UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS

Facultad de Ciencias y Educación

Proyecto Curricular de Licenciatura en Química

Línea de Investigación en Síntesis Orgánica

Síntesis de antifúngicos triazolicos mediante “química click” y evaluación de su actividad biológica.

Autor: Fabián Andrés Flórez Vasquez

Director: Josué Anselmo García Ortiz

Bogotá 2015

Con cariño y devoción para Martha y Hernán,
Mis padres, mi apoyo y mi mayor bendición.
Para July por su incondicional amor,
mi fuerza, mi compañera y mi gran motivación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por poner en mi camino a las personas e instituciones que hicieron posible este trabajo. Agradezco al Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEM-UNAM, en especial al Doctor Erik Cuevas Yañes por el conocimiento y experiencias compartidas; a la Universidad distrital Fráncico José de Caldas por hacer de mi hoy en día un profesional; al proyecto curricular de licenciatura en Química por cultivar y formar la mayor de mis pasiones, a la línea de investigación en síntesis orgánica por darme la oportunidad de formar, hacer cumplir uno de mis grandes sueños. Agradezco profundamente a Josué García como un padre, por su dirección, consejo y apoyo a lo largo de toda mi formación, a Luis Carlos García por su apoyo y contribución, a Luisa Otálora y Cindy Pulido, como compañeras de trabajo por su apoyo y dedicación a July Garzón como fiel escudera en la síntesis orgánica, a William Fernández por su apoyo en las jornadas de trabajo y a todas aquellas personas que contribuyeron al buen término de mi formación y la presente investigación.

ABREVIATURAS

^{13}C-RMN	Resonancia Magnética de Carbono 13
^{1}H- RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
B/G	Benedict / Glucosa
CTF	Catalisis de transferencia de fases
CuAAC	Cicloadicion dipolar alquino azida
D	Debye
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DMF	Dimetil furano
DMSO	Dimetil sulfoxido
EDTA	Acido etilendiamino tetracetico
EtOH	Etanol
F/G	Fheling/ Glucosa
FT-IR	Espectroscopia infraroja
g	gramo
η.	Indice de Refraccion
Mg	Miligramo
Ml	Mililitros
Oac	acetato
P.F.	Punto de Fusion
PHS	poli hidroxi estireno
t-BtOH	Tercbutanol
TEA	Trietilmina
TEBA-Cl	Cloruro de trietil bencil amonio

CONTENIDO

1. INTRODUCCION 10

2. FORMULACIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA 11

2.1. DESCRIPCIÓN DE PROBLEMA **¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

2.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA..... **¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

2.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA..... 12

3. MARCO DE REFERENCIA 13

3.1. QUIMICA CLICK 13

3.1.1. CICLO ADICIÓN DIPOLAR DE ALQUINOS Y AZIDAS 13

3.1.2. CICLO ADICIÓN DIPOLAR DE ALQUINOS Y AZIDAS CATALIZADA POR COBRE (CUAAC) 14

3.1.2.1. Solventes, catalizadores y aditivos en CuAAC 15

3.1.3. MECANISMO DE REACCIÓN CUAAC 17

3.1.4. APLICACIONES DE LA "QUÍMICA CLICK" Y LA CUAAC 19

3.1.4.1. SÍNTESIS DE NUEVOS MATERIALES (POLÍMEROS) 19

3.1.4.1.1. Síntesis de dendrimeros 20

3.1.4.1.2. Síntesis de polímeros derivados de Ácidos Carboxílicos utilizando CuAAC..... 21

3.1.4.2. APLICACIONES EN CIENCIAS MÉDICAS (SÍNTESIS Y APLICACIONES EN QUÍMICA BIOMÉDICA) 23

3.1.4.2.1. Mimético del enlace amida (enlace peptídico) y grupo fosfato 23

3.1.4.2.3. Síntesis de macro ciclos 26

3.1.4.2.4. Síntesis orgánica (antimicóticos, fármacos y nuevas moléculas) 27

3.2. ANTI FÚNGICOS 29

3.2.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTI FÚNGICOS 30

3.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIFÚNGICOS 30

3.2.3. AZOLES 31

3.2.3.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TRIAZOLES 32

3.2.3.2. Estructura de los derivados antifungicos triazolicos 34

4. OBJETIVOS 37

4.2. OBJETIVO GENERAL..... 37

4.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 37

5. METODOLOGIA..... 38

5.3. HIPOTESIS 39

5.4. REACTIVOS Y EQUIPOS .....**¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

5.5. METODOS GENERALES..... 39

5.5.1. Síntesis de alquinos..... 40

5.5.2. Síntesis de azidas..... 41

5.5.3. Síntesis de triazoles..... 43

5.5.4. Identificación de compuestos..... 44

*5.5.5. Monitoreo y control cromatografico de las reacciones .... **¡Error! Marcador no definido.***

5.5.6. Antibiograma..... 44

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 47

6.3. SINTESIS DE FENIL ACETILENO..... 47

6.4. SINTESIS DE FENIL AZIDA 48

6.5. SINTESIS DE BENCIL AZIDAS 49

6.6. SÍNTESIS DE 1,2,3 TRIAZOLES MEDIANTE CUAAC 54

6.7. SISTEMA BENEDICT / GLUCOSA COMO FUENTE DE CU1+..... 55

6.8 SOLVENTE EMPLEADO EN CUAAC.....**¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.**

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 60

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 62

ANEXOS……..…64

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1 clicoadicion dipolar alquino azida [4]..... 14

Fig. 2 Cicloadicion dipolar alquino-azida catalizada por Cu+1..... 15

Fig. 3 Aditivos acomplejantes más comunes de cobre utilizados en CuAAC, a) (tris-(bencil- triazolmetil) amina) (TBTA) b) clorhidrato de trietanol amina c) batofenantrolina ..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 4 Mecanismo de reaccion CuAAC [2] 18

Fig. 5 síntesis de dendrimeros mediante CuAAC a) 1-azida 2-dendron b) dendrimero [5]..... 20

Fig. 6 dendrones utilizados en CuAAC para la síntesis de dendrimeros [5]. ..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 7 Ácidos carboxílicos funcionalizados (grupo azida) utilizados en la síntesis de polímeros ..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 8 . Preparación del alquino funcionalizado a partir de PHS [3]. 21

Fig. 9 Preparación de polímeros a partir de ácidos carboxílicos y PHS funcionalizados 22

Fig. 10 . Síntesis de glicopolimeros medianre CuAAC a) CuBr2, ácido ascórbico, propilamina, ta, Me2SO (EtO)3Si(CH2)3N3, tolueno, reflujo [3]..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 11 Comparación estructural entre enlace amida y anillo triazol [21]. 24

Fig. 12 Ejemplos de péptido miméticos triazolicos [21]. **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 13 Ejemplos de reemplazo de grupo fosfato por un triazol [21]. 25

Fig. 14 Tyrocidina y su análogo triazol-glicosilado [4]. **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 15 macrocilos y cilcos peptídicos generados mediante CuAAC [4 .. 26

Fig. 16 1,2,3 Triazoles inividores de VIH 27

Fig. 17 1,2,3 Triazoles con actividad antifungica [11] 27

Fig. 18 2 - [1 - (4-clorofenil)-1H-(1,2,3) triazol-4-il] propan-2-ol [10..... 28

Fig. 19 Acción de los anti fúngicos [7]..... 32

Fig. 20 Síintesis de fenilacetileno..... 40

Fig. 21síntesis de aril azidas..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 22 Sintesis de Benzi azidas ..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 23 síntesis de 1,2,3 Triazoles 1,4 disustituidos mediante CuAAC..... **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 24 Método de sensidiscos [11]..... 46

Fig. 25 Bandas en los espectros de bencil azidas. 53

Fig. 26 Mecanismo CTF bencil azidas.[52]. **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 27 Producción de Cu^{1+}..... 56

Fig. 28 % de rendimiento 1,2,3 Triazol B / G **¡Error! Marcador no definido.**

Fig. 29 % rendimiento 1-Fenil, 4 Fenil 1,2,3 Triazol..... 57

Fig. 30 % rendimiento 1(2,4 dicloro bencil) 4-fenil 1,2,3 triazol..... 57

Fig. 31 % Rendimiento 1bencil 4,fenil 1,2,3 Triazol 57

Fig. 32 % Rendimieniento 1(2-clorobencil) 4-fenil 1,2,3 triazol 57

Fig. 33 Cromatograia en capa fina de 1,2,3 triazoles **¡Error! Marcador no definido.**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de los anti fúngicos [] 30

Tabla 2 Clasificación de los anti fúngicos según su sitio de acción [6]. ... 30

Tabla 3 Derivados antifungicos Triazolicos..... 34

Tabla 4 Resultados síntesis de Fenil acetileno 47

Tabla 5 FT-IR Fenil acetileno..... 48

Tabla 6 Sintesis de Fenil azida 48

Tabla 7 FT-IR Fenil azida 49

Tabla 8 Sintesis de cloruro de bencilo 49

Tabla 9 Sintesis de TEBA-Cl..... 50

Tabla 10 FT-IR TEBA-Cl 50

Tabla 11 Sintesis de bencil azidas..... 50

Tabla 13 Resultados Sintesis de 1,2,3 triazoles 54

Tabla 14 Resultados accion catalitica Cu1+ B / G 56

1. INTRODUCCION

La "química clic” es una concepción muy acogida en síntesis orgánica, química supramolecular, química medicinal, química de nuevos materiales (polímeros), nano química, bioquímica y biología celular; introducida por *Barry Sharpless* en 2001, inspirada en la síntesis de macromoléculas a partir de pequeñas unidades estructurales[1]. Dicha concepción aporta, nuevos métodos para la síntesis orgánica, mediante el empleo de diferentes reacciones que permiten la síntesis de nuevos compuestos con diferentes características. Hasta la fecha, la reacción más importante de esta categoría es la ciclo adición dipolar entre alquinos terminales y acidas terminales catalizada por Cu+ (Reacción de HUISEN), denominada CuAAC. Este método en especial, contribuye a la formación de 1,2,3 triazoles cíclicos 1,4 disustiuidos como se mostrara en los apartados subsiguientes. Además procedimiento ofrece la formación de nuevas moléculas con diferentes principios activos, actividad biológica y aplicaciones. Los triazoles sintetizados a partir de este método presentan una alta estabilidad e inercia a diferentes medios, pueden ser purificados fácilmente mediante filtración[3,4]·Los triazoles, se asocian particularmente con fármacos de actividad antimicótica, debido a su actividad biología

(inhibición de citocromos), como se explicará mas adelante; aunque en particular son empleados los 1,2,4 triazoles di sustituidos, la CuAAC presenta un potente método para la producción de 1,2,3 triazoles, aunque no se ha determinado en particular la capacidad antifúngica de compuestos de esta naturaleza, se han efectuado con anterioridad aportes a la descripción del potencial anti fúngico de estos compuestos, por lo cual se propone la síntesis de 1,2,3 triazoles 1,4 di sustituidos[1].

2. FORMULACIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

2.1. DESCRIBCIÓN DEL PROBLEMA

Debido a que los organismos del reino fungí; son causantes de enfermedades cutáneas en el ser humano e infección en los cultivos; entre otros. Es necesario el desarrollo de moléculas que presenten actividad anti fúngica en el tratamiento de estas afecciones; aunque dicho campo está bastante estudiado y se conocen varios compuestos con dichas características; comúnmente los 1,2,4 triazoles que son ampliamente difundidos como fármacos (Cetoconazol, Itraconazol, Fluconazol, Voriconazol, entre otros)[2]. Son compuestos de gran actividad antifúngica y valor terapéutico, pero difícil producción, haciendo necesaria la introducción de nuevas sustancias y nuevos compuestos que puedan ser utilizados en reemplazo de estos; para esto la "Química Click” y en especial la CuAAC ofrece una gran alternativa para la síntesis de 1,2,3 triazoles y abre puerta al desarrollo de nuevos compuestos con actividad biología

antifúngica por lo cual el fundamento de la presente investigación es sintetizar 1,2,3 triazoles 1,4 di sustituidos con posible actividad biológica antifúngica y evaluar la misma en organismos del reino fungí.

2.2. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Se sintetizara un conjunto de derivadod 1,2,3 triazólicos de actividad anti fúngica mediante CuAAC, y se evaluara su actividad biologíca en hongos de la especie *Phytopthora Infestans Cancisys*.

2.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo sintetizar anti fúngicos triazólicos mediante la CuAAC y evaluar su actividad biológica en hongos de la especie *Phytopthora Infestans Cancisys* ?

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1. QUIMICA CLICK

"Quimica click” es un término introducido por Sharpless en 2001 y describe la química encaminada a la síntesis de nuevas sustancias y sus reacciones mediante la unión de moléculas de forma rápida y sencilla; dichas reacciones "click” deben cumplir ciertas características como [3].

- Ser modular: que contribuya a la formación de moléculas grandes
- Amplio alcance
- Muy alto rendimiento
- Formación de subproductos inofensivos
- Estereoespecifica
- Fácil de realizar: condiciones de reacción sencillas
- insensible al agua y al oxigeno
- reactivos iniciales de fácil obtención
- realizable en solventes sencillos de remover
- De fácil separación por métodos no cromatográficos [4].

3.1.1. CICLO ADICIÓN DIPOLAR DE ALQUINOS Y AZIDAS

Las cicloadiciones 1,3, dipolares entre alquinos y azidas, constituyen una poderosa herramienta sintética, además de ser la reacción "click” más importante; como lo demuestran su amplio campo de acción y el gran número de objetivos en que son empleadas [5]. En los últimos años, se ha consolidado esta reacción como método para la formación de heterociclos de cinco miembros; estas reacciones manifiestan su importancia en la capacidad para unir mediante un heterociclo diferentes tipos de dipolos y diapolarofilos, además de la diferente regio selectividad observada en los

productos y la posible transformación posterior de los productos generados; por lo cual se puede sintetizar así, un sinfín de moléculas funcionalizadas .En la reacción llevada a cabo mediante una catálisis térmica, se obtienen dos isómeros, el 1,4 disustituido y el 1,5 disustiido; de difícil separación, aunque tiene rendimientos relativamente favorables, requiere temperaturas elevadas (60-120°C), y presenta tiempos de reacción que varían entre horas y días, debido a que no es regioselectiva y de fácil desarrollo, tiene un uso muy limitado [6,7,8]:

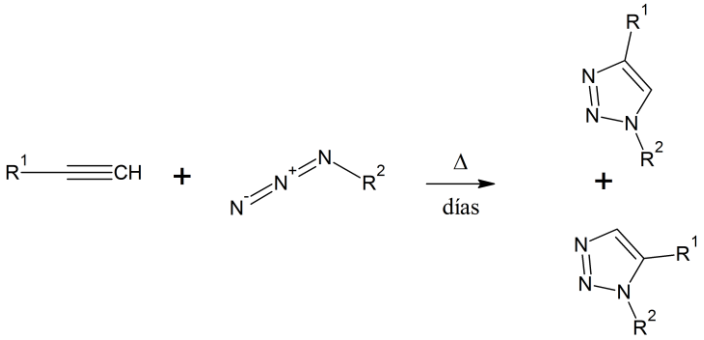


Fig. 1 clicoadicion dipolar alquino azida [4]

3.1.2. CICLO ADICIÓN DIPOLAR DE ALQUINOS Y AZIDAS CATALIZADA POR COBRE (CuAAC)

La cicloadición dipolar de alquinos y acidaz catalizada por Cu+ (CuAAC); es la reacción que impulsa todo el desarrollo de la "química click”, debido a que cumple todas las características y es la de mayor aplicación constituye la joya de la "química click”. En la catálisis efectuada por Cu^{1+}, se obtienen elevados rendimientos y una dramática disminución de los tiempos de reacción; (hasta en un 80%) y como producto solamente el isómero 1,2,3 triazol 1,4 disustituido; paralelamente esta reacción se puede realizar en solventes como agua y etanol, lo que facilita enormemente su aplicación,

dado que sin importar la naturaleza aromática o alifática de los dipolos (alquinos y azidas) se genera el heterociclo [9,10,11].

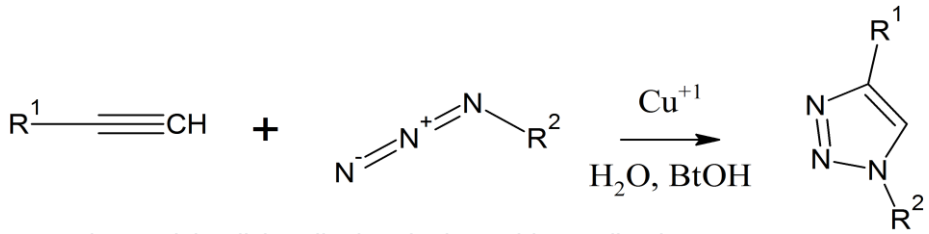


Fig. 2 Cicloadicion dipolar alquino-azida catalizada por Cu+1

Los 1,2,3 triazoles generados mediante este método, presentan:

- Alta estabilidad química (en general, son inertes a un medio hidrolítico, oxidante, reductor, incluso a elevadas temperaturas).
- Fuerte momento dipolar (5.2 a 5.6 D).
- un carácter aromático, una buena capacidad aceptora de enlaces mediante puentes de hidrogeno.

Así, puede interactuar de manera productiva en varias formas con las moléculas biológicas y distintos materiales, lo que les permite tener variadas aplicaciones en ciencias médicas y el desarrollo de nuevos materiales [12,3].

3.1.2.1. Solventes, catalizadores y aditivos en CuAAC

Como se mencionó anteriormente, el uso de Cu^{1+} como un catalizador de la reacción de Huisgen, impulsa drásticamente el desarrollo de la "química click";con tal fin, se emplea una sal de Cu^{2+} : comúnmente $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) y $Cu(CH_3COO)_2$, entre otros [4], para un posterior tratamiento con un agente reductor, los más comunes son ascorbato de sodio o sodio metálico; los cuales reducen constantemente el Cu^{2+} a Cu^{1+} para mantener constante la concentración de los iones catalíticos en la mezcla de reacción y CuI y nano

partículas de cobre, como fuentes directas de Cu^{1+} [11]. Cuando los reactivos a emplear en la CuAAC, son solubles en agua; se emplea como solvente una mezcla t-BtOH/H_2O. Aunque es común el uso de una base (TEA, DIPEA) para facilitar la formación del acetiluro de cobre [13,14,15,23].

En los tratamientos con solventes orgánicos, en los cuales las sales de cobre no son solubles, es necesario emplear agentes acomplejantes que aumenten la solubilidad de iones Cu^{2+} y Cu^{1+}, para estos fines los ligandos más utilizados se muestran en la figura 3.

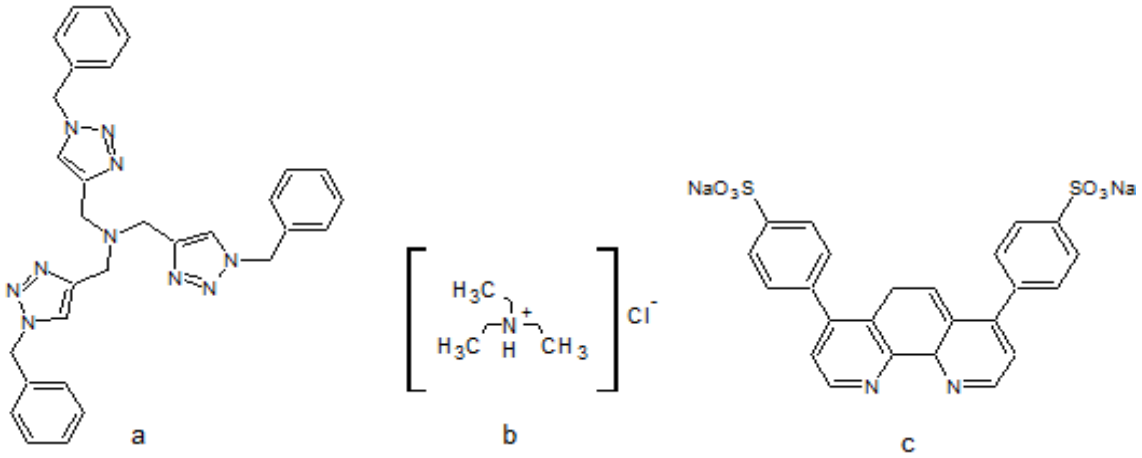


Fig. 3 Aditivos acomplejantes más comunes de cobre utilizados en CuAAC, a) (tris-(benzil-triazolmetil) amina) (TBTA) b) clorhidrato de trietanol amina c) batofenantrolina

El Cu^{1+} ha mostrado grandes ventajas en su eficiencia como catalizador, puesto que también presenta una fácil remoción mediante filtración o acomplejamiento con EDTA. También, se ha demostrado que puede ser reutilizado varias veces (3 a 4 veces) sin perder su eficiencia catalítica [16,17,23,3].

Para el uso directo de Cu+ se emplea comúnmente CuI, originalmente usado debido a su solubilidad parcial en disolventes de polaridad intermedia, tal como acetonitrilo, THF, acetona, piridina y DMSO y es particularmente adecuado para condiciones anhidras [1]. Hay una amplia gama de otras fuentes de Cu+ las fuentes que se han introducido para mayor solubilidad en disolventes orgánicos ([Cu $(CH_3CN)_4$] PF_6, (EtO) 3P: CuI, Cu $(CH_3CN)_4$ OTf) *o* para reactividad mejorada $Cu(OAc)_2$ en comparación con $CuSO_4.5H_2O$[1,4,5].

3.1.3. MECANISMO DE REACCIÓN CuAAC

Una imagen del mecanismo de la reacción catalizada por cobre fue propuesta inicialmente por Meldal, posteriormente Sharpless y compañeros de trabajo, han verificado a través de medios computacionales e mecanismo de reacción de la CuAAC [18,19, 4, 7]. La intermediación de cobre (I) en acetiluros CuAAC se postuló inicialmente en base a la falta de reactividad de los alquinos internos. Poco después, se realizó un estudio computacional de los pasos elementales de la secuencia. Los cálculos iniciales se centraron en los caminos de reacción posibles entre Cu^{1+} ,acetiluros y azidas orgánicas (propino y azida de metilo fueron elegidos por simplicidad). El mecanismo, esta descrito por las siguientes etapas:

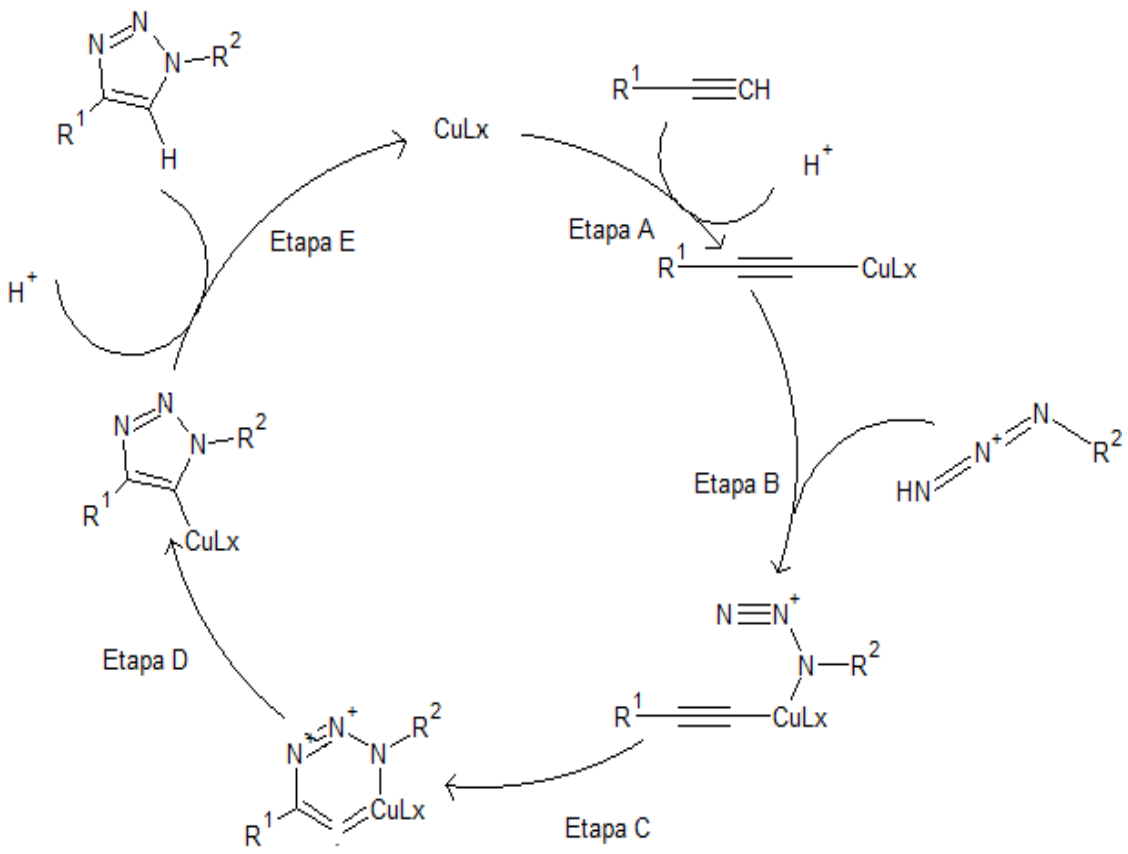


Fig. 4 Mecanismo de reaccion CuAAC [2]

A continuación se describen las etapas presentadas en el mecanismo de reacción:

Etapa A	**Etapa B**
En primera instancia, se da la formación del acetiluro de cobre, que probablemente se produce a través de la intermediación de un alquino-complejo de cobre. La coordinación de un alquino de cobre se calcula para mover el pKa del protón terminal de alquino, en un medio acuoso	En la secuencia propuesta, la azida se activa mediante la coordinación de cobre, formando un compuesto intermedio (3). Esta etapa de intercambio de ligando es casi termoneutral computacionalmente.
Etapa C	**Etapa D**

Cuando 3 se convierte en el inusual intermediario de 6 miembros metal-cilco (4). Se acelera la formación del intermediario enorme lograda por la catálisis mediante Cu^{+}.	La regioselectividad de la reacción está fundamentada en la unión tanto del alquino como de la azida al Cu antes de la formación de un enlace C-C y la barrera de contracción del anillo 4 lo que conduce al derivado 5.
Etapa E Por el rompimiento del intermediario 5 se obtiene el triazol y el Cu libre completando así el ciclo catalítico [4,**¡Error! Marcador no definido.**,23].	

3.1.4. APLICACIONES DE LA "QUÍMICA CLICK" Y LA CuAAC

Las aplicaciones de la "química click" y en especial de la CuAAC son bastante amplias, están distribuidas de acuerdo a las ramas de la química que impulsan o su fin; entre las más importantes se destacan el desarrollo de nuevos materiales (polímeros), las ciencias biomédicas y la química orgánica:

3.1.4.1. SÍNTESIS DE NUEVOS MATERIALES (POLÍMEROS)

Dentro de los estudios realizados, se encuentran la síntesis de nuevos dendrimeros, glicopolimeros y polímeros derivados de acidos carboxílicos como se muestra a continuación:

3.1.4.1.1. Síntesis de dendrimeros

Los dendrímeros son macromoléculas altamente ramificadas, las cuales se preparan mediante la repetición de un conjunto dado de reacciones que se caracterizan por tener elevados rendimientos. Las reacciones más comunes para tales fines son las amidaciones, reducciones y la síntesis de Williamson, entre otras [20,21,5].

En el año 2005, los autores: Jae Wook*, Et al. (Department of Chemistry, Dong-A University, Hadan-2-dong, Busan 604-714, Korea).* Realizan la síntesis convergente de dendrímeros de triazol por la reacción de trimerización de Fréchettype azido- dendrones a través de la CuAAC, utilizando como nucleo tripropargilamina. De manera genral para la síntesis de dendrimeros, en este estudio de utiliza una mezcla de tripropargilamina y 1-azida 2- dendrones en DMF/H_2O; en presencia de 5% en moles de CuSO4 • 5H_2O con 10% en moles de ascorbato de sodio. Se mantiene la reacción entre 50 y 60°C y finalmente se separa el dendrimero mediante cromatografía en columna [22].

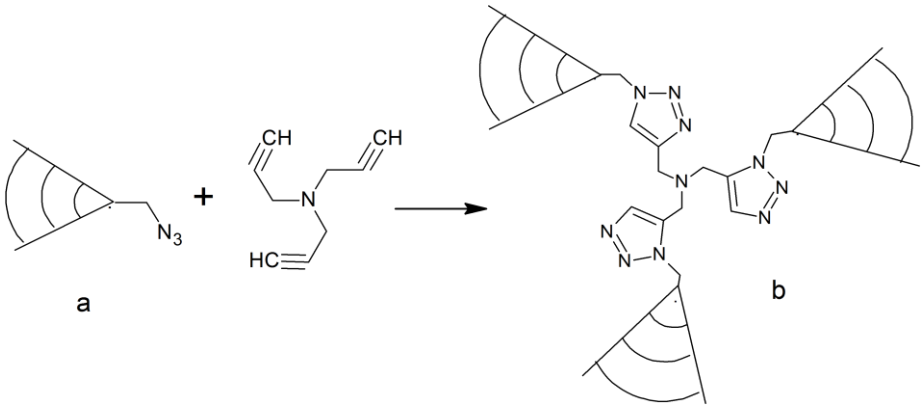


Fig. 5 síntesis de dendrimeros mediante CuAAC a) 1-azida 2-dendron b) dendrimero [5].

El desarrollo de la reacción, es evaluado mediante espectroscopia IR, siguiendo la desaparición del grupo N_3, en la banda característica a los 2100 cm^{-1}. Todos los compuestos se confirmaron por ^{1}H-RMN y ^{13}C RMN y espectroscopia de masas.

3.1.4.1.2. Síntesis de polímeros derivados de Ácidos Carboxílicos utilizando CuAAC

Los polímeros de ácidos carboxílicos, son preparados comúnmente bajo la protección de los monómeros, el autor Anders y sus colaboradores, en al año 2009 proponen la síntesis de estos polimeritos mediante la CuAAC, para esto parten de ácidos carboxílicos diferentes, dichos acidos se funcionalizan con el grupo azida, mediante la sustitución nucleofilicia de un bromuro con NaN_3 [23,24].

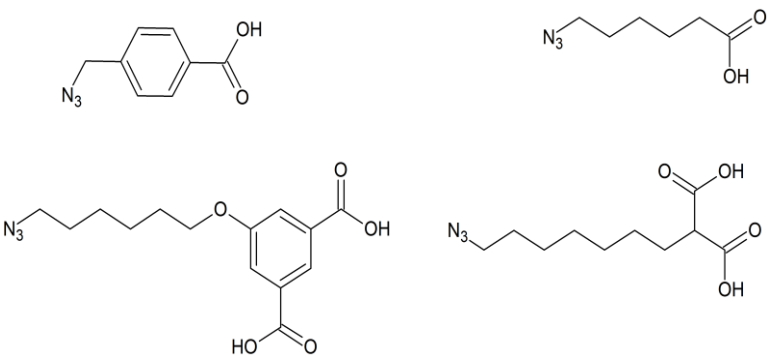


Fig. 7 Ácidos carboxílicos funcionalizados (grupo azida) utilizados en la síntesis de polímeros [20]

Para la síntesis del polímero, el alquino funcional es sintetizado a base de poliestireno, se preparó a partir del comercialmente disponible poli (4- hidroxiestireno) (PHS) que se hizo reaccionar con

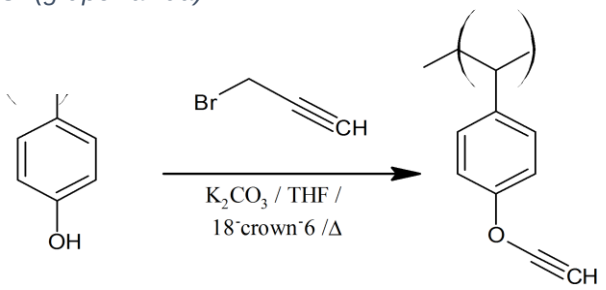


Fig. 6 . Preparación del alquino funcionalizado a partir de PHS [20].

bromuro de propargilo condiciones de Williamson, como se muestra en la figura 7.

El polímero funcionalizado con alquino se hizo reaccionar entonces con las azidas preparadas, proporcionando un esqueleto de poliestireno cargado con ácidos carboxílicos (figura 8). El método proporciona los polímeros deseados con altos rendimientos, sin alquinos sin reaccionar y sin ningún subproducto detectado claramente [20].

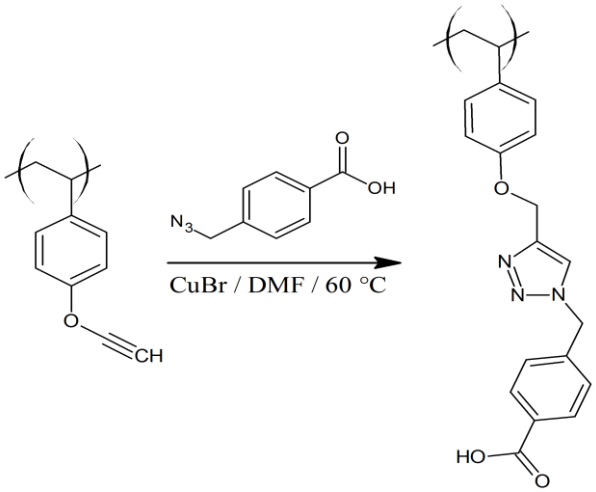


Fig. 8 Preparación de polímeros a partir de ácidos

3.1.4.1.3. Síntesis de glicopolímeros

La cicloadición 1,3-dipolar de alquinos y azidas ha sido también una metodología útil en la preparación de nuevos glicopolímeros sintéticos, con estructuras macromoleculares bien definidas. Los glicopolímeros han aparecido en el área de la glicobiología con la intención de crear herramientas sintéticas para la investigación de interacciones glicopolímero-proteína, interesantes por sus aplicaciones biomédicas y farmacéuticas. Las estrategias químicas para acceder a estos neoglicoconjugados son variadas, pero la CuAAC ofrece una amplia alternativa para su síntesis [**¡Error! Marcador no definido.**].

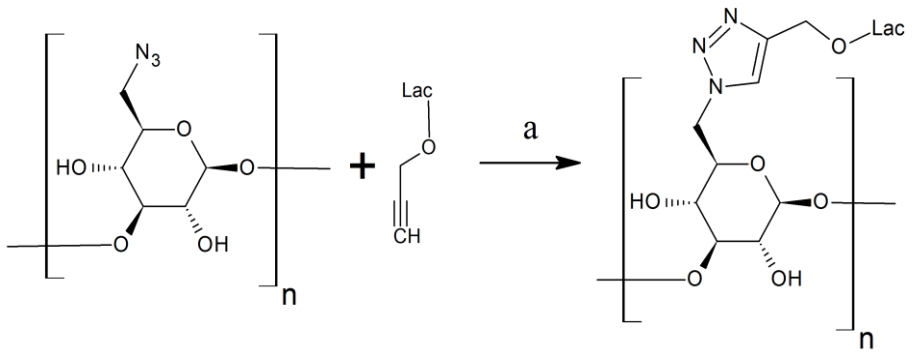


Fig. 9 Síntesis de glicopolimeros medianre CuAAC a) CuBr2, ácido ascórbico, propilamina, Me_2SO $(EtO)_3Si(CH_2)_3N_3$, tolueno, reflujo [20]].

Para la construcción de glicopolímeros mediante "click chemistry", los polímeros que contienen alquinos han sido mucho más usados que los que contienen azidas, principalmente para reducir el riesgo de acumular un elevado número de grupos azido en la misma molécula. Hasegawa (2005) utiliza polímeros funcionarizados con azidas para la síntesis de (l,3)-(3-D-glucano con restos de lactosa, como un posible transportador de genes, obtenido con gran rendimiento por reacción de 6- azido-6-deoxi-curdlan 81 y propargil lactosa, como se muestra en la figura 9 [**¡Error! Marcador no definido.**].

3.1.4.2. APLICACIONES EN CIENCIAS MÉDICAS (SÍNTESIS Y APLICACIONES EN QUÍMICA BIOMÉDICA)

Debido a las propiedades que presentan los 1,2,3 triazoles su actividad biológica es objeto de estudio en la actualidad; por lo cual se han encontrado diferentes aplicaciones en las ciencias médicas, entre las cuales están:

3.1.4.2.1. Mimético del enlace amida (enlace peptídico) y grupo fosfato

Hay importantes indicios que apuntan a que el grupo triazol muestra similitud estructural con el enlace amida, imitando un enlace peptídico, dependiendo de su patrón de sustitución. El par de electrones libres del nitrógeno 3, del anillo imita la del oxígeno en el grupo carbonilo, el carbono 5 se encuentra polarizado y puede actuar como un donante de protones tal como la amida N-H, y el carbono 4 es electrónicamente similar al carbono del grupo carbonilo. Aunque el anillo triazol tiene más marcadas estas características, presenta un momento dipolar más fuerte, por lo cual es un mimético de gran importancia insensible a enzimas proteasas, medios oxidantes, medios reductores o hidrolizantes [23].

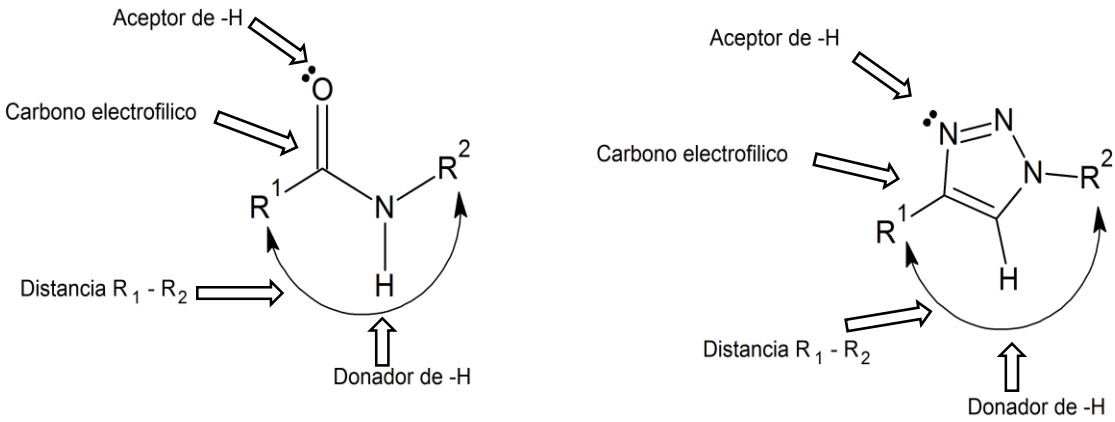


Fig. 10 Comparación estructural entre enlace amida y anillo triazol [21].

La modelización molecular, por otra parte, también se ha sugerido que un triazol 1,4 disustituido podría ser consistente con la geometría de un enlace petidico; El uso de triazoles en el campo de peptidomiméticos se ve reforzado por un informe que mostró que los triazoles e2-aminoácidos eran sustitutos eficaces de dipéptidos Además, los 1,4-disustituidos oligómeros

de triazol se han sugerido para imitar estrechamente la estructura de elices-β [21].

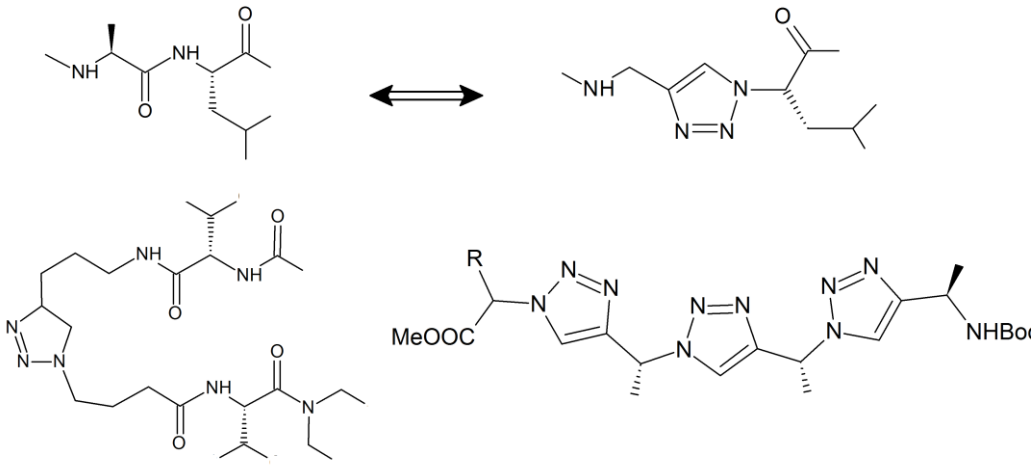


Fig. 11 Ejemplos de péptido miméticos triazolicos [21].

Paralelamente los anillos triazolicos, también presentan una gran alternativa para el reemplazo de grupos fosfato en diferentes estructuras (Fig. 12).

3.1.4.2.2. Síntesis de lipoproteínas

3.1.4.2.3. La reacción CuAAC también ha sido adoptada con éxito para la unión de lípidos con proteínas. De hecho, aunque muchas proteínas que están presentes en la membrana celular, someterse a un único o una lipidación dual, para esto, un derivado de azida correspondiente se hace reaccionar con éxito con una proteína alquino terminal [23, 24 ,25,26].

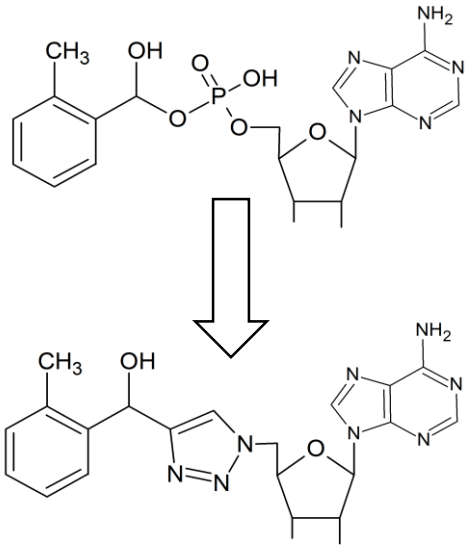


Fig. 12 Ejemplos de reemplazo de grupo fosfato por un triazol [21].

3.1.4.2.4. Síntesis de macro ciclos

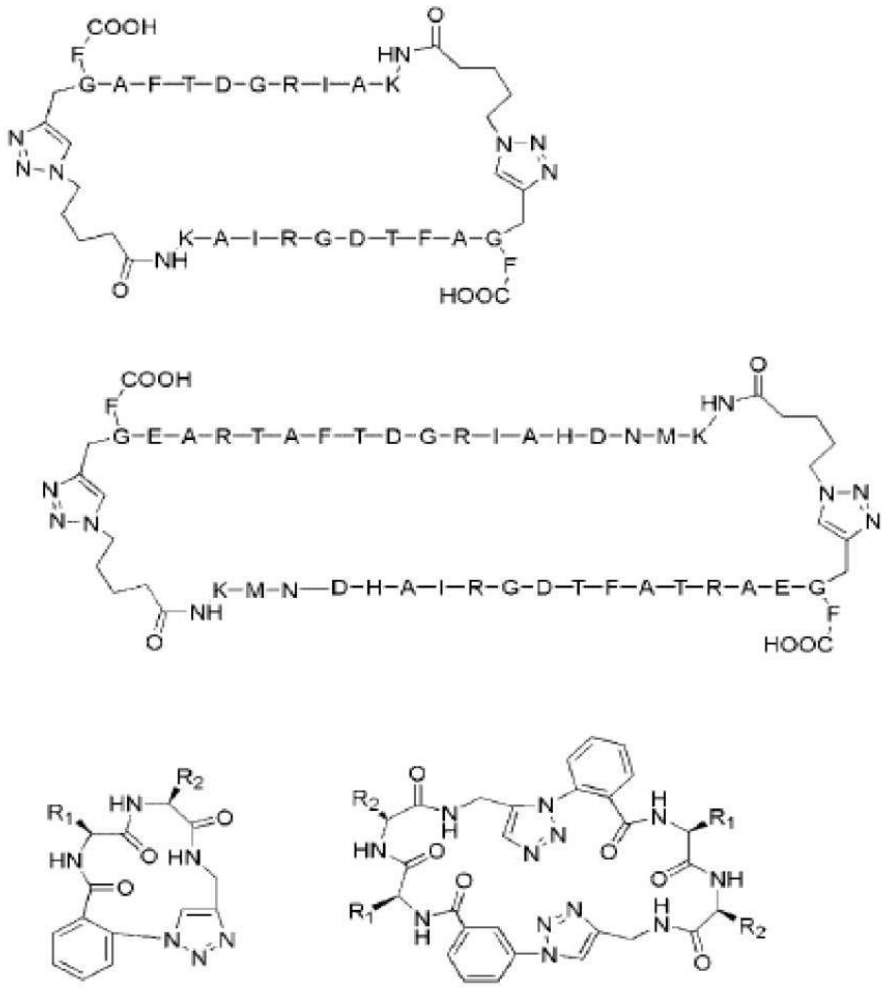


Fig. 13 macrocilos y cilcos peptídicos generados mediante CuAAC [21].

Los macro ciclos muestran notables actividades biológicas y pueden ser vistos como estructuras privilegiadas en la química medicinal, aunque varios factores son responsables de las propiedades químicas de este tipo de estructuras, los macro ciclos a diferencia de sus homólogos lineales son capaces de adoptar conformaciones energéticamente más estables.

El primer ejemplo de esta estrategia se llevó a cabo en fase sólida para ciclar péptidos cortos y los resultados obtenidos fueron sorprendentes, los productos obtenidos fueron únicamente ciclodimeros, con dos triazoles que

unen los dos extremos de los péptidos lineales. Para explicar este comportamiento interesante Finn y colaboradores propusieron que una coordinación de dos alquinos terminales antes de la cicloadición es responsable de la formación del triazol.

3.1.4.2.4. SÍNTESIS ORGÁNICA (ANTIMICÓTICOS, FÁRMACOS Y NUEVAS MOLÉCULAS)

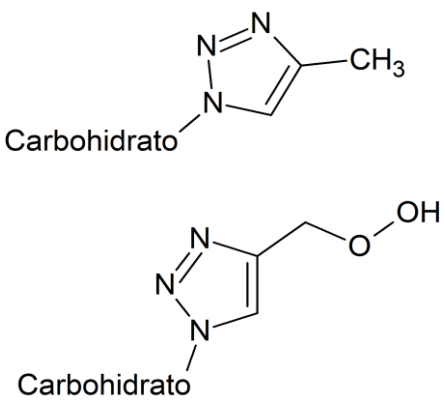


Fig. 14 1,2,3 Triazoles inividores de VIH

Dentro de las aplicaciones estudiadas para los 1,2,3 triazoles 1,4 disustituidos se encuentran, la antifungica como principal interés en este estudio, antiviral, antiparasitaria, antibacteriana y antinflamatoria[27].

En la universidad autónoma del estado de México, Geordina Rios y Erik Cuevas citan a “Alvarez, quien, reporta triazoles inhibidores de VIH-1 en ensayos inducidos en células. Se reportan series de 4- y 5-disustituidos 1, 2, 3-triazoles-TSAO derivados que se evaluaron por posible actividad inhibitoria sobre

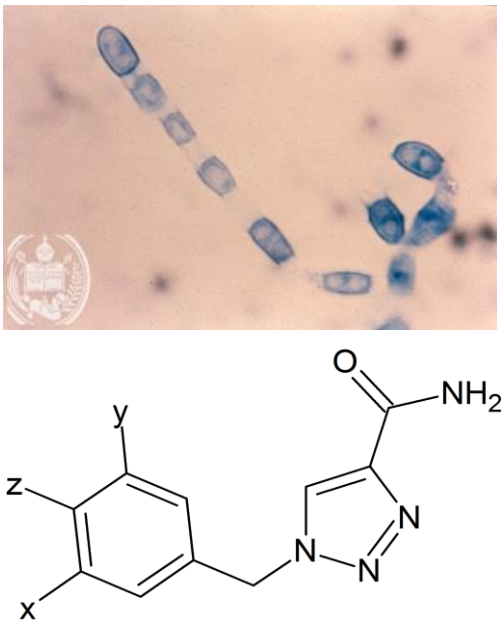


Fig. 15 1,2,3 Triazoles con actividad antifungica [30]

VIH-1- y VIH-2 inducido en células MT-4 [28,29].

Anteriormente se ha realizado la síntesis de 1,2,3 triazoles disustituidos y evaluado su actividad biologica en hongos del genero Candida; estos estudios de realizaron en: Laboratório de Micologia Médica, Centro de Ciencias Biológicas, Universidade Federal de Pernambucol, Laboratório de Síntese en Brasil [30,10]. describe la síntesis de diez 2 - (1-aril-1H-triazol-4-il) propan-2-oles vía CuAAC, a continuación se evalua la actividad anti fúngica in vitro de estos diez compuestos; utilizando el método de microdilución en caldo contra 42 cepas aisladas de cuatro diferentes especies de Candida. Entre todos los compuestos ensayados el triazol 2 - [1 - (4-clorofenil)-1H-(1,2,3) triazol-4-il] propan-2-ol, reveló el mejor perfil anti fúngico. En conclusión, una serie de análogos de 1,2,3-triazoles con diez sustituyentes distintos a la N-1 del anillo de triazol se sintetizaron y se evaluaron para su actividad anti fúngica. Todos los compuestos se ensayaron contra 42 cepas patógenas de cuatro diferentes especies de Candida [30].

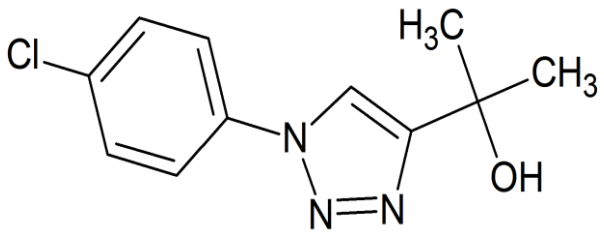


Fig. 16 2 - [1 - (4-clorofenil)-1H-(1,2,3) triazol-4 il] propan-2-ol [30]-

3.2. ANTI FÚNGICOS

Un agente anti fúngico o antimicótico hace referencia a cualquier sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, bien directa o indirectamente, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped, La síntesis de estos fármacos comenzó en el siglo XX y desde entonces no ha cesado el diseño de nuevas moléculas para combatir a las infecciones fúngicas invasoras [31,2].

Características de un fármaco anti fúngico

- Acción fungicida.
- Acción sobre dermatófitos, levaduras del género Candida, Malassezia y mohos.
- Actividad in vitro con pruebas de sensibilidad.
- Eficacia clínica demostrada.
- Venta libre.
- Diversidad de presentaciones.
- Fácil aplicación.
- No absorbible o escasa absorción por piel.
- Buena penetración en el estrato córneo.
- Alta concentración en los tejidos lesionados.
- Buena tolerabilidad.
- Escasa producción de efectos adversos.
- Buena relación costo-eficacia.

3.2.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTI FÚNGICOS

Tabla 1 Clasificación de los anti fúngicos [32]

TIPO DE ESTRUCTURA	ANTIFUNGICO
Polienos	Nistatina, natamicina, amfotericina B
Azoles	Imidazol: miconazol, clotrimazol
	Triazoles: Fluconazol, Itraconazol, ketoconazol
	Triazoles de segunda generación: voriconazol, ravuconazol,
	posaconazol
Alilaminas	Terbinafina, naftifina
Lipopéptidos	Papulacandinas
	Triterpenos glicosilados
	Equinocandinas: caspofungina, anidulofungina, micafungina
Pirimidinas	Flucitosina

Tabla 2 Clasificación de los anti fúngicos según su sitio de acción [6].

SITIO DE ACCIÓN	ANTI FÚNGICO
Pared Celular	Lipopeptidos
Membrana celular	Polienos, Azoles, Alilaminas
Núcleo	Pirimidinas fluoradas

3.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIFÚNGICOS

En la síntesis de anti fúngicos, las células mamíferas y fúngicas son bastante similares, lo cual recae en un problema; puesto que la molécula debe ser selectiva de la célula patógena y no la célula humana sana. La

membrana celular tanto en hongos como en humanos desempeña funciones imprescindibles para la célula, estas están compuestas por complejas moléculas lipídicas que reciben el nombre de esterolatos; se diferencian la humana y la fúngica en que el contenido de ergosterol en estas últimas es mayor; en esta diferencia se basa en funcionamiento de algunos antifungicos como: azoles, alilaminas y polienos. El mecanismo de acción de los anti fúngicos depende del lugar en donde actúen, lo cual está directamente relacionado con la estructura [6]. De acuerdo a su estructura los anti fúngicos pueden actuar en diferentes partes de la célula, membrana celular, núcleo pared celular del hongo en relación con la clasificación mostrada en el apartado anterior, como se muestra en la figura 19 [33,34]:

3.2.3. AZOLES

Estas moléculas inhiben a la citocromo P-450-3-A de la célula fúngica, con lo cual se interrumpe la síntesis del ergosterol en la membrana celular. Debido a la falta de ergosterol se comienzan a acumular esteroles tóxicos intermedios, aumenta la permeabilidad de la membrana y se interrumpe el crecimiento del hongo [35,36].

Hasta la década de 1940, los agentes antifungicos que estaban disponibles para el tratamiento de infecciones eran relativamente pocos, el desarrollo de los polienos fue un gran avance en la micología medica; aunque la anfotericina B, fácilmente se convirtió en el fármaco más utilizado para combatir infecciones [37,38]. Debido a algunas limitaciones, varios análogos se han desarrollado. Los llamados "de segunda generación" voriconazol, posaconazol y ravuconazol, que tienen mayor potencia y poseen mayor actividad frente a patógenos resistentes y emergentes [35].

3.2.3.1. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TRIAZOLES

Los Antifúngicos azoles están divididos en los imidazoles (por ejemplo, miconazol y ketoconazol) y los triazoles (por ejemplo, itraconazol,fluconazol, voriconazol).

El último grupo tiene tres en lugar de dos átomos de nitrógeno en el triazol-anillo. Todos los azoles operan a través de un modo común de acción: impiden la síntesis de ergosterol, el componente derivado esterolico presente en las membranas celulares de los hongos, a través de la inhibición del citocromo P450.

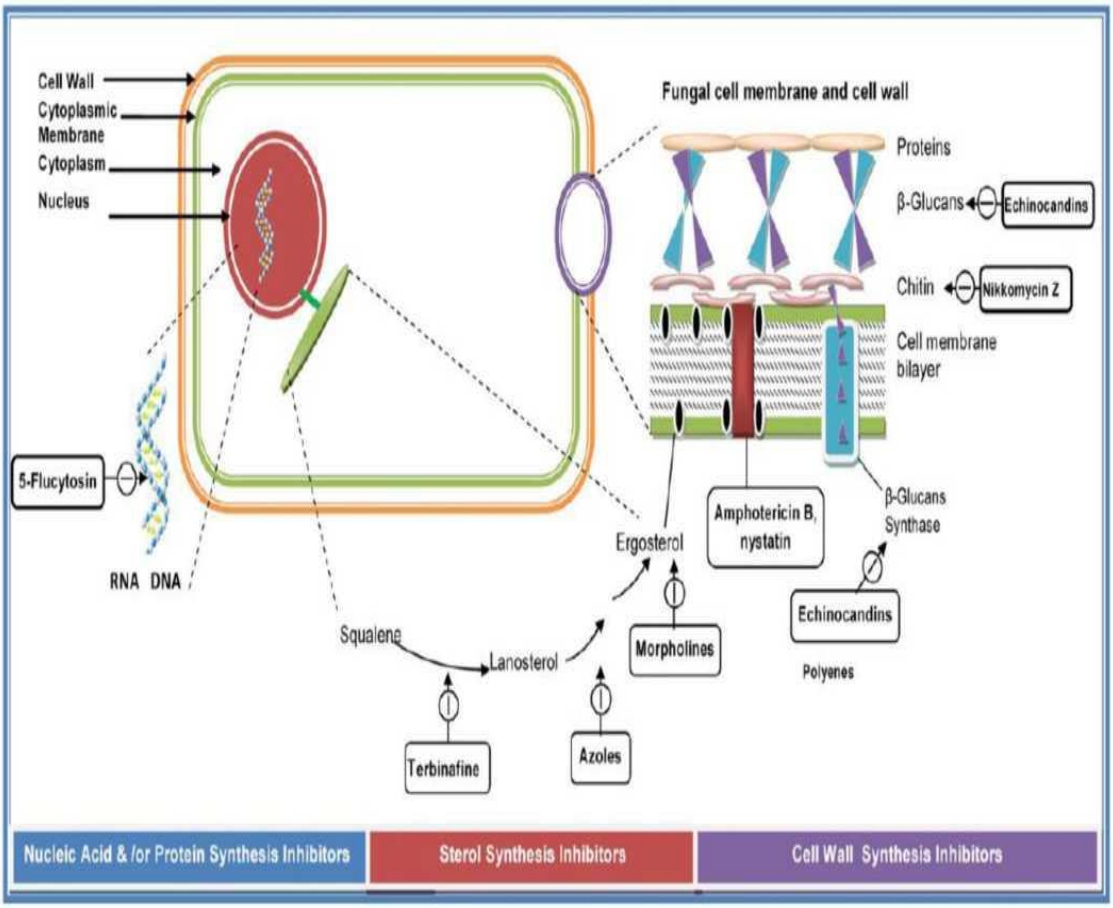


Fig. 17 Acción de los anti fúngicos [35].

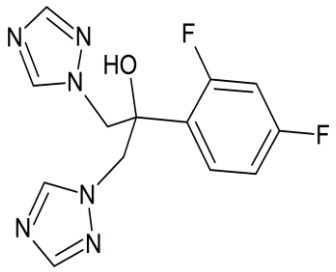
El citocromo P-450 (P-450) es el principal responsable del metabolismo oxidativo de los xenobióticos. No se trata de un único enzima, sino que en realidad es una familia de hemoproteínas presentes en numerosas especies, desde bacterias a mamíferos; Las oxidaciones catalizadas por el P-450 son reacciones de monooxigenación dependientes de NADPH y para las que utiliza oxígeno molecular.

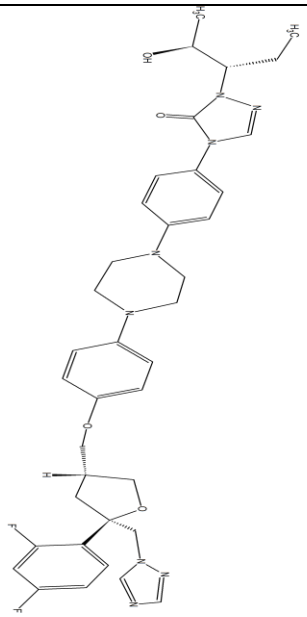
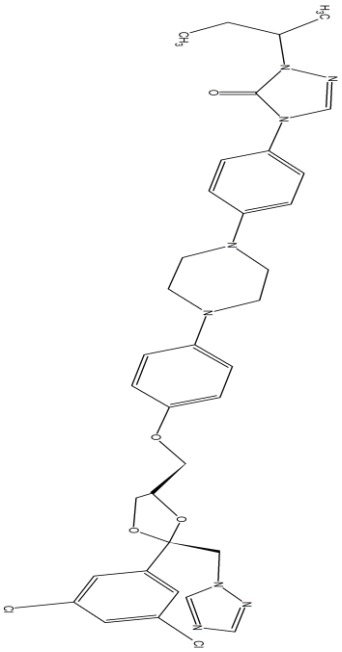
Como consecuencia de estas reacciones el P- 450 acelera la eliminación del organismo de gran número de fármacos y compuestos tóxicos. Pero también es el responsable de la activación de toxinas o precarcinógenos; por lo cual los azoles impididen la acción de la lanosterol 14-a-desmetilasa. El agotamiento resultante de ergosterol y la acumulación concomitante de precursores 14-a-metilados impiden la fluidez de la membrana y la actividad de varias enzimas unidas a la membrana (por ejemplo quitina sintasa).

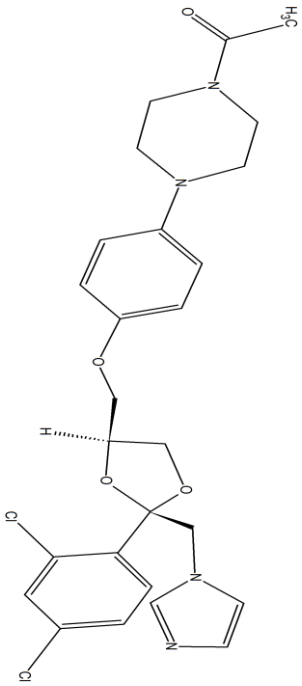
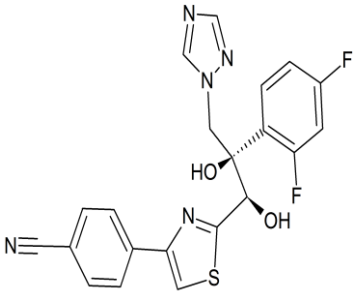
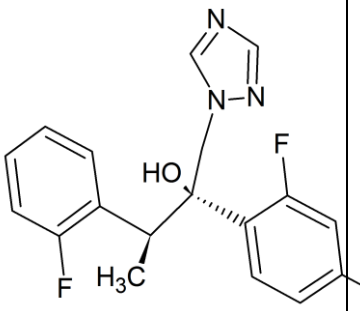
El efecto neto es una inhibición de crecimiento de hongos y la replicación. Además, un número de efectos secundarios, tales como la inhibición de la transformación de las levaduras para morfogenética, La forma micelial, disminución de la adherencia de hongos, y efectos tóxicos directos sobre los fosfolípidos de membrana [39,35].

3.2.3.2. ESTRUCTURA DE LOS DERIVADOS ANTIFUNGICOS TRIAZOLICOS

Tabla 3 Derivados antifungicos Triazolicos

	PROPIEDADES	ESTRCUTURA
Fluconazol.	Este es un agente antifungico ampliamente difundidio, contiene dos anillos que presentan tres atomos de nitrógeno; su peso molecular es relativamente bajo (306.3 g/mol). Se comporta como una base demasiado débil (PKa = 3,7).Es efectivo en pacientes con candidiasis, coccidioidomicosis, blastomicosis, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis y cutánea dermatofito Ketoconazol infections.41 revolucionado el tratamiento de la candidiasis oral, coccidioidomicosis, micosis endémicas, infecciones por dermatofitos y veterinarios infecciones por hongos [8]. Es una molecula polar y simétrica, hidrosoluble; se encuentra como un sólido de color blanco [9].	

Itraconazol	Es un triazol de segunda generación de amplio espectro, derivado sintético del fluconazol; este fármaco se asocia con sitios activos de la enzima a través de puente de hidrógeno que se forma entre el grupo C=O electronegativo de la enzima y el hidróxilo del fármaco, así como también por posibles asociaciones Van der Walls CH3 del fármaco y CH3 de la enzima. Es activo frente a Aspergillus spp, Fusarium spp. y Candida spp.	
Ketoconazol	Es anillo que contiene 2 átomos de nitrógeno. La formulación oral está disponible en EE.UU. desde 1981. El ketoconazol es el único miembro de la clase del imidazol que se usa actualmente para el tratamiento de infecciones sistémicas. Este antifúngico es un compuesto lipofílico, propiedad que le permite encontrarse en concentraciones altas en los tejidos grasos aunque sus concentraciones en el fluido cerebroespinal es pobre en presencia de inflamación. Su absorción oral y solubilidad es óptima a pH	

Posaconazol	Anteriormente conocido como SCH 56592, este fármaco es un triazol que se relaciona desde el punto de vista estructural con el itraconazol Está desarrollándose por los farmacéuticos del Schering-arado y se encuentra actualmente en la fase III ensayos. Su nombre comercial no se ha anunciado. este fármaco se asocia con sitios activos de la enzima a través de puente de hidrógeno que se forma entre el grupo C=O electronegativo de la enzima y el OH del fármaco.	
Ravuconazol	Es altamente activo contra una amplia gama de hongos, incluyendo Candida spp., incluso cepas que son resistentes a los fluconazole.57, 71,72 La eficacia de ravuconazol en O. candidiasis en virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de los pacientes se ha comparado con la de Fluconazol.	
Voriconazol	Es un triazol de segunda generación de amplio espectro, derivado sintético del fluconazol; este fármaco se asocia con sitios activos de la enzima a través de puente de hidrógeno que se forma entre el grupo C=O electronegativo de la enzima y el hidróxilo del fármaco, así como también por posibles asociaciones Van der Walls CH3 del fármaco y CH3 de la enzima	

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar posibles antifúngicos triazolicos 1-fenil 4- fenil 1,2,3-triazoles y 1-bencil 4-fenil 1,2,3-triazoles mediante CuAAC a partir de arilazidas y bencil azidas con fenil acetileno (reacción click) y evaluar su actividad biológica en *phytophthora infestans capcisi* por el método de sensidiscos.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.3.1. Determinar las condiciones óptimas para la cicloadicion de fenilacetileno, aril azidas y belzilazidas funcionalizados mediante estireno y NaN_3.

4.3.2. Sintetizar y purificar derivados 1-fenil 4- fenil 1,2,3-triazoles y 1-bencil 4-fenil 1,2,3-triazoles mediante CuAAC evaluando el sistema Benedict/Gucosa como fuente de Cu^{1+}.

4.3.3. Caracterizar e identificar los 1,2,3-triazoles sintetizados mediante RMN ^{1}H, RMN ^{13}C y espectroscopia IR.

4.3.4. Determinar la actividad biológica antifúngica de los triaozoles sintetizados en hongos de la especie *phytophthora infestans capcisi* por el método se sensidiscos.

5. METODOLOGIA

Inicialmente, se propuso la síntesis de una análogo del fluconazol con una nueva metodología, debido a su elevado costo y difícil obtención con base en trabajos anteriores realizados en la línea de investigación en síntesis orgánica en que se logró sintetizar fluconazol [40]. Utilizando una metodología diferente a la convencional, evidenciando en la literatura, el imidazol y los bencenos halogenados como sitios activos de la molécula [31].

En primera medida se buscó funcionalizar imidazol y bencenos halogenados para su posterior ensamble. En busca de un método de adición de las moléculas la “química clic” abrió una posibilidad al ensamble de los sitios activos. Se logró funcionalizar imidazol con un alquino terminal yazidas aromáticas halogenadas. No se pudo dar continuidad a la síntesis del análogo, pero se planteó la síntesis de posibles antifúngicos utilizando “química click”.

Por lo cual en la siguiente investigación se propone la síntesis de anti fúngicos triazolicos mediante “química clilc”, de acuerdo a sus propiedades químicas y uso en la síntesis de fármacos anti fúngicos, empezando por la síntesis de alquinos y azidas para su posterior ciclo adición y evaluar la actividad biológica de los triazoles obtenidos.

5.1. HIPOTESIS

Para la formación de 1-fenil 4- fenil 1,2,3-triazoles y 1-bencil 4-fenil 1,2,3-triazoles a partir de bencil azidas, la catálisis de transferencia de fases determina la formación los precursores, debido a la solubilidad y transporte iónico, al usar sales cuaternarias de amonio como catalizador de transferencia en comparación con la catálisis homogénea, para s u posterior ciclo adición, en donde el rendimiento de reacción en la producción de 1,2,3 triazoles 1,4 disustituidos mediante CuAAC, es afectado por la fuente de cobre empleada: Feling- Glucosa, Benedict-Glucosa y el sistema de solvente empleado Butanol, Metanol, Agua.

5.2. METODOS GENERALES

Como principales precursores se emplearon aril azidas y bencil azidas en compañía de fenil acetileno para la obtención de 1,2,3 triazoles; sintetizados previamente. Los reactivos tales como β-bromo estireno, cloruro de bencillo, TEBA-Cl, Fueron sintetizados. Otros reactivos como EDTA, tartrato de sodio, $CuSO_4$ $5H_2O$, NaOH, KOH, NaN_3, metanol, CH_2Cl_2 Hexano y acetato fueron utilizados sin previa purificación; con los cuales se plantea la siguiente metodología.

Para la obtención de los triazoles y evaluar su actividad biología es necesario sintetizar alquinos, funcionalizar azidas, realizar las CuAAC y caracterizar los 1,2,3 triazoles obtenidos, a continuación se describe la metodología empleada para cada uno de los procesos:

5.2.1. SÍNTESIS DE ALQUINOS

Se determina la síntesis a partir de estireno; la bromación de este y su posterior deshidrohalogenación con base en el procedimiento empleado por Kenneth N. Campbell y Barbara K. Campbell [41,42,11], con algunas modificaciones.

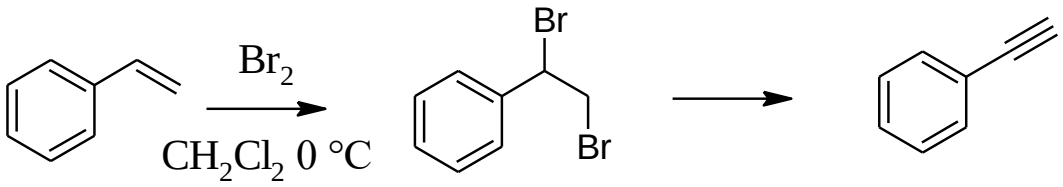


Fig. 18 Síintesis de fenilacetileno.

β-bromo estireno: se disuelven 5ml de Br_2 en 25 ml de CH_2Cl_2, paralelamente 20 ml de estireno, se disuelven en 30 ml de CH_2Cl_2 y se llevan a 0°C con baño de hielo/sal; en pequeñas porciones, cada 5 min. con constante agitación se agrega la solución de Br_2. Una vez terminada la adición se deja reposar la mezcla por 15 min. El precipitado obtenido se filtra al vacío y re recristaliza en CH_2Cl_2 para su identificación; para continuar la síntesis de feni acetileno se toma la mezcla de reacción.

Fenil acetileno: en un balón de 500ml con dos bocas, se provisto de un embudo de decantación y un montaje de destilación simple y agitador magnético; se adicionan 50g de KOH y 3ml de H_2O. Se calienta hasta la fusión del KOH (210°C); mediante el embudo de decantación se gotea una solución de 10g de β-bromo estireno en 30 ml de CH_2Cl_2. El solvente es

removido por la destilación simple. Culminada a adición de β-bromo estireno se deja en agitación por 20 min. La mezcla resultante en el balón se deja enfriar a T.A. se retira la fase acuosa y se destila el fenil acetileno a presión reducida.

5.2.2. SÍNTESIS DE AZIDAS

Aril Azidas: Para la síntesis de aril azidas se realiza la siguiente metodología general planteada inicialmente por Anders E. y colaboradores mediante arilaminas y sales de diazonio [4].

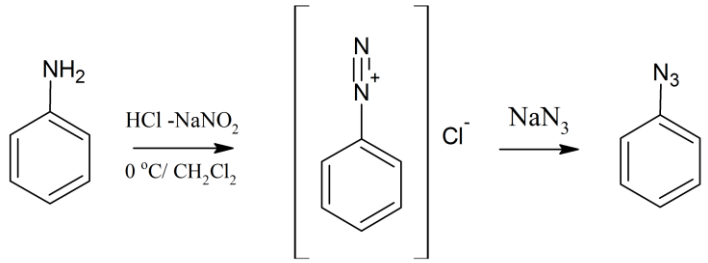


Fig. 19 síntesis de aril azidas

Fenil azida: en un Erlenmeyer de 100 ml provisto de agitador magnético, se disuelven en 30ml de Et-OH 4.1 mmol de anilina, se adicionan lentamente 30ml de HCl 6N, mediante baño de hielo se lleva a una temperatura entre 0-4°C, lentamente se agregan 10 ml de $NaNO_2$ saturado. Se agita por 30 min. Una vez formada la sal de diazonio se agregan 0.53g de NaN3. Se extrae con Et-OH tres veces con fracciones de 10 ml; se realizan tres lavados con $NaHCO_3$ y por último se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro (Fig. 19) [12,6].

Bencil azidas: En una variación al metododo empleado por zita [12] se propone la siguiente metodología general

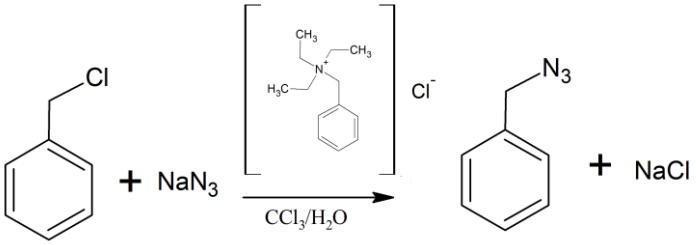


Fig. 20 Sintesis de Benzi azidas

Cloruro de Bencilo: mediante el equipo de micro-ondas, en un balón de 50 ml, y refrigerante de reflujo, se toman 15 ml de alcohol bencilico, 10 ml de HCl concentrado y 5g de $ZnCl_2$. Con una potencia de irradiación de 250w, agitación baja, temperatura final de 110°C por 30 min. Posteriormente de extrae la fase orgánica y se realizan 3 lavados con 15 ml de $NaHCO_3$ y por último se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro.

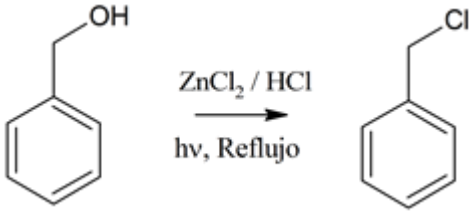


Fig. 21 sintesis de cloruro de Benzilo

TEBA-Cl: se ponen el reflujo 1 mmol de cloruro de bencilo y 1mmol de TEA por 30 min. Se filtra el precipitado obtenido y se recristaliza en hexano.

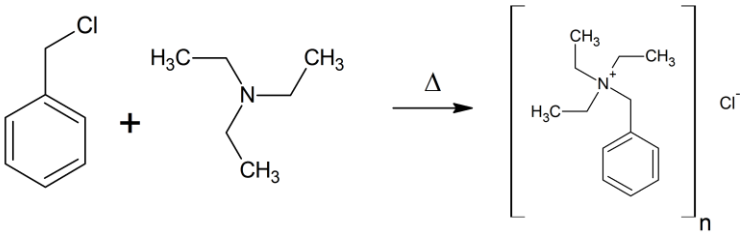


Fig. 22 Sintesis de TEBA-Cl

Bencil azida: en un Erlenmeyer de 100 ml de toman 15 ml de CCl3 y 15 ml de H2O, posteriormente se agregan 2g de TEBA-Cl, 1 mmol de NaN3 y 1 mmol de cloruro de bencilo y se deja con constante agitación a 600 rpm por 12h (Fig 20). Y se emplea la misma metodología para las demás bencil azidas.

5.2.3. SÍNTESIS DE TRIAZOLES

Empleando la CuAAC y los sitemas Fheling-Glucosa y Benedict- Glucosa y los diferentes sistemas de solventes: Butanol-Agua y Metanol-Agua [43,44,12].

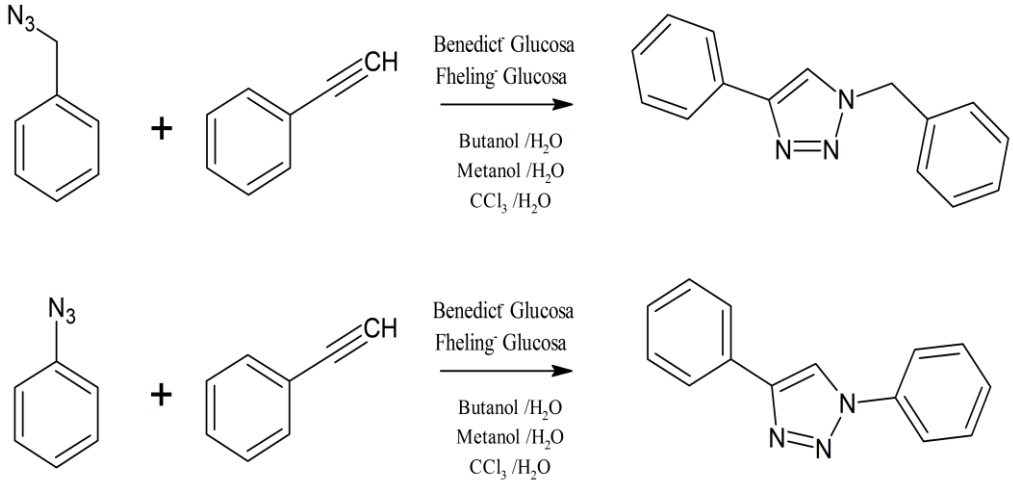


Fig. 23 síntesis de 1,2,3 Triazoles 1,4 disustituidos mediante CuAAC

Reactivo de Benedict: Se pesan 173 gr. de Citrato de sodio, adicionarle 100 gr. de Na_2CO_3 y se afora a 800 ml con H_2O destilada. Se filtra y se completa hasta un volumen de 850 ml de H2O. Paralelamente se toman 17.3 gr de $CuSO4{\cdot}5H_2O$ y se disuelven en 150 ml de agua destilada; por ultimo suavemente y con agitación constante se mezclan ambas soluciones [45].

Reactivo de Fhelling: para la solución A se pesan 34.6 gr. de $CuSO_4$ .5 H_2O y se disuelven en 500 ml de H_2O destilada. Para la solución B se toman 173 gr. de tartrato de Na y K (sal de Rochelle) y se le añaden 62.5 gr. de NaOH y se lleva hasta 500 ml con H_2O [44].

CuAAC: en un Erlenmeyer de 100 ml se toma 1 ml de reactivo de benedict y 0.025 mol de glucosa; se calienta hasta la formación de un precipitado coor rojo ladrillo, posteriormente se agrega 1 ml de NaOH 0.1M, posteriormente se adicionan 1 mmol de alquino y 1 mmol de azida, por último se agregan 10 ml de metanol y se agita constantemente por 9 horas; se extrae la fase orgánica y se realiza un avado EDTA al 0.1 M posteriormente se destila a presión reducida el solvente y se recristaliza el producto en CCl_3.

5.2.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS

Para identificar los compuestos orgánicos obtenidos se utilizaron diferentes técnicas instrumentales, que permiten la elucidación estructural de las moléculas y la identificación de sus grupos funcionales y los tipos de hidrógeno y carbono presentes en la molécula como FT-IR, ^{13}C-RMN y ^{1}H-RMN y cromatografía en capa fina.

5.2.5. ANTIBIOGRAMA

Se realizaron ensayos de actividad biológica anti fúngica de los triazoles sintetizados, en una cepa de *phytophthora infestans capcisi* , suministrada

por la línea de investigación en biología molecular del proyecto curricular de licenciatura en biología, por el método se sencidiscos de la siguiente manera:

Caracterización cualitativa*:*

phytophthora infestans capcisi: se identifica cualitativamente el hongo mediante tinción con azul de lactofenol y su observación en el microscopio óptico.

Medio de cultivo:

La cepa se cultivara en un medio AGAR-CENTENO-TRIGO; para el cual para 1L de medio cultivo se deja en agua destilada durante 24h 500g de trigo/centeno, se lleva a la licuadora, y se filtra, al filtrado se adicionan 30g se sacarosa y 6g de agar agar y se esteriliza en caliente con autoclave.

Siembra y replicación:

En cajas de pettri debidamente esterilizadas, se adicionan aproximadamente 20ml de medio de cultivo estéril, y se inocula con esporas de la sepa bajo cámara de flujo laminar, se encuba a 25ºC durante 14 días y se observa la formación de colonias.

Determinación de la actividad anti fúngica:

Método de actividad antimicrobiana por sensidiscos: primera mente se preparan soluciones de los diferentes triazoles, paralelamente los

sensidiscos se preparan con papel filtro cuantitativo estándar, se adiciona los triazoles en diferentes concentraciones, el solvente como blanco, a los 14 días de incubación de miden los halos de inhibición y se determina la concentración mínima inhibitoria.

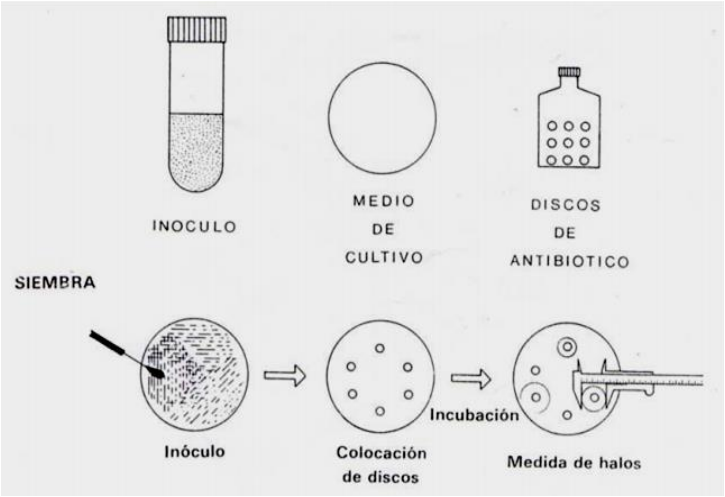


Fig. 24 Método de sensidiscos [11].

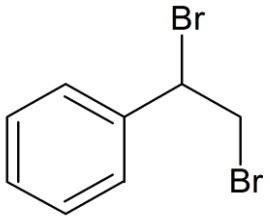
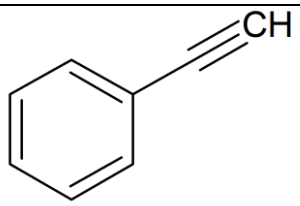
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se agrupan de acuerdo a los procedimientos empleados en el respectivo orden de desarrollo con la reacción empleada y una tabla con las características generales del compuesto obtenido, el rendimiento de reacción y las bandas de los espectros correspondientes, realizando el respectivo análisis de cada una las reacciones y moléculas.

6.1. SINTESIS DE FENIL ACETILENO

En la producción de fenil acetileno, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 4 Resultados síntesis de Fenil acetileno

Di bromo estireno (92,%)				
Estructura	P. teoricas		P. experimentales	
	Estado	Solido	Estado	solido
	Color	Blanco	Color	Blanco
	P. f.	70-73°C	P. f.	71°C
	I. Ref.		I. Ref.	
Fenil acetileno (65,3%)				
Estructura	P. teoricas		P. experimentales	
	Estado	Liquido	Estado	Liquido
	Color	amarillento	Color	amarillento
	Pto. Eb.	142-144°C	Pto. Eb.	140°C
	η	1.547	η	1,542

Debido a las propiedades encontradas, punto de fusión 71°C que corresponde con el encontrado en la literatura 70-73°C; se identifica el β-bromoestireno [46]. Se continúa con la síntesis de fenil acetileno; en su identificación se encuentra un P.E. dentro del rango encontrado en la

literatura 142-144°C, para la identificación de este, también se emplea FT-IR; los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 5 FT-IR Fenil acetileno

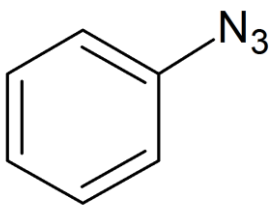
Fenil acetileno FT-IR		
Grupo funcional	B. Literatura [ ]	B. Experimentales
Deformación CΞC-H	600-700	628.79
Deformación anillo	715-740	777.31
Flexión F. plano C-H	690-900	908.47
Balanceo anillo	1370-1380	1444.68
Armónicos aromaticos	1500-1600	1492.9
CΞC terminal	2100- 2250	2364.73
Tensión C-H	3050-3150	3008.95

Del espectro obtenido, se evidencia que las bandas presentadas por en la literatura, corresponden en gran medida a las obtenidas experimentalmente por que que se establece la sintesis de fenil acetileno con un 65.3% de rendimiento.

6.2. SINTESIS DE FENIL AZIDA

En la produccion de fenil azida se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 6 Sintesis de Fenil azida

Fenil Azida (65,3%)				
Estructura	Propiedades teoricas		Propiedades experimentales	
	Estado		Estado	
	Color		Color	Liquido
	Pto. Eb.		Pto. Eb.	Amarillento
	η		η	71°C

En el analisis esectroscopico de obtienen los siguientes resultados:

Tabla 7 FT-IR Fenil azida

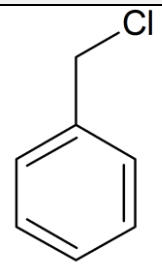
Fenil azida FT-IR		
Grupo funcional	B. Literatura [ ]	B. Experimentales
Flexión F. plano C-H	690-900	640.37
Armónicos aromaticos	1500-1600	1618.28
N=N=N	2100	2135.2
Tensión C-H	3050-3070	3001.24

Debido a que en el FT-IR se ecuentra la banda carcateristica del grupo azida en los 2135 cm-1; se identifica positivamente la fenil azida, aunque esta la fecha no se ha encontrado un referente para dicho compuesto.

6.3. SINTESIS DE BENCIL AZIDAS

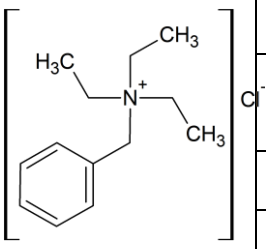
Para la sintesis de bencil azidas, se emplearon derivados, de cloruro de bencilo mediante catalisis de transferencia de fases utilizando una sal cuaternaria de amonio como catalizador, cloruro de trietil bencil amonio (TEBA-Cl); cloroformo como fase apolar y agua como fase polar;. En base a la metodologia empleada por Erik Cuevas y colaboradores[47]. En primer lugar se obtuvo cloruro de bencilo y posteriormente TEBA-Cl, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 8 Sintesis de cloruro de bencilo

Cloruro de bencilo (89,6%)				
Estructura	**Propiedades teóricas [48,49]**		**Propiedades experimentales**	
	Estado	Liquido	Estado	Liquido
	Color	Amarillento	Color	Amarillento
	P. E.		P. E.	71°C
	η		η	

se evidencia la obtencion de cloruro de bencilo con el 89.6% de rendimiento y con este se genera TEBA-Cl y bencil azida.

Tabla 9 Sintesis de TEBA-Cl

Cloruro de trietil bencil amonio (TEBA-Cl) (93,1%)				
Estructura	Propiedades teóricas [50,51]		Propiedades experimentales	
	Estado	Sollido	Estado	solido
	Color	blanco	Color	blanco
	P. F.		P. F.	71°C
	η		η	

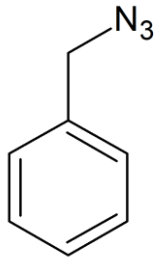
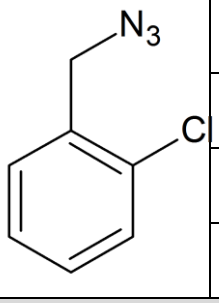
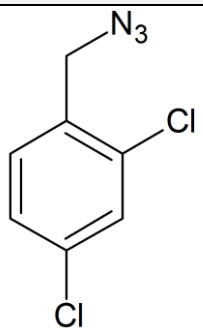
En la teoria, no se encontraron datos referentes al compuesto, por lo cual se caracteriza mediante FT-IR, demostrando la formación de la sal de amonio.

Tabla 10 FT-IR TEBA-Cl

Cloruro de trietil bencil amonio (TEBA-Cl) FT-IR		
Grupo funcional	B. Literatura [ ]	B. Experimentales
Flexión F. plano C-H	690-900	673.16
Armónicos aromaticos	1500-1600	1618.28
N=N=N	2100	2135.2
Tensión C-H	3050-3070	3001.24

Por lo cual se corrobora la obtencion de TEBA-Cl, para ser empleado como catalizador de transferencia de fases en la obtención de bencilazidas

Tabla 11 Sintesis de bencil azidas

Bencil azida (84,4%)				
Estructura	Propiedades teóricas 52,53		Propiedades experimentales	
	Estado	Solido	Estado	Liquido
	Color	blanco	Color	Amarillo pálido
	P. E.	87°C	P. E.	82°C
	I. Ref	1.534	I. Ref	1.532
2-Cloro bencil azida (73,2%)				
Estructura	Propiedades teóricas		Propiedades experimentales	
	Estado		Estado	Liquido
	Color		Color	Café pálido
	P. E.		P. E.	
	η		η	
2,4-dicloro bencil azida (68.9%)				
Estructura	Propiedades teóricas [54,55]		Propiedades experimentales	
	Estado	Solido	Estado	solido
	Color	blanco	Color	blanco
	P. E.		P. E.	71°C
	η		η	

De los analisis espectroscopicos de las bencil azidas se obtienen los siguientes resultados.

TEBA-Cl FT-IR		
Grupo funcional	B. Literatura [ ]	B. Experimentales
Flexión F. plano C-H	690-900	673.16
Deformación anillo	715-740	767.67
Flexión F. plano C-H	690-900	1053.13
		1101.35
Balanceo anillo	1370-1380	1271.09

		1471
Armónicos aromaticos	1500-1600	1589
N=N=N	2100	2142.12
C sp^3		3018.6
Grupo funcional	B. Literatura [ ]	B. Experimentales
Deformación anillo	715-740	848.68
Flexión F. plano C-H	690-900	1269.16
Balanceo anillo	1370-1380	1384.89
		,1473.62
		1589.34
N=N=N	2100	2137.13
		2843.07
		2922.66
		3263.56
Grupo funcional	B. Literatura [ ]	B. Experimentales
Flexión F. plano C-H	690-900	688.59
Deformación anillo	715-740	767.67
		858.32
Flexión F. plano C-H	690-900	943.19
		1120.64
		1178.51
Balanceo anillo	1370-1380	1284.59
		1427.32
		1600.92
N=N=N	2100	2106.27
		2974.23

De acuerdo con las bases de datos, la bencil azida presenta un índice de refracción de 1.534, densidad de 1.065 g/ml y un punto de ebullición de

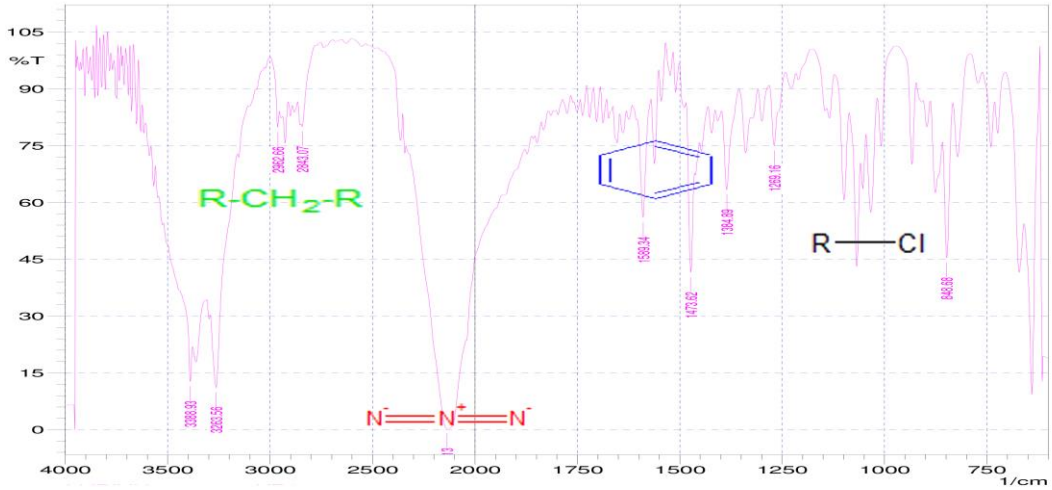


Fig. 25 Bandas en los espectros de benzil azidas.

87°C [56,57]. Estando las medidas experimentales muy próximas a dichos valores; En los tres espectros se evidencia una banda fuerte cerca a los 2100 cm^{-1}, caracteristica para los enlaces R-N_3, las bandas entre 1450 a 1600 cm^{-1} caracteristicas de carbonos sp^2 aromaticos, entre los 1000 y 1100 cm^{-1} de enlaces a halogenos y bandas entre los 2950 y 3000 cm^{-1} que indican la presencia del carbono alifatico. Como se muestra en la figura 25.

De la CTA que permite formación de la azida, mediante el uso de TEBA-Cl; en la fase acuosa se generan las especies iónicas de la azida de sodio; que establece un equilibrio iónico con el catalizador en base al coeficiente de reparto entre las dos fases; una vez formada una interfase; el catalizador transporta los iones N_3^- de la fase acuosa a la fase orgánica , para su reacción con el cloruro de bencilo correspondiente; y el ataque del nucleófilo sobre el carbono sp^3, formando la bencil azida y el ion Cl^-, que también establece un equilibrio con el catalizador y es transportado a la fase acuosa para su reacción con el Na^+ formado en equilibrio iónico; como se muestra a continuación[58]:

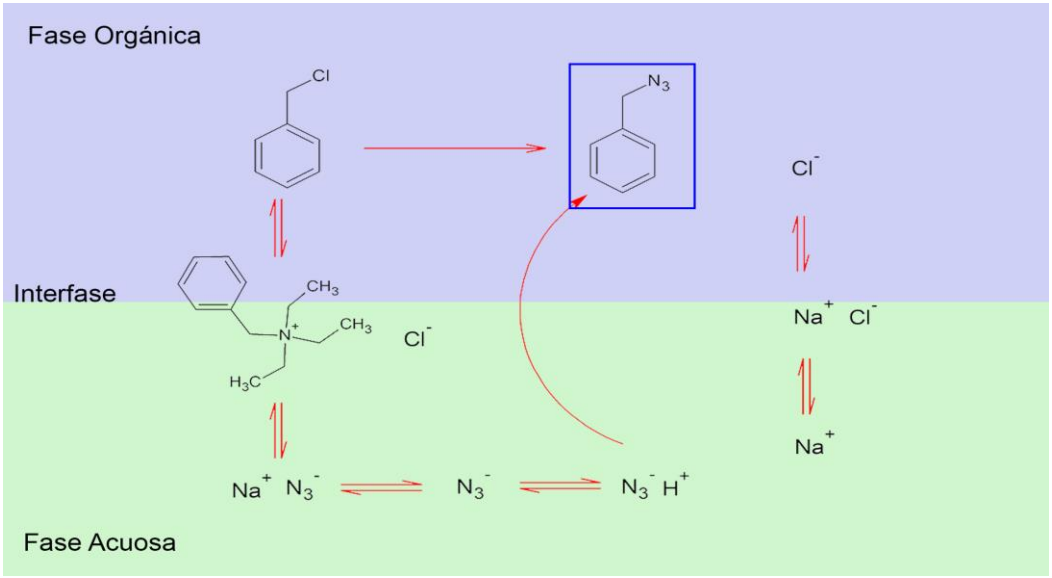


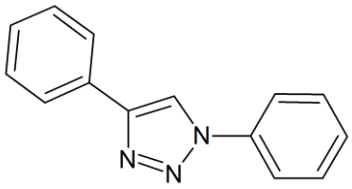
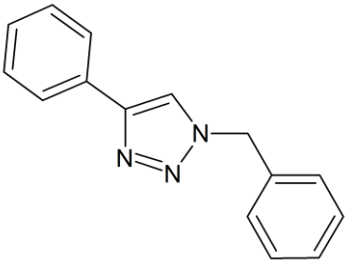
Fig. 26 Mecanismo de la catálisis de transferencia de fases (CTF) para obtener bencil azidas.[52].

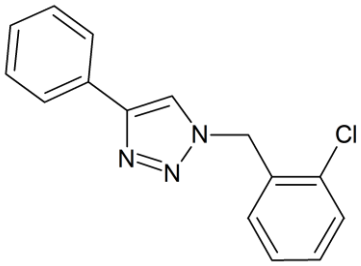
La CTF, permite obtener bencil azidas con óptimos rendimientos, solventes más asequibles y de fácil extracción. En base a las azidas y alquinos obtenidos se realiza la síntesis 1,2,3 triazoles 1,4 di sustituidos.

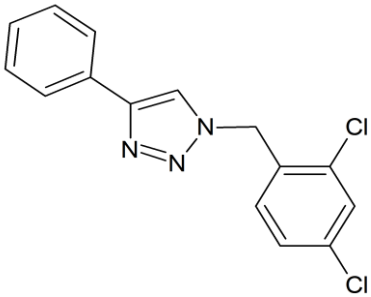
6.4. SÍNTESIS DE 1,2,3 TRIAZOLES MEDIANTE C_UAAC

En la síntesis de triazoles, mediante ciclo adición dipolar de alquinos y azidas, tomando como rendimiento de reacción el promedio de los rendimientos obtenidos durante los ensayos de catálisis (Benedict/Glucosa 10%- Benedict/Glucosa 5%, Benedict/Glucosa 1% Fheling/Glucosa 5%) y control cromatógrafico. Se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 12 Resultados Sintesis de 1,2,3 triazoles

1-fenil, 4-fenil, 1,2,3 triazol.		
Estructura	Propiedades	
	Estado	solido
	Color	blanco
	Pto. fus.	140 °C
1-bencil 4-fenil 1,2,3 triazol.		
Estructura	Propiedades	
	Estado	Solido
	Color	Blanco
	Pto. fus.	132 °C
1 (2-clorobencil) 4-fenil 1,2,3 triazol.		
Estructura	Propiedades	
	Estado	Solido

	Color	
	Pto. Ebll.	Blanco

1 (2,4 diclorobencil) 4-fenil 1,2,3 triazol.		
Estructura	Propiedades	
	Estado	Solido
	Color	Blanco brillante
	Pto. Fus.	

Posteriormente se evalúa el sistema Benedict / glucosa como fuente de Cu+1, utilizando 1mmol de alquino, 1mmol de azida 0.025 mol de glucosa, como patrón 1ml de solución de tartrato de sodio y potasio (Fheling B) y 0.25 ml de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (Fheling A) que corresponden a 0.01molen base a la metodología descrita en el anexo 8. Variando la cantidad del reactivo de benedict en 0.015 mol, 0.010 mol 0.005 mol equivalentes de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Debido la reacción de glucosa con Benedict y Fheling que generan los mismos productos por oxidación del grupo aldehído.

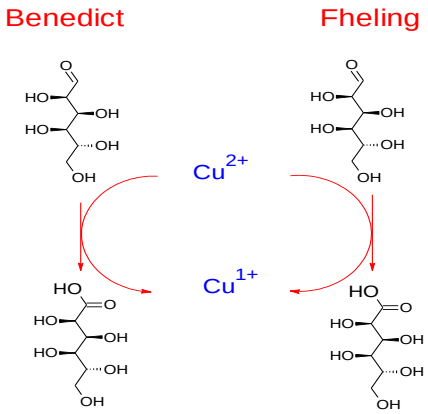


Fig. 27 Producción de Cu^{1+}

Debido a que el precio comercial del reactivo de benedict es menor que el del reactivo de Fheling, se plantea el uso del reactivo de benedict como nueva fuente de cobre y se evalúa su acción catalítica.

Tabla 13 Resultados accion catalitica Cu1+ B / G

COMPUESTO	0,25 mol de glucosa							
	Benedict 10%		Benedict 5%		Benedict 1%		Fheling 5%	
1-fenil, 4-fenil, 1,2,3 triazol.	89.8 %	88.6 %	89.3 %	88.5 %	62.3 %	58.4 %	85.3 %	86.7 %
1-bencil 4-fenil 1,2,3 triazol.	86.1 %	85.2 %	84.5 %	82.3 %	71.6 %	74.8 %	90.2 %	91.0 %
1 (2-clorobencil) 4-fenil 1,2,3 triazol.	60.3 %	60.8 %	59.8 %	61.3 %	32.5 %	34.6 %	58.2 %	56.3 %
1 (2,4 diclorobencil) 4-fenil 1,2,3 triazol.	63.4 %	65.1 %	64.8 %	65.2 %	48.3 %	49.2 %	60.4 %	60.8 %

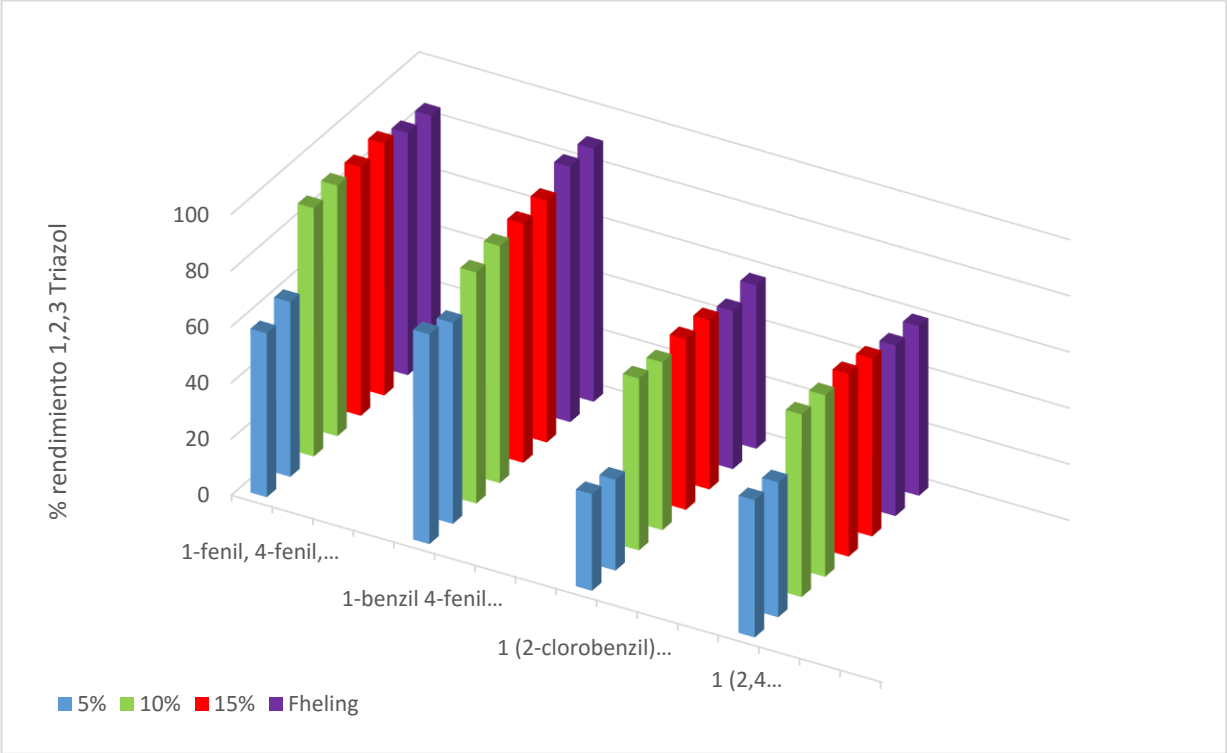


Fig. 28 porcentaje de rendimiento 1,2,3 Triazol B / G

Fig. 29 % rendimiento 1-Fenil, 4 Fenil 1,2,3 Triazol.

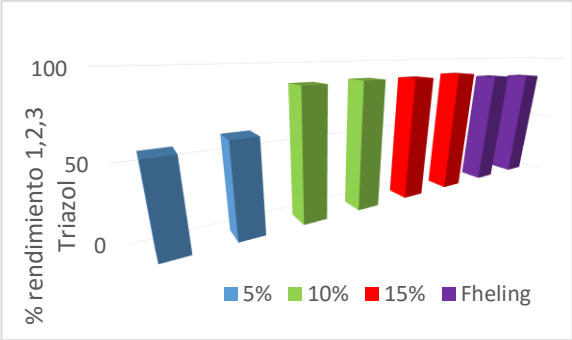


Fig. 30 % rendimiento 1(2,4 dicloro benzil) 4-fenil 1,2,3 triazol

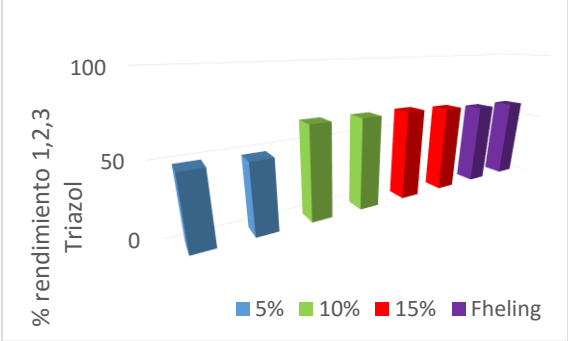


Fig. 31 % Rendimiento 1bencil 4,fenil 1,2,3 Triazol

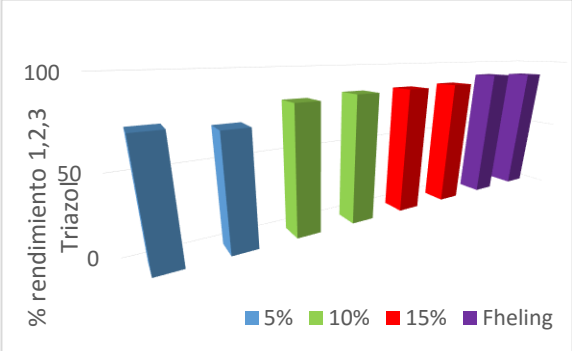
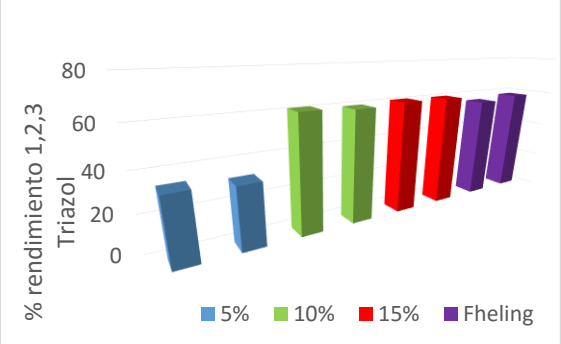


Fig. 32 % Rendimieniento 1(2-clorobenzil) 4-fenil 1,2,3 triazol



Como se observa en las gráficas anteriores no hay una diferencia demasiado grande entre la acción catalítica del sistema B/G y F/G al 5%; paralelamente hay un incremento leve en el rendimiento con el sistema B/G al 10%; el sistema al 1% presenta un bajo rendimiento en la acción catalítica; debido a la baja cantidad de Cu^{1+} en estado libre, listo para formar el acetiluro de cobre que da inicio a la reacción “Click”. Por lo tanto; en base a la relación costo beneficio la concentración el reactivo de Benedict al 10% es la más eficiente.

En contraste con los resultados obtenidos con el sistema F/G, el reactivo de benedict presenta un menor rendimiento en la reacción con unos compuestos, pero mayor en otros; debido al mayor costo y poca diferencia en el rendimiento se descarta el sistema Fheling Glucosa y se utiliza el reactivo de benedict como nueva fuente de Cu^{1+}; y se realiza el control cromatógrafico de la reacción empleando el reactivo de Beedict, de acuerdo al anexo 8.

Con base a la estructura del anillo heteroatomo, presente en el triazol que contiene los pares electrónicos libres de los tres nitrógenos, los electrones π de los dos dobles enlaces, que pueden interactuar con los oxígenos presentes en el gel de Silice; si mencionar la alta electronegatividad de los halógenos presentes en los sustituyentes del anillo en algunas de las moléculas. Por lo tanto los triazoles presentan una alta afinidad con la fase estacionaria, lo que se refleja en un bajo rf; por el contrario las azidas de menor peso molecular y alta densidad electrónica presentan un rf mayor;

en último lugar el fenilactileno presenta una mayor afinidad por la fase móvil y presenta un rf mayor. Los folios cromatógrafos son revelados mediante radiación UV; como se muestra en la figura 33.

Fig. 33 Cromatograia en capa fina de 1,2,3 triazoles

6.5. ANTIBIOGRAMA

De acuerdo a la metodología empleada se logra obtener un cultivo de *phytophthora infestans capcisi*. Replicado en agar Trigo/Centeno; identificado al microscopio con azul de lactoferol.

Fig. 34 Replicación phythoptora

También se cuenta con resultados preliminares de los antibiogramas por el método de los sensidiscos. En el cual, se evidencia una actividad biológica importante para ser estudiada.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Del trabajo experimental realizado, el análisis de resultados propuestos se concluye que:

- La CTF, supone una eficaz metodología en la obtención de bencil azidas, por el transporte iónico que permite la sustitución de un halógeno por el grupo N3; en la síntesis de aril azidas, se evidencia la eficiencia de las sales de diazonio como intermediarios en la sustitución nucleofilica con el grupo azida.

- Se sintetizaron los compuestos 1-fenil 4- fenil 1,2,3-triazol, 1-bencil 4-fenil 1,2,3-triazol, 1(2-clorobencil) 4-fenil 1,2,3-triazol y 1(2,4 diclorobencil) 4-fenil 1,2,3 triazol mediante CuAAC, con óptimos rendimientos de reacción

- Del análisis de los espectros FT-IR se evidencia la desaparición de las bandas correspondientes a las materias primas: la banda característica en 2100 cm^{-1} correspondiente al grupo N=N=N y la banda sobre los 2300 cm^{-1} correspondiente al alquino terminal C≡C-H. Evidenciando la formación del 1,2,3 triazol.

- Se presume que la fuente empleada de Cu^{1+} no afecta los rendimientos de reacción en la CuAAC; si no la cantidad de especie catalítica libre en el medio de reacción capaz de formar los acetiluros

de cobre que dan inicio al ciclo de acción catalítica y el solvente empleado afecta los rendimientos de reacción levemente, pero es determinante en la extracción de los 1,2,3-triazoles para su purificación. Por lo tanto se recomienda el uso de metanol y benedict al 5%

A manera de recomendaciones se propone:

- Identificar de mejor manera los triazoles mediante técnicas que permitan identificar fragmentos de la molécula y hacer una elucidación estructural más acertada como espectrometría de masas y difracción de rayos X.

- Realizar ensayos de actividad biológica automatizados, debido a su mayor efectividad y confiabilidad en diferentes cepas de hongos.

- Utilizar diferentes moléculas funcionalizadas con alquino terminal para su posterior cicloadicion con las azidas sintetizadas para poder evaluar su posible actividad biológica

- Realizar experimentaciones variando la cantidad de reactivo de benedict empleado en 20% y 2% para establecer con mayor exactitud la concentración más efectiva como fuente de Cu^{1+}

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

[1] Wang, Quian, and Craig Hawker. "Editorial: Toward a Few Good Reactions: Celebrating Click Chemistry's First Decade." *Chemistry - An Asian Journal* 6.10 (2011): 2568–2569. Web.

[2] Gregorí Valdés, Bárbara Susana. "Estructura Y Actividad de Los Antifúngicos." *Revista Cubana de Farmacia* 39.2 (2005): n. pag. Print.

[3]GACAL, Burçin. "COMPLEX MACROMOLECULAR AND ELECTRO-/PHOTO-ACTIVE STRUCTURES BY 'CLICK CHEMISTRY.'" ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ↔ INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, 2011. Print.

[4] Daugaard, Anders Egede. *Functional Materials by Click Chemistry PhD Thesis Functional Materials by Click*. N.p., 2009. Print.

[5] Cho, Seung Hwan et al. "Copper-Catalyzed Hydrative Amide Synthesis with Terminal Alkyne, Sulfonyl Azide, and Water." *Journal of the American Chemical Society* 127.46 (2005): 16046–16047. Web.

[6] ARRATIA, Q. JAIME GONZÁLEZ. "INFLUENCIA DE LAS BASES INORGANICAS EN LA CICLOADICION ALQUINO-AZIDA CATALIZADA POR Cu(I) PARA LA OBTENCION DE 1,2,3-TRIAZOLES." Universidad autónoma del estado de méxico facultad de química, 2010. Print.

[7] Waqar, Asfand. "Click Chemistry for Coplloidal Assembly." University of Illinois, 2011. Print.

[8] Li, Yan, and Chengzhi Cai. "Click Chemistry-Based Functionalization on Non-Oxidized Silicon Substrates." *Chemistry - An Asian Journal* 6.10 (2011): 2592–2605. Web.

[9] Gulevich, Anton V., and Vladimir Gevorgyan. "Versatile Reactivity of Rhodium-Iminocarbenes Derived from N-Sulfonyl Triazoles." *Angewandte Chemie - International Edition* 52.5 (2013): 1371–1373. Web.

[10] Raushel, Jessica, and Valery V. Fokin. "Efficient Synthesis of 1-Sulfonyl-1,2,3-Triazoles." *Organic Letters* 12.21 (2010): 4952–4955. Web.

[11] Garcia-Munoz, Angel et al. "Alkyne-Azide Cycloaddition Catalyzed by Fe-Cu Nanoparticles." *Letters in Organic Chemistry* 9.3 (2012): 160–164. Web.

[12] Bräse, Stefan et al. "Organic Azides: An Exploding Diversity of a Unique Class of Compounds." *Angewandte Chemie - International Edition* 44.33 (2005): 5188–5240. Web.

[13] Kim, Seok Hwan et al. "Sulfonyl and Phosphoryl Azides: Going Further beyond the Click Realm of Alkyl and Aryl Azides." *Chemistry - An Asian Journal* 6.10 (2011): 2618–2634. Web.

[14] Miura, Tomoya, Motoshi Yamauchi, and Masahiro Murakami. "Nickel-Catalysed Denitrogenative Alkyne Insertion Reactions of N-Sulfonyl-1,2,3-Triazoles." *Chemical communications (Cambridge, England)* 7345.12 (2009): 1470–1471. Web.

[15] Publication, A. "Preparation of 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazoles via Ruthenium-Catalyzed Azide Alkyne Cycloaddition." *Organic Syntheses* 90.September (2013): 96. Web.

[16] Roush, Cathleen. "Uncatalyzed Microwave Synthesis of Simple and Bis 1 , 2 , 3- Triazole." (2011): n. pag. Print.

[17] Valencia, A et al. "Effect of the Ligand in the Synthesis of 1-Sulfonyl-1 , 2 , 3-Triazoles Through." 56.2 (2012): 152–155. Print.

[18]Chattopadhyay, Buddhadeb, and Vladimir Gevorgyan. "Rh-Catalyzed Transannulation of Terminal Alkynes." *Tetrahedron* c (2011): 7–10. Print.

[19] Eun, Jeong Yoo et al. "Mechanistic Studies on the Cu-Catalyzed Three-Component Reactions of Sulfonyl Azides, 1-Alkynes and Amines, Alcohols, or Water: Dichotomy via a Common Pathway." *Journal of Organic Chemistry* 73.14 (2008): 5520–5528. Web.

[20] Lee, Jae Wook, and Byung K. Kim. "A Facile Route to Triazole Dendrimers via Click Chemistry Linking Tripodal Acetylene and Dendrons." *Bulletin of the Korean Chemical Society* 26.4 (2005): 658–660. Web.

[21] Li, Yan, and Chengzhi Cai. "Click Chemistry-Based Functionalization on Non-Oxidized Silicon Substrates." *Chemistry - An Asian Journal* 6.10 (2011): 2592–2605. Web.

[22] Lee, Jae Wook, and Byung K. Kim. "A Facile Route to Triazole Dendrimers via Click Chemistry Linking Tripodal Acetylene and Dendrons." *Bulletin of the Korean Chemical Society* 26.4 (2005): 658–660. Web.

[23] Daugaard, Anders Egede. *Functional Materials by Click Chemistry PhD Thesis Functional Materials by Click*. N.p., 2009. Print.

[24] Ortega Muñoz, Mariano. "Sintesis de Sistemas Multivalentes Conteniendo Azucares E Inmovilizacion de Biomoleculas Mediante 'Click Chemistry.'" (2007): n. pag. Print.

[25] Gian Cesare Tron, Tracey Pirali, Richard A. Billington, Pier Luigi Canonico, Giovanni Sorba, Armando A. Genazzani, and Lynne Pierpoint. "ClickChemistryReactionsin MedicinalChemistry:Applications ofthe1,3-dipolarCycloaddition BetweenAzidesandAlkynes." *Medicinal Research Reviews* 28.6 (2012): 1292–1327. Web.

[26] Malmgren, Lisa M. "Using in Situ Click Chemistry to Modulate Protein- Protein Interactions : Bcl-XL as a Case Study." (2007): n. pag. Print.

[27] Pagliai, Francesca et al. "Rapid Synthesis of Triazole-Modified Resveratrol Analogues via Click Chemistry." *Journal of Medicinal Chemistry* 49.2 (2006): 467–470. Web.

[28] Marco A. garcia, Zita G. Rios, Victor M. Perez, Nancy Lara, Aydee Fuyentes, Carlos Gonzales, David Corona and Erick Cuevas. "The Use of Glucose as Alternative Reducing Agent in Coppeer-Catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition." (2012): 2012. Print

[29] Lima-Neto, Reginaldo G. et al. "Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives and in Vitro Antifungal Evaluation on Candida Strains." *Molecules* 17.5 (2012): 5882–5892. Web.

[30] Lima-Neto, Reginaldo G. et al. "Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives and in Vitro Antifungal Evaluation on Candida Strains." *Molecules* 17.5 (2012): 5882–5892. Web.

[31] Kathiravan, Muthu K. et al. "The Biology and Chemistry of Antifungal Agents: A Review." *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 20.19 (2012): 5678–5698. Web.

[33] Kathiravan, Muthu K. et al. "The Biology and Chemistry of Antifungal Agents: A Review." *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 20.19 (2012): 5678–5698. Web.

[34] Hernandez, Rosario Judidth Villatoro. "Actividad Contra Hongos Causales de Micosis Subcutaneas de Seis Especies Herbaceas." Universidad de San Carlos de Guatemala, 2008. Print.

[35] Maertens, J a. "History of the Development of Azole Derivatives." *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 10 Suppl 1 (2004): 1–10. Web.

[36] Serdar, Mevlut, C Elif, and E L Ik. "Synthesis and Antimicrobial Activities of Some New." 31 (2007): 335–348. Web.

[37] Montti, Bqca. María Isabel Tatiana. "F Ungicidas T Riazólicos En." UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA, 2010. Print.

[38] Suryawanshi, Jeevan M, and Pharmaceutical Chemistry. "' Microwave Assisted Synthesis of Some Mannich Bases of Halogenated Benzothiazolo Substituted Triazoles and Screening for

Antimicrobial Activity ' K . L . E . Society ' S College of Pharmacy " Microwave Assisted Synthesis of Some Mannich Bases." (2010): n. pag. Print.

[39] Kathiravan, Muthu K. et al. "The Biology and Chemistry of Antifungal Agents: A Review." *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 20.19 (2012): 5678–5698. Web.

[40] GARCIA, WILSON ALEJANDRO RODRIGUEZ JOSUE ANSELMO. "SÍNTESIS LIBRE SOLVENTE DE 1-(2,4-DICLOROFENIL)-2-IMIDAZOL-1-IL-ETANONA Y 1-(2,4-DICLOROFENIL)-2-IMIDAZOL-1-IL-ETANOL PRECURSORES ESTRUCTURALES EN LA SINTESIS DE ANTIFUNGICOS." UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÈ DE CALDAS FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÒN, 2013. Print.

[41] Publication, A. "Phenylacetylene." *Organic Syntheses* 30.September (1950): 72. Web.

[42] Publication, A. "ALKYNES via PHASE TRANSFER–CATALYZED DEHYDROHALOGENATION: PROPIOLALDEHYDE DIETHYL ACETAL." *Organic Syntheses* 59.September (1979): 10. Web.

[43] Wei, Jin Jian et al. "Synthesis of Novel D-Glucose-Derived Benzyl and Alkyl 1,2,3-Triazoles as Potential Antifungal and Antibacterial Agents." *Bulletin of the Korean Chemical Society* 32.1 (2011): 229–238. Web.

[44] Yan, Wuming et al. "Mitsunobu Reaction of 1,2,3-NH-Triazoles: A Regio- and Stereoselective Approach to Functionalized Triazole Derivatives." *Chemistry - An Asian Journal* 6.10 (2011): 2720–2724. Web.

[45] Edgar, Lic, and Enrique Ramírez. "Facultad de Ciencias Exactas Físicas Y Naturales." 57 (2006): n. pag. Print.

[46] Street, West Van Buren. "Material Safety Data Sheet Material Safety Data Sheet." 2012 (2013): 1–8. Print.

[47] ARRATIA, Q. JAIME GONZÁLEZ. "INFLUENCIA DE LAS BASES INORGANICAS EN LA CICLOADICION ALQUINO-AZIDA CATALIZADA POR Cu(I) PARA LA OBTENCION DE 1,2,3-TRIAZOLES." Universidad autónoma del estado de méxico facultad de química, 2010. Print.

[48] Identification, Company. "Material Safety Data Sheet Benzyl Alcohol MSDS." 2 (2000): 1–6. Print.

[49] Identification, Hazards. "Benzyl Chloride (Cas 100-44-7) MSDS Benzyl Chloride." n. pag. Print.

[50] Identification, Company. "Material Safety Data Sheet Benzyl Alcohol MSDS." 2 (2000): 1–6. Print.

[51] Identification, Hazards. "Benzyl Chloride (Cas 100-44-7) MSDS Benzyl Chloride." n. pag. Print.

[52] Disponible en: http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.11652.html. Septiembre de 2015.

[53] Disponible en https://www.alfa.com/en/catalog/32635. Septiembre de 2015.

[54] Identification, Company. "Material Safety Data Sheet Benzyl Alcohol MSDS." 2 (2000): 1–6. Print.

[55] Identification, Hazards. "Benzyl Chloride (Cas 100-44-7) MSDS Benzyl Chloride." n. pag. Print.

[56] Disponible en: http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.11652.html. Septiembre de 2015.

[57] Disponible en https://www.alfa.com/en/catalog/32635. Septiembre de 2015.

[58] Alvarez-Builla, Julio. "METODOS NO CONVENCIONALES EN SINTESIS DE FARMACOS." Universidad de Alcalá, Complutense, S. Pablo-CEU Print.