



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

ENNALY MONTEIRO DE FARIAS

**SÍNTESE DO (1-BENZIL-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-IL)METANOL E AVALIAÇÃO  
TOXICOLÓGICA FRENTE AS LARVAS DE *Artemia salina* LEACH**

CUITÉ – PB

2019

ENNALY MONTEIRO DE FARIAS

**SÍNTESE DO (1-BENZIL-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-IL)METANOL E AVALIAÇÃO  
TOXICOLÓGICA FRENTE AS LARVAS DE *Artemia salina* LEACH**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus* Cuité, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Cuité – PB

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

F224s Farias, Ennaly Monteiro de.

Síntese do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol e avaliação toxicológica frente as larvas de *Artemia salina* Leach. / Ennaly Monteiro de Farias. – Cuité: CES, 2019.

40 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2019.

Orientação: Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas.

1. Heterociclos. 2. Triazol. 3. *Artemia salina* Leach. 4. Atividade antifúngica. 5. Espectroscopia de infravermelho. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 577.1

ENNALY MONTEIRO DE FARIAS

**SÍNTESE DO (1-BENZIL-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-IL)METANOL E AVALIAÇÃO  
TOXICOLÓGICA FRENTE AS LARVAS DE *Artemia salina* LEACH**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus* Cuité, como requisito indispensável para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 25/11/2019

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Orientador

---

MSc. Cosme Silva Santos

Avaliador

---

Prof. Dr. Gustavo Fabian Velardez

Avaliador

*Dedico este trabalho a minha mãe,  
pela dedicação, apoio e incentivo na  
realização desse sonho.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus que esteve comigo ao longo de todo este percurso me dando força, ânimo e coragem para não desistir e continuar lutando por este sonho. A Ele minha gratidão.

A minha família, em especial minha mãe Eunides Monteiro por todo esforço, carinho, dedicação e cuidado que me deu durante toda a minha existência.

Aos meus tios e primas, em especial a minha tia Nina Monteiro e minha prima Mona Lisa Monteiro pelo apoio durante esses anos.

As irmãs de coração Milena Alves, Jamille Menezes e Janielly Cartaxo, pela amizade, apoio e companheirismo durante esses anos e por partilharem comigo deste sonho.

Ao meu namorado Diego Alves, pelos conselhos, apoio, incentivo, amizade, por cada sorriso e alegria compartilhada durante esses anos. Obrigada por tornar esta caminhada mais fácil.

Aos amigos que construí durante o curso, Maria Wilma, Josenildo Oliveira, Gerusa Monteiro, Severino Trigueiro, Amaryanne Karollynny, Aline Nieble, Camila Macena, Priscila Dantas, Thainá Araújo, Dayane Azevedo, Fernanda Lamonnier, Christian Pessoa, pela amizade, companheirismo e ajuda durante o curso.

Aos vizinhos que me acolheram tão bem nessa cidade, Perpétua Ferreira, Betânia Medeiros e Bertinha Medeiros.

Ao professor e orientador Juliano Freitas por todo o tempo que dedicou em me ajudar, por cada palavra de apoio e incentivo e pela confiança.

A todos os professores do curso de farmácia e demais funcionários do Centro de Educação e Saúde. Ao pessoal do Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal e do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A todos que de alguma forma contribuíram nessa caminhada e na construção desse trabalho, meu muito obrigada.

## RESUMO

Os heterociclos constituem o maior grupo de compostos orgânicos e sua história remonta desde o início do século XVIII, quando apareceram às primeiras descrições dos compostos orgânicos. Dentre as inúmeras classes dos compostos heterocíclicos, uma que merece destaque são a dos triazóis, compostos de cinco membros que exibem uma variedade de atividades biológicas, atuando como antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatório, antituberculostático, antiparasitário, anticarcinogênico, antiviral, antiepiléptico, inibidor de enzimas e regulador do sono. Deste modo, o objetivo deste trabalho consistiu na síntese do composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol e avaliação da sua atividade toxicológica frente às larvas de *Artemia salina* Leach. Este composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol foi obtido com 73% de rendimento após 18 horas de reação, sendo posteriormente caracterizado através da espectroscopia de infravermelho. A avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* resultou em uma concentração letal entre 1000 e 2000 µg/mL, sendo classificada como uma substância de baixa toxicidade. Esse resultado foi bastante promissor, pois, devido à facilidade do preparo e por ser atóxica frente à *Artemia salina*, motiva os estudos experimentais das atividades da mesma bem como de seus derivados.

**Palavras-chave:** Heterociclos; Triazol; *Artemia salina* Leach; Atividade antifúngica; Espectroscopia de infravermelho.

## ABSTRACT

Heterocycles constitute the largest group of organic compounds and their history dates back to the early XVIII century, when they first appeared in organic compounds. Among the numerous classes of heterocyclic compounds, one that deserves special mention are triazoles, five-membered compounds that exhibit a variety of biological activities, acting as antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antituberculostatic, antiparasitic, antiviral, antiepileptic, inhibitor of enzymes and sleep regulator. Thus, the objective of this work was the synthesis of the compound (1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl) methanol and evaluation of its toxicological activity against *Artemia salina* Leach larvae. This compound (1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl) methanol was obtained in 73% yield after 18 hours of reaction and was further characterized by infrared spectroscopy. The evaluation of toxicity against *Artemia salina* resulted in a lethal concentration between 1000 and 2000  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , being classified as a low toxicity substance. This result was very promising because, due to the ease of preparation and because it is non-toxic to *Artemia salina*, it motivates experimental studies of its activities as well as its derivatives.

**Keywords:** Heterocycles; Triazole; *Artemia salina* Leach; Antifungal activity; Infrared spectroscopy.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - 1,2,3-triazol e 1,2,4-triazol.....	14
<b>Figura 2</b> - 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído e 1,2,3-triazol 1,5-dissubstituído.....	14
<b>Figura 3</b> - Molécula de ergosterol.....	16
<b>Figura 4</b> - Antifúngicos azólicos.....	17
<b>Figura 5</b> - Fármacos contendo o esqueleto 1,2,3-triazólico.....	20
<b>Figura 6</b> - Eclosão de cistos das artêmias.....	22
<b>Figura 7</b> - Esquema para a síntese da benzil azida ou azido-metil-benzeno (3).....	26
<b>Figura 8</b> - Placa de sílica-gel revelada com solução de $\text{KMnO}_4$ após 18 horas de reação.....	27
<b>Figura 9</b> - Esquema para a síntese do (1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metanol (3).....	27
<b>Figura 10</b> - Espectro de infravermelho para o (1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metanol.....	28
<b>Figura 11</b> - Esquema para a incubação dos cistos de <i>Artemia salina</i> Leach.....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração capaz de matar 50% dos indivíduos testados
<b>Cu (I)</b>	Cobre (I)
<b>CuAAC</b>	Cicloadição entre um alcino e uma azida catalisada por cobre
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>KMnO<sub>4</sub></b>	Permanganato de potássio
<b>3R's</b>	<i>Reduction, Refinement, Replacement ( Redução, Refinamento, Substituição)</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	13
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	13
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	14
<b>3.1 Aspectos gerais dos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos</b> .....	14
<b>3.2 Importância farmacológica dos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos</b> .....	15
3.2.1 Atividade Antifúngica .....	15
3.2.2 Bioconjugação .....	18
3.2.3 Química de materiais .....	18
3.2.4 Química supramolecular .....	18
3.2.5 Catalisadores .....	19
3.2.6 Química medicinal.....	19
<b>3.3 <i>Artemia salina</i> Leach</b> .....	21
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	23
<b>4.1 Local</b> .....	23
<b>4.2 Materiais</b> .....	23
<b>4.3 Procedimento para síntese da benzil azida</b> .....	23
<b>4.4 Procedimento para síntese do composto (1-benzil-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)metanol</b> .....	24
<b>4.5 Toxicidade frente a larvas de <i>Artemia salina</i> Leach</b> .....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	32
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	33

## 1 INTRODUÇÃO

Os heterocíclcos constituem o maior grupo de compostos orgânicos e sua história remonta desde o início do século XVIII, quando apareceram às primeiras descrições dos compostos orgânicos. Desde a década de 50, a química dos heterocíclcos vem impactando todas as áreas do conhecimento, especificamente a área da Química Medicinal, uma vez que estes compostos são encontrados na maioria dos produtos farmacêuticos, agroquímicos, corantes e produtos naturais (COMINS; MA, 2016).

Dentre as inúmeras classes dos compostos heterocíclicos, uma que merece destaque são a dos triazóis (CHEN et al., 2018). Os triazóis são compostos de cinco membros que exibem uma variedade de atividades biológicas, atuando como antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatório, antituberculostático, antiparasitário, anticarcinogênico, antiviral, antiepiléptico, inibidor de enzimas e regulador do sono (LEITE et al., 2018). Atualmente existem diferentes fármacos comerciais contendo em sua estrutura anéis triazólicos, a citar, o fluconazol (triazol de primeira geração), o voriconazol e o posaconazol (triazóis de segunda geração) (MENOZZI et al., 2017).

Devido a seu amplo espectro de atividade e excelente perfil de segurança, os derivados triazólicos vêm sendo utilizados no tratamento de infecções fúngicas, no entanto, o aumento na incidência das infecções fúngicas sistêmicas e, conseqüentemente, o aumento na mortalidade da população, alerta para a necessidade de pesquisar novos compostos eficazes, não tóxicos, que apresentem menos efeitos colaterais e representem uma abordagem atraente, inovadora e promissora para o tratamento das micoses em humanos. No entanto, a busca por novos fármacos requer um estudo toxicológico (CASTRO et al., 2016).

A toxicologia é a ciência que estuda o efeito de determinadas substâncias quando em contato com organismos vivos, pelas diferentes vias de exposição: oral, dérmica, inalatória, dentre outras. A literatura descreve três tipos de metodologias para avaliar a toxicidade de determinadas substâncias, a saber, o teste *in vivo*, o teste *in vitro* e o teste *in silico*. O teste *in vivo* utiliza um grande número de animais vertebrados, por isso vem sendo muito criticado pelos órgãos de defesa dos animais; já os testes *in vitro* utilizam microrganismos como bactérias, fungos e algas, enquanto que os testes *in silico* utilizam programas computacionais que permitem a predição do risco e perigo de uma substância química segundo sua estrutura molecular (VICTAL et al., 2014).

Um dos bioensaios utilizados para determinação da toxicidade é o uso da *Artemia salina*, que vem se destacando devido à praticidade de manuseio e cultivo, por ser um método rápido, simples, sensível e de baixo custo consolidando-se cada vez mais como uma excelente ferramenta para a análise preliminar da toxicidade geral (ROCHA-FILHO et al., 2015; RAJABI et al., 2015; BEZERRA et al., 2017).

Diante do exposto, o trabalho teve o intuito de sintetizar um composto triazólico, avaliar sua toxicidade frente às larvas da *Artemia salina*, visando posterior avaliação da atividade antifúngica frente a diferentes cepas de *Candida albicans* e não *albicans*.

Os fungos patogênicos são considerados um problema de saúde pública (FAJARDO et al., 2017), uma vez que, segundo estimativas do Ministério da Saúde, em 2016, 3,8 milhões de indivíduos sofreram de alguma infecção fúngica grave (MOROSINI, 2019). Além disso, para uma melhor compreensão da dimensão do problema, apenas no ano de 2017, foram registrados 390 mil casos de aspergilose alérgica bronco-pulmonar; aproximadamente 600 mil casos de asma severa afetada por fungos, sendo o principal causador o *Aspergillus* spp.; 28 mil casos de candidemia, causada pela presença de fungos do gênero *Candida* spp. no sangue; e 6,8 mil casos de meningite por *Cryptococcus* spp. Estima-se que o custo por paciente com uma micose disseminada, pode superar 250 mil reais por paciente durante todo o tratamento (MOROSINI, 2019).

Vale ressaltar que o aumento gradativo da incidência de infecções fúngicas é resultado de vários fatores, especialmente devido ao número crescente de pessoas com sistema imunológico debilitado. Apesar da introdução de muitos medicamentos para minimizar este problema, o surgimento de cepas resistentes aos tratamentos convencionais é algo crescente, em especial nos pacientes que fazem tratamentos prolongados, ou que receberam antifúngicos de forma preventiva, nos quais, em ambos os casos, pode haver mudanças na microbiota humana, dando origem a um ambiente favorável às espécies resistentes (BERTO et al., 2018). Cabe ressaltar que, de acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU), caso nenhuma providência seja tomada com relação ao surgimento de fungos resistentes aos fármacos atuais, até 2050 haverá 10 milhões de mortes por ano (ONU, 2019).

Devido ao avanço silencioso e contínuo dos fungos, faz-se necessário a busca por novos fármacos que exibam eficácia superior, menor toxicidade e melhor

seletividade no tratamento de infecções fúngicas. Uma classe de compostos que apresentam potencial para suprir essas necessidades são os heterociclos triazólicos, uma vez que os triazóis apresentam atividade fungistática de amplo espectro e atuam inibindo as enzimas do citocromo P-450, responsáveis pela síntese do ergosterol das membranas fúngicas (URBAN et al., 2016). Com isso, o trabalho buscou a obtenção de moléculas que possam complementar estas necessidades, utilizando de ferramentas simples e eficazes para colaborar com a descoberta de novos agentes com boas características farmacológicas e que sejam seguras para o homem e meio ambiente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Sintetizar o composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol e avaliar sua atividade toxicológica frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

### 2.2 Objetivos específicos

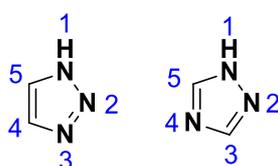
- Sintetizar o composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol;
- Caracterizar através da técnica espectroscópica de IV o composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol;
- Realizar a avaliação toxicológica do composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol frente às larvas de *Artemia salina* Leach;
- Determinar a concentração letal do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Aspectos gerais dos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos

Os triazóis são compostos heterocíclicos de cinco membros, contendo em seu anel dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio. Dependendo da disposição dos átomos de nitrogênio no anel triazólico, dois isômeros triazólicos (figura 1) podem ser obtidos, sendo eles os triazóis vicinais (1,2,3-triazóis) e os triazóis simétricos (1,2,4-triazóis) (LI et al., 2018).

**Figura 1:** 1,2,3-triazol e 1,2,4-triazol.

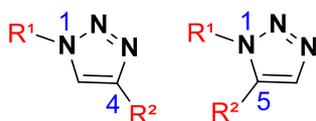


Fonte: Próprio autor.

Sabe-se que os 1,2,3-triazóis podem ser sintetizados por diversas rotas sintéticas. Em 1967, Huisgen foi o primeiro a estudar em profundidade a síntese de 1,2,3-triazóis, por esse motivo este tipo de reação ficou conhecido como cicloadição térmica 1,3-dipolar de Huisgen, a qual envolve a reação entre azidas orgânicas e alcinos terminais ou internos (HUISGEN, 1963; JANE; BURKE, 2015).

A síntese de Huisgen apresentou algumas limitações como a necessidade de longos tempos reacionais e de altas temperaturas. Além disso, apresentou baixos rendimentos e há formação de uma mistura dos regioisômeros 1,2,3-triazólicos (1,4 e 1,5)-dissubstituídos (figura 2) (KIMBER et al., 2019).

**Figura 2:** 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído e 1,2,3-triazol 1,5-dissubstituído.



Fonte: Próprio autor.

No entanto, após estudos realizados quase de forma concomitantemente pelos grupos de pesquisa de Meldal e de Sharpless, em 2002, indicaram que a utilização de íons de Cu(I) acelerava a reação de forma surpreendente, quando comparado ao método

descrito por Huisgen. A reação de cicloadição entre azida e alcino catalisada por Cu(I), proposta por Meldal e de Sharpless, pertencem à classe das “Reações Click”, uma vez que este tipo de reação resulta em rendimentos elevados, é de fácil elaboração e leva à formação exclusiva do regioisômero 1,4-dissubstituído (LI; ZHANG, 2016).

Segundo Sharpless (2003), uma reação para ser caracterizada como química “Click” deve ser rápida, estereoespecífica, ter altos rendimentos e deve gerar produtos secundários inofensivos que possam ser removidos sem uso de cromatografia. Além disso, para uma reação “Click” ocorrer é necessário condições especiais: deve ser realizada sem solventes ou que estes sejam atóxicos e inofensivos, além de usar materiais de partida estáveis e de simples obtenção e não necessitar de cuidados especiais.

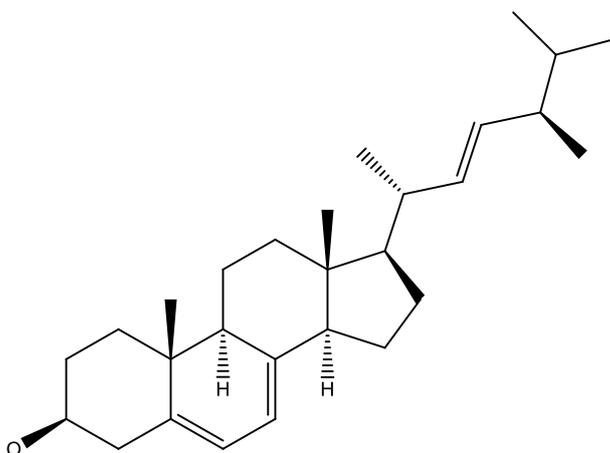
### **3.2 Importância farmacológica dos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos**

A literatura descreve que os compostos 1,2,3-triazólicos apresentam muitas atividades biológicas, incluindo ação antimicrobiana, anticancerígena, anticonvulsivante, anti-inflamatória, analgésica e antiviral. Alguns dos triazóis foram usados como agentes citotóxicos e antitubulares. Além destas atividades biológicas, os triazóis têm sido usados em biologia química, ciência de materiais e química de polímeros (GOVINDAIAH et al., 2018).

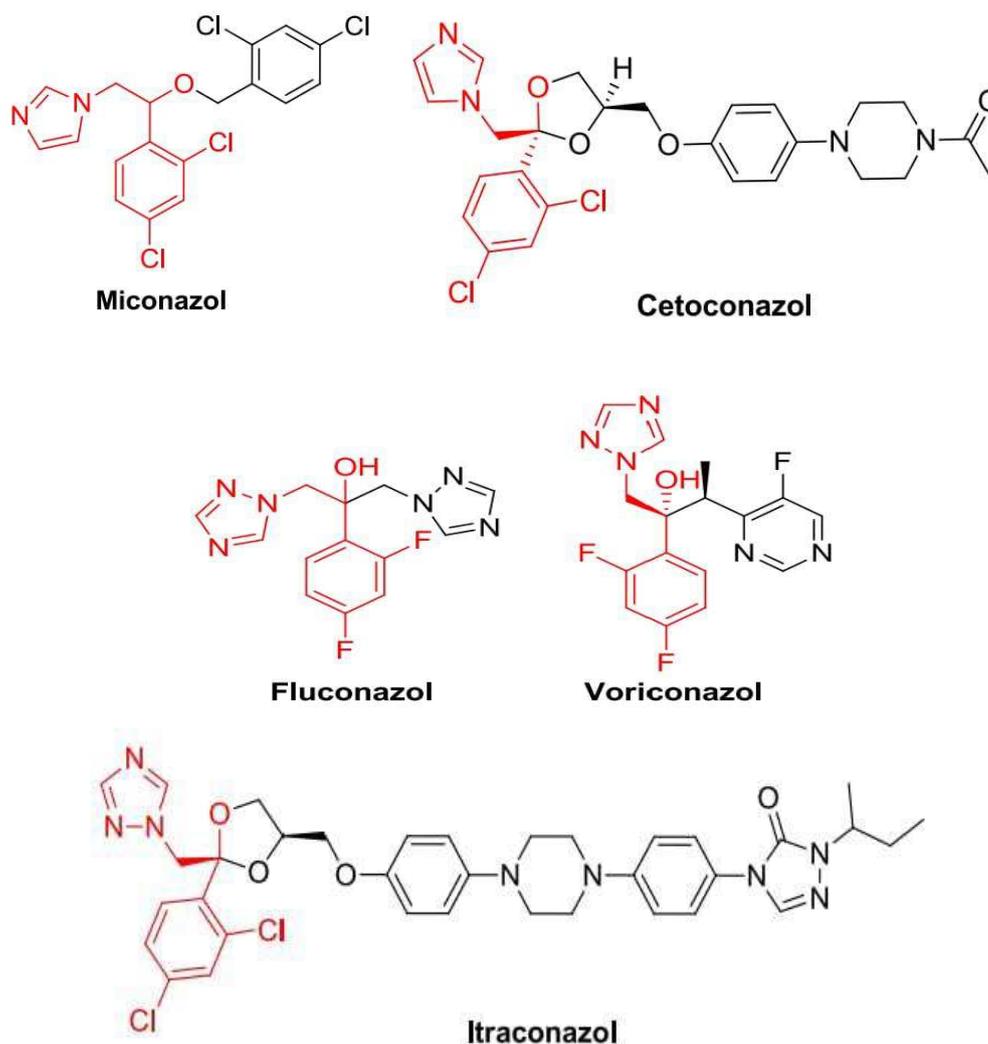
#### **3.2.1 Atividade Antifúngica**

Os antifúngicos contendo uma ou mais unidades triazólicas atuam inibindo a biossíntese de ergosterol (figura 3), uma vez que possuem amplo espectro de atividade antimicótica. Eles são divididos em dois subgrupos, sendo essa classificação baseada no número de nitrogênios presentes em seu anel. A citar, os imidazóis (cetoconazol e miconazol) e os triazóis (itraconazol, fluconazol e voriconazol) (figura 4) (BERTO et al., 2018).

**Figura 3:** Molécula de ergosterol.



Fonte: Próprio autor.

**Figura 4:** Antifúngicos azólicos.

Fonte: FRANÇA et al., 2014.

Dentre os antifúngicos triazólicos, destacam-se o itraconazol, o fluconazol e o voriconazol. O itraconazol foi o primeiro azol usado em humanos e teve formas farmacêuticas disponíveis para via oral e via intravenosa. O fluconazol foi de extrema importância no tratamento de infecções fúngicas, tornou-se o agente de escolha no tratamento de meningite coccidioidal apesar do reaparecimento da doença, além de ser favorável na terapia de meningite criptocócica. O voriconazol, que possui estrutura parecida com o fluconazol, tem maior espectro de ação contra espécies de *Candida* (inclusive *C. glabrata* e *C. krusei*) e apresenta boa atividade em infecções por *Fusarium* e *Aspergillus*. Por bloquear mais intensamente a síntese de ergosterol em bolores, para

os quais chega a ser fungicida, tornou-se o fármaco preferido no tratamento de infecções causadas por *Aspergillus* (BERTO et al., 2018).

### 3.2.2 Bioconjugação

A reação entre um alcino e uma azida catalisada por cobre com formação regioespecífica de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos, conhecida também por (CuAAC) se tornou uma estratégia crescente de bioconjugação no desenvolvimento de moléculas bifuncionais. A bioconjugação representa a interação entre a biologia molecular e a química orgânica e se refere à combinação de biomoléculas, nas quais originam um novo composto. Peptídeos, proteínas, DNA, ácidos nucleicos, oligossacarídeos ou glicoconjugados são exemplos de biomoléculas úteis no estudo dos sistemas biológicos. A bioconjugação via química de cliques é rigorosamente empregada em pesquisas proteômicas e nucleicas. Os primeiros a utilizarem a reação CuAAC para bioconjugação foram Finn e colaboradores (2003), que ligaram o capsídeo do vírus mosaico do caupi a moléculas de fluoresceína, via reação CuAAC em meio aquoso (FINN et al., 2003; NWE; BRECHBIEL, 2009).

### 3.2.3 Química de materiais

Segundo Freitas e colaboradores (2011), na química de materiais, a reação CuAAC vem sendo extensivamente utilizada na obtenção de diversos materiais, tais como dendrímeros, polímeros, fases estacionárias modificadas, organogéis, macrociclos, dentre outros. A reação CuAAC também é largamente empregada na obtenção de outros materiais como, por exemplo, colas/adesivos, fios moleculares, biossensores, quimiossensores, radiotraçadores, dentre outros. Os primeiros a utilizarem a reação CuAAC, foram Fokin e colaboradores (2004), que sintetizaram dendrímeros utilizando uma síntese convergente, nos quais os dendrímeros obtidos foram facilmente purificados em comparação aos obtidos pelos métodos clássicos e obtiveram melhores rendimentos.

### 3.2.4 Química supramolecular

A reação CuAAC vem sendo muito utilizada na química supramolecular, que faz o estudo de agregados de moléculas ou íons, unidos por interações não covalentes. Como exemplo, podemos citar os calixarenos que são substâncias macrocíclicas e têm

sido modificados via reação CuAAC, cujo objetivo principal é aumentar a solubilidade dos mesmos. Os calixarenos também são blocos construtores importantes na química supramolecular, pois possuem a versatilidade de acomodar e transportar íons e moléculas neutras em suas cavidades. As ciclodextrinas pertencentes à família dos oligossacarídeos macrocíclicos formados por seis, sete ou oito monômeros de glicose, designados como  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ -ciclodextrinas, respectivamente, são capazes de formar compostos de inclusão com moléculas hidrofóbicas, por isso, possuem o seu uso difundido na química supramolecular, o que permite que sejam carregados em solventes polares. Podemos destacar na química supramolecular outros usos da reação CuAAC, como por exemplo a aplicação na síntese de rotaxanos, catenanos e nanocavidades (FREITAS et al., 2011; SHAD et al., 2019).

### 3.2.5 Catalisadores

Segundo Freitas e colaboradores (2011), a literatura descreve a obtenção de catalisadores contendo uma unidade triazólica. Uma série de dendrímeros quirais contendo triazóis obtidos através da reação CuAAC, foram sintetizados por Niu e colaboradores (2008). Tais catalisadores atuaram reduzindo assimetricamente cetonas pró-quirais utilizando boranas. Outros exemplos são encontrados na literatura relatando a utilização de ligantes sintetizados a partir de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos; dentre eles podemos citar, o uso de catalisadores em reações de acoplamento do tipo Suzuki-Miyaura; os catalisadores que promovem reação de alquilação alílica regioselectiva; os catalisadores que promovem benzoilação enantioselectiva de dióis e os catalisadores que promovem hidrogenação assimétrica.

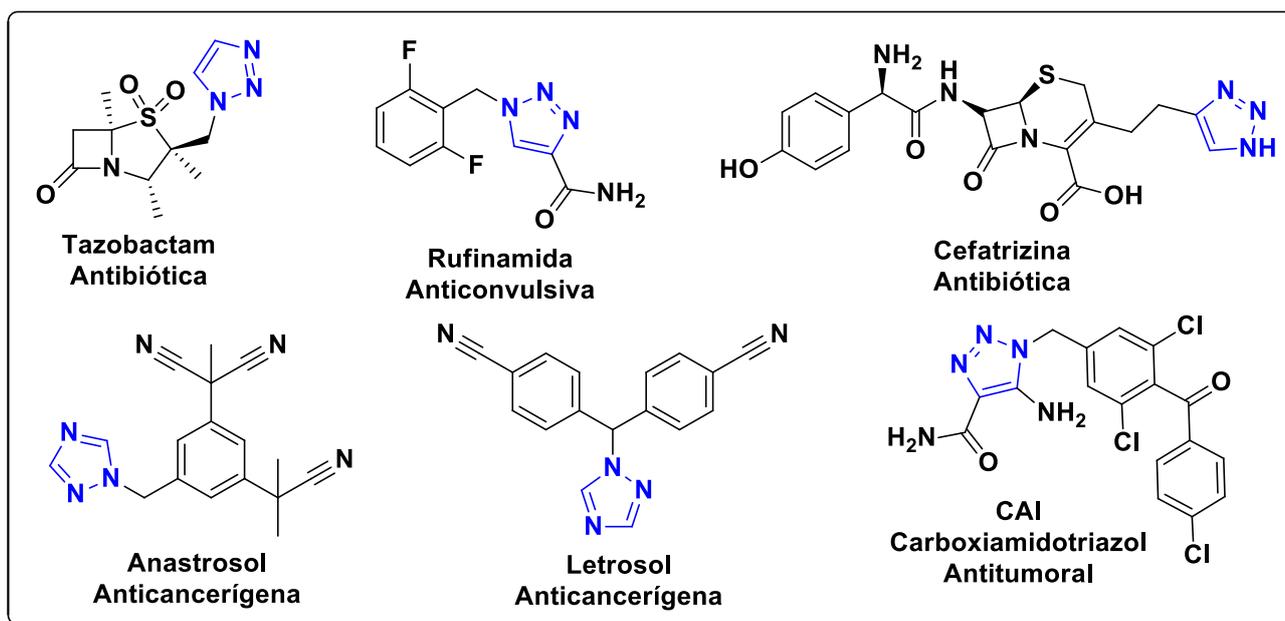
### 3.2.6 Química medicinal

Devido ao fato dos 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos serem ferramentas importantes para a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos, há um crescente interesse em explorar suas aplicações sintéticas, possibilitando a modificação dos fármacos já existentes e com isso provocar a melhoria das propriedades farmacológicas e farmacocinéticas desses compostos (AGALAVE et al., 2011).

Os derivados 1,2,3-triazólicos são bioisómeros dos anéis heterocíclicos imidazólicos que são encontrados em substâncias com diversas atividades

farmacológicas, tais características fazem com que esses compostos sejam de grande interesse farmacológico. Muitos compostos contendo o esqueleto 1,2,3-triazólico são fármacos consumidos mundialmente, pois além de apresentarem tal propriedade, apresentam atividades farmacológicas como, antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antituberculostática, anticancerígena e antimicrobiana (LI et al., 2019).

**Figura 5:** Fármacos contendo o esqueleto 1,2,3-triazólico.



Fonte: Próprio autor.

De fato, as propriedades químicas dos triazóis os tornam grupos farmacóforos interessantes. Os triazóis são bioisómeros não clássicos do grupo amida, uma função presente em muitas moléculas biologicamente ativas. As diversas atividades biológicas dos 1,2,3-triazóis podem ser devidas a sua estabilidade sobre uma ampla gama de hidrólise ácida e básica, bem como contra condições oxidativas e redutivas, mostrando estabilização aromática e também em direção à degradação metabólica. Além disso, o momento dipolar de 1,2,3-triazol os faz interagir com muitos alvos biológicos nos organismos, permitindo que formem ligações de hidrogênio (SHANKARAIHAH et al., 2018).

### 3.3 *Artemia salina* Leach

A toxicologia é uma ciência que visa estudar os efeitos nocivos que as substâncias químicas provocam no organismo. Esta ciência envolve áreas, como por exemplo, sociais, biológicas, química e forense. O conceito de substâncias tóxicas é relativo, pois depende da dosagem e do indivíduo (BUENO; PIOVEZAN, 2018).

O processo de desenvolvimento de novos fármacos em escala industrial é longo e envolve grande investimento financeiro. Além disso, diferentes ensaios biológicos são empregados na avaliação do potencial biológico dessas novas moléculas. Os testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de estabelecer os possíveis efeitos das substâncias em humanos e devem ser utilizados para cada nova substância a ser produzida ou utilizada. Em outras palavras, trata-se de um bioensaio que consiste em avaliar as possíveis interações das substâncias com o organismo (VICTAL et al., 2014).

O ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* Leach é uma ferramenta útil na avaliação preliminar de toxicidade de substâncias, e também é empregado para detectar compostos bioativos. Permite um teste toxicológico geral e de toxicidade aguda letal, além de ser um ensaio alternativo para a utilização de animais respeitando os 3R's (*Reduction, Refinement, Replacement*), podendo também ser usado como teste de triagem para substâncias altamente dispendiosas (HARADA, 2009; BEDNARCZUK, 2010; CUNHA, 2011; SILVEIRA et al., 2018).

Sua utilização em testes de toxicidade aguda se deve a sua capacidade de formar cistos dormentes, além da simplicidade de manuseio e cultivo, rapidez e baixo custo. Por estas razões, a *Artemia* spp. têm sido utilizada para ensaios de toxicidade em diferentes substâncias, a citar, os fármacos sintéticos, compostos heterocíclicos entre outros (MACHADO, 2005; CUNHA, 2011; HIROTA, 2012).

A *Artemia* spp. é um microcrustáceo da família Artemiidae encontrado em águas salgadas. As artêmias são utilizadas como alimento vivo para peixes, desempenhando um papel importante na cadeia alimentar neste ambiente. Essa espécie de microcrustáceo marinho tem sido utilizada em ensaios biológicos como um bioindicador, por apresentar características que favorecem seu emprego (BEZERRA et al., 2017).

**Figura 6:** Eclosão de cistos das artêmias.



Fonte: MAYORGA et al., 2010.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Local

A síntese e purificação dos compostos foi realizada no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal localizado no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande (CES-UFCG). Já a caracterização do composto foi realizada no Laboratório Multiusuário de Análises Químicas (LABMAQ-UFPE). A análise da toxicologia do composto frente à *Artemia salina* Leach foi realizada no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia do CES-UFCG.

### 4.2 Materiais

A reação foi monitorada através da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub>. Para visualização das CCD, as placas foram colocadas em solução de permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>). A purificação foi realizada através da cromatografia em coluna de vidro utilizando sílica-gel 60 (70-230 *mesh*), como fase estacionária, e sistemas de Hexano:Acetato de etila em diferentes proporções, como fase móvel. A confirmação e pureza do composto foram realizadas por meio da espectroscopia de infravermelho.

No bioensaio toxicológico frente *Artemia salina* Leach foi utilizada uma cuba dividida ao meio por uma barreira permeável, além de solução salina, ovos de artêmia e uma lâmpada.

### 4.3 Procedimento para síntese da benzil azida

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 250 mL foi preparada uma solução de brometo de benzila (36,15 mmols) em acetona (36 mL), posteriormente esta solução foi resfriada a aproximadamente 0 °C. Em seguida, a azida de sódio (126 mmols) foi solubilizada em água (36 mL) e adicionada gota a gota na solução de brometo de benzila (36,15 mmols) em acetona (36 mL) sob agitação. A temperatura foi elevada para 60 °C e mantida sob agitação por 12 horas. A mistura foi resfriada a temperatura ambiente, diluída com diclorometano (50 mL) e transferida para um funil de separação, onde a fase orgânica foi separada e a fase aquosa foi lavada 3 vezes com diclorometano (30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro para que o

restante da água fosse retirada, em seguida, a solução foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida utilizando evaporador rotativo para obtenção da benzil azida e sem necessidade de purificação.

#### **4.4 Procedimento para síntese do composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol**

Em um tubo de ensaio foi adicionado o L-(+)-ascorbato de sódio (0,1 mmols), o sulfato de cobre (0,05 mmol), o alcino (2,9 mmol) e a azida orgânica (4,35 mmol). Em seguida, 5,0 mL de água foi adicionada e essa mistura foi mantida sob agitação durante 18 horas a temperatura ambiente. O término da reação foi acompanhado por CCD utilizando solução de permanganato de potássio como sistema de revelação. Posteriormente, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, extraída com acetato de etila (3 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e em seguida, a solução foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida utilizando evaporador rotativo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de vidro utilizando inicialmente hexano e terminando com um sistema de Hexano:Acetato de etila na proporção de 80:20.

#### **4.5 Toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach**

O ensaio de letalidade em *Artemia salina* Leach foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982). Dessa forma, os cistos das artêmias foram incubados em meio salino, solução artificial preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex<sup>®</sup> em 1 L de água destilada em pH entre 8 e 9 por um período de 24 horas objetivando-se a eclosão dos ovos, com o nascimento dos náuplios. Este processo aconteceu em uma incubadora, formada por um recipiente de vidro retangular com uma divisória contendo furos de aproximadamente 0,02 cm de espessura distribuídos uniformemente, formando-se assim dois lados diferentes (MEYER, 1982; LUNA, 2005; MACHADO, 2005; MOREIRA, 2013; BUENO, 2018).

Os cistos foram depositados em um dos lados do recipiente, o qual foi coberto, para que os náuplios, após a eclosão dos cistos, fossem atraídos pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar a divisória, facilitando sua coleta e transferência para os tubos de ensaio.

Em seguida, os náuplios foram recolhidos por uso de uma pipeta de *Pasteur* e inseridos em tubos de ensaio, sendo 10 artêmias para cada tubo. Posteriormente foram expostos aos controles positivo, negativo e à diferentes concentrações da solução do triázol. Todos os testes foram realizados em triplicata.

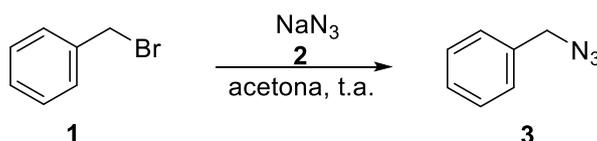
A benzamidoxina foi utilizada como controle positivo ao passo que o solvente da solução estoque dimetilsulfóxido (DMSO) foi utilizado como controle negativo a fim de comprovar a efetividade do teste.

Os testes foram submetidos à iluminação artificial durante 24 horas, sendo posteriormente contabilizada a quantidade de indivíduos vivos e mortos para cada tubo de ensaio.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese da benzil azida (**3**), também denominada de azido-metil-benzeno, a partir da reação entre o brometo de benzila (**1**) e azida de sódio (**2**) em acetona, seguindo o esquema geral descrito na figura 7.

**Figura 7:** Esquema para a síntese da benzil azida (**3**).



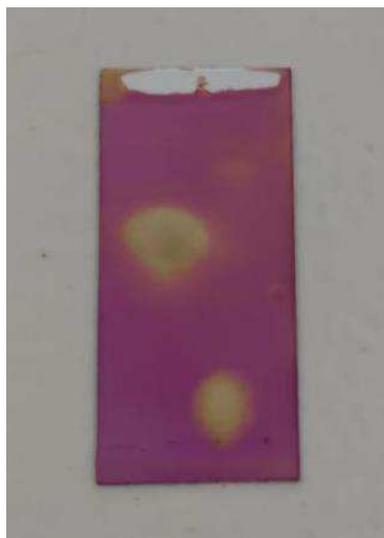
Fonte: Próprio autor.

Está reação foi acompanhada por CCD utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub>, uma vez que os compostos **1** e **3** apresentam estruturas químicas diferentes, o que implica em valores de Fator de Retenção (FR) distintos, o que permite conjecturar sobre o término da reação e total consumo do reagente limitante, ou seja, o composto **1**.

Vale ressaltar que o composto **3** foi obtido na forma de um óleo amarelado com rendimento de 90%.

Uma vez sintetizado o composto **3**, partiu-se para a síntese do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**) a partir da reação entre a benzil azida (**3**) e o 2-propin-1-ol (**4**). O término da reação foi verificado através da CCD utilizando placas de sílica-gel contendo indicador fluorescente F<sub>254</sub>. No entanto, para verificação das informações provenientes da CCD não foi utilizada a câmera de ultravioleta, devido o 2-propin-1-ol (**4**) apresenta um sistema de transição eletrônica quase imperceptível na região de absorção molecular do ultravioleta de 250±20 nm (comprimento de onda da lâmpada de ultravioleta utilizada). Desta forma, foi utilizado uma solução de KMnO<sub>4</sub> como sistema revelador, em que os compostos são identificados pelo aparecimento de uma mancha amarela, resultado da reação de oxidação do composto pela ação do KMnO<sub>4</sub>. A figura 8 demonstra o término da reação para a formação do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**).

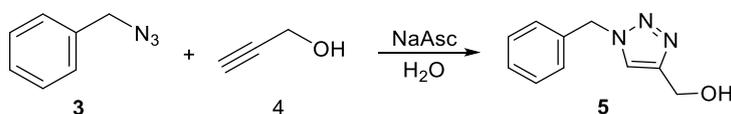
**Figura 8:** Placa de sílica-gel revelada com solução de  $\text{KMnO}_4$  após 18 horas de reação.



Fonte: Próprio autor.

Nesta reação de cicloadição entre azida e alcino catalisada  $\text{Cu(I)}$ , proposta por Meldal e de Sharpless, também denominada de CuAAC (LI; ZHANG, 2016), com relação ao mecanismo de reação CuAAC, não é um mecanismo trivial, essa reação segue um ciclo catalítico contendo uma serie de etapas reacionais e ele ainda não foi elucidado plenamente. Vários estudos experimentais e teóricos foram realizados na tentativa de explicá-lo (ZHU et al., 2016). O tempo reacional para a síntese do composto triazólico (**5**) foi de 18 horas.

**Figura 9:** Esquema para a síntese do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**).



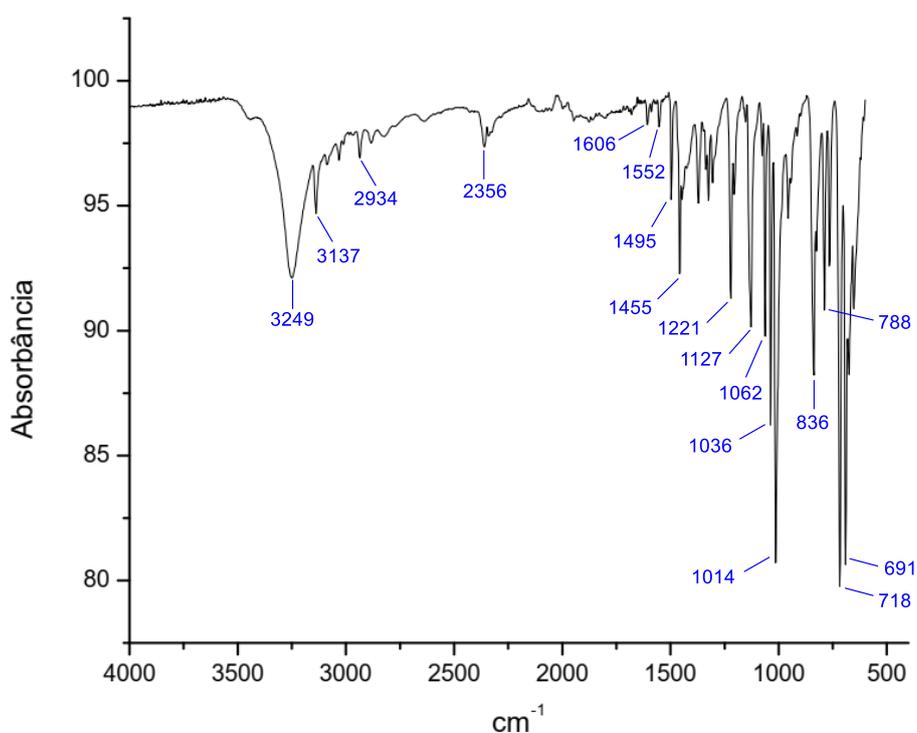
Fonte: Próprio autor.

O (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**) foi obtido na forma de sólido com 73% de rendimento, sendo este valor semelhante ao obtido por Konwar e colaboradores (2016), em uma de suas reações na qual promoveram a reação CuAAC em meio aquoso, um método econômico e sustentável para a síntese de 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído à

temperatura ambiente. Vale ressaltar que Kaushik e colaboradores (2016) sintetizaram uma série de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos a partir de várias azidas e alcinos na qual obtiveram rendimentos entre 62,4% e 85,3%.

Uma vez sintetizado e purificado o composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**), o mesmo foi submetido a caracterização espectroscópica. A caracterização realizada para confirmar a estrutura desse composto foi a espectroscopia na região do infravermelho médio em número de onda de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 10).

**Figura 10:** Espectro de infravermelho para o (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**).



Fonte: Próprio autor.

De acordo com o espectro de infravermelho do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**), constatou-se uma banda fraca em 3137  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação  $\text{Csp}^2\text{-H}$  do anel triazólico (Figura 10), sendo esta banda a principal evidencia da formação do composto **5**, uma vez que, segundo Kaushik e colaboradores (2016) a confirmação da formação do anel 1,2,3-triazólico implica obrigatoriamente no aparecimento da banda de absorção na região entre 3188-3105  $\text{cm}^{-1}$  relativa ao estiramento da ligação  $\text{Csp}^2\text{-H}$ .

Outra evidencia da formação do composto **5** é a ausência da banda fraca-moderada na região entre 3100-3300  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação C-H de carbono *sp* e da ausência da banda referente ao estiramento da ligação C $\equiv$ C na região de 2250  $\text{cm}^{-1}$ , demonstrando que o álcool propargílico (**4**) foi totalmente consumido (Figura 10). No espectro do composto **5** constatou-se a presença de outras bandas, por exemplo, a banda em 3249  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação O-H e a presença da banda em 2934  $\text{cm}^{-1}$  referente à estiramento da ligação C-H de carbono *sp*<sup>3</sup> (Figura 10).

No espectro do composto **5** foi verificado a presença de outras bandas como, por exemplo, a banda em 1455  $\text{cm}^{-1}$  referente à vibração do anel aromático, as bandas em 1062 e 1127  $\text{cm}^{-1}$ , que são duas bandas médias, sendo a primeira banda atribuída à deformação no plano do hidrogênio na posição 5 e à segunda a uma deformação planar do anel triazólico. Também observou-se a presença de uma banda em 718  $\text{cm}^{-1}$  que também se refere a uma deformação planar no anel triazólico e a banda em 691  $\text{cm}^{-1}$ , proveniente de uma deformação fora do plano do anel triazólico (Figura 10).

Esses dados de infravermelho do composto **5** estão de acordo com os descritos por Borello e Zecchina (1963), uma vez que espera-se uma vibração do anel entre as bandas 1460-1430  $\text{cm}^{-1}$ , no que se refere às bandas 1149-1074 e 1112-1038  $\text{cm}^{-1}$ , que podem apresentar intensidade média ou forte, a primeira banda é atribuída a deformação no plano do hidrogênio na posição 5 e a segunda a uma deformação planar do anel triazólico, porém não é possível fazer uma distinção clara entre essas duas vibrações devido a possibilidade de ocorrer acoplamentos. Em relação às bandas situadas entre 750-700  $\text{cm}^{-1}$ , de intensidade média ou forte, Borello e Zecchina (1963) atribuem a uma provável deformação planar do anel triazol e no que se refere às bandas entre 684-653  $\text{cm}^{-1}$ , banda de média intensidade, é referente a uma deformação fora do plano do anel triazólico.

Depois de sintetizado e caracterizado, o (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**) foi submetido ao bioensaio com *Artemia salina* Leach, a fim de avaliar sua toxicidade. O teste foi escolhido devido à rapidez, simplicidade e por ser um método confiável (HYACIENTH; ALMEIDA, 2015).

Segundo Ferreira (2013), as artêmias são animais filtradores e sua alimentação é baseada no consumo de materiais em suspensão do meio aquático, a citar: microalgas, bactérias, protozoários e pequenos detritos tanto orgânicos como inorgânicos. Por serem

capazes de utilizar quase todo o tipo de fontes de nutrientes sua alimentação é considerada um processo contínuo e não seletivo. Tais fatores contribuem para que a *Artemia salina* seja um método ideal para avaliar a toxicidade do composto (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**).

Os cistos das artêmias foram incubados usando uma solução salina preparada com 38 gramas de sal marinho em um litro de água destilada. O pH da solução foi verificado através de um pHmetro ficando em torno de 8,24. Após 24 horas de incubação, os cistos das artêmias eclodiram e as larvas puderam ser utilizados nos testes.

**Figura 11:** Esquema para a incubação dos cistos de *Artemia salina* Leach.



Fonte: Próprio autor.

Os testes foram realizados com concentrações que variaram de 10 µg/mL a 7500 µg/mL da solução do (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**), com a finalidade de obter concentrações capazes de matar 5% e 95% dos indivíduos testados, além de concentrações situadas entre estes dois pontos. Após 24 horas da exposição dos náuplios nas diferentes concentrações do composto **5** foi realizada a contagem do número de artêmias vivas e mortas em cada tubo, identificando que a concentração letal para (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol (**5**) foi entre 1000 e 2000 µg/mL.

Nguta e colaboradores (2011) e Merino e colaboradores (2015), consideram que amostras que apresentarem valores de  $CL_{50}$  inferiores a 100  $\mu\text{g/mL}$  são considerados altamente tóxicas, valores entre 100 e 500  $\mu\text{g/mL}$  são consideradas moderadamente tóxicas, valores entre 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  são consideradas levemente tóxicas e valores acima de 1000  $\mu\text{g/mL}$  possuem baixa toxicidade.

Partindo destes argumentos, o (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol possui baixa toxicidade frente ao bioensaio utilizando a *Artemia salina* Leach, concordando com a expectativa de baixa toxicidade por ser derivado de moléculas compatíveis e presentes numa grande diversidade de organismos.

Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Garcez e colaboradores (2018), que utilizaram o mesmo método para avaliar a toxicidade de fármacos amplamente comercializados, como é o caso da dipirona sódica, cujo valor da sua forma farmacêutica genérica apresentou uma  $CL_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$  indicando baixa toxicidade para essa amostra.

Estudos realizados por Cavalcante (2015) comparando a dipirona (não especificada se genérica ou referência) e o paracetamol, constatou uma  $CL_{50}$  para a dipirona de 962,98  $\mu\text{g/mL}$ , indicando que essa amostra possuía baixa toxicidade frente aos náuplios de *Artemia salina*.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma:

A benzila azida foi obtida na forma de um óleo amarelado com um rendimento de 90%;

O (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol foi obtido com um bom rendimento (73%), com o tempo reacional de 18 horas, obtido na forma de um sólido branco;

O (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol foi caracterizado através da técnica espectroscópica de infravermelho, em que os dados observados no espectro de infravermelho confirmam sua estrutura e estão de acordo com os descritos na literatura;

O ensaio de toxicidade *in vitro* pelo bioensaio com *Artemia salina* Leach apontou que o (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metanol apresenta baixa toxicidade, com uma dose letal entre 1000 e 2000 µg/mL;

Sendo assim, torna-se possível a realização de estudos mais aprofundados que tenham como objetivo explorar as atividades que esta molécula e seus derivados possam expressar, buscando identificá-las, entendê-las e moldá-las, cooperando para o processo de desenvolvimento de novos fármacos que possam auxiliar no tratamento das enfermidades e que sejam seguras para o homem e o ambiente.

## REFERÊNCIAS

- AGALAVE, S. G.; MAUJAN, S. R.; PORE, V. S. Click chemistry: 1, 2, 3-triazoles as pharmacophores. **Chemistry-An Asian Journal**, v. 6, n. 10, p. 2696-2718, 2011.
- BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 43-50, 2010.
- BERTO, C.; WIRTH, F.; BARTH, N.; HERMES, D. M. Bases da resistência antifúngica: uma revisão comentada. **Revista Uningá**, Maringá, v. 55, n. 3, p. 52-71, jul./set. 2018.
- BEZERRA, J. W. A.; COSTA, A. R.; SILVA, M. A. P.; ROCHA, M. I.; BOLIGON, A. A.; ROCHA, J. B. T.; BARROS, L. M.; KAMDEM, J. P. Chemical composition and toxicological evaluation of *Hyptis suaveolens* (L.) Poiteau (LAMIACEAE) in *Drosophila melanogaster* and *Artemia salina*. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 437-442, 2017.
- BORELLO, E.; ZECCHINA, A. Infrared spectra of v-triazoles I 2-Aryl-v-triazoles. **Spectrochimica Acta**, v. 19, n. 11, p. 1703-1715, 1963.
- BUENO, A. C.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. **Instituto Federal de Santa Catarina**, jan. 2015.
- CASTRO, I. M. N. Comparação da atividade de antifúngicos imidazólicos e triazólicos frente a *Candida albicans*. **RBAC**, v. 48, n. 3, p. 216-22, 2016.
- CAVALCANTE, A. A.; REGO, S. C.; MATA, A. M. O. F.; SILVA R. M. S. P.; ALENCAR, M. V. O. B.; JÚNIOR, A. L. G.; JÚNIOR, A. A. A.; PAZ, M. F. C. J. Avaliação da toxicidade, citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade da dipirona sódica e do paracetamol em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*. **Boletim Informativo Geum**, v. 6, n. 4, p. 7-15, 2015.
- CHEN, S. W.; CHEN, Y. J.; CHEN, Y. H.; CHEN, G. J.; CHAN, S. H.; LIN, J. L. Adsorption and Reaction Pathways of 1 H-1, 2, 3-Triazole on Cu (100) and O/Cu (100). **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 48, p. 27412-27424, 2018.

COMINS, D.; MA, D. Editorial for the Special Issue on Heterocycles. **The Journal of Organic Chemistry**, p. 10107-10108, 2016.

CUNHA, B. M. **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina* e *Lactuca sativa***. 2011.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) UFRGS, Porto Alegre. 2011.

ESPINEL-INGROFF, A.; FOTHERGILL, A.; GHANNOUM, M.; MANAVATHU, E.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; PFALLER, M.; RINALDI, M.; SCHELL, W.; WALSH, T. Quality control and reference guidelines for CLSI broth microdilution susceptibility method (M38-A document) for amphotericin B, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 10, p. 5243-5246, 2005.

FAEGHI, F.; JAVANSHIR, S.; MOLAEI, S. Natural polymer-based copper/ sandarac resin catalyzed regioselective one-pot synthesis of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles under ultrasonic irradiation. **Chemistry Select**, v. 3, n. 41, p. 11427-11434, jan. 2018.

FAJARDO, A. D; DA SILVA, R. R.; COSTA, A. P. M.; ROSSETTO, A. L.; CRUZ, R. C. B. Estudo epidemiológico das infecções fúngicas superficiais em Itajaí, Santa Catarina. **Comunicação Breve/Short Communication**, Itajaí-SC, v. 49, n. 4, p. 396-400, out. 2017.

FERREIRA, F. M. S. **Avaliação da Composição Iônica do Meio como Barreira Química Contra o Invasora *Artemia franciscana***. 2013.

FINN, M. G; CHAN, T. R.; HILGRAF, R.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; WANG, Q. Bioconjugation by copper (I)-catalyzed azide-alkyne [3+ 2] cycloaddition. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 11, p. 3192-3193, 2003.

FOKIN, V. V.; WU, P.; FELDMAN, A. K.; NUGENT, A. K.; HAWKER, C. J.; SCHEEL, A.; VOIT, B.; PYUN, J.; FRÉCHET, J. M. J.; SHARPLESS, K. B. Efficiency and fidelity in a click-chemistry route to triazole dendrimers by the copper (I)-catalyzed ligation of azides and alkynes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 43, n. 30, p. 3928-3932, 2004.

FRANÇA, R. R. F.; CARVALHO, A. S.; BRANCO, F. S.; PINTO, A. C.; BOECHAT, N. Inibidores potentes da enzima esterol 14  $\alpha$ -desmetilase contra *Trypanosoma cruzi*.

**Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro-RJ, v. 6, n. 5, p. 1483-1516, jul. 2014.

FREITAS, L. B. D. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P.; DOS SANTOS, L. J. A reação "click" na síntese de 1, 2, 3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.

GARCEZ, B. B. D.; CARREIRO, E.; NOGUEIRA, M. C.; MACÊDO, N. S.; NASCIMENTO, S. L. S.; SOLVA, J. N.; MAQUES, R. B. Toxicidade aguda da dipirona sódica in vitro utilizando o bioindicador de toxicidade *Artemia salina* Leach. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 11, n. 02, p. 114-119, 2018.

GARG, A.; ALI, A. A.; DAMARLA, K.; KUMAR, A.; SARMA, D. Aqueous bile salt accelerated cascade synthesis of 1, 2, 3-triazoles from arylboronic acids. **Tetrahedron letters**, v. 59, n. 45, p. 4031-4035, 2018.

GOVINDAIAH, S.; SRENIVASA, S.; RAMAKRISHNA, R. A.; RAO, T. M. C.; NAGABHUSHANA, H. Regioselective Synthesis, Antibacterial, Molecular Docking and Fingerprint Applications of 1-Benzhydrylpiperazine Derivatized 1, 4-Disubstituted 1, 2, 3-Triazoles. **Chemistry Select**, v. 3, n. 28, p. 8111-8117, 2018.

HARADA, T. N. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais**. 2009. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. 2009.

HIROTA, B. C. K.; DA SILVA, P. C.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Avaliação de toxicidade *in vitro*: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente á *Artemia salina*. **Visão Acadêmica**, v. 13, n. 2, p. 42-48, 2012.

HUISGEN, R. 1.3-dipolare cycloadditionen rückschau und ausblick. **Angewandte Chemie**, v. 75, n. 13, p. 604-637, 1963.

HYACIENTH, D. C.; ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* Maas.

**Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 5, n. 4, p. 4-7, 2015.

JANE T.; BURKE, A. J. New click-chemistry methods for 1,2,3-triazoles synthesis: recent advances and applications. **Tetrahedron letters**, v. 56, n. 22, p. 2853-2859, 2015.

KAUSHIK, C. P.; KUMAR, K.; SINGH, S. K.; SINGH, D.; SAINI, S. Synthesis and antimicrobial evaluation of 1, 4-disubstituted 1, 2, 3-triazoles with aromatic ester functionality. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, n. 6, p. 865-871, 2016.

KIMBER, R. L.; PARMEGGIANI, F.; JOSHI, N.; RAKOWSKI, A. M.; HAIGH, S. J.; TURNER, N. J.; LLOYD, J. R. Synthesis of copper catalysts for click chemistry from distillery wastewater using magnetically recoverable bionanoparticles. **Green Chemistry**, v. 21, n. 15, p. 4020-4024, 2019.

KONWAR, M.; ALI, A. A.; CHETIA, M.; SAIKIA, P. J.; KHUPSE, N. D.; SARMA, D. ESP Promoted "On Water" Click Reaction: A Highly Economic and Sustainable Protocol for 1, 4-Disubstituted-1H-1, 2, 3-Triazole Synthesis at Room Temperature. **Chemistry Select**, v. 1, n. 18, p. 6016-6019, 2016.

LEITE, D. I.; FONTES, F. D. V.; BASTOS, M. M.; HOELZ, L. V. B.; BIANCO, M. D. C. A. D.; DE OLIVEIRA, A. P.; DA SILVA, P. B.; DA SILVA, C. F.; BATISTA, D. G. J.; DA GAMA, A. N. S.; Peres, R. B.; VILLAR, J. D. F.; SOEIRO, M. N. C.; BOECHAT, N. New 1, 2, 3-triazole-based analogues of benzimidazole for use against *Trypanosoma cruzi* infection: *In vitro* and *in vivo* evaluations. **Chemical biology & drug design**, v. 92, n. 3, p. 1670-1682, 2018.

LI, J.; DING, G.; FENG, H.; WU, L.; HE, M.; YAO, X.; SI, H.; HE, W. The spectroscopic and computational investigation on interaction of a novel 1, 2, 3-triazole with three globular proteins. **Journal of Luminescence**, v. 205, p. 621-629, 2018.

LI, L.; ZHANG, Z. Development and applications of the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) as a bioorthogonal reaction. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1393, 2016.

LUNA, J. S.; DOS SANTOS, A. F.; DE LIMA, M. R. F.; DE OMENA, M. C.; DE MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethno pharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

MACHADO, S. L.; DOS SANTOS, L. V.; DA COSTA, W. F.; DIAS FILHO, B. P.; SARRAGIOTTO, M. H. Synthesis, toxicity towards brine shrimp (*Artemia salina* Leach) and antimicrobial activity evaluation of 3, 5-diphenylchlorinated-1, 2, 4-oxadiazoles. **Acta Scientiarum Technology**, v. 27, n. 2, p. 107-110, 2005.

MAYORGA, P.; PÉREZ, K. R.; CRUZ, S. M.; CÁCERES, A. Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 897-903, 2010.

MENOZZI, C. A. C.; CASTELO-BRANCO, F. S.; FRANÇA, R. R. F.; DOMINGOS, J. Otimização da síntese do fluconazol: um importante fármaco antifúngico da classe dos azóis. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 1216-1234, 2017.

MERINO, F.; OLIVEIRA, V.; PAULA, C.; CANSIAN, F.; SOUZA, A.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.; DUARTE, A.; KULIK, J.; MIGUEL, M.; MIGUEL, O. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MC LAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta médica**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.

MOREIRA, L. A. O. **Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* Leach de extratos de duas espécies da família *melastomataceae***. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) IFG, Anápolis. Dez. 2013.

MOROSINI, L. **Esporotricose, aspergilose, candidemia, criptococose, paracoco: infecções fúngicas são graves, deixam sequelas e podem levar à morte**. 196. ed. [S.l.]: RADIS, 2019. p. 27-27.

NIU, Y. N.; YAN, Z. Y.; LI, G. Q.; WEI, H. L.; GAO, G. L.; WU, L. Y.; LIANG, Y. M. 1, 2, 3-Triazole-linked dendrimers as a support for functionalized and recoverable catalysts for asymmetric borane reduction of prochiral ketones. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 19, n. 8, p. 912-920, 2008.

NGUTA, J M; MBARIA, J M; GAKUYA, D W; GATHUMBI, P K; KABASA, J D; KIAMA, S G. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v.2, p.458-478, 2011.

NWE, K.; BRECHBIEL, M. W. Growing applications of “click chemistry” for bioconjugation in contemporary biomedical research. **Câncer Biotherapy and Radiopharmaceuticals**, v. 24, n. 3, p. 289-302, 2009.

ONU NEWS. **Relatório da ONU pede ação urgente para evitar crise de resistência antimicrobiana**. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2019/04/1669901>>. Acesso em: 5 ago. 2019.

PICKENS, C. J.; JOHNSON, S. N.; PRESSNALL, M. M.; LEON, M. A.; BERKLAND, C. J. Practical considerations, challenges, and limitations of bioconjugation via azide–alkyne cycloaddition. **Bioconjugate chemistry**, v. 29, n. 3, p. 686-701, 2017.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJIDARU, T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 20, 2015.

ROCHA-FILHO, C. A. A.; ALBUQUERQUE, L. P.; SILVA, L. R. S.; SILVA, P. C. B.; COELHO, L. B. B.; NAVARRO, D. M. A. F.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; MELO, A. M. M. A.; NAPOLEÃO, T. H.; PONTUAL, E. V.; PAIVA, P. M. G. Assessment of toxicity of *Moringa oleífera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015.

SILVEIRA, B. M.; NOVACK, K. M.; MARCONDES, H. C.; DOS SANTOS, R. V. M. Preparation, characterization, and biological activity against *Artemia salina* of new copolymer PMMA-g-PEG derivatives incorporated with fluconazole. **Macromolecular Symposia**, v. 378, n. 1, p. 2-7, jan. 2018.

SHAD, M. S.; SANTHINI, P. V.; DEHAEN, W. 1, 2, 3-Triazolium macrocycles in supramolecular chemistry. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 15, n. 1, p. 2142-2155, 2019.

SHANKARAIHAH, N.; KUMAR, N. P.; TOKALA, R.; GAYATRI, B. S.; TALLA, V.; SANTOS, L. S. Synthesis of new 1, 2, 3-triazolo-naphthalimide/phthalimide conjugates via “click” reaction: DNA intercalation and cytotoxic studies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 3, p. 454-461, 2019.

ROSSA, T. A. **Síntese de azirinas contendo um grupo metileno ativado como precursores de heterociclos multifuncionalizados**. 2015. Dissertação de Pós-Graduação - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2015.

COMINS, D.; MA, D. Editorial for the Special Issue on Heterocycles. **The Journal of Organic Chemistry**. 2016. Disponível em:  
<<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.joc.6b02488>>. Acesso em: 02 jan. 2019.

URBAN, A. M.; FARAGO, P. V.; NEPPELENBROEK, K. H.; URBAN, V. M. Efetividade antifúngica de fármacos complexados com ciclodextrinas. **Revista Saúde**, v. 10, n. 1-2, p. 97-110, jun. 2016.

VICTAL, J. C.; VALÉRIO, L. B.; OSHIRO, M. C.; BAPTISTA, S. C.; PINHEIRO, F. Métodos alternativos *in vitro* e *in silico*: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 36-57, jun. 2014.

ZHU, L.; BRASSARD, C. J.; ZHANG, X.; GUHA, P. M.; CLARK, R. J. On the Mechanism of Copper (I)-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. **The Chemical Record**, v. 16, n. 3, p. 1501-1517, 2016.