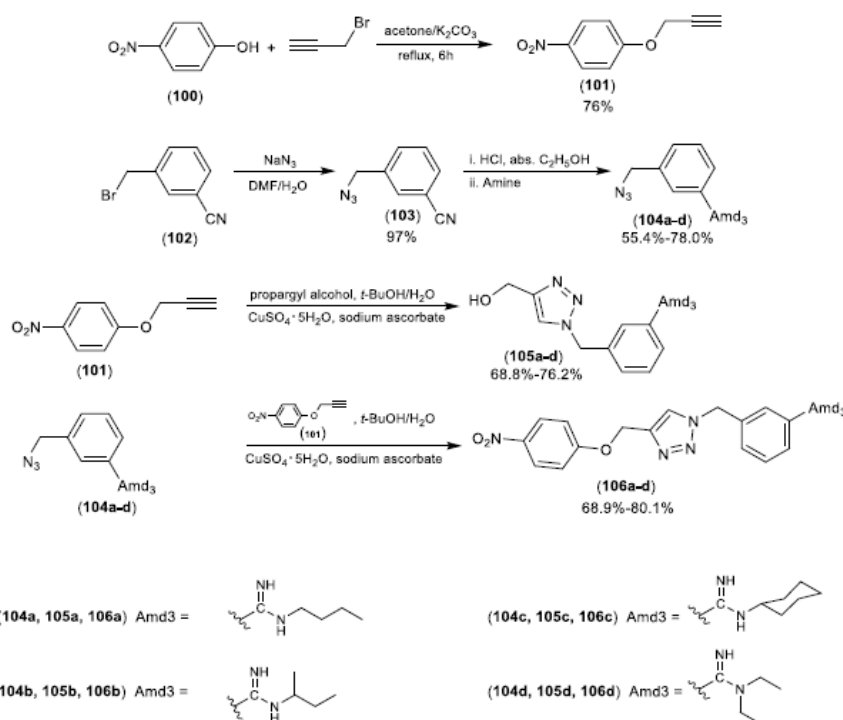


Figure 28. Synthesis of benzamidines (**105a-d**) and (**106a-d**).

When assessed *in vitro* on *Colletotrichum lagenarium* and *B. cinerea*, via the mycelial growth inhibition assay, the synthesized benzamidines presented weak antifungal activity (8–35% on *C. lagenarium* and 0–44% on *B. cinerea* at $200 \mu\text{g mL}^{-1}$). On the contrary, when evaluated *in vivo* at $300 \mu\text{g mL}^{-1}$, the antifungal activity of benzamidines was, in general, higher compared to the *in vitro* results. The compound (**99b**) against *C. lagenarium* (79% inhibition) and (**106b**) on *B. cinerea* (61%) were the most effective *in vivo* (Chen et al., 2014).

Indole (**107**) corresponded to the starting material used to obtain the triazolic derivatives (**111**, **112**, **115a-k**). The propargylation of indole (**107**) with propargyl bromide, under the specified conditions shown in Figure 29, afforded the key terminal alkyne (**108**). The CuAAC reactions conducted with $CuCl_2/Zn$ as the catalytic system, involving the alkyne (**108**) and azides (**110**, 1-(azidomethyl)-4-nitrobenzene, and **114a-k**) resulted in triazolic indole derivatives with in 80–93% yield (Xu et al., 2016).

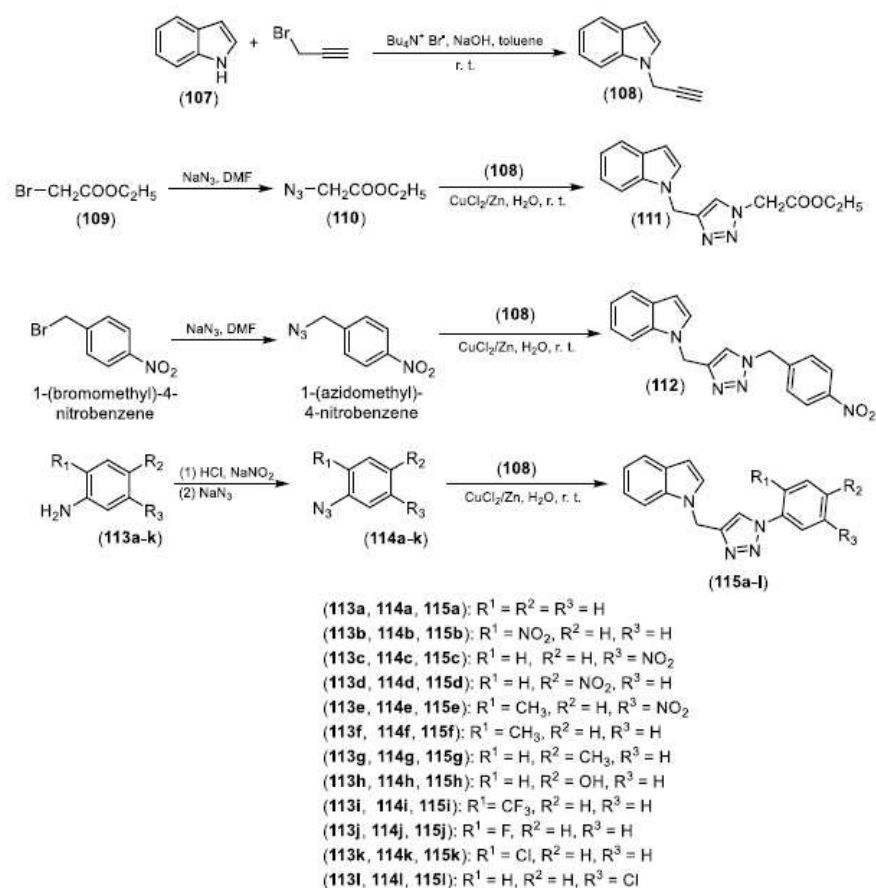


Figure 29. Preparation of indole derivatives with 1,2,3-triazole fragments (**111**, **112**, and **115a-l**).

When evaluated on *Colletotrichum capsica* at 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ via the mycelial growth assay, the indole derivatives (**112**), (**115a**), and (**115d**) were inactive and the most active derivative (83% inhibition) corresponded to compound (**111**). The indole derivatives were also assessed, at the same concentration, against cotton *Physalospora*. In this case, while compounds (**115c**) and (**115h**) did not inhibit the mycelial growth, the derivative (**115k**) was the most effective (65% inhibition) (Xu et al., 2016). None of the compounds presented superior activity than the commercial fungicides hexaconazole and flutriafol used as positive controls.

Huo and co-workers (2018) developed a methodology to synthesize β - carboniles bearing aryl-1,2,3-triazoles fragments. After reaction optimization, the investigators found that the combination of the propargylated β -carbonile (**116**) with sodium azide and boronic acids afford compounds (**117a-k**) (Figure 30).

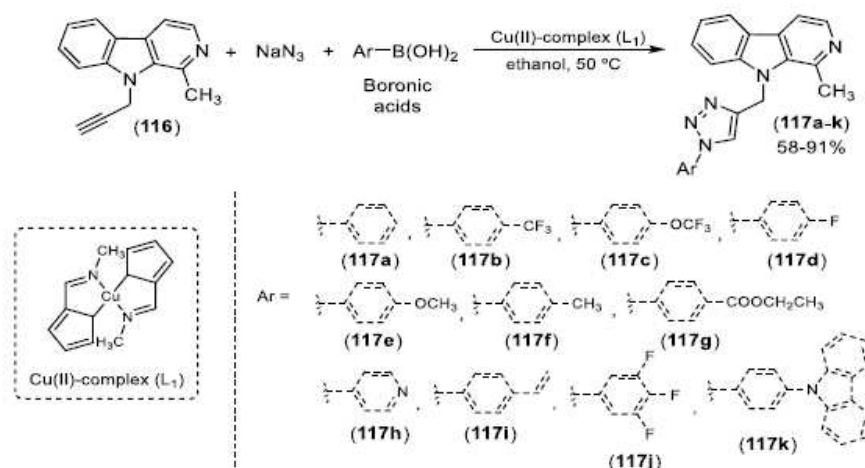


Figure 30. β -carbonile derivatives with 1,2,3-triazole portions (**117a-k**).

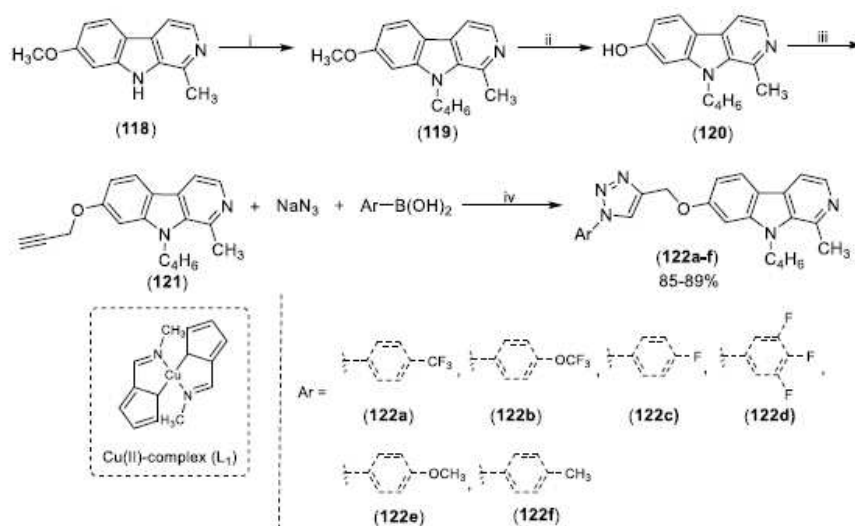


Figure 31. Harmine derivatives with 1,2,3-triazole fragments (**122a-f**). Reagents and conditions: (i) DMF, NaH, iodobutane, stirred at r.t.; (ii) HBr, HOAc, reflux (iii) DMF, NaH, 3-bromopropyne, stirred at r.t.; (iv) Cu(II)-complex (L₁), ethanol, 50 °C.

It is important to mention that in these methodologies the catalytic species is the Cu(II)-complex (L₁) (Figure 30) (Huo et al., 2018). The authors also demonstrated the possibility of preparing triazolic β -carboniles (**122a-f**) from the natural alkaloid harmine (**118**) as shown in Figure 31.

The evaluation of the fungicide activity on *R. solani*, *F. oxysporum*, *B. cinerea*, sunflower sclerotinia rot, and rape sclerotinia rot revealed that the compounds inhibited the mycelial growth rate with different degrees of efficiency. It stood out the inhibition growth effects of the compounds (**117a**) (85%), (**117b**) (87%), (**117c**) (86%), and (**122b**) (85%) which were comparable to carbendazim (~ 90%) used as positive control (Huo et al., 2018).

The amides (**126a-p**) and esters (**127a-e**) were obtained from the β -ketoester (**123**) according to the steps shown in Figure 32. The CuAAC methodology was not utilized to access the amides and esters. In the first step, organic azides were condensed with (**123**) to provide the 1,2,3-triazoles (**124a-e**). The basic ester hydrolysis of (**124a-e**) gave rise to carboxylic acids (**125a-e**). The acids were converted to the corresponding acyl chlorides by treatment of the acids with thionyl chloride. The reactions of acyl chlorides with amines or phenols produced the amides (**126a-p**) and esters (**127a-e**) (Wang et al., 2014).

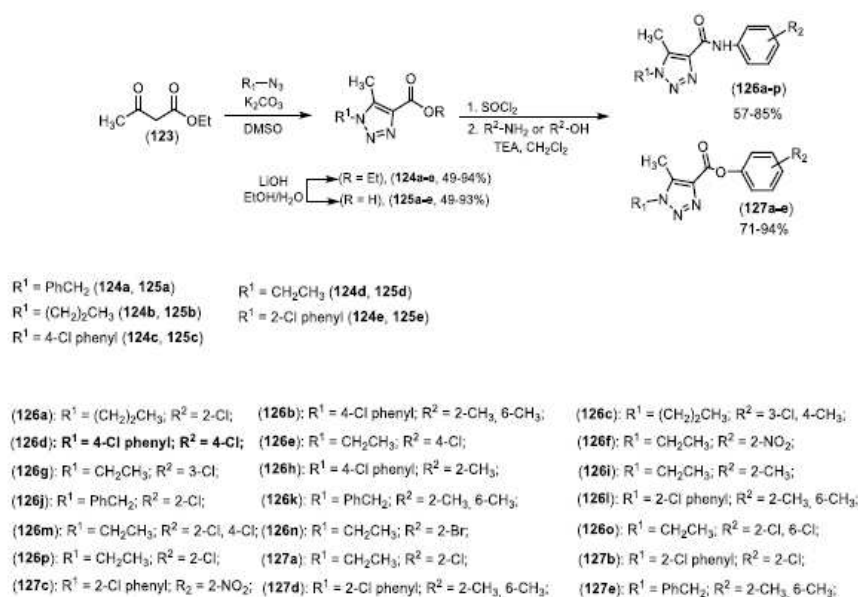


Figure 32. 1,2,3-triazolic amides (**126a-p**) and esters (**127a-e**).

In terms of fungicide activity, these compounds were evaluated against *Phylospora piricola*, *A. solani*, *Cercospora arachidicola*, *Gibberella zeae*, *P. capsici*, *Phytophthora infestans*, *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, and *Thanatephorus cucumeris* using the mycelial growth inhibition assay and the Best performance was noticed on *S. sclerotiorum*, being the results outlined in Table 5.

Table 5. Best results of the fungicide activity evaluation of amides (**126a-p**) and esters (**127a-e**) on *S. sclerotiorum*.

Compound	EC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
126k	23.3
126l	1.3
127a	15.4
127d	8.9
127e	7.8
Chlorothalonil	7.0

It deserves comment the fact that the compound (**126l**) was approximately five times more potent than chlorothalonil (positive control) and compound (**127e**) was equipotent to it (Wang et al., 2014).

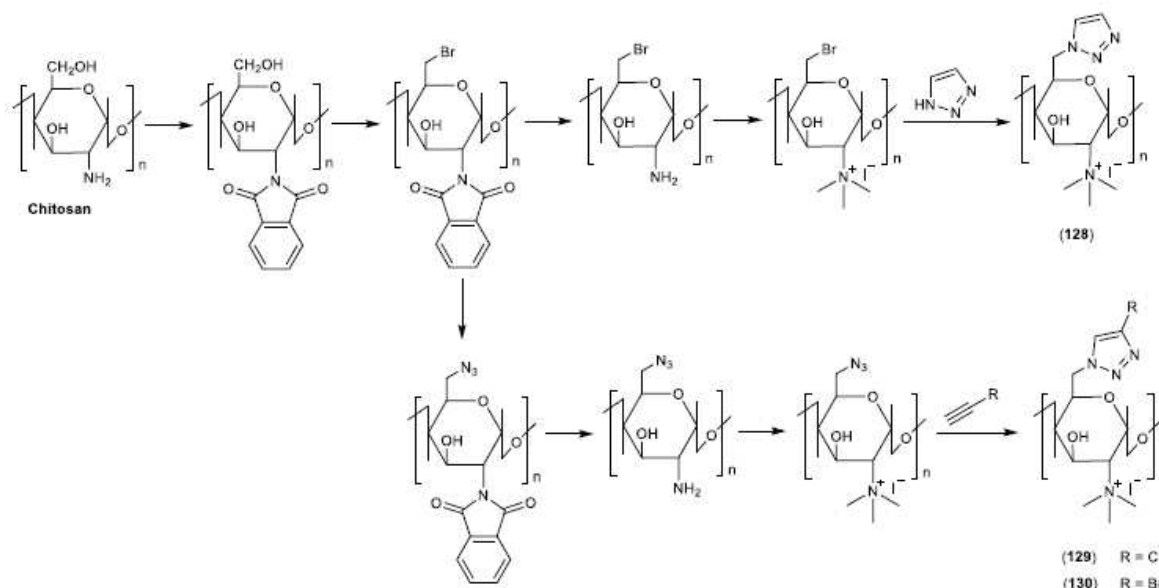


Figure 33. Preparation of water-soluble chitosan derivatives (**128-130**). Reaction conditions were not described by the authors of the investigation.

Three water soluble 1,2,3-triazolic chitosan derivatives (**128-130**) were synthesized according to the steps shown in Figure 33 and the CuAAC reaction corresponded to the key step to afford the derivatives (Li et al., 2016).

Table 6 depicts the results of the fungicide evaluation activity against three fungi species.

Table 6. Results of the fungicide activity evaluation of compounds 128-130.

Compound	% of inhibitory growth activity		
	<i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. niveum</i>	<i>Colletotrichum lagenarium</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>sp. cucumerium</i> Owen
Chitosan	24.2	30	14.7
128	58.5	85.1	86.1
129	84.0	93.2	91.7
130	81.8	88.1	91.7

Compared to chitosan, the fungicide activity of the triazolic derivatives was significantly higher, which was ascribed to the introduction of the 1,2,3-triazole group in the framework of chitosan.

Conclusion

In this book chapter, we gathered information concerning the application of 1,2,3-triazoles in the agrochemistry field. Results regarding phytotoxic, insecticide, and fungicide activities of this class of heterocycles were described. In general, the reports utilized the CuAAC reaction for the introduction of 1,2,3-triazole ring into several compounds' framework. This is certainly because of the facility in carrying out this transformation as well as the good yields obtained with the use of the CuAAC reactions. The results of the performance of these compounds 1,2,3-triazole fragments in terms of phytotoxicity, insecticide, and fungicide activities are encouraging and it is possible to predict that new studies will be published in the future expanding the agrochemistry applications of 1,2,3-triazoles.

Disclaimer

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support.

References

- Agalave SG, Maujan SR, Pore VS. Click chemistry: 1,2,3-Triazoles as pharmacophores. *Chemistry an Asian Journal* (2011) 6:2696-2718.
- Alam, MM. 1,2,3-Triazole hybrids as anticancer agents: A review. *Arch der Pharmazie* (2022) 355:e2100158.
- Ali, AA. *1,2,3-Triazoles: Synthesis and biological application*. In: Kuznetsov A (ed). Azoles – Synthesis, properties, applications and perspectives, Chapter 4, 18 pages, London, UK: IntechOpen, 2021.
- Aswar NA. Synthesis of triazoles: an overview. *International Journal of Current Research* (2014) 6:5248-5251.
- Barcelos FF, da Silva LF, Gazolla PAR, Teixeira RR, de Queiroz VT, Morais PAB, Fonseca VR, Romão W, Lacerda Júnior V, Scherer R, de Oliveira FM, Fontes MMP, Costa AV. Synthesis of glicerol-fluorinated triazole derivatives and evaluation of their fungicidal activity. *Química Nova* (2022) 45:788-796.
- Boddy IK, Briggs GG, Harrison RP, Jones TH, O'Mahony MJ, Marlow ID, Roberts BG, Willis RJ, Bardsley R, Reid J. The synthesis and insecticidal activity of a series of 2-aryl-1,2,3-triazoles. *Pesticide Science* (1996) 48:189-196.
- Borgati TF, Alves RB, Teixeira RR, de Freitas RP, Perdigão TG, da Silva SF, dos Santos AA, Bastidas AJO. Synthesis and phytotoxic activity of 1,2,3-triazole derivatives. *Journal of the Brazilian Chemical Society* (2013) 24:953-961.
- Bozorov K, Zhaao J, Aisa HA. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (2019) 27:3511-3531.
- Breugst M, Reissig HU. The Huisgen reaction: Milestones of the 1,3-dipolar cycloaddition. *Angewandte Chemie International Editions* (2020) 59:12293-12307.
- Chen G, Zhou Y, Cai C, Lu J, Zhang X. Synthesis and antifungal activity of benzamidine derivatives carrying 1,2,3-triazole moieties. *Molecules* (2014) 19:5674-5691.
- Chen Y, Yao K, Wang K, Xiao C, Li K, Khan B, Zhao S, Yan W, Yonghao Y. Bioactiveguided structural optimization of 1,2,3-triazole phenylhydrazones as potential fungicides against *Fusarium graminearum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* (2020) 164:26-32.
- Chen Z, Jiang Y, Xu C, Sun X, Ma C, Xia Z, Zhao H. Oleanane-type triterpene conjugates with 1H-1,2,3-triazole possessing of fungicidal activity. *Molecules* (2022) 27:4928.
- Chio ED, Li QX. Pesticide research and development: General discussion and Spinosa case. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (2022) 70:8913-8919.
- Costa AV, Moreira LC, Pinto RT, Alves TA, Schwan VV, de Queiroz VT, Fontes MMP, Teixeira RR, Morais PAB, Jesus Júnior WC. Synthesis of glycerol-derived 4-alkylsubstituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society* (2020) 31:821-832.
- Costa AV, de Oliveira MVL, Pinto RT, Moreira LC, Gomes EMC, Alves TA, Pinheiro PF de Queiroz VT, Vieira LFA, Teixeira RR, Jesus Júnior WC. Synthesis of novel glycerol-derived 1,2,3-triazoles and evaluation of their Fungicide, phytotoxic and cytotoxic activities. *Molecules* (2017) 22: 1666.
- Dai J, Tian S, Yang X, Liu Z. Synthesis methods of 1,2,3-/1,2,4-triazoles: A review. *Frontiers in Chemistry* (2022) 10:891484.
- Daí ZC, Chen YF, Zhang M, Li SK, Yang TT, Shen L, Wang JX, Qian SS, Zhu HL, YeYH. Synthesis and Antifungal Activity of 1,2,3-Triazole PhenylhydrazoneDerivatives. *Organic and Biomolecular Chemistry* (2015) 13:477-486.
- Dheer D, Singh V, Shankar R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Currentdevelopments. *Bioorganic Chemistry* (2017) 71:30-54.
- Forezi LSM, Lima CGS, Amaral AAP, Ferreira PG, de Souza MCBV, Cunha AC, da SilvaFC, Ferreira VF. Bioactive 1,2,3-triazoles: An account on their synthesis, structuraldiversity and biological applications. *The Chemical Record* (2021) 21:2782-2807.
- Franco CA, da Silva TI, Dias MG, Ferreira BW, de Sousa BL, Bousada GB, Barreto RW, Vaz BG, Lima GS, dos Santos MH, Grossi JAS, Varejão EVV. Synthesis of Tyrosol1,2,3-Triazole derivatives and their phytotoxic activity against *Euphorbiaheterophylla*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (2022) 70:2806–2816.
- Freitas LBO, Ruela FA, Pereira GR, Alves RB, de Freitas RP. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: Aspectos químicos e aplicações. *Química Nova* (2011) 34:1791-1804.
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Available at <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/by-frac-mode-ofaction-group>. Accessed 7January 2023).
- Haldón E, Nicasio MC, Pérez PJ. Copper-catalysed azide-alkyne cycloadditions (CuAAC):an update. *Organic and Biomolecular Chemistry* (2015) 13:9528-9550.
- Heravi MM, Tamimi M, Yahyavi H, Hosseinejad T. Huisgen’s cycloaddition reactions:A full perspective. *Current Organic Chemistry* (2015) 20:1591-1647.
- Herbicide Resistance Action Committee (HRAC). Available at <https://hracglobal.com/tools/hrac-mode-of-action-classification-2022-map>. Accessed 07 January 202.

- Huo XY, Guo L, Chen XF, Zhou YT, Zhang J, Han XQ, Dai B. Design, synthesis, and antifungal activity of novel aryl-1,2,3-triazole- β -carboline hybrids. *Molecules* (2018)23:1344.
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). Available <https://irac-online.org/mode-of-action>. Accessed 07 January 2023).
- Jiang X, Hao X, Jing L, Wu G, Kang D, Liu X, Zhan P. Recent applications of click chemistry in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery* (2019) 14:779-789.
- Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition* (2001) 40:2004-2021.
- Krämer W, Schirmer U (eds). *Modern Crop Protection Compounds*, Volume 1, Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag, 2007a.
- Krämer W, Schirmer U (eds). *Modern Crop Protection Compounds*, Volume 2, Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag, 2007b.
- Krämer W, Schirmer U (eds). *Modern Crop Protection Compounds*, Volume 3, Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag, 2007c.
- Kushwaha D, Dwivedi P, Kuanar SK, Tiwari VK. Click Reaction in carbohydrate chemistry: Recent developments and future perspective. *Current Organic Synthesis* (2013) 10:90-135.
- Li Q, Tan W, Zhang C, Gud G, Guo Z. Synthesis of water soluble chitosan derivatives with halogeno-1,2,3-triazole and their antifungal activity. *International Journal of Biological Macromolecules* (2016) 91:623-629.
- Liang L, Astruc D. The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) "click" reaction and its applications. An overview. *Coordination Chemistry Reviews* (2011)255:2933-2945.
- Lima AMA, de Paula WT, Leite ICHL, Gazolla PAR, de Abreu LM, Fonseca VR, Romão W, Lacerda Júnior V, de Queiroz VT, Teixeira RR, Costa AV. Synthesis of eugenolfluorinated triazole derivatives and evaluation of their fungicidal activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society* (2022) 33:1200-1210.
- Lima LM, Barreiro EJ. Bioisosterism: A useful strategy for molecular modification and drug design. *Current Medicinal Chemistry* (2005) 12:23-49.
- Mao M, Li Y, Liu Q, Xiong L, Zhang X, Li Z. Synthesis and biological evaluation of novel *N*-pyridylpyrazole derivatives containing 1,2,3-triazole moieties. *Journal of Pesticide Science* (2015) 40:138-142.
- Meldal M, Tornøe CW. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chemical Reviews* (2008) 108:2952-3015.
- Moses JE, Moorhouse AD. The growing applications of click chemistry. *Chemical Society Review* (2007) 36:1249-1262.
- Nandivada H, Jiang X, Lahann J. Click chemistry: Versatility and control in the hands of materials scientists. *Advanced Materials* (2007) 19:2197-2208.
- Nejmaa AB, Znati M, Daich A, Othman M, Lawson AM, Jannet HB. Design and semisynthesis of new herbicide as 1,2,3-triazole derivatives of the natural maslinic acid. *Steroids* (2018) 138:102-107.
- Phillips MWA. Agrochemical industry development, trends in R&D and the impact of regulation. *Pest Management Science* (2020) 76:3348-3356.
- Razzaghi-Asl N, Sepehri S, Ebadi A, Karami P, Nejatkhah N, Johari-Ahar M. Insights into the current status of privileged *N*-heterocycles as antileishmanial agents. *Molecular Diversity* (2020) 24:525-569.
- Rostovtsev VV, Green LG, Fokin VV, Sharpless KB. A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie International Edition* (2002), 41:2596-2599.
- Silva FC, Cardoso MFC, Ferreira PG, Ferreira VF. *Biological Properties of 1H-1,2,3- and 2H-1,2,3-Triazoles*. In: Dehaen W, Bakulev V (eds). *Chemistry of 1,2,3-triazoles*. Topics in heterocyclic chemistry, Volume 40, 117-165, Berlin, Germany: Springer-Verlag 2014.
- Singh MS, Chowdhury S, Koley S. Advances of azide-alkyne cycloaddition-click chemistry over the recent decade. *Tetrahedron* (2016) 72:5257-5283.
- Sparks TC, Hunter JE, Lorsbach BT, Hanger G, Gast, RE, Kemmitt G., Bryant RJ. Crop protection discovery: Is being the first best? *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (2018) 66:10337-10346.
- Sparks TC, Lorsbach B. Perspectives on the agrochemical industry and agrochemical discovery. *Pest Management Science* (2017) 73:672-677.
- Su NN, Li Y, Yu SJ, Zhang X, Liu XH, Zhao WG. Microwave-assisted synthesis of some novel 1,2,3-triazoles by click chemistry, and their biological activity. *Research on Chemical Intermediates* (2013) 39:759-766.
- Sykam K, Donempudi S, Basak P. 1,2,3-Triazole rich polymers for flame retardant application: A review. *Journal of Applied Polymer Science* (2022) 139:e52771.
- Tornøe CW, Christensen C, Meldal M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-Triazoles by regioselective copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *Journal of Organic Chemistry* (2002) 67:3057-3064.
- Tron GC, Pirali T, Billington RA, Canonico PL, Sorba G, Genazzani AA. Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. *Medicinal Research Reviews* (2008) 28:278-308.
- van Dijk M, Morley T, Rau ML, Saghai, Y. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010-2050. *Nature Food* (2021) 2:494-501.
- Varejão EVV, Demuner AJ, Barbosa LCA, Barreto RW. Phytotoxic effects of metabolites from *Alternaria ephorbiicola* against its host plant *Euphorbia heterophylla*. *Química Nova*, (2013) 36:1004-1007.
- United Nations, 2022a. Available at <https://www.un.org/en/global-issues/population#:~:text=Our growing population&text=The world's population is expected, billion in the mid-2080s>. Accessed 01 december 2022.
- United Nations, 2022b. Available at <https://press.un.org/en/2009/gaef3242.doc.htm>. Accessed 01 december 2022.

- Xi W, Scott TF, Kloxin CJ, Bowman CN. Click chemistry in materials science. *Advance Functional Materials* (2014) 24:2572-2590.
- Xu G, Zhao J, Jiang Y, Zhang P, Li W. Design, synthesis and antifungal activity of novel indole derivatives linked with the 1,2,3-triazole moiety via the CuAAC click reaction. *Journal of Chemical Research* (2016) 40:269-272.
- Xu Z, Zhao SJ, Liu Y. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry* (2019) 183:111700.
- Yan W, Wang X, Li K, Li TX, Wang JJ, Yao KC, Cao LL, Zhao SS, Ye YH. Design, synthesis, and antifungal activity of carboxamide derivatives possessing 1,2,3-triazole as potential succinate dehydrogenase inhibitors. *Pesticide Biochemistry and Physiology* (2019) 156:160-169.
- Wang ZJ, Gao Y, Hou YL, Zhang C, Yu SJ, Bian Q, Li ZM, Zhao WG. Design, synthesis, and fungicidal evaluation of a series of novel 5-methyl-1*H*-1,2,3-triazole-4-carboxyl amide and ester analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry* (2014) 86:87-94.
- Wermuth CG, Ganellin CR, Lindberg P, Mitscher LA. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure and Applied Chemistry*, (1998) 70:1129-1143.
- Zeifman L, Hertog S, Kantorova V, Wilmonth J. A world of 8 billion. *UN DESA* (2022) 140:1-10. <https://www.un.org/development/desa/dpad/publication/un-desa-policybrief-no-140-a-world-of-8-billion/>. Accessed 01 December 2022.
- Zhang B. Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry* (2019) 168:357-372.