

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área Insumos Farmacêuticos

**Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com  
Potencial Atividade Biológica**

Luis Miguel Zaravia Argomedo

Dissertação para obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani

São Paulo

2017

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área Insumos Farmacêuticos

**Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com  
Potencial Atividade Biológica**

Luis Miguel Zaravia Argomedo

Versão Original

Dissertação para obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani

São Paulo

2017

**Ficha Catalográfica**  
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Argomedo, Luis Miguel Zaravia  
A693s Síntese de heteroaril oxazolininas e derivados triazólicos  
com potencial atividade biológica / Luis Miguel Zaravia  
Argomedo. -- São Paulo, 2017.  
169p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia  
Orientador : Stefani, Hélio Alexandre

1. Insumos farmacêuticos I. T. II. Stefani, Hélio  
Alexandre, orientador.

615.19 CDD

Luis Miguel Zaravia Argomedo

**Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com  
Potencial Atividade Biológica**

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do título de Mestre

Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani  
orientador/presidente

---

1o. examinador

---

2o. examinador

---

3o. examinador

---

4o. examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2017.

## **APOIO FINANCEIRO**

**CAPES** – COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR

**CNPq** – CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO

**FAPESP** – FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA – UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de dedicar meus mais sinceros agradecimentos a meu orientador, o **Prof. Dr. Hélio Alexandre Stefani**, suas ideias e seu apoio foram fundamentais para a realização desta dissertação. Hélio, sou eternamente grato por seus ensinamentos e orientação constante, pelas nossas discussões científicas, por muitas vezes estar na bancada comigo, por sanar minhas dúvidas e por estimular minha curiosidade me fazendo crescer em conhecimento. Obrigado, por fazer do aprendizado não um trabalho, mais um contentamento.

Sou particularmente grato a **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kelly Ishida**, primeiramente, lhe agradeço por me auxiliar tanto no desenvolvimento deste trabalho, sem sua intervenção provavelmente não teria obtido os resultados nem a experiência tão enriquecedora. Obrigado pela colaboração, e por ter gentilmente cedido seu laboratório e ter me acolhido na realização dos experimentos.

Também gostaria de expressar meus agradecimentos à **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula de Melo Loureiro** e a **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Farsky**. Colaboradoras ativas desse trabalho. Sem a ajuda de ambas, a parte biológica do trabalho não teria ficado tão enriquecida.

Chega a hora mais complicada: agradecer aos amigos; os confidentes e companheiros dessa jornada acadêmica. Orgulho-me em dizer que tive o prazer de conhecer pessoas fantásticas, ao longo desses anos. Pessoas que foram capazes de despertar um laço de identificação tão forte que jamais poderá ser esquecido. Cada uma delas contribuiu, a sua maneira, para a realização dessa dissertação, bem como para o meu desenvolvimento como pesquisador. Sou eternamente grato aos amigos, **Mayer Ganoza, Anderson Rosales, Sharon Velásquez, Iván Quispe, e Pablo Velásquez**.

Aos companheiros de laboratório, **Isadora de Oliveira, Anwar Shamin, Cristiane Barbeiro, Ali Bakhat, Olga, Amna, Gonzalo Carrau, Joel, Michael**, sou grato por toda a amizade. Sou especialmente grato a dois companheiros de

laboratório, amigos e mentores, **Fred Bernardes**, quem gentilmente me ensinou todos os conhecimentos no princípio da minha jornada como IC e que me acompanhou no desenvolvimento do meu trabalho, assim como a **Stanley Vasconcelos**, quem realmente é um exemplo tanto como pesquisador quanto pessoa; vocês dois tiveram um grande impacto na minha vida, estou eternamente grato a vocês.

A **TODOS** que de alguma forma ajudaram ou participaram no desenvolvimento deste trabalho, mesmo que seja dizendo um bom dia... **MUITO OBRIGADO!!!**

## RESUMO

ZARAVIA, L. M. **Síntese de Heteroaril Oxazolinas e Derivados Triazólicos com Potencial Atividade Biológica.** 2017. 169f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Fungos no ambiente podem ser patogênicos ou oportunistas, dependendo da imunidade do hospedeiro. Existem várias espécies de fungos, por exemplo, *Cândida albicans*, *Cryptococcus* e *Aspergillus*. A primeira espécie fúngica pode ser tratada com o antifúngico fluconazol, que é um composto que contém anéis heterocíclicos 1,2,4-triazólicos. Além disso, existem cepas de fungos que são resistentes à terapia com fluconazol, que é o caso das *Cândida krusei*, *Cândida tropicalis*; entre outras. A busca por novos tratamentos envolve o desenvolvimento de novas moléculas sintéticas. Neste trabalho, sintetizamos uma biblioteca de compostos oxazolínicos e seus derivados 1,2,3-triazólicos. A atividade microbiológica foi avaliada contra 10 tipos de *Cândida*, 2 tipos de *Cryptococcus* e 2 tipos de *Aspergillus*. Além disso, foram feitos os testes de hemólise, citotoxicidade, combinações de drogas e permeabilidade de membrana. Os resultados sugerem um alto potencial terapêutico dos compostos e os propomos como potenciais novos antifúngicos.

**Palavras chave:** Cândida, Oxazolina, Triazóis, Fungos.



## ABSTRACT

ZARAVIA, L. M. **Synthesis of Heteroaryl Oxazolines and Triazolic Derivatives with Potential Biological Activity.** 2017. 169f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Fungi in the environment may be pathogenic or opportunistic depending on the immune status of the host. There are several species of fungi, for example, *Candida albicans*, *Cryptococcus* and *Aspergillus*. The first fungal species can be treated with the antifungal fluconazole, which is a compound containing 1,2,4-triazole heterocyclic rings. In addition, there are strains of fungi that are resistant to fluconazole therapy, which is the case of *Candida krusei*, *Candida tropicalis*; among others. The search for new treatments involves the development of new synthetic molecules. In this work, we synthesized a library of oxazoline compounds and their 1,2,3-triazole derivatives. Microbiological activity was evaluated against 10 types of *Candida*, 2 types of *Cryptococcus* and 2 types of *Aspergillus*. In addition, hemolysis, cytotoxicity, drug combinations and membrane permeability were performed. The results suggest the high therapeutic potential of the compounds and we propose them as potential new antifungals.

**Key words:** Candida, Oxazoline, Triazole, Fungi.

## LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
AMB	Anfotericina B
ATCC	Coleção de Cultivos de Tipo Americano
Boc <sub>2</sub> O	Bi-Carbonato de <i>terc</i> -butila
CASP	Caspofungina
CCV	Corante de cristal violeta
CCD	Cromatografia em camada delgada
CFU	Unidade formadora de colônia
CYP450	Citocromo P450
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMF	Dimetil formamida
DMEM	Meio de Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
FLC	Fluconazol
FCS	Soro fetal de vitelo
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
HepG2	Linhagem de células de câncer de fígado humano
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória 50
IS	Índice de seletividade
MIC <sub>50</sub>	Concentração mínima inibitória 50
MIC <sub>90</sub>	Concentração mínima inibitória 90
MFC	Concentração fungicida mínima
MOPS	Ácido 4-morfolinopropanossulfônico

MHz	Mega-Hertz
MW	Micro-ondas
<i>N</i> -MM	<i>N</i> -metilmorfolina
NO <sub>2</sub>	Grupo nitro
nm	Nanômetros
OD	Desvio óptico
OTf	Triflato
Pd	Paládio
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	Tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0)
PdCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio
Pd(OAc) <sub>2</sub>	Acetato de paládio
PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfina
PEt <sub>3</sub>	Trietilfosfina
PEt <sub>2</sub> Ph	Dietilfenilfosfina
PMePh <sub>2</sub>	Difenilmetilfosfina
PEtPh <sub>2</sub>	Difeniletilfosfina
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
pH	Potencial de hidrogênio
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
S-Co	Enxofre-cobalto
SOCl <sub>2</sub>	Cloreto de tionila
SI	Índice de seletividade
TBAF	Fluoreto de tetrabutilamônio
THF	Tetraidrofurano

TFA	Ácido trifluoroacético
TMS	Trimetilsilano
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
$\mu\text{M}$	Micro molar
uv	Ultravioleta
$\text{ZrOCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Cloreto de zircônio

## 1. INTRODUÇÃO

Desde o começo dos tempos, os fungos e o homem têm evoluído em conjunto ao longo da vida. Os fungos têm sido utilizados como alimentos, alucinógenos e, inclusive, para a cura de doenças.<sup>1</sup>

A descoberta deles remonta ao século XVIII, quando em 1729, Pietro Antonio Micheli, botânico italiano, publicou o “Nova Plantarum Genera”.<sup>1</sup> Esta foi a primeira classificação moderna dos fungos, pela qual ele deduziu que os esporos dos fungos eram as “sementes” e que eles não surgiam por geração espontânea como muitos pensavam. Além dele, é conveniente citar o primeiro “grande mestre” da micologia, Christian Hendrick Persoon (1755-1836). Nascido na África, de pais holandeses, cuja obra mais destacada foi a “Synopsis Methodica Fungorum”, na qual classificou mais de 1500 espécies de fungos.<sup>1</sup>

Estes microrganismos fúngicos, responsáveis pelas infecções, têm sido de interesse constante da comunidade científica e a necessidade de tratamento foi sempre evidente. Eles pertencem ao Domínio Eukarya, Reino Fungi e possuem um grupo de enzimas que permitem sintetizar compostos essenciais assim como defensivos para a sobrevivência.<sup>1</sup>

Estima-se cerca de 1,2 bilhões de pessoas em todo o mundo sofrem de alguma doença fúngica.<sup>2,3</sup> A maioria são infecções da pele ou da mucosa, que respondem prontamente à terapia, mas uma minoria substancial é invasiva ou crônica e difícil de diagnosticar e tratar. Estima-se que 1,5 a 2 milhões de pessoas morram de uma infecção fúngica a cada ano, superando a mortalidade causada por malária ou tuberculose.<sup>4</sup> A maior parte dessa mortalidade se dá por espécies pertencentes a quatro gêneros de fungos: *Aspergillus*, *Cândida*, *Cryptococcus* e *Pneumocystis*. Embora grandes avanços tenham sido feitos na década de 1990, o desenvolvimento de novas drogas caminha a passos lentos desde então. Existem oportunidades para acelerar esse desenvolvimento, particularmente na asma fúngica, e para tratar a aspergilose crônica e invasiva. A terapia antifúngica tornou-se progressivamente mais eficaz desde a segunda geração de azóis, equinocandinas e formulações lipídicas de anfotericina B, que foram introduzidas a partir dos anos 90.<sup>4</sup>

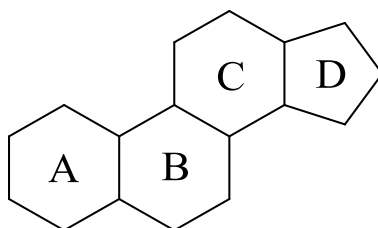
No entanto, cerca de 30% a 50% dos pacientes com aspergilose invasiva ainda morrem, por razões que incluem diagnóstico tardio, infecção de locais como o cérebro que não são efetivamente tratados com drogas e resistência aos fármacos. A mortalidade por candidemia, uma infecção fúngica principalmente tratada com equinocandinas e fluconazol, também permanece elevada, em torno de 50%. Desde 2006, não são aprovadas novas classes de antifúngicos, isto é problemático porque os agentes atuais não são suficientemente ativos. Além de não poderem ser administrados por via oral, possuem toxicidade específica de fármaco, de classe ou têm interações medicamentosas importantes.

Existe um vasto número de espécies de fungos, sendo a *Cândida* provavelmente a espécie de maior relevância clínica, o referido fungo está disseminado pelo mundo inteiro tanto em ambientes hospitalares, como em ambientes não hospitalares. Esse fato levou ao surgimento de numerosas espécies mutantes também relacionadas com infecções resistentes ao tratamento.

Muitos fungos são intrinsecamente resistentes a certos antifúngicos; podemos citar: *Candida krusei* (para fluconazol), *Aspergillus terreus* (para anfotericina B), *Cryptococcus spp.* (para as equinocandinas) e *Scedosporium spp.* (para todos os antifúngicos atuais). Cerca de 20 anos atrás, *Cândida albicans*, sensível aos agentes azólicos, foi prevalente nas infecções, junto com outras espécies de *Cândida* raramente vistas. *Cândida glabrata* é particularmente problemática: é a espécie de *Cândida* mais comumente isolada na União Europeia (> 10%) e nos Estados Unidos (> 20%) e tem altas taxas de resistência ao fluconazol e ao voriconazol, bem como para as equinocandinas. As infecções por fungos intrinsecamente resistentes também são observadas com maior frequência, tais como zigomicetos e *Fusarium spp.* A *Cândida glabrata* resistente a azóis e equinocandinas só pode ser tratada com anfotericina B intravenosa, que muitas vezes é tóxica e não penetra no sistema renal, tornando algumas infecções intratáveis. Os zigomicetos apenas respondem ao posaconazol e à anfotericina B, e não existem fármacos para *Scedosporium*.<sup>5</sup> O surgimento da resistência aos azóis é um problema crescente, particularmente nos Países Baixos, onde o *Aspergillus fumigatus* resistente aos azóis é agora comum.

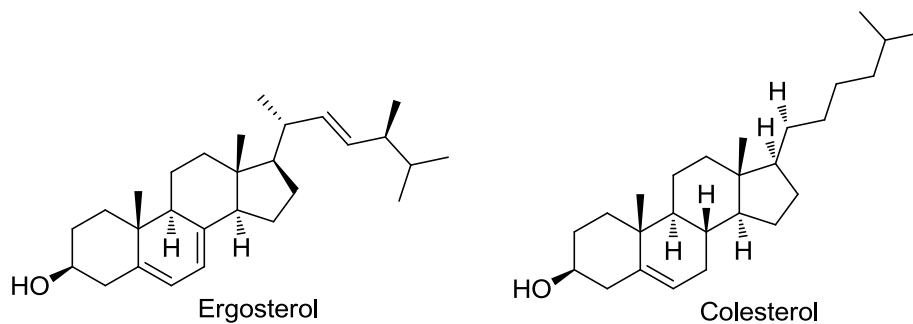
Ao contrário das bactérias, os fungos são conhecidos por não transferirem genes de resistência entre eles, nem a transmissão de paciente para paciente é comum. As áreas com mais dinheiro, EU (New Drugs for Bad Bugs) e dos EUA (BARDA - Broad Spectrum Antimicrobials) estimularam o investimento no desenvolvimento de antibióticos, porém, não existem iniciativas semelhantes para os antifúngicos. As tentativas para lidar com a falta de investimento incluem a Food and Drug Administration (FDA) Generating Antibiotics Incentives Now (GAIN) Act, que permite uma extensão de 5 anos de exclusividade de mercado para anti-infecciosos e especificamente para espécies de *Aspergillus*, *Cândida* e *Cryptococcus*, como doenças qualificadoras. De certa forma, os desafios para o desenvolvimento de antifúngicos são mais pronunciados do que aqueles enfrentados pelo desenvolvimento antibacteriano. Como os fungos, os mamíferos são eucariotas e muitas proteínas que são alvos potenciais para a terapia também são encontradas em seres humanos, aumentando o risco substancial de toxicidade de drogas. No entanto, existem algumas vantagens de trabalhar em eucariotas, particularmente aqueles com um estágio de vida diplóide. A haploinsuficiência quimicamente induzida, uma tecnologia de genômica funcional, tem sido utilizada em *Cândida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* para identificar o mecanismo de ação de novos agentes antifúngicos, produzindo muitos novos alvos de drogas.<sup>6</sup>

Os esteróis são biomoléculas derivadas de isoprenos e estão presentes na membrana da maioria das células eucarióticas. Sua característica básica é apresentar um núcleo esteroide com quatro anéis de carbono fundidos, três deles com seis átomos de carbono (A, B e C) e um com cinco átomos de carbono (D)<sup>7</sup> (Fig.1).



**Figura 1.** Estrutura do núcleo esteroide.

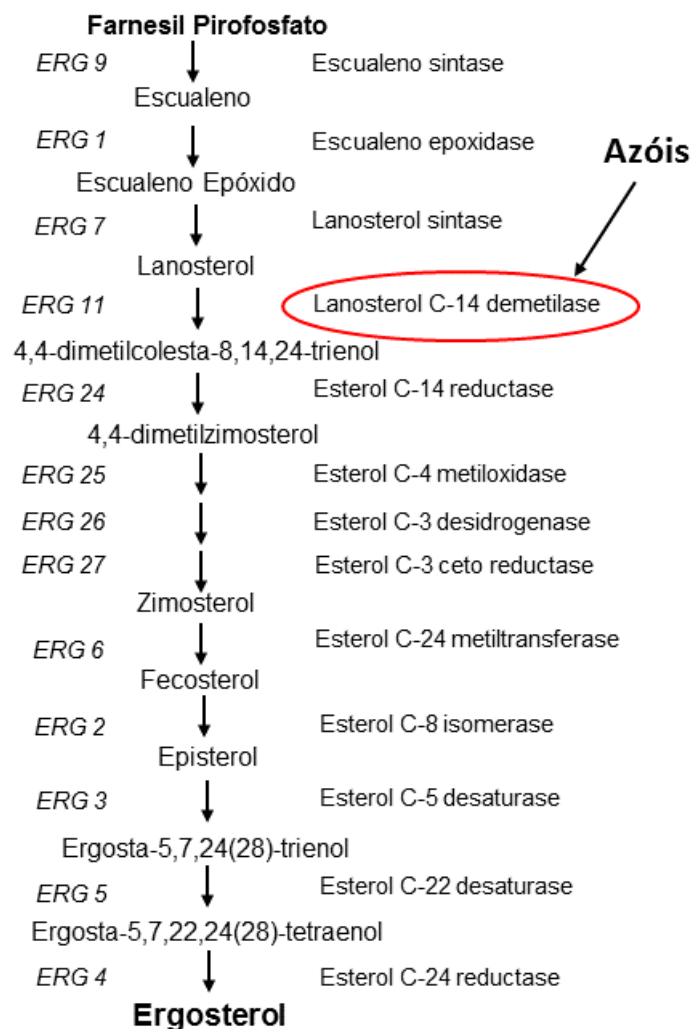
São importantes reguladores das propriedades físicas da membrana plasmática, como a fluidez e a permeabilidade, e possuem um importante papel no metabolismo aeróbico e na regulação do ciclo celular.<sup>8</sup> Os produtos finais da via de biossíntese de esteróis podem variar. Mamíferos produzem colesterol, fungos e protozoários produzem 24-alquil-esteróis, como o ergosterol. O ergosterol (Fig. 2) é um esterol responsável por manter a estrutura e a função da membrana plasmática de forma muito semelhante ao papel desempenhado pelo colesterol (Fig. 2) nas células animais.<sup>9</sup>



**Figura 2.** Diferenças estruturais do ergosterol e colesterol.

O esquema de tratamento para a infecção produzida por *Cândida albicans* é, por consenso, a droga 1,2,4-triazólica chamada fluconazol. Esta droga atua inibindo o metabolismo da enzima citocromo CYP51, 14- $\alpha$  demetilase, presente no citoplasma do fungo que é codificada pela família de genes *ERG*, especificamente o gene *ERG11* (Fig. 3).





**Figura. 3.** Rota biosintética do Ergosterol.

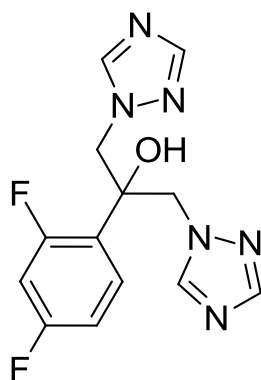
A enzima 14 $\alpha$ -esterol demetilase (CYP51) é uma enzima, envolvida em uma etapa-chave na biossíntese do ergosterol, responsável pela demetilação oxidativa de esteróis intermediários através do grupamento heme.<sup>10</sup>

A inibição desta ocorre mediante interação por coordenação de um dos nitrogênios do anel azólico com o átomo de ferro do grupo heme da enzima. Devido a essa interação, o sítio ativo da enzima não está mais disponível para a ligação com o substrato natural, o que impede sua conversão catalítica. Dependendo do tamanho e da natureza do substituinte ligado ao azol, o efeito de inibição pode variar devido às interações com a parte proteica da CYP51.<sup>11</sup>

A descoberta dos triazóis inibidores da enzima CYP51 de primeira geração foi resultado de um programa de pesquisa dirigido ao desenvolvimento

de um agente antifúngico com melhores propriedades farmacocinéticas. A modificação molecular planejada pela substituição do núcleo imidazol por triazol produziu substâncias metabolicamente mais estáveis devido à resistência deste heteroaromático à oxidação. Outro fato importante foi o ganho na propriedade farmacodinâmica. O núcleo triazólico, complexa-se mais efetivamente com o Fe heme da enzima, tornando-se mais específico para a inibição da enzima CYP51 e, conseqüentemente, mais seletivo, exercendo assim menor influência no metabolismo dos esteroides humanos, como, por exemplo, do colesterol.<sup>12</sup>

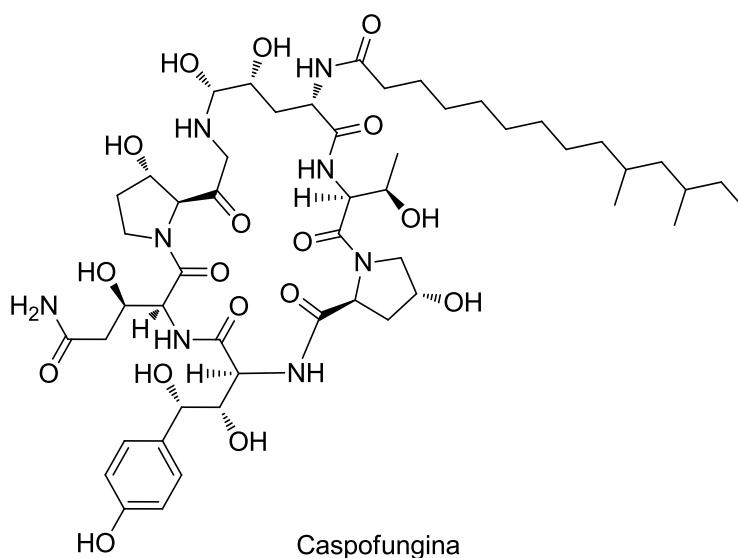
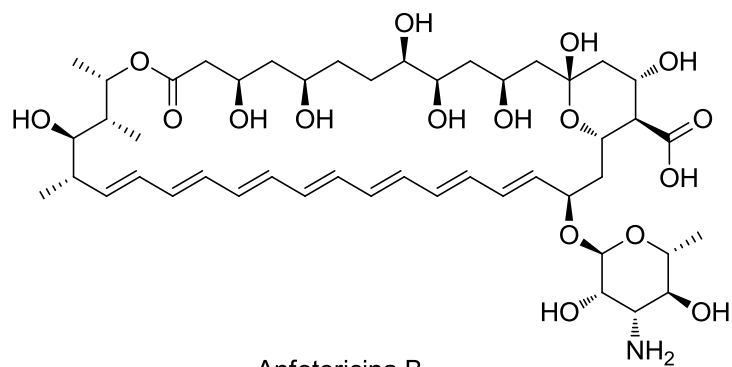
O Fluconazol (Figura 4) é o representante mais importante da primeira geração de triazóis, porque é um fármaco com bom perfil de segurança, boa biodisponibilidade, eficácia, seletividade e hidrossolubilidade. A inclusão de dois anéis triazóis idênticos foi feita para gerar um plano de simetria na estrutura que elimina o centro estereogênico e torna a síntese menos custosa.<sup>13</sup>



**Figura. 4.** Estrutura química do Fluconazol.

Entretanto, como mencionado anteriormente, novas espécies de *Cândida* apareceram nas últimas décadas, levando a uma crescente demanda de novos compostos com fins terapêuticos. Em resposta a essa demanda, anfotericina B e caspofungina (Fig. 5), as quais são produtos natural e semissintético, respectivamente, foram descobertos e incluídos na terapêutica contra as cepas resistentes ao fluconazol. Apesar disso, resistência a essas drogas tem sido relatada<sup>14</sup> por vários grupos de pesquisa e também na clínica. Conseqüentemente, a demanda por novas drogas que possam ser usadas no

tratamento de infecções fúngicas é novamente evidenciada. É nesse momento que a química sintética desempenha um papel muito importante na tentativa de dar solução ao problema.

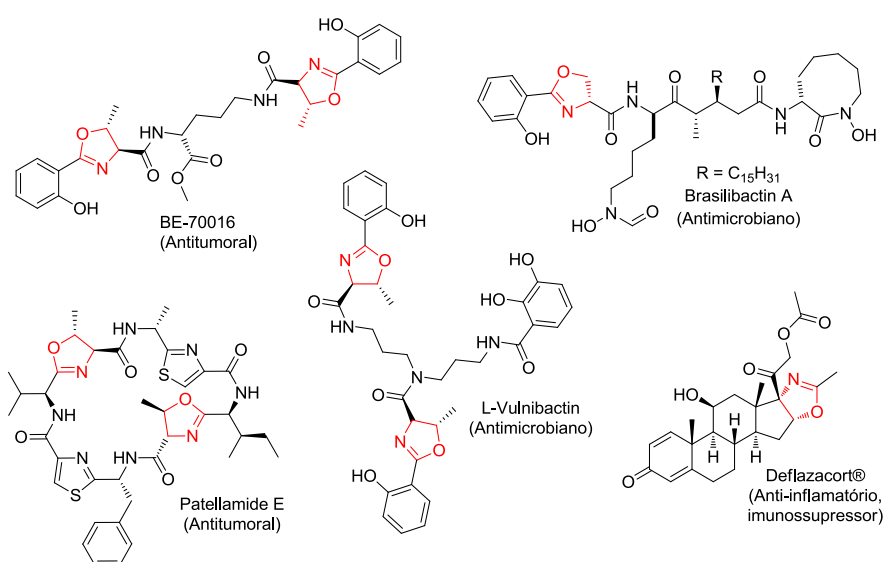


**Figura. 5.** Estruturas químicas da Anfotericina B e da Caspofungina.

Diversos mecanismos de resistência a Anfotericina B (AMB) e azóis têm sido descritos.<sup>12,14</sup> Alterações nos componentes de ergosterol da membrana, seguido de mutações nas rotas biosintéticas do ergosterol, parecem ser os mecanismos mais recorrentes dos polienos no caso de *Cândida*. Três mecanismos que levam à resistência contra azóis foram descritos para *Cândida albicans*: uma concentração reduzida de azóis devido ao efluxo ativo mediante ATP-binding-cassette (ABC) ou transportadores MDR1, alteração mediante mutação ou super expressão de sítios de ligação (C14 $\alpha$ -esterol demetilase, codificado pelo gene ERG11), e uma perda da função na mutação em vias

inferiores na rota do ergosterol (defeito na D-5,6-desaturase codificada por ERG3), levando a um acúmulo menor de esteróis tóxicos (por exemplo 14 $\alpha$ -metilfecolesterol) na presença de azóis.<sup>14, 15</sup>

Muitos compostos heterocíclicos têm sido relatados com atividade antifúngica tais como macrolídeos, flucitocina, taninos, polímeros de náilon e oxazolina. Compostos oxazolínicos mostraram ter atividades tais como antitumoral, anti-inflamatória, imunossupressor e também antifúngica; o que levou nosso grupo começar o trabalho com esta nova classe de agentes antigíficos<sup>16</sup> (Fig 6).



**Figura 6.** Exemplos de 2-aril oxazolinas bioativas.

Oxazolina é um composto químico heterocíclico de cinco membros contendo um átomo de oxigênio e um de nitrogênio. Foi caracterizada pela primeira vez em 1891 e nomeada com a nomenclatura de Hantzsch-Widman. Faz parte de uma família de compostos heterocíclicos, que existe entre o oxazol e a oxazolidina em termos de saturação.<sup>17</sup>

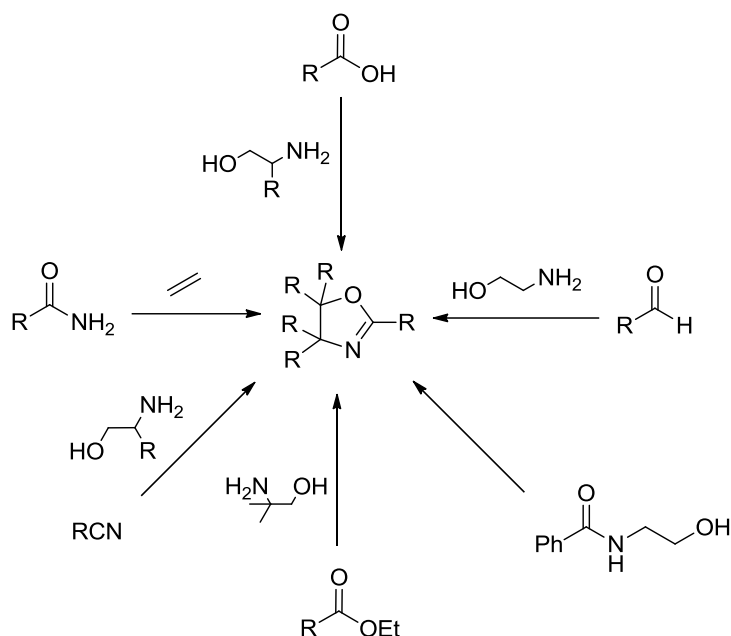
O anel oxazolínicos, em si, não tem aplicações atuais, mas os compostos contendo o anel têm uma grande variedade de utilizações; particularmente como ligantes na catálise assimétrica, como grupos protetores para os ácidos carboxílicos e, cada vez mais, como monômeros para a produção de polímeros. Estruturas do tipo 2-ariloxazolina foram as estruturas centrais de muitas

moléculas biologicamente ativas que apresentam efeito citotóxico,<sup>18a</sup> antibacteriano,<sup>18b</sup> antitumoral,<sup>18c,d</sup> antidepressivo,<sup>18e,f</sup> anti-Alzheimer<sup>18g</sup>. Adicionalmente, estes grupos são utilizados como intermediários de síntese,<sup>19</sup> grupos de proteção<sup>20</sup> ou ligantes quirais auxiliares em muitas transformações orgânicas.<sup>21</sup> Muitas polioxazolininas são biomateriais úteis para a entrega de drogas e de genes, e têm sido desenvolvidos sistemas de respostas de estímulos.<sup>22</sup>

Recentemente, as propriedades antioxidantes de 2-oxazolininas aril-substituídas foram também exploradas.<sup>23</sup> Alguns métodos químicos foram desenvolvidos para a síntese de derivados 2-aril/heteroariloxazolininas utilizando  $\beta$ -hidroxi amidas, olefinas, ácidos carboxílicos, ésteres, nitrilas, aldeídos, ou outros compostos.<sup>24-27</sup>

**Tabela X:** Substratos utilizados na preparação de oxazolininas

Compostos utilizados	Produto	Referência
Olefinas e amidas	Oxazolinina	Minakata, S., Morino, Y. <i>Chem. Commun.</i> <b>2007</b> , 3279–3281
Ácidos e amino álcoois	Oxazolinina	Cwik A, Hell Z. <i>Tetrahedron Lett.</i> <b>2002</b> , 43, 3985–3987
Aldeídos e amino álcoois	Oxazolinina	Karade N., Tiwari G. <i>Synlett.</i> <b>2007</b> , 12, 1921-1924.
Nitrilas aromáticas e amino álcoois	Oxazolinina	Prasad A., Satyanarayana B. <i>Der Pharma Chemica.</i> <b>2012</b> , 4, 93-99.
Ésteres e amino álcoois	Oxazolinina	Zhou P., Blubaum J. <i>Tetrahedron Lett.</i> <b>1997</b> , 38, 7019-7020
Amidas	Oxazolinina	Xu Q, Li, Z. <i>Letters.</i> <b>2009</b> , 50, 6838–6840



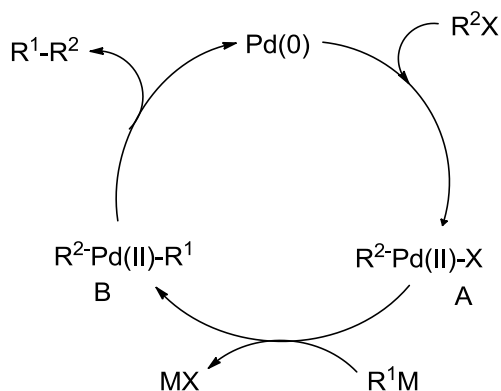
**Esquema 1.** Métodos de síntese de oxazolininas

Os métodos utilizando catalisadores de metais de transição (contendo carbonila), como ciclização com brometos de arila e 2-cloroetilamina, ou arilação direta de ligações C-H de oxazolininas não aromáticas, muitas vezes exigem muitas horas de reação, altas temperaturas (> 100 °C) e têm limitada variedade de substratos.<sup>25,26</sup>

Vários catalisadores têm sido utilizados para a ativação de nitrilas as quais sofrerão adição nucleofílica por amino álcoois. Dentro dos principais catalisadores podemos citar: ZnCl<sub>2</sub>, Bi(III), sais de ZrOCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, argila, ácido sulfúrico celulose, ácido sulfúrico sílica, os complexos de Cu, e sais de S-Co(II). Embora os métodos acima (**Esquema 1**) sejam estratégias promissoras de síntese para 2-heteroaril oxazolininas, a falta de aplicabilidade geral, o uso de reagentes caros e menos abundantes, condições reacionais severas, temperaturas de reação elevadas e tempo de reação, limitam a sua aplicação.<sup>27</sup>

Um ciclo catalítico geral para a reação de acoplamento cruzado de organometálicos, envolve as sequências de adição oxidativa, transmetalção e eliminação redutiva, está representado no **Esquema 2**. Embora cada passo envolva processos adicionais incluindo trocas de ligantes, não há dúvida sobre a presença dos intermediários (A e B) os quais foram caracterizados por análises espectroscópicas.<sup>28, 29</sup>

É significativo que a grande maioria das reações de acoplamento cruzado catalisadas por Ni(0), Pd(0) e Fe(II) sejam racionalizadas em termos deste ciclo catalítico comum.



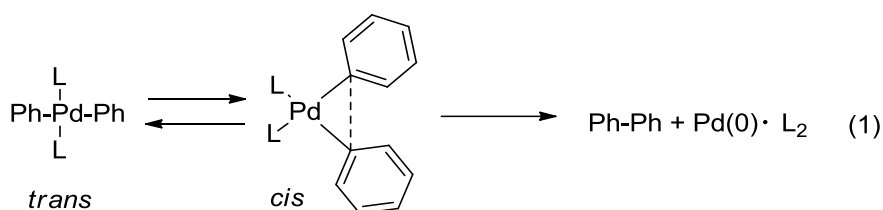
**Esquema 2.** O ciclo catalítico geral para o acoplamento cruzado

A Adição Oxidativa é frequentemente o passo determinante no ciclo catalítico. A reatividade relativa diminui na ordem I > OTf > Br >> Cl. Os haletos de arila e 1-alquenila, ativados pela proximidade de grupos que retiram elétrons são mais reativos à adição oxidativa do que aqueles com grupos doadores, permitindo assim a utilização de cloretos tais como 3-cloroenona para a reação de acoplamento cruzado. Pode-se utilizar uma gama de catalisadores ou precursores de Pd(0) para a reação de acoplamento cruzado. Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> é mais comumente utilizado, mas PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e Pd(OAc)<sub>2</sub> ou outros ligantes de fosfina também são eficientes devido à estabilidade ao ar e a serem facilmente reduzidos aos complexos ativos de Pd(0) com organometálicos ou fosfinas utilizadas para o acoplamento cruzado. Os complexos de paládio que contêm menos de quatro ligantes de fosfina ou fosfinas volumosas tais como tris(2,4,6-trimetoxifenil)fosfina são, em geral, altamente reativos para a adição oxidativa devido à formação de espécies coordenadas de paládio insaturado.<sup>30</sup>

A Eliminação Redutiva dos derivados orgânicos de **B** reproduz o complexo de paládio (0). A reação ocorre diretamente a partir de *cis*-B, e o *trans*-

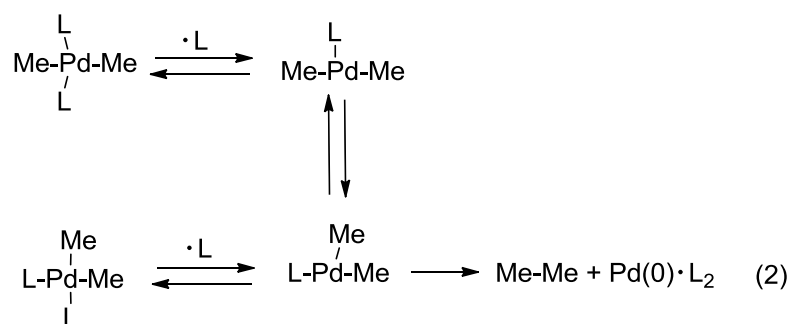
B reage após a sua isomerização para o correspondente complexo *cis* (exemplos 1 e 2, **Esquemas 3, 4**).

A ordem de reatividade é diaril->(alquil)aril->dipropil->dietil->dimetilpaládio(II), sugerindo a participação do orbital  $\pi$  do grupo arila durante a formação da ligação (Esquema 3).<sup>31</sup> Embora o passo de 1-alquênil ou 1-alquínilpaládio(II) não tenha sido estudado, observa-se um efeito semelhante na eliminação redutiva de complexos de platina(II).<sup>32</sup>



**Esquema 3.** Eliminação redutiva do composto **B**

A termólise do *cis*-(dialquil)paládio(II).L<sub>2</sub>, que é um intermediário no acoplamento alquila-alquila, é inibida pelo excesso de fosfina (L), portanto se considera que é iniciada pela taxa determinante de dissociação do ligante fosfina (L) produzindo um complexo triplo coordenado *cis*-(dialquil)paládio(II).L (mecanismo dissociativo, exemplo 2).<sup>33</sup> Assim, o efeito dos ligantes de fosfina é comparável à ordem da facilidade de sua dissociação: PEt<sub>3</sub> < PEt<sub>2</sub>Ph < PMePh<sub>2</sub> < PEtPh<sub>2</sub> < PPh<sub>3</sub> (Esquema 4).



**Esquema 4.** Termólise do *cis*-(dialquil)paládio(II).

Embora o mecanismo da adição oxidativa e sequências de eliminação redutiva seja razoavelmente bem compreendido e sejam processos

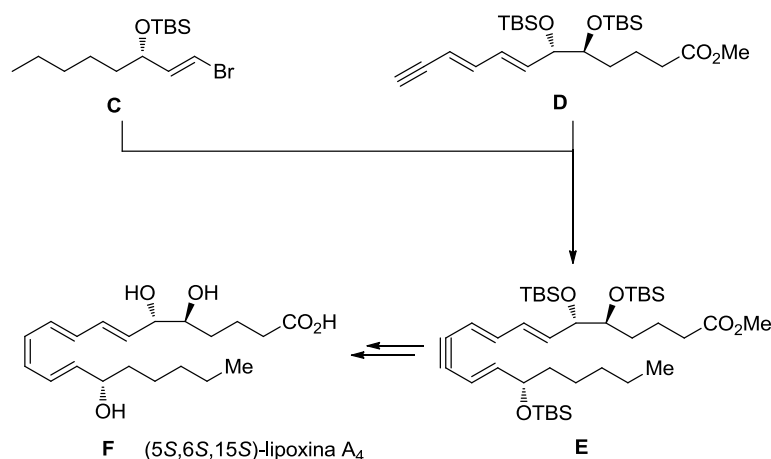


presumivelmente fundamentais para todas as reações de acoplamento cruzado de organometálicos, é menos conhecido o passo de transmetalização porque o mecanismo é altamente dependente de compostos organometálicos ou condições de reação utilizadas para os acoplamentos.

O Acoplamento de Sonogashira surgiu nos últimos anos como um dos métodos mais gerais, confiáveis e eficazes para a síntese de alquinos substituídos.<sup>34</sup> O acoplamento de acetiletos metálicos pré-formados (por exemplo, derivados de Zn,<sup>35</sup> Mg,<sup>36</sup> B,<sup>37</sup> Al,<sup>38</sup> e Sn<sup>39</sup>) com eletrófilos orgânicos fornece um acesso a alquinos substituídos. No entanto, o protocolo de Sonogashira (que emprega sais de CuI como co-catalisadores) é um dos métodos de alquinição catalisados por paládio mais amplamente utilizado, particularmente no contexto da síntese total, em grande parte devido à sua ampla aplicabilidade e conveniência.

Uma das primeiras aplicações da reação de Sonogashira na síntese total pode ser encontrada na via sintética generalizada para as lipoxinas biologicamente significativas e eicosanóides relacionados; iniciadas pelo grupo de Nicolaou no início dos anos 80.<sup>40</sup>

Variates do Acoplamento de Sonogashira permitiram a síntese de uma série de outros produtos naturais eicosanóides relacionados com a estrutura e a biossíntese, incluindo a família de metabolitos secundários da lipoxina. Por exemplo, a (5S, 6S, 15S)-lipoxina A4 (**F**) foi obtida através da união dos blocos de construção **C** e **D** enantiomericamente puros, seguindo-se procedimentos de redução de Lindlar e grupos de clivagem do grupo protetor (Esquema 5).<sup>40</sup>

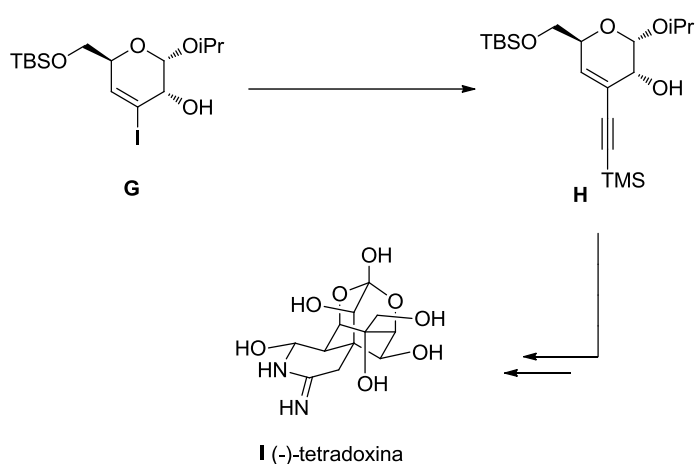


**Esquema 5.** Aplicação da reação de Sonogashira no acoplamento de um fragmento na síntese total de (5S,6S,15S)-lipoxina A4 (F)

Estes exemplos ilustrativos servem para destacar o fato de que a reação de Sonogashira proporciona uma alternativa importante às reações de Stille e Suzuki para a síntese estereosseletiva de sistemas poliênicos, por meio deste protocolo em duas etapas de acoplamento alcino-alceno, seguido de redução seletiva da tripla ligação. Esta metodologia revela-se de particular utilidade quando os compostos de organoestanho ou de organoboro, necessários para as reações de acoplamento de Stille ou Suzuki, respectivamente, não estão disponíveis ou são instáveis para serem sinteticamente úteis. É importante notar que ambos os isômeros correspondentes de *E* e *Z*-alqueno podem ser preparados de um modo estereosseletivo a partir do alquino. Assim, enquanto que os alquenos *Z* são tipicamente preparados por processos de hidrogenação catalítica, estão disponíveis várias vias para a síntese dos isômeros *E* correspondentes.<sup>41</sup> Os protocolos de hidrossililação desenvolvidos pelos grupos de Fürstner<sup>42</sup> e Trost<sup>43</sup> são métodos potencialmente convenientes e quimiosseletivos.

Uma das aplicações mais comuns da reação de Sonogashira na síntese total é a incorporação de resíduos de alquino de dois carbonos em intermediários sintéticos, tanto como apêndices de anéis como um meio de alongamento de cadeia acíclica. Trimetilsilil acetileno serve como um equivalente de acetileno convenientemente modificado, com o benefício adicional de que, uma vez que a

unidade de alquino terminal é bloqueada com o correspondente trimetilsilano, os produtos de mono acoplamento são observados exclusivamente. Tal reação foi aplicada por Isobe e colaboradores em uma junção preliminar no decorrer de sua síntese total assimétrica da tetradoxina,<sup>44</sup> o famoso veneno do peixe baiacu que foi chamado de "uma das grandes maravilhas da natureza".<sup>45</sup> Assim, (trimetilsilil) acetileno foi acoplado de forma branda ao iodeto de vinílico **G** por exposição a quantidades catalíticas de Pd(OAc)<sub>2</sub> (5 mol%), PPh<sub>3</sub> (10 mol%) e Cul (10 mol%) na presença de Et<sub>3</sub>N em benzeno a temperatura ambiente para proporcionar o enino **H**, com rendimento quase quantitativo (Esquema 6). Este produto foi submetido a outros passos para completar a síntese total.



**Esquema 6.** Uso da reação de Sonogashira na síntese enantioseletiva da (-)-tetradoxina I

Algumas das aplicações mais destacadas da reação de Sonogashira podem ser encontradas em abordagens sintéticas a vários membros da classe de antibióticos enedino, como relatado por diferentes grupos.<sup>46</sup> O motivo característico (*Z*)-1,5-diino-3-eno contido dentro desta família de produtos naturais pareceria prestar-se a formação de ligação carbono-carbono catalisados por paládio e, de fato, provou ser um teste significativo para o acoplamento de Sonogashira na síntese total.

Nos últimos anos, a “Click chemistry” regioseletiva tem uma ampla aplicação na química orgânica sintética e na química medicinal. A “Click

chemistry” tem sido explorada como uma nova abordagem para a síntese regioseletiva de derivados 1,2,3-triazólicos para o desenvolvimento de novos medicamentos.<sup>47-49</sup>

As oxazolininas sintetizadas neste trabalho foram preparadas a partir do aminoácido *L*-treonina, o qual é frequentemente utilizado na síntese de compostos com atividade biológica. Também foram utilizados derivados do ácido salicílico. Utilizando duas rotas sintéticas foram obtidas duas classes de oxazolininas com diversos substituintes e outros anéis heterocíclicos fundidos. Os compostos foram testados contra 14 espécies de fungos; 10 tipos de *Cândida*, 5 sensíveis ao fluconazol e 5 resistentes ao fluconazol, 2 tipos de *Cryptococcus* e 2 tipos de *Aspergillus*.

Assim como as oxazolininas preparadas, derivados 1,2,3-triazólicos foram também sintetizados. Devido às diversas atividades farmacológicas mencionadas anteriormente, se tornam compostos muito interessantes. Derivados 1,2,3-triazólicos foram relatados com atividade antibacteriana, antituberculose, anticancerígena, antiviral, anti-hipertensiva, anticolinérgica, anti-inflamatória e antifúngica,<sup>50-53</sup> o que reforça o interesse do nosso grupo para aprofundarmos na pesquisa deste tipo de moléculas.

## Conclusão

Mostramos que a síntese de oxazolinas e derivados 1,2,3-triazólicos de forma econômica e rápida é possível a partir do aminoácido *L*-Treonina. Estes compostos apresentaram boa atividade microbiológica do tipo antifúngica quando comparados com as drogas atualmente disponíveis; para cepas sensíveis e resistentes ao fluconazol. Os compostos obtidos apresentaram baixa toxicidade contra hemácias, assim como para células HepG2, adicionalmente não alteraram a permeabilidade da membrana e o efeito combinatório resultou ser indiferente. De acordo com os estudos de relação estrutura-atividade realizados, evidenciou-se a influência dos substituintes sobre a atividade biológica, ressaltando que os halogênios assim como os substituintes aromáticos e volumosos, aumentam drasticamente a atividade antifúngica, especialmente contra cepas resistentes. Estes fatos nos levam a considerar estas novas moléculas oxazolínicas como promissoras e candidatas a ser um futuro novo antifúngico.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Webster, J., Webe, R. Introduction to fungi. 3. ed. United States of America, Cambridge. **2007**
2. Vos, T. et al. *Lancet*. **2012**, 380, 2163.
3. Brown, G. D. et al. *Sci. Transl. Med.* **2012**, 4, 165.
4. Wilson, L. S. et al. *Value Health*. **2002**, 5, 26.
5. Slavin, M. et al. *Clin. Microbiol. Infect.* **2015**, 10, 1016.
6. Roemer, T., Boone, C. *Nat. Chem. Biol.* **2013**, 9, 222.
7. Lehninger, A., Nelson, D. L., Cox, M. Princípios de Bioquímica 5ª ed. São Paulo, Artmed. **2011**.
8. Daum, G., Lees, N. D., Bard, M., Dickson, R. Biochemistry, Cell Biology and Molecular Biology of Lipids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. **1998**, 14, 1471.
9. Golan, D. E. Princípios de Farmacologia. A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia, 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. **2009**, 580.
10. Johnson, D. S., Li, J. J. *The Art of Drug Synthesis*. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc. **2007**, 71.
11. Lepesheva, G.I., Ott, R.D., Hargrove, T.Y., Kleshchenko, Y.Y., Schuster, I. et al. *Chemistry & Biology*. **2007**, 14, 283.
12. Woods, R., Bard, M., Jackson, I., Drutz, D. *J Infect Dis*. **1974**, 129, 53.
13. Kontoyiannis, D., Lewis, R. *Lancet*. **2002**, 359, 1135.
14. Vandeputte, P., Larcher, G. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, 49, 4608.
15. Sanati, H., Belanger, P., Fratti, R., Ghannoum, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, 41, 2492.
16. Forastiero, A., Arango, A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, 57, 4769.
17. Gabriel, S. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. **1889**, 22, 1139.
18. (a) Tsuda, M., Yamakawa, M., Oka, S., Tanaka, Y., Hoshino, Y., Mikami, Y., Sato, A., Fujiwara, H., Ohizumi, Y., Kobayashi, J. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 462. (b) Onishi, H. R., Pelak, B. A., Silver, L. L., Kahan, F. M., Chen, M., Patchett, A. A., Galloway, S. M., Hyland, S. A., Anderson, M. S., Raetz, C. R. *H. Science*. **1996**, 274, 980. (c) Li, Q., Woods, K. W., Claireborne, A., Gwanlley, S. L., Barr, K. J., Liu, G., Gehrke, L., Credo, R. B., Hua Hui, Y., Lee, J.,

- Warner, R. B., Kovar, P., Nukkla, M. A., Zielinski, N. A., Tahir, S. K., Fitzgerald, M., Kim, K. H., Marsh, K., Frost, D., Ng, S., Rosenberg, S., Sham, H. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *12*, 465. (d) Tsukamoto, M., Murooka, K., Nakajima, S., Abe, S., Suzuki, H., Hirano, K., Kondo, H., Kojiri, K., Suda, H. *J. Antibiot.* **1997**, *50*, 815. (e) Vizi, E. S. *Med. Res. Rev.* **1986**, *6*, 431. (f) Celanire, S., Talaga, P., Leurs, R., Denonne, F., Timmerman, H., Lebon, F. Patent no. WO 2006103057 A1, 2006. (g) Gross, J. L., Robichaud, A. J., Mazzacani, A., Williams, M. J. Patent no. US 0023707, 200
19. Gant, T. G., Meyers, A. I. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2297. (b) Reuman, M., Meyers, A. I. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 837. (c) Frump, J. A. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 483.
20. (a) Lee, Y.-J., Lee, J., Kim, M.-J., Jeong, B.-S., Lee, J.-H., Kim, T.-S., Lee, J., Ku, J.-M., Jew, S.-S., Park, H.-G. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3207. (b) Saravanan, P., Corey, E. J. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2760. (c) Greene, T. W., Wutz, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed; John Wiley & Sons: New York, **1991**.
21. Hargaden, G. C., Guiry, P. J. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2505.
22. (a) Khumsubdee, S., Fan, Y., Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 9969. (b) Mckee, S. C., Muller-Bunz, H., Guiry, P. J. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 7107. (c) Sawada, T., Nakada, M. *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1527.
23. (a) Padmaja, A., Rajasekhar, C., Durgamma, S., Venkatesh, B. C., Padmavathi, V. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 1084. (b) Djurendic, E., Vujaskovic, S. D., Sakac, M., Ajdukovic, J., Gakovic, A., Kojic, V., Bogdanovic, G., Klisuric, O., Gasi, G. P. *ARKIVOC.* **2011**, ii, 83. (c) Padmavathi, V., Mahesh, K., Reddy, G. D., Padmaja, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3178.
24. (a) Boissarie, P. J., Hamilton, Z. E., Lang, S., Murphy, J. A., Suckling, C. J. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6256. (b) Ilkgul, B., Gunes, D., Sirkecioglu, O., Bicak, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5313. (c) Kangani, C. O., Day, B. W. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5332. (d) Takahashi, S., Togo, H. *Synthesis* **2009**, 2329. (e) Clayden, J., Clayton, J., Harvey, R. A., Karlubikova, O. *Synlett.* **2009**, 2836. (f) Kempe, K., Lobert, M., Hoogenboom, R., Schubert, U. S. *J. Comb. Chem.* **2009**, *11*, 274. (g) Minakata, S., Morino, Y., Ide, T., Oderaotoshi, Y., Komatsu, M. *Chem. Commun.* **2007**, 3279. (h) Ishihara, M., Togo, H.

- Tetrahedron*. **2007**, 63, 1474. (i) Sayama, S. *Synlett*. **2006**, 1479. (j) Cwik, A., Hell, Z., Hegedus, A., Finta, Z., Horvath, Z. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 3985. (k) Wipf, P., Wang, X. *J. Comb. Chem.* **2002**, 4, 656.
25. Wu, X.-F., Neumann, H., Neumann, S., Beller, M. *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 13619.
26. (a) Ackermann, L., Barfusser, S., Kornhaass, C., Kapdi, A. R. *Org. Lett.* **2011**, 13, 3082. (b) Lewis, J. C., Berman, A. M., Bergman, R. G., Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 2493. (c) Lewis, J. C., Wiedemann, S. H., Bergman, R. G., Ellman, J. A. *Org. Lett.* **2004**, 6, 35.
27. (a) Mei, L., Hai, Z. J., Jie, S., Ming, Z. S., Hao, Y., Liang, H. K. *J. Comb. Chem.* **2009**, 11, 220. (b) Mohammadpoor-Baltork, I., Khosropour, A. R., Hojati, S. F. *Synlett* **2005**, 18, 2747. (c) Mohammadpoor-Baltork, I., Khosropour, A. R., Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2007**, 8, 200. (d) Jnaneshwara, G. K., Deshpande, V. H., Lalithambika, M., Ravindranathan, T., Bedekar, A. V. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 459. (e) Shaabani, A., Seyyedhamzeh, M., Maleki, A., Rezazadeh, F. *Appl. Catal. A*. **2009**, 358, 146. (f) Mohammadpoor-Baltork, I., Mirkhani, V., Moghadam, M., Tangestaninejad, S., Zolfigol, M. A., Abdollahi-Alibeik, M., Khosropour, A. R., Kargar, H., Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2008**, 9, 894. (g) Mohammadpoor-Baltork, I., Moghadam, M., Tangestaninejad, S., Mirkhani, V., Hojati, S. F. *Catal. Commun.* **2008**, 9, 1153. (h) Wang, L., Guo, B., Li, H.-X., Li, Q., Lia, H.-Y., Lang, J.-P. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 15570. (i) Li, X. N.; Zhou, B. Y., Zhang, J., She, M. Y., An, S. J., Ge, H. X., Li, C., Yin, B., Li, J. L., Shi, Z. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 8, 1626. (j) Ge, H. X., Liu, P., Li, X. N., Sun, W., Li, J. L., Yang, B. Q., Shi, Z. *Tetrahedron* **2013**, 69, 6591.
28. (a) Kochi, J. K. *Organometallic Mechanisms and Catalysis*; Academic: New York, **1978**. (b) Heck, R. F. *Palladium Reagents in Organic Syntheses*; Academic: New York, **1985**. (c) Hartley, F. R., Patai, S. *The Chemistry of Metal-Carbon Bond*; Wiley: New York, **1985**; Vol. **3**. (d) McQuillin, F. J., Parker, D. G., Stephenson, G. R. *Transition Metal Organometallics for Organic Synthesis*; Cambridge University Press: Cambridge, **1991**. (e) Tamao, K. *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B. M., Fleming, I., Pattenden, G., Eds., Pergamon: New York, **1991**; Vol. **3**, p **435**. (f) Hegedus,



- L. S. *Organometallics in Organic Synthesis*; Schlosser, M., Ed.; Wiley: New York, **1994**, 383.
29. Aliprantis, A., Canary, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6985.
30. Farina, V., Krishnan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9585.
31. Ozawa, F., Yamamoto, A. *Chem. Soc. Jpn.* **1987**, 773.
32. Stang, P. J., Kowalski, M. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3356.
33. (a) Ozawa, F., Ito, T., Yamamoto, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6457. (b) Ozawa, F., Ito, T., Nakamura, Y., Yamamoto, A. *Bull. Chem. Sc. Jpn.* **1981**, *54*, 1868. (c) Ozawa, F., Kurihara, K., Yamamoto, T., Yamamoto, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**, *58*, 399. (d) Ozawa, F. Hidaka, T., Yamamoto, T., Yamamoto, A. *J. Organomet. Chem.* **1987**, *330*, 253. (e) Ozawa, F. Kurihara, K., Fujimori, M., Hidaka, T., Toyoshima, T., Yamamoto, A. *Organometallics*. **1989**, *8*, 180.
34. Negishi, E., Anastasia, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1979.
35. King, A. O., Okukado. N., Negishi, E. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 683.
36. Dang, H. P, Linstrumelle, G. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 191.
37. Soderquist, J. A., Matos, K., Rane, A., Ramos, J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2401.
38. Takai, K., Oshima, K., Nozaki, H. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2531.
39. Stille, J., Simpson, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2138.
40. Nicolaou, K. C., Veale, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7515.
41. Pasto, D. J. *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 8 (Eds.: B. M. Trost, I. Fleming), Pergamon, Oxford, **1991**, 471.
42. Fürstner, A., Radkowski, K. *Chem. Commun.* **2002**, 2182.
43. Trost, B. M., Ball, Z. T.; Jöge, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7922.
44. Ohyabu, N., Nishikawa, T., Isobe, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8798.
45. Hinman, A., Du Bois, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11510.
46. a) Smith, A. L., Nicolaou, K. C. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2103; b) Nicolaou, K. C., Smith, A. L. *Modern Acetylene Chemistry* (Eds.: Stang, P. J., Diederich, F.), VCH, Weinheim, 1995, p. 203; c) Nicolaou, K. C., Dai, W.-M. *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1453; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1387.
47. Isloor, M., Kalluraya, B., Shetty, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3784.

48. Vijesh, M., Isloor, A. Prabhu, M., Ahmad, V., Malladi, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5460.
49. Chandrakantha, P., Shetty, V., Nambiyar, N., Isloor, A.M. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1206.
50. Tripathi, R. P., Yadav, A.K., Ajay, A., Bisht, S. S., Chaturvedi, V., Sinha, S.K. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 142.
51. Li, X., Lin, Y., Wang, Q., Yuan, Y., Zhang, H., Qian, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1274.
52. Montagu, V., Balzarini, J., Snoeck, R., Andrei, G., Agrofoglio, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 778.
53. Isloor, M., Kalluraya, B., Rao, M. J. *Saudi Chem. Soc.* **2000**, *4*, 265.
54. Sinha, M. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 3573.
55. Hanesian, S.; Vakiti, R. R.; Dorich, S.; Banerjee, S.; Lecomte, F.; DelValle, J. R.; Zhang, J.; Deschênes-Simard, B. *Angew. Chem. Int.* **2011**, *50*, 3497.
56. Fumio, S., Araki, H. *Macromolecules.* **2004**, *37*, 8510.
57. Kometani, T., David, S. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5384.
58. Yu, F. et al. *Euro. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 258.
59. Huasin, S. N., Gentile, B., Sauers, R. R., Eichholz, A. *Carbohydrate Res.* **1983**, *118*, 57.
60. Kikkeri, R., Trabousi, H., Humbert, N., Kontecka, G. E., Yellin, A. R., Melman, G., Elhabiri, M., Gary, A. M. A., Shanzer, A. *Inorg. Chem.*, **2007**, *46*, 2485.
61. Liechti, C., Séquin, U. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 11.
62. Sheng, L., Rader, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*(23), 5630.
63. Beckmann, H., Wittmann, V. *Org. Lett.* **2010**, *12*(21), 4936.
64. Corey, E., Li, W. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*(1), 1.
65. David, S., John, W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3979.
66. Shaikh, M., Subhedar, D., Nawale, L. *Med. Chem. Commun.* **2015**, *6*, 1104.
67. Bartroli, J., Turmo, E. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1855.
68. Ghosh, A. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 7967.
69. Shaaban, K., Saunders, M. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80*(1), 2.
70. Bartroli, J., Turmo, E. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1855.
71. Matsunaga, S.; Fusetani, N.; Hashimoto, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 847.
72. Yoshida, M., Onda, Y. *Biopolymers (Pept Sci)*. **2016**, *106*, 404.

73. Mubarak, H., Dnyaneshwar, D. *Med. Chem. Commun.* **2015**, 6, 1104.
74. Bissantz, C., Kuhn, B. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5061; Böhm, H., Banner, D. *ChemBioChem.* **2004**, 5, 637.
75. Sharar, M., Bozeya, A. *Green Chem. Lett. Rev.* **2017**, 10:3, 121; Naeimi, H., Babaei, Z. *Green Chem. Lett. Rev.* **2017**, 10:3, 129.
76. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved standard, 2nd ed., CLSI document M38-A2; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, 2008.
77. (a) Dröge, W. *Physiol. Rev.* **2002**, 82, 47. (b) Valko, M., Rhodes, C. *Chem.-Biol. Interact.* **2006**, 160, 1. (c) Valko, M., Leibfritz, D. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2007**, 39, 44. (d) Soler, C., Espin, J.C. *Phytochem. Anal.* **2000**, 11, 1.
78. Böhm, H., Banner, D. *Chem. Bio. Chem.* **2004**, 5, 637.
79. Gál, B., Bucher, C. *Mar. Drugs.* **2016**, 14, 206; Hernandez, M., Cavalcanti, S. *Current Drug Targets*, **2010**, 11, 00-00.
80. International standard. Biological evaluation of medical devices. ISO, 2009, 10993-5.
81. Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins, Baltimore, 2005.