



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



NATALÍ PIRES DEBIA

***SÍNTESE, FOTOFÍSICA E ESTUDO DE INTERAÇÃO COM BSA E DNA
DE 1,2,3-TRIAZÓIS 1,4,5-TRISSUBSTITUÍDOS DERIVADOS
DE AMINO ÁCIDOS E 2-ARILBENZAZÓIS***

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, novembro de 2019.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



NATALÍ PIRES DEBIA

***SÍNTESE, FOTOFÍSICA E ESTUDO DE INTERAÇÃO COM BSA E DNA
DE 1,2,3-TRIAZÓIS 1,4,5-TRISSUBSTITUÍDOS DERIVADOS
DE AMINO ÁCIDOS E 2-ARILBENZAZÓIS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtke
Orientador

Porto Alegre, novembro de 2019.

CIP - Catalogação na Publicação

Debia, Natalí Pires

Síntese, fotofísica e estudo de interação com BSA e DNA de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos derivados de amino ácidos e 2-arylbenzazóis / Natalí Pires

Debia. -- 2019.

140 f.

Orientador: Diogo Seibert Lüdtkke.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. 1,2,3-triazol. 2. benzazol. 3. síntese orgânica. 4. fotofísica. 5. interação com biomoléculas. I. Lüdtkke, Diogo Seibert, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

À minha família, por todo afeto, carinho e dedicação.

Ao Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtkke, pela excelente orientação durante os anos de iniciação científica e mestrado.

Aos Profs. Dr. Fabiano Severo Rodembusch e Dr. Bernardo Almeida Iglesias e ao Me. Otávio Chaves, pela colaboração neste projeto.

À Prof^a Dra. Angélica Venturini Moro, pelas contribuições e pelo apoio.

Ao Juan Jesus Prado Rodriguez, pela contribuição feita durante seus dois meses no laboratório desenvolvendo seu TCC.

Aos amigos Eric Lopes, Luana Silva, Pedro Acosta e Victória Isoppo, por todos os momentos divertidos que transformam o laboratório em um lugar agradável de trabalhar.

Aos demais colegas do grupo, pela convivência.

Agradeço especialmente ao Viktor Saraiva Câmara, por todo o amor, companheirismo, risadas e ajuda ao longo desses anos.

SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Objetivos	2
2.1	Objetivos específicos	2
3	Fundamentação teórica	3
3.1	Sistema triazólico.....	3
3.1.1	Reação de cicloadição 1,3-dipolar.....	4
3.1.2	Desenvolvimento da síntese de 1,2,3-triazóis	6
3.2	Sistema benzazólico.....	11
3.3	Propriedades luminescentes	13
3.3.1	Coeficiente de absorção molar (ϵ)	15
3.3.2	Deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$)	16
3.3.3	Rendimento quântico de fluorescência (Φ_f).....	16
3.4	Sensores ópticos	17
3.4.1	Associação com BSA	20
3.4.2	Interação com DNA	21
4	Apresentação e discussão dos resultados	22
4.1	Obtenção dos produtos triazólicos.....	22
4.2	Estudo fotofísico dos 1,2,3-triazóis	30
4.3	Estudo de interação com biomoléculas	35
4.3.1	Interação com BSA.....	36
4.3.2	Interação com DNA	38
5	Considerações finais	42
6	Experimental	44
6.1	Materiais e métodos	44
6.2	Preparação do 2-(4'-aminofenil)benzotiazol	45
6.3	Preparação do 2-(4'-azidofenil)benzotiazol	45
6.4	Redução da <i>N</i> -Boc L-prolina	45
6.5	Procedimento geral para a esterificação de amino ácidos	46
6.6	Procedimento geral para a proteção com grupo Boc.....	46
6.7	Procedimento geral para redução com $LiAlH_4$	47
6.8	Procedimento geral para transesterificação	47
6.9	Procedimento geral para a síntese dos 1,2,3-triazóis.....	50

6.10	Procedimento para a desproteção do grupo Boc	53
6.11	Estudo de interação com BSA.....	56
6.12	Estudo de interação com DNA	57
7	Referências	58
8	Anexos	65

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Esquema geral para a síntese de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos	2
Esquema 2. Métodos de síntese de 1,2,3-triazóis a partir de alcinos e azidas orgânicas.....	6
Esquema 3. Primeira síntese organocatalítica para o sistema 1,2,3-triazol.	7
Esquema 4. Métodos de síntese de 1,2,3-triazóis a partir de compostos carbonílicos.	8
Esquema 5. Métodos de síntese de benzazóis a partir de ciclocondensação...	12
Esquema 6. Métodos de síntese de benzazóis a partir de ciclização intramolecular.....	13
Esquema 7. Síntese dos β -ceto ésteres 8a-f derivados de amino ácidos.	22
Esquema 8. Síntese do 2-(4'-azidofenil)-benzotiazol 12.	23
Esquema 9. Síntese dos 1,2,3-triazóis e posterior desproteção do grupo Boc.	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Equilíbrio tautomérico para 1,2,3-triazóis e 1,2,4-triazóis.....	3
Figura 2. Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre 1,3-dipolo e dipolarófilo.	4
Figura 3. Exemplos de 1,3-dipolos dos tipos alil e propargil-alenil.	4
Figura 4. Classificação do orbital molecular de fronteira para reações de cicloadição.	5
Figura 5. Ciclo catalítico proposto para a síntese de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos.	9
Figura 6. Escopo dos 1,2,3-triazóis sintetizados em estudo anterior.	10
Figura 7. Diagrama de Jablonski – processos de absorção e emissão de energia.	14
Figura 8. Ação esquemática de um sensor na presença do analito.	17
Figura 9. Mecanismos de ação de sensores fluorescentes.....	19
Figura 10. Estrutura da BSA apresentando os subdomínios ⁶⁰ (esquerda) e comparação entre HSA e BSA apresentando a localização dos resíduos ⁶³ de Trp.....	21
Figura 11. Diferentes modos de interação com o DNA ⁶⁷ : 1. interação no sulco maior; 2. interação no sulco menor; 3. interação eletrostática; e 4. intercalação.	21
Figura 12. Espectro de RMN de ¹ H para o composto 15a (CDCl ₃ , 400 MHz)...	25
Figura 13. RMN de ¹ H-COSY (a) e ¹ H-ROESY (b) para o composto 15a (CDCl ₃ , 400 MHz).....	26
Figura 14. Espectro de RMN de ¹³ C para o composto 15a (CDCl ₃ , 100 MHz)..	27
Figura 15. RMN de ¹ H ¹³ C-HMBC (a) e ampliação da região aromática (b) e alifática (c) do RMN de ¹ H ¹³ C-HSQC para o compost 15a (CDCl ₃ , 400 MHz)..	28
Figura 16. Cromatograma da mistura 15d + 15e (a) e do composto 15d puro (b). Condições utilizadas: coluna quiral <i>Chiralcel IB</i> , hexano: <i>i</i> -propanol (50:50) como eluente, fluxo de 0,1 mL/min, detector UV 254 nm.	29
Figura 17. UV-Vis dos compostos 13g (a) e 13h (b) nos diferentes solventes testados.....	30
Figura 18. Espectro de fluorescência para o composto 13g em (a) 1,4-dioxano, (b) diclorometano, (c) metanol e (d) acetonitrila.....	31
Figura 19. Espectros de fluorescência para o composto 13h em (a) 1,4-dioxano, (b) diclorometano, (c) metanol e (d) acetonitrila.....	32

Figura 20. Espectro de emissão de fluorescência da BSA após sucessivas adições dos compostos (a) 13a e (b) 14.	36
Figura 21. Docking molecular dos compostos (A) 13a e (B) 14 na cavidade da BSA.	38
Figura 22. Espectro de absorção no UV-Vis dos compostos (a) 13a e (b) 14 após sucessivas adições de solução de DNA.	39
Figura 23. Espectro de emissão de fluorescência de solução BE-DNA após sucessivas adições de (a) 13a e (b) 14.	40
Figura 24. Docking molecular dos compostos (A) 13a e (B) 14 interagindo com as bases nitrogenadas do DNA.	41

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ	deslocamento químico
ε	coeficiente de absorção molar
$\Delta\lambda_{ST}$	deslocamento de Stokes
Φ_f	rendimento quântico de fluorescência
APF	ácido polifosfórico
ATR	<i>attenuated total reflectance</i>
BE	brometo de etídio
BINAM	1,1'-binaftil-2,2'-diamina
Boc	<i>tert</i> -butildicarbonila
BSA	albumina sérica bovina (do inglês, <i>serum bovine albumine</i>)
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	<i>correlation spectroscopy</i>
CT-DNA	DNA de timo de bezerro (do inglês, <i>calf thymus DNA</i>)
DBU	diazobicycloundecano
DCM	diclorometano
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DNA	ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DPPA	difenildifosforilazida
EF	emissão de fluorescência
EMAR	espectrometria de massas de alta resolução
ESI	<i>electrospray ionization</i>
FTIR	infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier-transform infrared</i>)
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HOMO	orbital ocupado de mais alta energia (do inglês, <i>highest occupied molecular orbital</i>)
HSQC	<i>heteronuclear single quantum correlation</i>
J	constante de acoplamento
LUMO	orbital desocupado de mais baixa energia (do inglês, <i>lowest unoccupied molecular orbital</i>)
NMP	<i>N</i> -metil-2-pirrolidina
RMN	ressonância magnética nuclear
ROESY	<i>rotating-frame overhause effect spectroscopy</i>
PCC	clorocromato de piridínio

PET	transferência de elétron fotoinduzida
PIFA	bis(trifluoroacetato) de feniliodo (III)
PPSE	éster de trimetilsililpolifosfato
TFA	ácido trifluoracético
THF	tetrahidrofurano
UV-Vis	UV-Visível

RESUMO

Sistemas heterocíclicos representam uma das unidades estruturais mais encontradas em diversos compostos de origem natural e sintética. A síntese de compostos heterocíclicos está em constante desenvolvimento devido a sua grande importância. Neste contexto, o núcleo 1,2,3-triazólico pode ser destacado por ser amplamente utilizado como *linker* para unir duas porções de interesse, visando o estudo de novos materiais orgânicos, fármacos e sensores fluorescentes. Diversas metodologias são descritas para a síntese deste núcleo, sendo que a cicloadição [3 + 2] enamina-azida organocatalisada tem bastante destaque pela variedade de compostos carbonílicos que podem ser empregados. Outro sistema heterocíclico de interesse são os compostos benzazólicos, que se destacam por suas características fotofísicas e são utilizados como grupo fluoróforo em sensores. Estes compostos podem ser aplicados no estudo de interação com biomoléculas, visando maior entendimento de seus mecanismos biológicos, bem como forma de interação com pequenas moléculas. Deste modo, este trabalho teve por objetivo a síntese de novos compostos 1,2,3-triazólicos derivados de amino ácidos contendo o núcleo benzazol como fluoróforo. Para tanto, foi empregada metodologia desenvolvida previamente no grupo de pesquisa, envolvendo a cicloadição [3 + 2] de azidas orgânicas a compostos β -ceto ésteres mediante aminocatálise. Foram sintetizados dezesseis novos compostos contendo derivados de amino ácidos unidos a benzazóis pelo núcleo 1,2,3-triazólico com excelentes rendimentos. As propriedades fotofísicas destas moléculas foram avaliadas por espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e por espectroscopia de emissão de fluorescência. O heteroátomo presente no sistema benzazol foi determinante na desativação dos compostos. Os derivados contendo o grupo benzoxazol apresentaram maior eficiência energética que os derivados contendo o grupo benzotiazol. Além disso, foram realizados estudos de interação com a proteína sérica bovina (BSA) e com o DNA. Os resultados indicam forte interação entre os compostos sintetizados e ambas as biomoléculas testadas.

Palavras-chave: 1,2,3-triazol, benzazol, fotofísica, BSA, DNA.

ABSTRACT

Heterocyclic systems represent one of the most general structure units found in several natural and synthetic compounds. The synthesis of heterocycles is constantly developing due to their great importance. In this context, 1,2,3-triazoles nucleus are highlighted because it is widely used as linker joining two moieties of interest to study new organic materials, drugs and fluorescent sensors. Several methodologies are described for the synthesis of this nucleus, among these, the [3 + 2] cycloaddition enamine-azide organocatalyzed has great highlight due the variety of carbonyl compounds that can be employed. Another very interesting system is the class of benzazole compounds, which stand out for their photophysics characteristics and are used as fluorophoric groups for sensing. These compounds can be applied in the study of interaction with biomolecules, in order to better understand their biological mechanisms, as well as their interaction with small molecules. In this line, the purpose of this dissertation was to synthesize new amino acid-derived 1,2,3-triazole containing the benzazole moiety as fluorophore. Therefore, a methodology previously developed in the research group was employed, involving the [3 + 2] cycloaddition reactions between organic azides and β -keto esters by aminocatalysis. Sixteen new compounds containing amino acids derivatives attached to benzazoles moiety by the core 1,2,3-triazole were synthesized in excellent yields. The photophysical properties of these molecules were evaluated by UV-Visible absorption and fluorescence emission spectroscopies. The heteroatom in the benzazole core present a fundamental role on the compounds deactivation. The benzoxazole derivatives presented higher energy efficiency compared to the benzothiazole analogues. In addition, interaction studies with bovine serum protein (BSA) and calf-thymus DNA were performed. The results indicate a strong interaction between the synthesized compounds and both biomolecules.

Keywords: 1,2,3-triazole, benzazole, photophysics, BSA, DNA.

1 INTRODUÇÃO

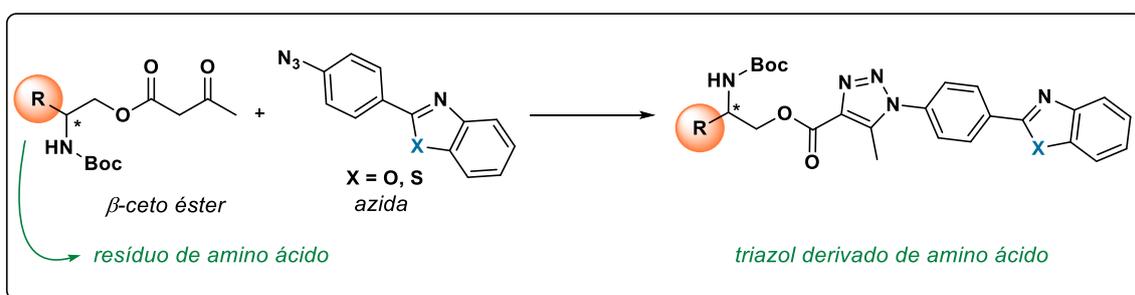
O desenvolvimento de sensores fluorescentes tem sido objeto de grande interesse no campo da química, biologia e ciência dos materiais. Ao se propor um sensor é necessário levar em conta que o composto precisa conter uma porção de reconhecimento e uma porção sinalizadora, que atuam de maneira sinérgica. Para ser empregado como sensor, o composto deve apresentar mudanças mensuráveis nas suas propriedades fotofísicas quando em contato com um analito. A porção de reconhecimento irá atuar através de interações específicas entre sensor e analito causando mudança no sistema, enquanto a porção sinalizadora – unidade fluorofórica – irá enviar um sinal óptico em resposta a esta perturbação do sistema. Em alguns casos, a porção fluorofórica pode atuar, também, como porção de reconhecimento.

Sob este aspecto, o desenvolvimento de sensores ópticos com resposta rápida, seletivos e que proporcionem a análise de biomoléculas com melhor relação custo-benefício é importante na área da saúde. Compostos que apresentam propriedades fotofísicas são potenciais candidatos a sondas fluorescentes para o estudo de interação de pequenas moléculas com proteínas e com DNA, por exemplo. Estes estudos levam a uma melhor compreensão dos mecanismos e sítios de ligação das biomoléculas com fármacos, permitindo que se desenvolvam compostos com melhor ação terapêutica e/ou menor toxicidade.

Desse modo, compostos benzazólicos representam uma classe de compostos orgânicos altamente relevantes devido a sua planaridade e sistema π -conjugado. Este núcleo apresenta propriedades fotofísicas atraentes para sua atuação como unidade fluorofórica. Considerando a interação com biomoléculas, pode ser interessante o uso de amino ácidos como materiais de partida para o desenvolvimento desses sensores ópticos. Amino ácidos são compostos de origem natural e unidades integrantes de proteínas, podendo ser facilmente reconhecidos em interações biológicas. Uma ferramenta sintética bastante útil para conectar essas duas porções – benzazol e derivado de aminoácido – é a formação de um *linker* 1,2,3-triazólico. Este sistema pode ser obtido, por exemplo, através da reação entre um composto 1,3-dipolar e um dipolarófilo mediante aminocatálise.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo síntese e caracterização fotofísica de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos através de reação de cicloadição [3 + 2] organocatalisada, partindo-se de β -ceto ésteres derivados de amino ácidos e 2-(4-azidofenil)-benzazóis (Esquema 1).



Esquema 1. Esquema geral para a síntese de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os β -ceto ésteres a partir de diversos amino ácidos comerciais;
- Sintetizar o 2-(4-azidofenil)-benzotiazol;
- Sintetizar os 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos correspondentes;
- Realizar o estudo fotofísico dos triazóis sintetizados;
- Estudo de interação dos triazóis com BSA e DNA.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Sistemas heterocíclicos estão presentes em diversos compostos naturais com atividade biológica e representam uma classe de compostos em constante desenvolvimento.¹ Esses núcleos são amplamente empregados no estudo de novos materiais orgânicos,^{2, 3} fármacos⁴ e sondas fluorescentes⁵.

3.1 SISTEMA TRIAZÓLICO

O núcleo triazólico é um sistema heterocíclico aromático de cinco membros contendo três nitrogênios e existe na forma de 1,2,3- e 1,2,4-triazóis. Ambos os sistemas, quando não substituídos no átomo de nitrogênio, apresentam equilíbrio tautomérico conforme mostrado na (Figura 1).

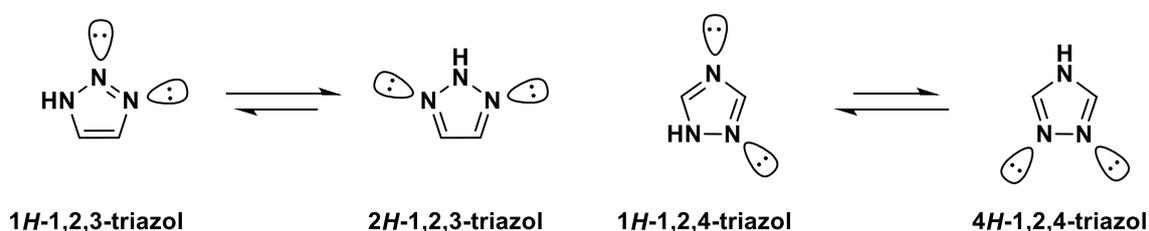


Figura 1. Equilíbrio tautomérico para 1,2,3-triazóis e 1,2,4-triazóis.

A estabilidade do tautômero em fase gasosa é altamente dependente da sua aromaticidade.⁶ Por exemplo, no sistema 1,2,3-triazol o equilíbrio está deslocado para a forma 2H que possui energia de estabilização aromática de 22,21 kcal mol⁻¹, enquanto que a forma 1H possui energia de estabilização aromática de 20,21 kcal mol⁻¹.⁶⁻⁸ Já no sistema 1,2,4-triazol, o equilíbrio está deslocado no sentido da forma 1H (18,01 kcal mol⁻¹) em detrimento da forma 4H (12,19 kcal mol⁻¹).^{6, 7, 9} Ambas as formas tautoméricas desfavorecidas apresentam átomos de nitrogênio vizinhos com pares de elétrons livres, cujas forças de repulsão levam à desestabilização energética do sistema.⁷ Quando se considera o equilíbrio em solução outros fatores tornam-se importantes, tais como: polaridade do solvente, ligações de hidrogênio e temperatura.⁶

Especificamente, o núcleo 1,2,3-triazol pode ser obtido através de reação de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen entre um dipolarófilo e um 1,3-dipolo.¹⁰ Este sistema é bastante versátil e vem sendo empregado como bloco construtor para materiais funcionais,^{11, 12} *linker* no desenvolvimento de fármacos,^{13, 14} sensores para proteínas,^{15, 16} entre outros.

3.1.1 Reação de cicloadição 1,3-dipolar

No início dos anos 60, Huisgen¹⁰ estudou e descreveu a reação entre compostos 1,3-dipolares e dipolarófilos (Figura 2) levando à formação de anéis heterocíclicos de 5 membros. Define-se um composto 1,3-dipolar como sendo uma espécie do tipo *a-b-c*, cujo átomo 'a' possui 6 \bar{e} de valência e carga formal positiva, e o átomo 'c' possui 8 \bar{e} de valência e carga formal negativa. Já o dipolarófilo costuma ser um alceno ou alcino, mas pode ser outro sistema *d-e* contendo ligação π entre os átomos.^{10, 17, 18}

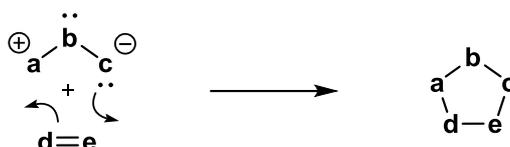


Figura 2. Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre 1,3-dipolo e dipolarófilo.

Quando o dipolo está escrito na sua forma 1,3 é chamado de estrutura sexteto, e para que a carga positiva seja estabilizada, ocorre a ressonância com o par de \bar{e} não compartilhado do átomo 'b'. Dessa forma, todos os átomos envolvidos completam sua camada de valência e tem-se dipolos com estabilização interna de octeto.¹⁰ A ligação π adicional entre *a-b* leva os dipolos a serem classificados em dois tipos: propargil-alenil e alil (Figura 3).¹⁸ Os dipolos do tipo propargil-alenil são lineares e quando escritos na forma 1,3-dipolar possuem ligação dupla entre os átomos *a-b*. Já os dipolos do tipo alil, são angulares e quando escritos na forma 1,3-dipolar não possuem ligação dupla entre os átomos *a-b*.

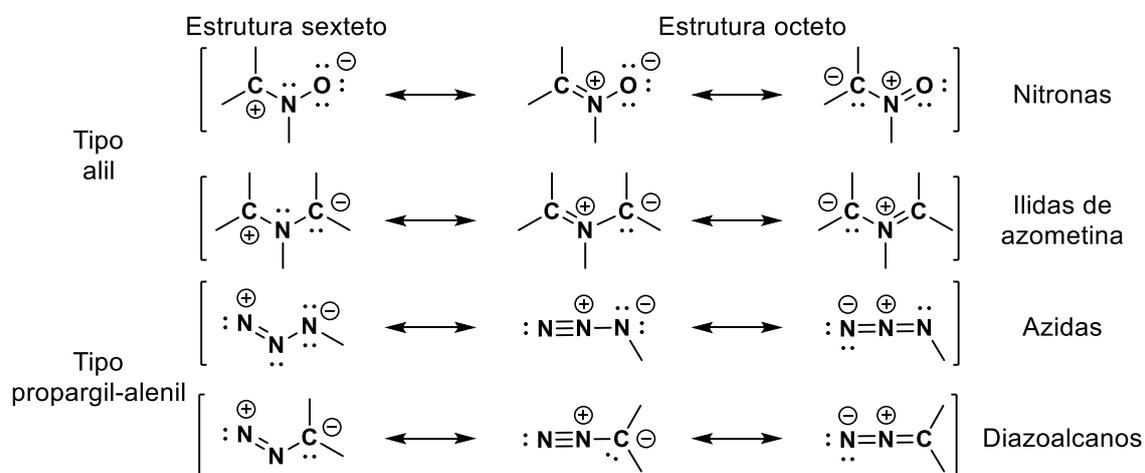


Figura 3. Exemplos de 1,3-dipolos dos tipos alil e propargil-alenil.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar é um exemplo de reação pericíclica permitida por simetria $[\pi 4_s + \pi 2_s]$,¹⁷⁻¹⁹ que envolve 4 π do 1,3-dipolo e 2 π do dipolarófilo na formação de duas novas ligações σ . A teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira explica a reatividade da cicloadição 1,3-dipolar através da análise da sobreposição dos orbitais ocupados de alta energia (HOMO) com os orbitais desocupados de baixa energia (LUMO).¹⁷⁻¹⁹ Tal sobreposição orbitalar pode ocorrer através de três caminhos diferentes, e Sustmann¹⁹ classificou as reações de cicloadição em Tipo I, II e III (Figura 4).

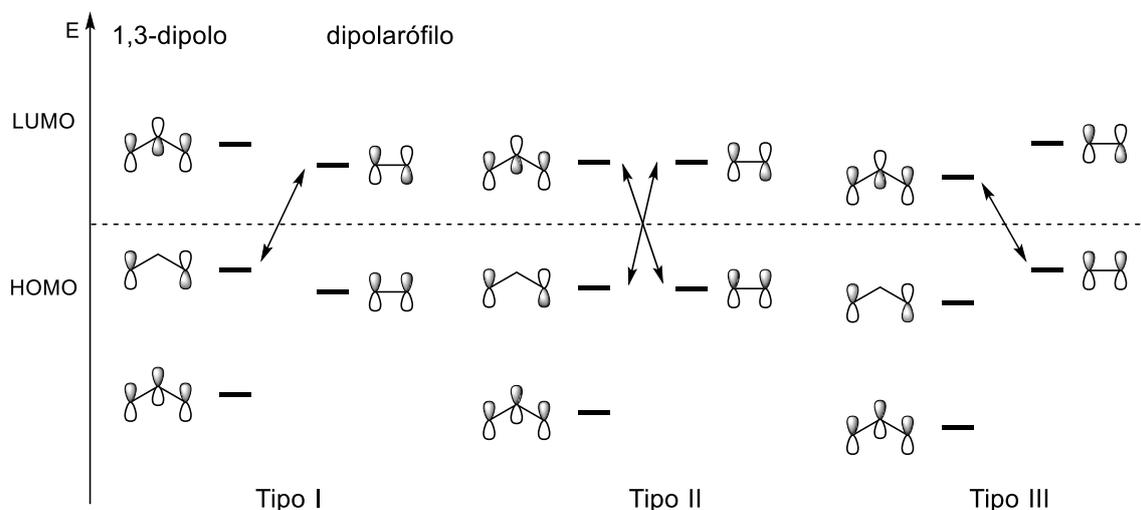


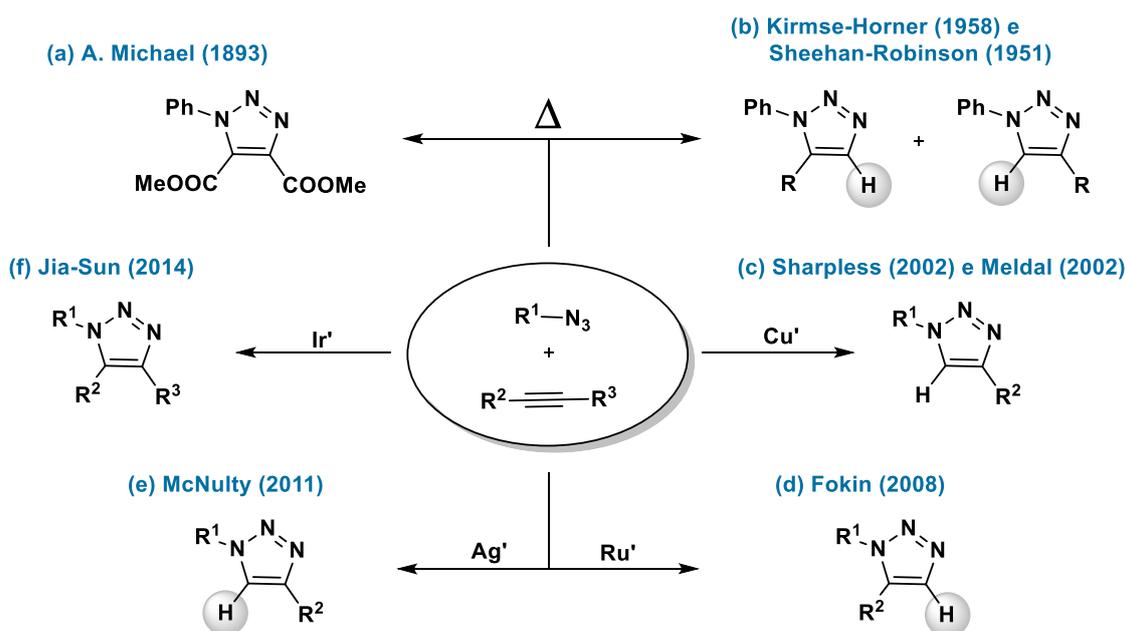
Figura 4. Classificação do orbital molecular de fronteira para reações de cicloadição.

Nas interações de Tipo I tem-se a sobreposição do HOMO do dipolo com o LUMO do dipolarófilo.¹⁸⁻²⁰ Nesta classe, grupos doadores de π no dipolo ou retiradores de π no dipolarófilo aceleram a reação ao elevar a energia do $\text{HOMO}_{\text{dipolo}}$ ou diminuir a energia do $\text{LUMO}_{\text{dipolarófilo}}$. Nas interações de Tipo III, ocorre a sobreposição do HOMO do dipolarófilo com o LUMO do 1,3-dipolo.¹⁸⁻²⁰ Neste tipo, grupos retiradores de π no dipolo ou doadores de π no dipolarófilo aceleram a reação ao diminuir a energia do $\text{LUMO}_{\text{dipolo}}$ ou elevar a energia do $\text{HOMO}_{\text{dipolarófilo}}$. No entanto, no Tipo II pode ocorrer tanto a sobreposição $\text{HOMO}_{\text{dipolo}}\text{-LUMO}_{\text{dipolarófilo}}$ quanto a sobreposição $\text{HOMO}_{\text{dipolarófilo}}\text{-LUMO}_{\text{dipolo}}$, em virtude da similaridade energética nos dois caminhos.¹⁸⁻²⁰ A presença de grupos doadores e retiradores de π no 1,3-dipolo e no dipolarófilo aceleram a reação. Dados cinéticos mostram que a fenilazida (Tipo II) apresenta taxa de reação com alcenos ativados muito superior à reação com alcenos não ativados.¹⁹

3.1.2 Desenvolvimento da síntese de 1,2,3-triazóis

Neste contexto, diversos métodos têm sido desenvolvidos desde que A. Michael realizou a síntese desse sistema pela primeira vez em 1893 (Esquema 2a) entre fenil azida e acetilodocarbóxilato de dimetila,^{10, 21} que necessitava de aquecimento elevado. Na década de 50, foram realizados estudos empregando alcinos terminais (Esquema 2b) e constatou-se que a natureza do substituinte pouco afetava a orientação do alcino frente a azida.^{10, 22, 23} A condição reacional ainda requeria elevadas temperaturas e levava à formação de dois regioisômeros 1,4- e 1,5-dissubstituídos.

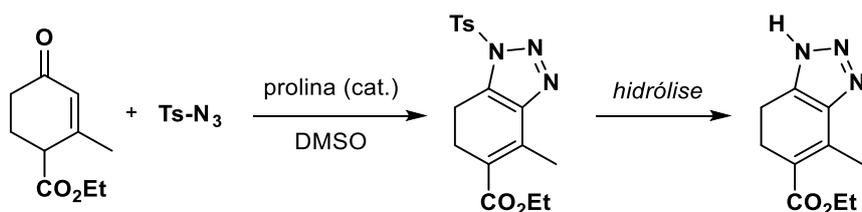
No início dos anos 2000, a reação de cicloadição 1,3-dipolar voltou a ser estudada e desenvolvida para a síntese de 1,2,3-triazóis, após ter sido amplamente estudada para outros sistemas. O sucesso da reação deve-se à utilização de catalisadores de Cu^{24, 25} e Ru^{26, 27} que permitiram a síntese regioseletiva de triazóis 1,4- (Esquema 2c) e 1,5-dissubstituídos (Esquema 2d), respectivamente. Com o avanço dos estudos, foram desenvolvidas metodologias catalíticas utilizando Ag¹⁹ (Esquema 2e), que leva ao triazol 1,4-dissubstituído, e Ir²⁸ (Esquema 2f), que leva a triazóis 1,4,5-trissubstituídos com controle regioseletivo dos grupos R² e R³ oriundos do alcino interno que não precisa ser simétrico. A introdução de catalisadores metálicos no meio reacional possibilitou o desenvolvimento de condições mais brandas de reação.



Esquema 2. Métodos de síntese de 1,2,3-triazóis a partir de alcinos e azidas orgânicas.

No entanto, a busca por metodologias livres de metais e que utilizassem materiais de partida diferentes de alcinos levou ao desenvolvimento das reações de cicloadição aminocatalíticas. Neste contexto, uma ampla gama de compostos carbonílicos podem ser empregados como, por exemplo, β -dicetonas,²⁹ β -ceto ésteres,^{15, 29} β -ceto sulfonas,³⁰ β -ceto amidas,³¹ α -ceto nitrilas,^{29, 32} aldeídos combinados com nitroalcanos,³³ entre outros.

O desenvolvimento das reações aminocatalisadas teve início com o estudo de Ramachary *et. al.*,³⁴ no qual foi possível sintetizar triazóis trissubstituídos empregando L-prolina como catalisador e toluenossulfonil azida (Esquema 3). Os autores observaram que para tempos reacionais entre 0,75 – 1 h obtinha-se os produtos NTs-1,2,3-triazol, enquanto que para tempos reacionais maiores, entre 12 – 24 h, ocorria a hidrólise do grupo tosila e eram obtidos os produtos MH-1,2,3-triazol.



Esquema 3. Primeira síntese organocatalítica para o sistema 1,2,3-triazol.

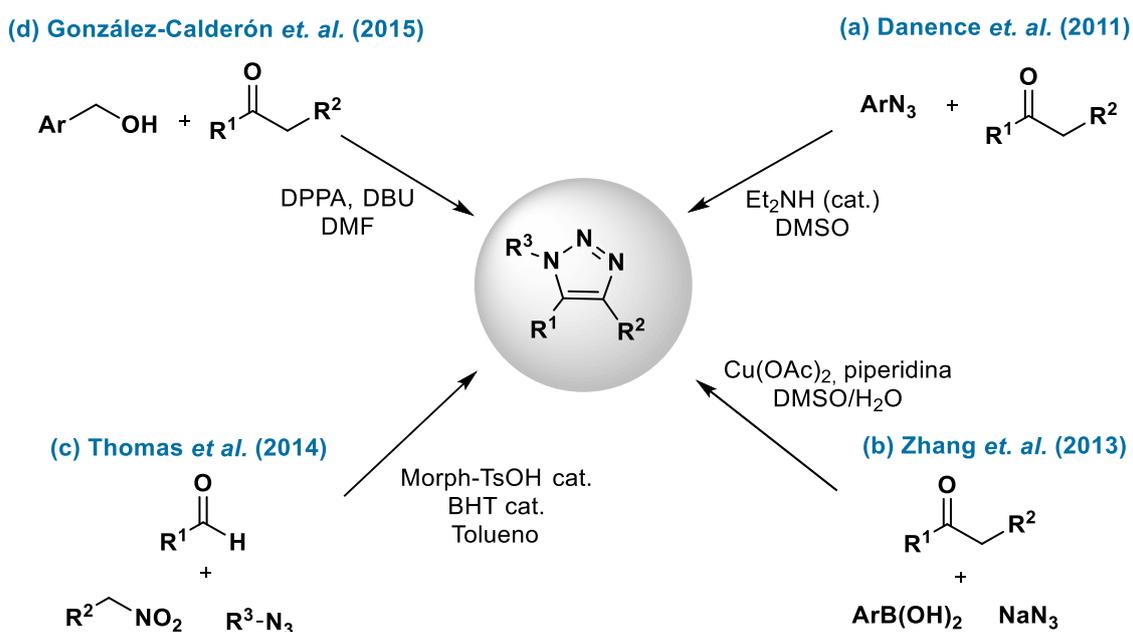
A síntese empregando compostos dicarbonílicos ativados e azidas orgânicas começa a ganhar destaque com Danence *et. al.*²⁹ Os autores descrevem uma metodologia para a obtenção de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos (Esquema 4a) a partir de diversas azidas aromáticas e compostos carbonílicos ativados contendo grupos retiradores de elétrons.

Ainda nesta linha de pesquisa, Zhang *et. al.*³⁵ descrevem uma metodologia *one-pot* na qual a azida orgânica é gerada *in situ* a partir da reação entre ácidos borônicos e azida de sódio na presença de Cu. A azida gerada reage com a enamina formada através da reação entre o composto carbonílico ativado e o catalisador piperidina (Esquema 4b).

A reação de condensação de Knoevenagel entre um aldeído e um nitrocomposto leva à formação de um aduto que, por sua vez, pode reagir com uma azida orgânica formando o núcleo 1,2,3-triazol (Esquema 4c). Segundo

estudos realizados por Thomas *et al.*,³³ o amino catalisador não é determinante na formação do núcleo triazólico, apenas na formação do aduto.

Por outro lado, no método descrito por González-Calderón *et al.*³⁶ a azida orgânica é formada *in situ* através da reação entre álcoois benzílicos e difenildifosforilazida (DPPA) na presença de diazobicicloundecano (DBU). A azida benzílica formada reage, então, com o enolato formado no meio reacional devido à presença de DBU (Esquema 4d).



Esquema 4. Métodos de síntese de 1,2,3-triazóis a partir de compostos carbonílicos.

O ciclo catalítico proposto²⁹ para a reação de cicloadição [3 + 2] enamina-azida (Figura 5) tem início com o ataque da amina secundária **I** ao composto carbonílico **II** gerando o íon imínio que tautomeriza a sua forma enamina **III**, liberando água. A enamina formada atua como uma olefina rica em elétrons e reage com a azida orgânica **IV** através de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen. A triazolina **V** formada está em equilíbrio com as formas **VI** e **VII** através de trocas protônicas. Por fim, a triazolina **VII** passa por um rearranjo eletrônico, aromatizando o sistema para gerar o núcleo 1,2,3-triazólico 1,4,5-trissubstituído **VIII** e restaurar o aminocatalisador **I** no meio reacional.

Estudos indicam que a adição de fenilazida a enaminas passa por um mecanismo concertado e não sincronizado no estado de transição, ou seja, as duas novas ligações σ não são formadas exatamente ao mesmo tempo.³⁷⁻³⁹

Cálculos teóricos indicam que a energia de ativação para o estado de transição concertado é cerca de 5 – 7 kcal mol⁻¹ mais estável que o estado de transição em etapas.³⁷⁻³⁹

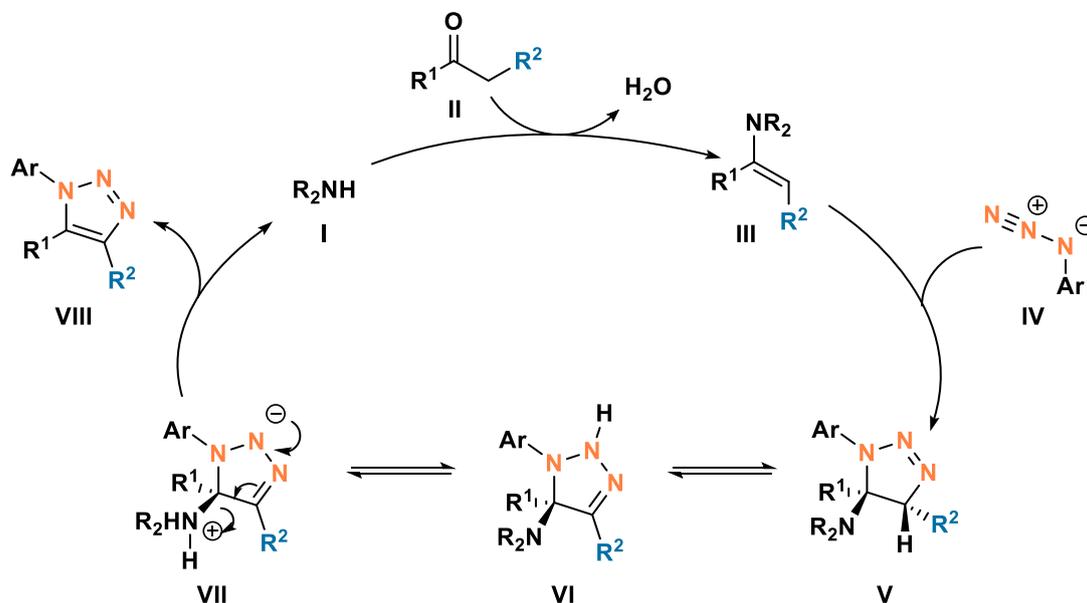


Figura 5. Ciclo catalítico proposto para a síntese de 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos.

Dentro desse contexto, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um trabalho¹⁵ visando maior complexidade estrutural dos 1,2,3-triazóis na porção derivada do composto carbonílico, empregando abordagem de cicloadição [3 + 2] enamina-azida organocatalisada. Para tal, foram utilizados derivados de quatro amino ácidos diferentes e, também, seis azidas aromáticas, gerando nove 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos inéditos (Figura 6). Além disso, o exemplo derivado da 4-azido-7-cloroquinolina teve o grupo Boc removido com o intuito de obter o grupo NH livre. A metodologia de síntese foi otimizada utilizando-se o β -ceto éster derivado da L-prolina e a 4-metoxifenilazida, e diversas aminas secundárias foram testadas como catalisador. Após esse estudo, determinou-se que a melhor condição reacional a ser empregada na síntese dos demais exemplos utiliza Et_2NH como catalisador e DMSO como solvente a 80°C.

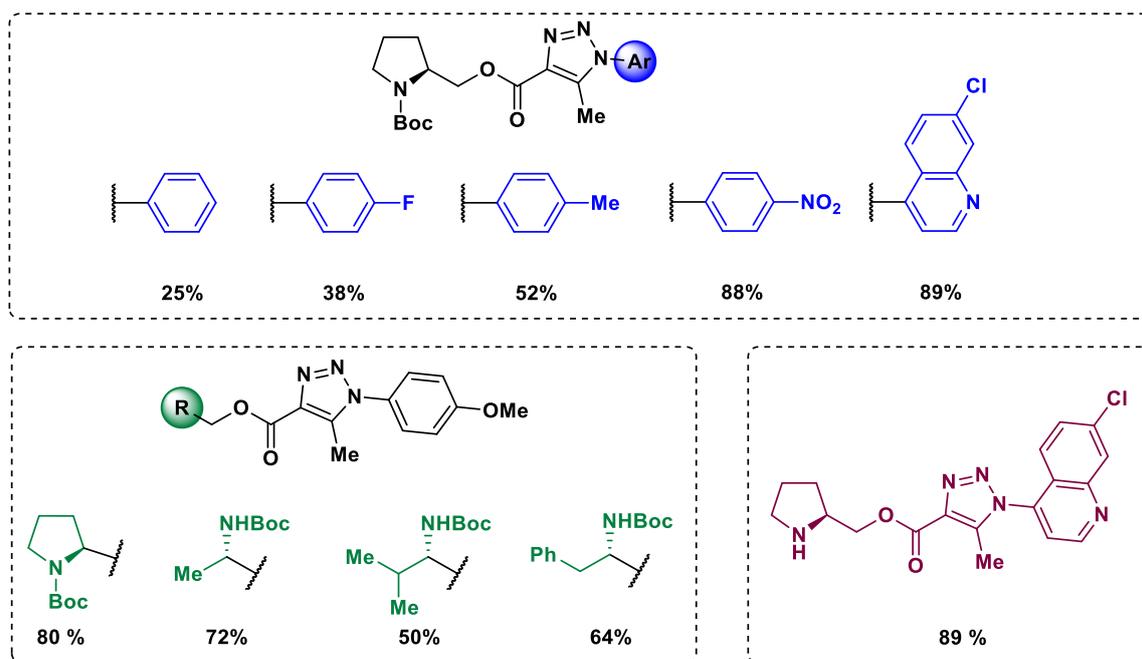


Figura 6. Escopo dos 1,2,3-triazóis sintetizados em estudo anterior.

Todos os compostos triazólicos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e de emissão de fluorescência. Adicionalmente, os dois derivados da L-prolina contendo o grupo 7-cloroquinolina foram testados como sondas fluorescentes para detecção de proteínas em solução utilizando albumina de soro bovina (BSA) como modelo e, também, como sensor enantiosseletivo para os enantiômeros do carboidrato arabinose. De acordo com esses estudos, ambos os compostos apresentaram relação linear tanto para supressão quanto para associação com a BSA na mesma proporção. Já no estudo com a arabinose, observou-se que o derivado contendo o grupo *N*-Boc foi mais eficiente na diferenciação dos dois enantiômeros em solução do que o derivado contendo o grupo *NH* livre. Além disso, os dois compostos testados apresentaram maior acréscimo de intensidade de fluorescência quando em contato com a D-arabinose do que com a L-arabinose. Segundo cálculos teóricos realizados, pode-se inferir que o enantiômero L-arabinose possui ligação de hidrogênio mais forte com os compostos, o que leva a maior desativação por meios não radiativos do que a D-arabinose.

3.2 SISTEMA BENZAZÓLICO

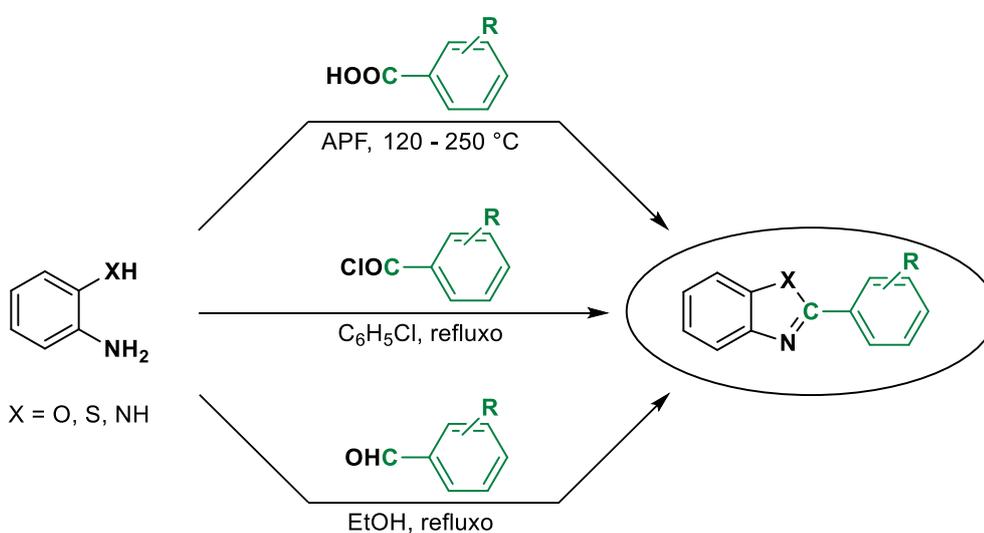
Benzazóis compõem uma classe de compostos bastante interessantes, pois devido a sua planaridade e sistema π -deslocalizado podem ser utilizados como fluoróforos na construção de sensores ópticos. Essa família é constituída de um anel benzênico fundido a um anel aromático heterocíclico de 5 membros, o qual incorpora um nitrogênio e um segundo heteroátomo (N, O, S e Se).^{7, 40} Derivados de benzazóis podem ser encontrados em sensores para íons e pH,⁴¹ imageamento de agregados amiloide,⁴² detecção de H₂S,⁴³ etc. Além disso, o núcleo benzazol é encontrado na estrutura de diversos fármacos devido a sua grande atividade biológica como bactericida, antifúngico, anticâncer, neuroprotetor, relaxante muscular, inibidor de colinesterase, etc.^{44, 45}

Dentre seus derivados, o núcleo 2-aryl-benzazol é amplamente utilizado devido a sua versatilidade e pode ser obtido através de uma grande variedade de metodologias.⁴⁵⁻⁴⁷ Para fins de exemplificação, o Esquema 5 apresenta métodos selecionados envolvendo reações de ciclocondensação com compostos carbonílicos; e o Esquema 6 apresenta métodos selecionados empregando reações de ciclização intramolecular.

A abordagem mais utilizada para a síntese de benzazóis é a reação de ciclocondensação entre *o*-aminofenol, *o*-aminotiol ou *o*-fenilenodiamina com ácidos carboxílicos e seus derivados ou aldeídos (Esquema 5). Nesse tipo de reação, normalmente a ativação se dá através da utilização de ácidos de Lewis e muitas vezes requer elevadas temperaturas. Uma metodologia sintética bastante usual é a condensação com ácidos carboxílicos em ácido polifosfórico (APF) a 120 – 250°C, seguida de neutralização com carbonato. Além desta, outras condições reacionais utilizam éster de trimetilsililpolifosfato (PPSE) ou, ainda, ácido metanossulfônico combinado com sílica gel, ambas as metodologias em temperaturas de 140°C.⁴⁵⁻⁴⁷

Outra rota sintética empregada para síntese desse núcleo é a condensação com cloretos de ácido em refluxo de clorobenzeno. Outras opções de solvente para esta reação são refluxo de ácido acético ou *N*-metil-2-pirrolidina (NMP) a 100°C.⁴⁵ Essa condensação pode ser catalisada por In(OTf)₂ a 110°C sem a utilização de solventes.⁴⁸ Também existem procedimentos utilizando aquecimento por micro-ondas melhorando tanto os tempos reacionais como os seus rendimentos.⁴⁹

Ainda, pode ser realizada a condensação com aldeídos empregando-se condições redutoras em refluxo de etanol. A reação em etanol pode ser conduzida em micro-ondas a 80°C utilizando bis(trifluoroacetato) de feniliodo (III) (PIFA) como oxidante. A reação pode ser realizada, ainda, empregando-se iodo hipervalente suportado em polímero – poli[4-diacetoxiiodo] estireno – em diclorometano a temperatura ambiente. Também pode ser utilizado cloreto de amônio como catalisador em uma mistura metanol-água (15:1) como solvente a temperatura ambiente. Esta é uma condição branda de reação que não necessita o uso de ácidos ou metais.⁴⁵⁻⁴⁷



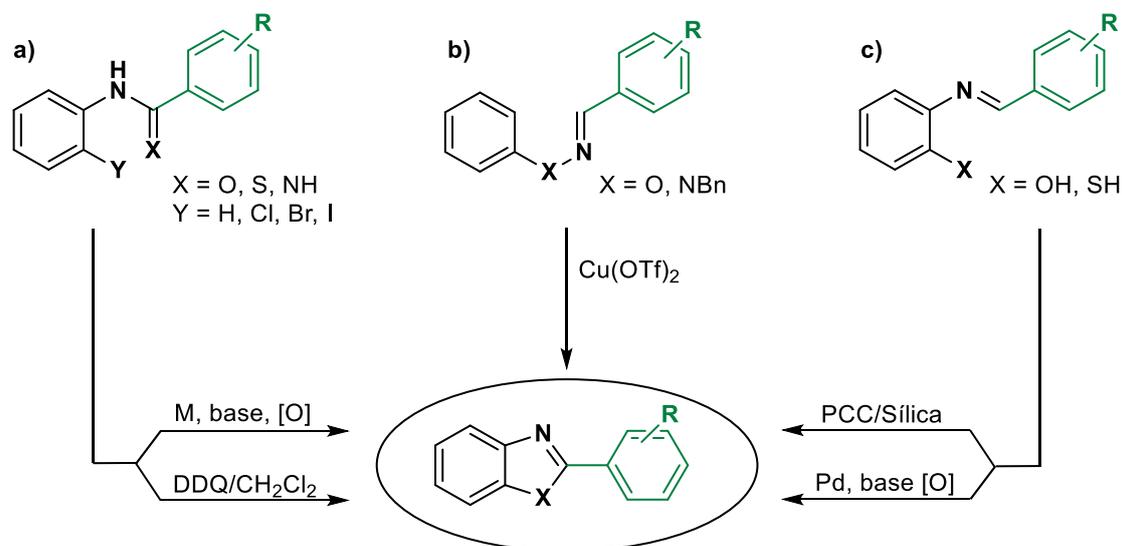
Esquema 5. Métodos de síntese de benzazóis a partir de ciclocondensação.

Uma abordagem diferente a ser analisada é representada pelas reações de ciclização intramolecular de amidas, amidinas, tioamidas, bases de Schiff e rearranjo de oximas e hidrazonas (Esquema 6). Essas reações tipicamente utilizam um oxidante como ferrocianeto de potássio e são altamente dependentes dos substituintes. No entanto, esta estratégia se limita à síntese de benzotiazóis devido à reatividade do enxofre frente a oxidantes.

Com isso, diversas rotas sintéticas foram desenvolvidas a partir de amidas, tioamidas ou amidinas (Esquema 6a). Usualmente, a reação de ciclização pode ser catalisada por metais como Ru, Cu, Fe, Co ou Pd em meio oxidante na presença de base. Processos foto-redox podem ser utilizados quando não há grupos funcionais fotoativos como nitro. Uma metodologia eficiente para a ciclização intramolecular emprega Na₂S₂O₈ como oxidante, 10

mol% de FeCl_3 como catalisador, piridina como aditivo e DMSO como solvente a 80°C . Um complexo 1,1'-binaftil-2,2'-diamina (BINAM)-Cu(II) pode ser utilizado como catalisador e Cs_2CO_3 como base em acetonitrila a $80 - 110^\circ\text{C}$ para a ciclização de derivados pouco reativos. Além disso, uma metodologia bastante interessante por apresentar condições mais brandas requer o uso de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona como catalisador em diclorometano a temperatura ambiente.⁴⁵⁻⁴⁷

Pode-se obter benzoxazóis e *N*Bn-benzimidazóis a partir de oximas e hidrazonas (Esquema 6b), respectivamente, através de rearranjo catalisado por Cu (II). Além disso, benzoxazóis e benzotiazóis podem ser obtidos através de reação de ciclização oxidativa de bases de Schiff (Esquema 6c) empregando clorocromato de piridínio (PCC) suportado em sílica. Benzimidazóis podem ser obtidos a partir da *o*-azida correspondente através de catálise com Fe(II). Também pode ser utilizado $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ como catalisador na presença de O_2 como oxidante e CsCO_3 como base em dimetilformamida (DMF).⁴⁵⁻⁴⁷



Esquema 6. Métodos de síntese de benzazóis a partir de ciclização intramolecular.

3.3 PROPRIEDADES LUMINESCENTES

A luminescência é a emissão de luz de uma substância a partir de um estado eletrônico excitado. Dentre os fenômenos luminescentes conhecidos destacam-se a fluorescência e a fosforescência. Ambos processos são geralmente promovidos pela absorção de um fóton, permitindo a passagem a um estado eletrônico excitado, para posterior desativação por emissão de

radiação.⁵⁰⁻⁵² Os processos que ocorrem entre a absorção e a emissão são ilustrados pelo diagrama de Jablonski (Figura 7).

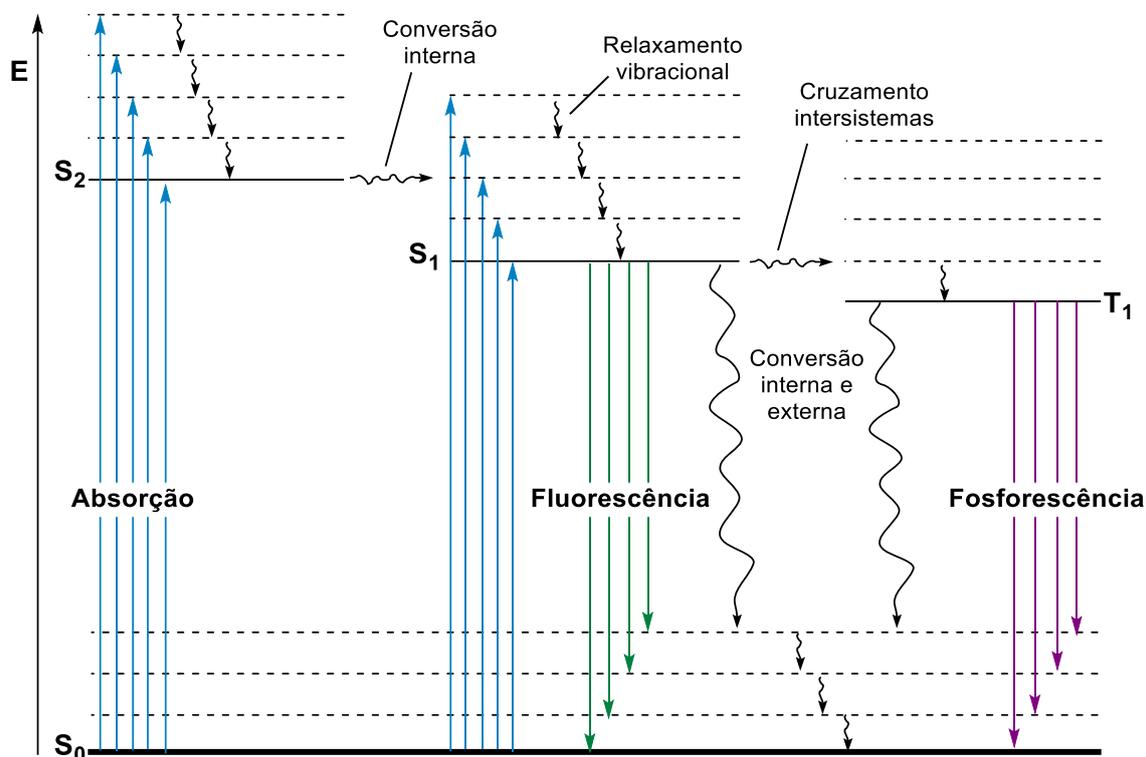


Figura 7. Diagrama de Jablonski – processos de absorção e emissão de energia.

Um composto no seu estado eletrônico fundamental (S₀) ao absorver um fóton passa para um estado eletrônico excitado de maior energia (S₁, S₂, ... S_n), sendo S a designação para estado singlete onde os elétrons encontram-se emparelhados (spins opostos). Dentro de cada nível eletrônico existe um conjunto de níveis vibracionais e rotacionais, permitindo que o composto dentro de um mesmo nível eletrônico possa apresentar diferentes níveis vibracionais e rotacionais.⁵¹⁻⁵³

Dentre os mecanismos de desativação não radiativos, existe a conversão interna, que permite ao composto passar de um estado eletrônico excitado de maior energia para um de menor energia e mesma multiplicidade de spin (S₂→S₁). Ao mesmo tempo, dentro de um mesmo nível eletrônico excitado, o composto relaxa também vibracionalmente via mecanismo denominado de relaxação vibracional até atingir o estado vibracional de menor energia, a partir do qual pode retornar ao estado fundamental (S₁→S₀) emitindo luz na forma de fluorescência ou pode decair de forma não radiativa, novamente via conversão interna. Ainda, pode ocorrer o processo de cruzamento intersistemas, que

representa a transição entre dois estados excitados de diferentes multiplicidades de spin, passando assim para o estado triplete (T). Para tanto, o elétron precisa mudar (inverter) seu spin para realizar esta transição ($S_1 \rightarrow T_1$). Se o composto emitir a partir de um estado triplete tem-se a emissão de fosforescência ($T_1 \rightarrow S_0$), que é um processo mais lento ($\sim 10^{-4}$ – 10 s) uma vez que o elétron precisa mudar novamente seu spin de triplete para singlete ao retornar para o estado fundamental. A emissão de fluorescência é um processo bem mais rápido, em torno de 10^{-9} – 10^{-6} s, já que a transição ocorre entre dois estados de mesma multiplicidade de spin.⁵¹⁻⁵³

3.3.1 Coeficiente de absorção molar (ϵ)

Um aspecto fundamental no estudo das propriedades de uma molécula é sua capacidade de absorção de radiação. O coeficiente de absorção molar (ϵ) expressa a habilidade de 1 mol do composto absorver luz em um dado solvente.⁵¹ Esse coeficiente está associado à absorbância e à concentração do composto em solução através da Lei de Lambert-Beer (Equação 1).^{50, 51}

$$\epsilon(\lambda) = \frac{A(\lambda)}{c \cdot l} \quad (1)$$

onde, $\epsilon(\lambda)$ é o coeficiente de absorção molar, $A(\lambda)$ é a absorbância, c é a concentração do composto e l é o caminho óptico.

O valor de ϵ fornece informações importantes a respeito da transição eletrônica observada, que consiste na promoção de um elétron de um orbital ligante para um orbital vazio antiligante após a absorção de um fóton. De modo geral, as transições mais prováveis são aquelas que ocorrem do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) para o orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO). Do ponto de vista da fotofísica orgânica, as duas principais transições são $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, pois são transições eletrônicas que geralmente apresentam comprimentos de onda não dissociativos e que estão associados à absorção na região do visível^{51, 54}

As transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ são permitidas por simetria e possuem absorção intensa na região do ultravioleta até a região do visível, apresentando valores de coeficiente de absorção molar na ordem de 10^3 – 10^5 L mol⁻¹ cm⁻¹. Vale

ressaltar que quanto maior a conjugação do sistema π , menor será a energia necessária para a transição ocorrer. Já as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ são proibidas por simetria, mas em alguns casos podem ser observadas devido a vibrações moleculares que causam uma perturbação no sistema (acoplamento vibrônico). Dessa forma, apresentam baixa intensidade de absorção e o valor de ϵ é pequeno, aproximadamente até $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.^{51, 54}

3.3.2 Deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$)

Este parâmetro é calculado pela diferença entre a posição dos máximos de absorção e de emissão de radiação. Normalmente a emissão de fluorescência é menos energética que a absorção, ocorrendo em maiores comprimentos de onda (Lei de Stokes). A emissão de um fóton é tão rápida quanto a sua absorção, no entanto, as moléculas excitadas permanecem no estado S_1 por um determinado tempo antes de emitir um fóton ou decair não radiativamente. Durante esse tempo, as moléculas passam por processos que levam à perda de energia no estado excitado.⁵⁰⁻⁵²

O deslocamento de Stokes é um parâmetro importante que fornece informações a respeito do estado excitado dos compostos. Por exemplo, quando uma molécula fluorescente apresenta maior momento de dipolo no estado excitado do que no estado fundamental, o aumento da polaridade do solvente leva a um maior $\Delta\lambda_{ST}$.⁵¹

3.3.3 Rendimento quântico de fluorescência (Φ_f)

Representa a fração de moléculas excitadas que retornam ao estado fundamental emitindo radiação na forma de fluorescência. Em outras palavras, o rendimento quântico de fluorescência é a razão do número de fótons emitidos pelo número de fótons absorvidos.^{50, 54}

O valor de Φ_f de um composto pode ser determinado através da comparação da integral da área sob sua curva de fluorescência com a integral da área sob a curva de fluorescência de um padrão (Equação 2). Para tanto, deve-se conhecer o Φ_f do padrão, o qual deve possuir máximo de absorção próximo ao do composto em estudo. É importante ressaltar que os espectros de emissão de fluorescência tanto da amostra quanto do padrão devem ser obtidos em condições de análise idênticas e em soluções bastante diluídas. O

rendimento quântico de um composto encontra-se em 0 e 1, sendo que 0 indica que o processo de decaimento foi não fluorescente e 1 indica que 100% dos fótons absorvidos foi emitido como fluorescência.⁵³⁻⁵⁵

$$\Phi_{f,x} = \Phi_{f,st} \cdot \frac{F_x}{F_{st}} \cdot \frac{A_{st}}{A_x} \cdot \frac{n_x^2}{n_{st}^2} \quad (2)$$

onde, $\Phi_{f,x}$ é o rendimento quântico da amostra, $\Phi_{f,st}$ é o rendimento quântico do padrão, F_x e F_{st} são as áreas das curvas de emissão de fluorescência da amostra e do padrão, respectivamente; A_{st} e A_x são as absorvâncias do padrão e da amostra, respectivamente; e n_x e n_{st} são os índices de refração dos solventes da amostra e do padrão, respectivamente.

3.4 SENSORES ÓPTICOS

Sensores ópticos são amplamente utilizados na detecção de analitos químicos e bioquímicos, bem como no desenvolvimento de técnicas de mais baixo custo para análises clínicas e ambientais. Um bom sensor deve gerar um sinal mensurável em resposta ao reconhecimento de um analito, ou seja, ao ocorrer a interação com o analito o sensor deve apresentar mudança nas suas propriedades fotofísicas (Figura 8), que serão medidas. Essas mudanças podem ser na intensidade, no comprimento de onda ou no formato da banda de absorção ou de emissão. Usualmente, um sensor possui uma porção de sinalização e uma porção de reconhecimento, sendo que a porção sinalizadora também pode atuar no reconhecimento do analito.⁵¹⁻⁵³

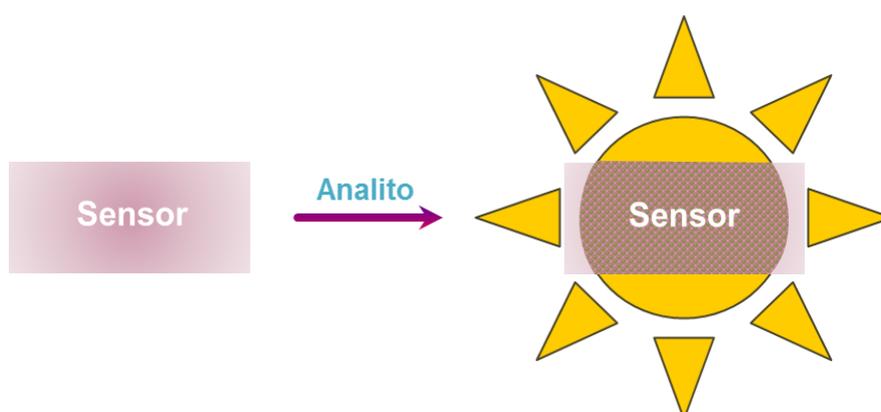


Figura 8. Ação esquemática de um sensor na presença do analito.

Dentro desse contexto, destacam-se os sensores fluorescentes devido à sua alta sensibilidade, seletividade e rapidez de resposta. Grande parte dos mecanismos envolve a supressão da fluorescência do sensor, diminuindo sua intensidade de emissão, mas também existem aqueles em que o fluoróforo apenas emite após interação com o analito. O primeiro exemplo aqui apresentado resulta da supressão colisional (Figura 9a), na qual ocorre a difusão do supressor (analito) no fluoróforo durante seu estado excitado. Esse processo leva à perda de energia de forma não radiativa (colisões).^{52, 53}

Um mecanismo bastante interessante é o de transferência de elétron fotoinduzida (PET), no qual o fluoróforo no estado excitado pode atuar tanto como doador quanto como acceptor de elétrons. Neste processo é formado um complexo excitado com o analito, que pode tanto emitir fluorescência quanto decair de forma não radiativa (Figura 9b). No caso de emitir fluorescência, será em um comprimento de onda diferente do fluoróforo sozinho. Alguns sensores são construídos de forma a haver PET intramolecular, ou seja, uma porção da molécula está doando elétrons à outra porção e impedimento sua fluorescência. Quando o analito impede que essa transferência interna ocorra, o fluoróforo passa a emitir (Figura 9c).^{52, 53}

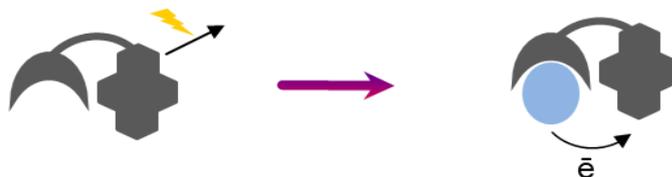
Outro modo de atuação é através de mudanças conformacionais na estrutura do sensor. Na Figura 9d, o sensor assume uma conformação tal que o impede de emitir radiativamente, no entanto, ao interagir com o analito ocorre mudança dessa conformação e o fluoróforo passa a emitir. Mudanças estruturais também são observadas na formação ou ruptura de um excímero, – dímero no estado excitado. Na Figura 9e tem-se o excímero na ausência do analito, o que leva a uma dada emissão característica. Quando o analito interage, ocorre a ruptura do excímero de forma que a emissão passe a ser dos monômeros em separado (menor comprimento de onda). Na Figura 9f ocorre o caso contrário, onde se observa a emissão dos monômeros separados na ausência do analito. Quando há interação com o analito ocorre a formação do excímero, que irá emitir em comprimento de onda superior ao do monômero.^{51, 56}

A emissão de fluorescência induzida por agregação (Figura 9g) é uma abordagem relevante quando se trata de compostos orgânicos pouco ou nada fluorescentes em solução. No entanto, quando o sensor interage com o analito procede-se a formação de suspensão ou precipitado altamente fluorescente.⁵⁶

a) Supressão por colisão



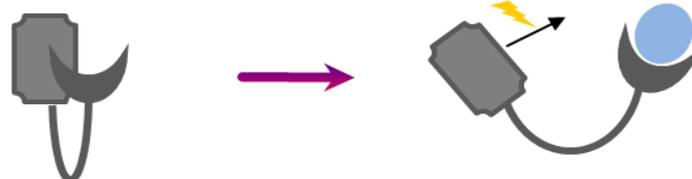
b) Transferência de elétron fotoinduzida (PET)



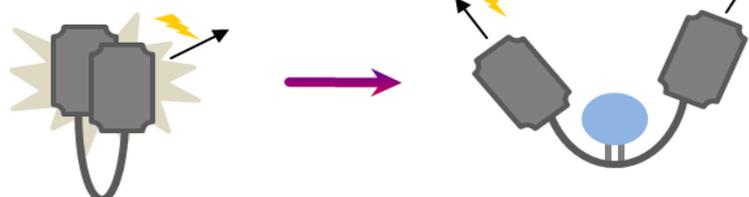
c) Inibição de PET



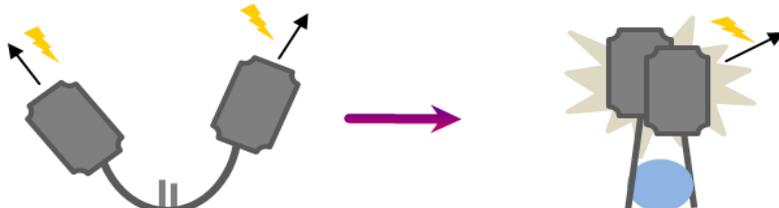
d) Mudança conformacional



e) Ruptura de excímero



f) Formação de excímero



g) Emissão induzida por agregação

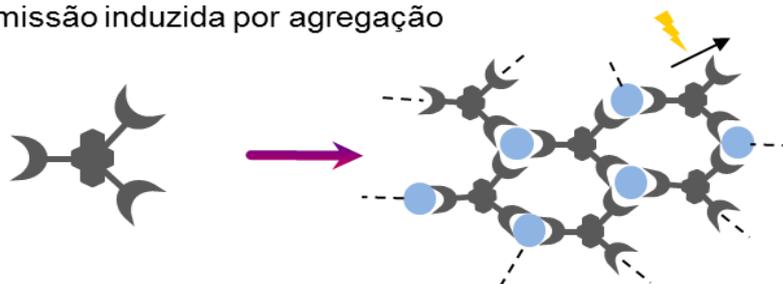


Figura 9. Mecanismos de ação de sensores fluorescentes.

Sondas fluorescentes são extensamente aplicadas na marcação de amino ácidos, peptídeos, proteínas, DNA e outras biomoléculas devido a sua grande faixa de comprimentos de onda e deslocamento se Stokes. Compostos que apresentam uma boa fluorescência são potenciais candidatos para o estudo de interação com proteínas e DNA. O estudo das propriedades de biomoléculas é importante para entender sua estrutura e funcionalidade, bem como a função de fármacos quando ligados a enzimas ou receptores.^{57, 58}

3.4.1 Associação com BSA

Neste âmbito, técnicas espectroscópicas vêm sendo empregadas para estudar as interações de pequenas moléculas com a proteína albumina sérica. Esta é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo – representando 60% do total – e desempenha diversas funções fisiológicas, como o transporte de substâncias endógenas e exógenas e manutenção do pH do sangue.⁵⁹⁻⁶²

A estrutura das albuminas séricas é constituída de três domínios helicoidais similares (I, II e III), os quais são divididos em dois subdomínios (A e B), conforme apresentado na Figura 10. Cada domínio é composto por dez α -hélices, sendo que o subdomínio A contém seis e o subdomínio B contém quatro. Compostos aromáticos e heterocíclicos podem associar-se à proteína através de dois sítios de interação localizados nas cavidades hidrofóbicas dos subdomínios IIA (sítio I) e IIIA (sítio II); além destes, são encontrados sete sítios de ligação para ácidos graxos. A albumina sérica humana (HSA) possui uma sequência peptídica de 585 amino ácidos, já a albumina sérica bovina (BSA) possui 583 amino ácidos e apresenta uma porcentagem de sequência idêntica à HSA de 76%. Quanto aos resíduos de amino ácidos, cabe ressaltar que a HSA possui apenas um triptofano (Trp²¹⁴) enquanto a BSA apresenta dois (Trp¹³⁴ e Trp²¹²), como pode ser visto na Figura 10.⁶⁰⁻⁶³

Devido à alta similaridade com a HSA, bem como um custo mais baixo e maior disponibilidade, a BSA é amplamente utilizada como modelo de interação ligante-albumina. A estrutura da BSA apresenta fluorescência intrínseca em virtude da presença dos dois resíduos de Trp, com λ_{exc} em aproximadamente 280 nm. O mecanismo de supressão da fluorescência pode ser estático – ocorre no estado fundamental – ou dinâmico – ocorre no estado excitado.⁶⁴

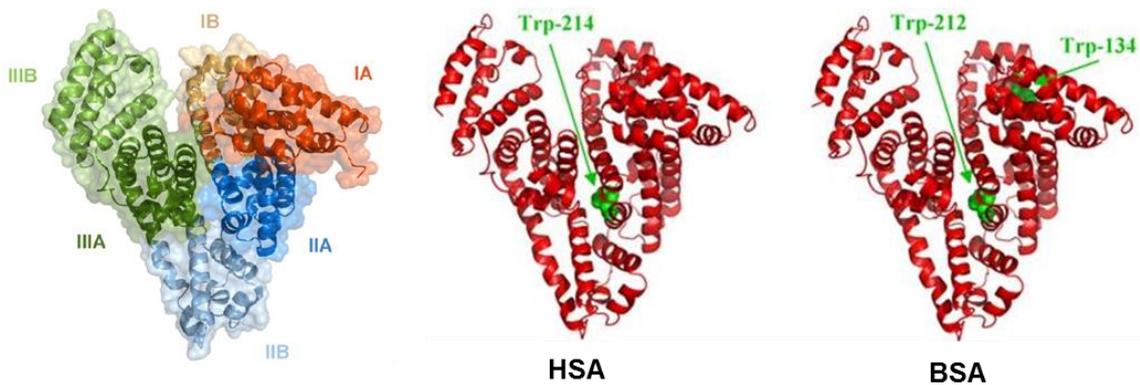


Figura 10. Estrutura da BSA apresentando os subdomínios⁶⁰ (esquerda) e comparação entre HSA e BSA apresentando a localização dos resíduos⁶³ de Trp.

3.4.2 Interação com DNA

Ácidos nucleicos estão envolvidos em diversos processos biológicos, como armazenamento genético, replicação, transcrição, dentre outros. Deste modo, desempenham papel fundamental em processos anticâncer e antiviral, e a compreensão da interação com pequenas moléculas vem se tornando cada vez mais importante.⁶⁵

A habilidade da fita simples de DNA de ‘procurar’, ou interagir com a sua fita complementar é a base do fundamento para a detecção destes sistemas.⁶⁶ Estudos de interação com pequenas moléculas podem informar sobre a cinética de ligação e a afinidade, bem como ajudar a determinar a magnitude da deformação da dupla hélice em um complexo DNA-ligante.⁶⁷ Existem quatro principais modos de ação para a interação de moléculas com o DNA (Figura 11), a saber: inserção nos sulcos da hélice do DNA, interação eletrostática e intercalação da fita.^{65, 67} Sendo que a classe de intercaladores é mais estudada, e estes compostos atuam através da inserção de porções aromáticas entre os pares de bases do DNA.⁶⁷

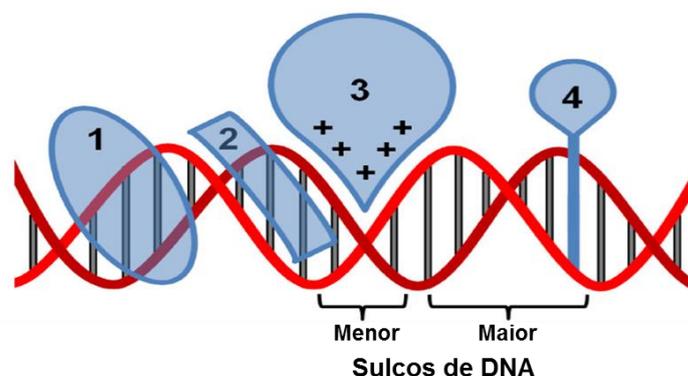


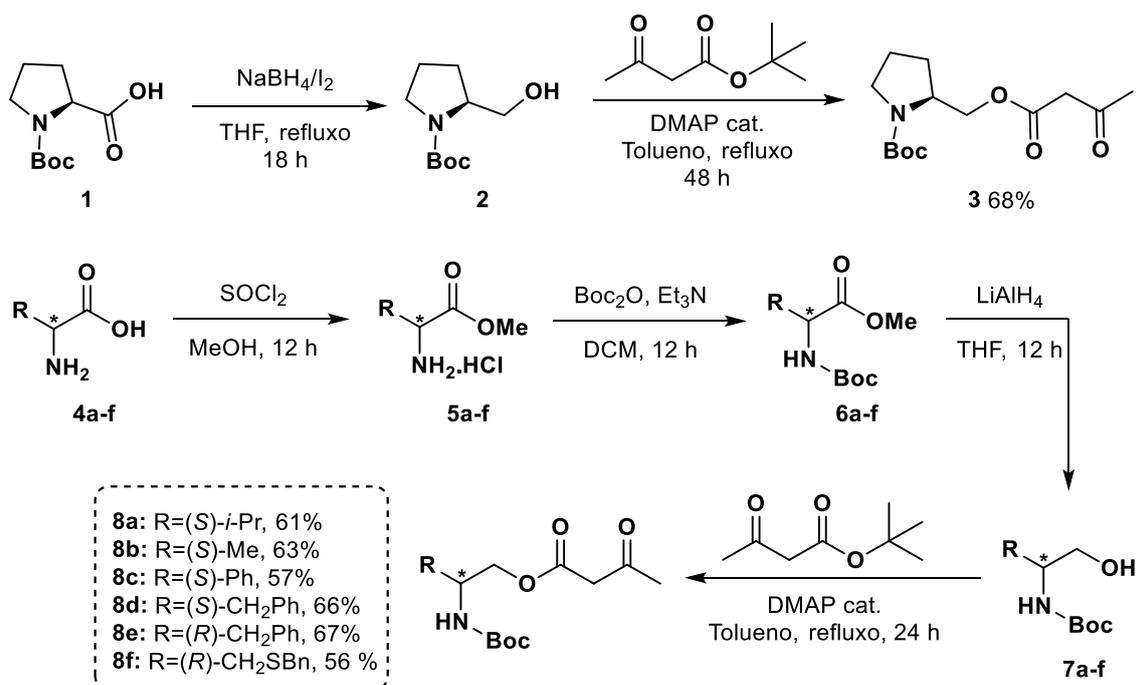
Figura 11. Diferentes modos de interação com o DNA⁶⁷: 1. interação no sulco maior; 2. interação no sulco menor; 3. interação eletrostática; e 4. intercalação.

4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nesta seção será apresentada a síntese dos β -ceto ésteres derivados de amino ácidos e da azida de partida, bem como a síntese dos 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos. Também será apresentada a caracterização fotofísica e estudos de interação com biomoléculas.

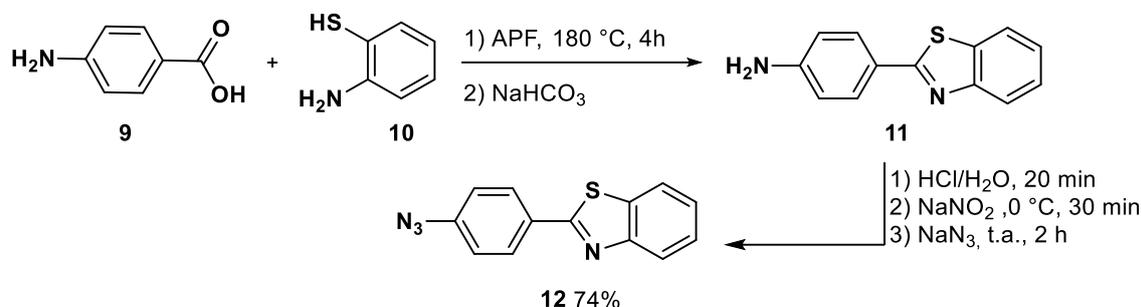
4.1 OBTENÇÃO DOS PRODUTOS TRIAZÓLICOS

Como ponto de partida foram sintetizados os compostos β -ceto ésteres derivados de sete amino ácidos (Esquema 7). O primeiro derivado foi obtido a partir do amino ácido *N*-Boc-L-prolina **1**, o qual foi reduzido⁶⁸ com borohidreto de sódio (NaBH_4) na presença de I_2 . O amino álcool **2** obtido foi transesterificado⁶⁹ com acetoacetato de *tert*-butila na presença de dimetilaminopiridina (DMAP). Os demais derivados foram obtidos a partir dos amino ácidos L-valina, L-alanina, L-fenilglicina, L-fenilalanina, D-fenilalanina e S-benzil-L-cisteína. Estes amino ácidos foram esterificados⁷⁰ com cloreto de tionila (SOCl_2) em metanol, levando aos cloridratos **5a-f** correspondentes. A seguir, os produtos obtidos foram protegidos com grupo Boc⁷¹ na presença de trietilamina (Et_3N). Os *N*-Boc-amino ésteres obtidos **6a-f** foram reduzidos⁷² com hidreto de alumínio e lítio (LiAlH_4) aos respectivos *N*-Boc-amino álcoois **7a-f**, os quais foram transesterificados⁶⁹ com acetoacetato de *tert*-butila na presença de DMAP.



Esquema 7. Síntese dos β -ceto ésteres **8a-f** derivados de amino ácidos.

A síntese do 2-(4'-azidofenil)-benzotiazol **11** (Esquema 8) se inicia com a condensação do ácido *p*-amino benzoico **9** com *o*-aminotiofenol **10** em ácido polifosfórico, levando ao 2-(4'-aminofenil)-benzotiazol **11**. O grupo amino pode ser substituído pelo grupo azida através da formação de sal de diazônio seguida de azidação.^{43, 73}



Esquema 8. Síntese do 2-(4'-azidofenil)-benzotiazol **12**.

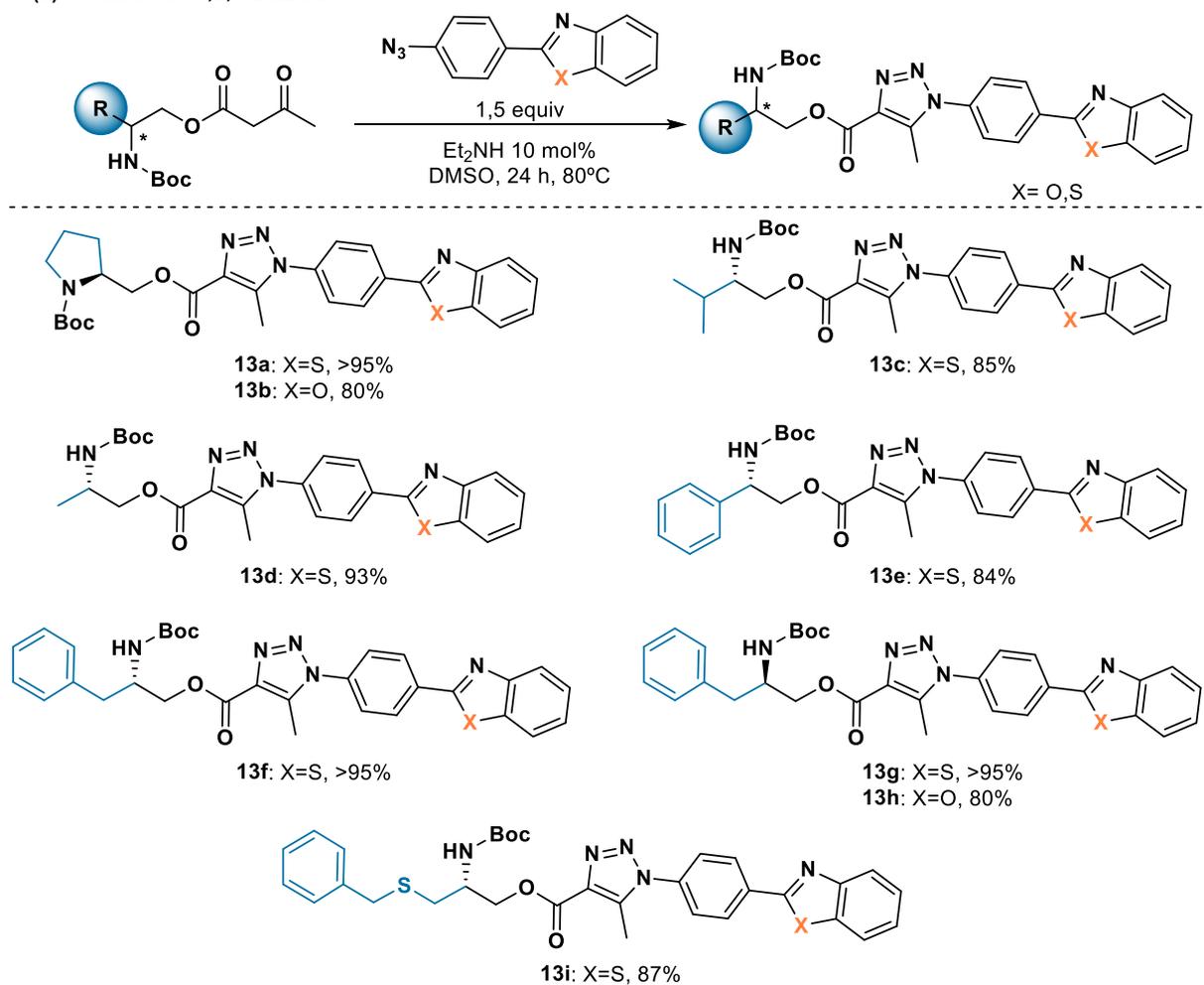
De posse dos materiais de partida, foi realizada a síntese dos compostos 1,2,3-triazólicos derivados de acordo com metodologia estabelecida em trabalho prévio.¹⁵ Para tanto, empregou-se 10 mol% de dietilamina (Et₂NH) como catalisador e DMSO como solvente a 80°C (Esquema 9a). A reação foi realizada sob atmosfera inerte com concentração dos β -ceto ésteres de 0,25 M.

A cicloadição [3 + 2] enamina-azida organocatalisada entre os derivados β -ceto ésteres e azidas do benzotiazol e benzoxazol^{i,73} levou à formação dos 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos **13a-i** em excelentes rendimentos na faixa de 80 a 95 %. Pode-se observar que a azida derivada do benzoxazol levou a rendimentos um pouco inferiores que seu análogo benzotiazol.

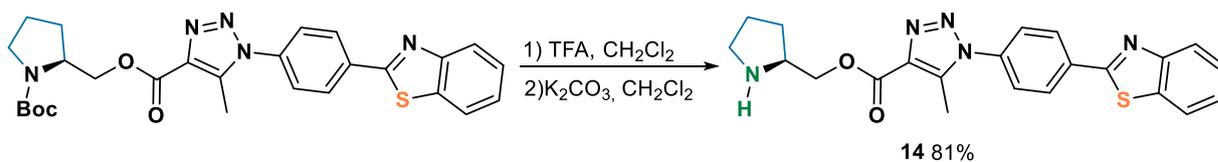
Com o intuito de avaliar fotofisicamente os efeitos com e sem o grupo Boc, foi realizada a reação de desproteção utilizando-se ácido trifluoroacético (TFA) em diclorometano, seguida de neutralização com K₂CO₃. O composto **14** derivado do amino ácido L-prolina foi obtido com grupo NH livre em 81 % de rendimento (Esquema 9b). No entanto, os derivados dos demais amino ácidos passaram por um rearranjo de migração de acila *O-N* intramolecular.^{74, 75} No qual o nitrogênio da amina ataca a carbonila do éster formando um intermediário cíclico, que abre levando à formação de uma amida. Dessa forma, foram obtidos 1,2,3-triazóis-4(-2-hidroxiamidas) **15a-f** com rendimentos de bons a excelentes na faixa de 73 a 88 % (Esquema 9c).

ⁱ Em colaboração com o grupo do prof. Fabiano Rodembusch. Ver referência 73.

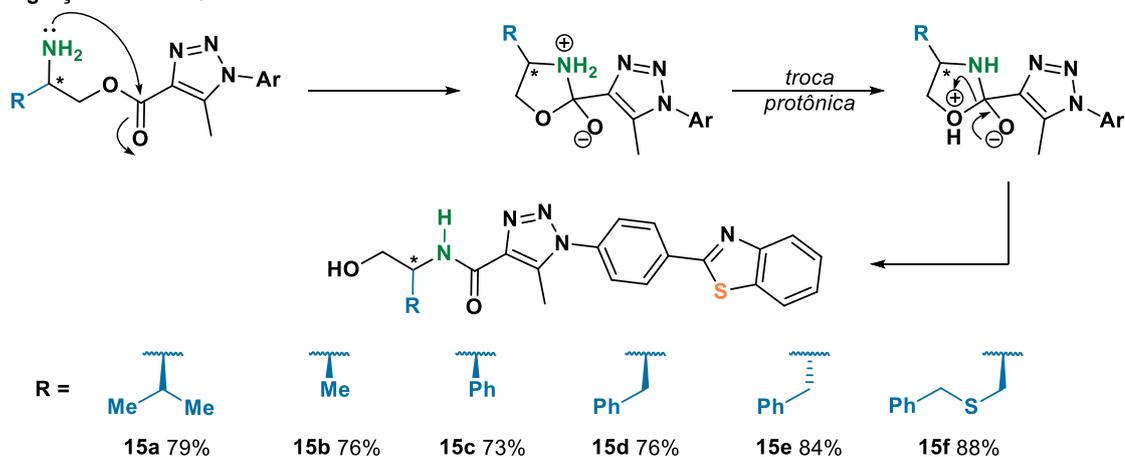
(a) Síntese dos 1,2,3-triazóis



(b) Desproteção do grupo NBoc



(c) Migração de acila O-N intramolecular



Esquema 9. Síntese dos 1,2,3-triazóis e posterior desproteção do grupo Boc.

A título de exemplo, serão apresentados aqui os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para o 1,2,3-triazol **15a**. De acordo com o espectro de RMN de ^1H (Figura 12) é possível observar na região entre 1,00 e 1,10 ppm dois dupletos com integral para 3H cada referentes às metilas (H4) do grupo *i*-propila; e na região entre 2,10 – 2,13 ppm encontra-se um multipletto com integral para 1H do CH (H3) do grupo *i*-propila. No deslocamento químico de 2,67 ppm encontra-se o simpleto com integral para 3H referente à metila (H5) substituinte do anel triazólico. Na região compreendida entre 3,50 e 4,00 ppm são observados um simpleto largo atribuído ao grupo OH, dois duplos dupletos com integral para 1H cada referentes ao CH_2 (H1) vizinho ao centro assimétrico e, também, o multipletto do CH (H2) do centro assimétrico. Na região compreendida entre 7,00 e 8,50 ppm encontram-se dois dupletos com integral para 2H referentes aos hidrogênios do anel *para*-substituído, os multiplettos para os demais hidrogênios do anel benzotiazol e o hidrogênio do grupo amida.

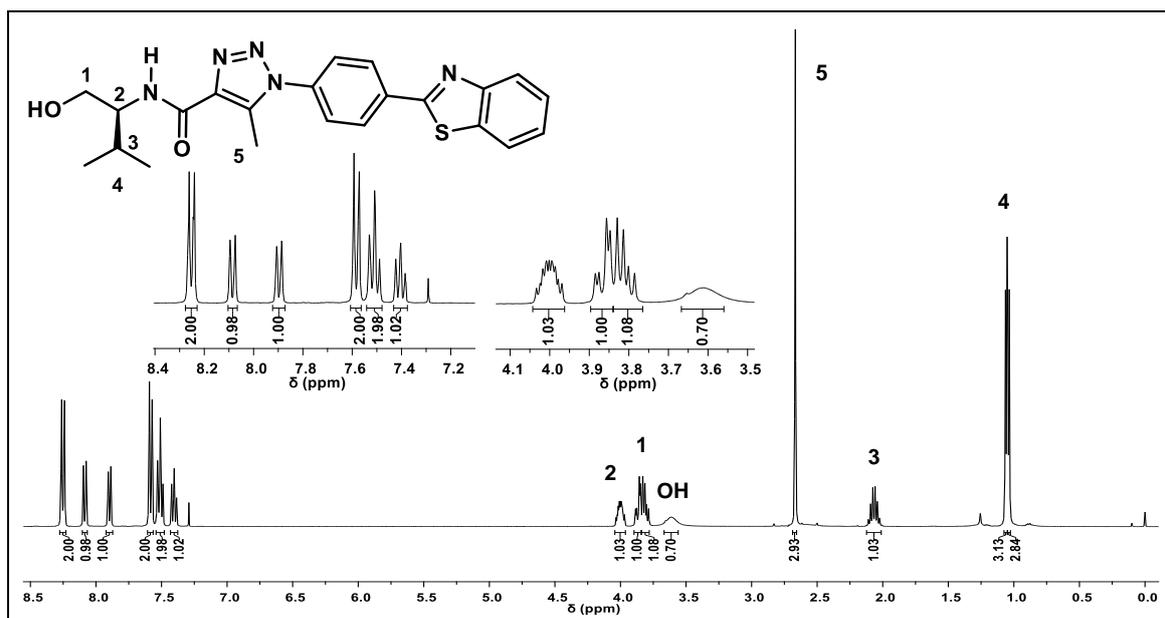


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H para o composto **15a** (CDCl_3 , 400 MHz).

A atribuição dos sinais foi realizada através da análise dos espectros bidimensionais obtidos. A seguir é apresentado o espectro de RMN de ^1H -COSY (*Correlation Spectroscopy*) do composto **15a** (Figura 13a), no qual vale ressaltar o acoplamento entre o NH da amida com o CH (H2) do centro assimétrico e entre o CH (H2) do centro com o CH (H3) do grupo *i*-propila. Além desses, podem ser observados os acoplamentos entre CH (H2) do centro com CH_2 (H1)

vizinho, entre CH (H3) do grupo *i*-propila com as duas metilas (H4) vizinhas e o acoplamento entre os hidrogênios aromáticos. Outra análise bidimensional que correlaciona ^1H - ^1H realizada foi o RMN de ^1H -ROESY (*Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy*), na qual se pode averiguar a interação espacial entre os hidrogênios do composto. Através da interpretação do espectro obtido (Figura 13b) é possível observar o acoplamento espacial – sinal circulado – entre os hidrogênios da metila substituinte na posição 5 do anel triazólico com os hidrogênios na posição *orto* do anel benzênico substituinte do nitrogênio.

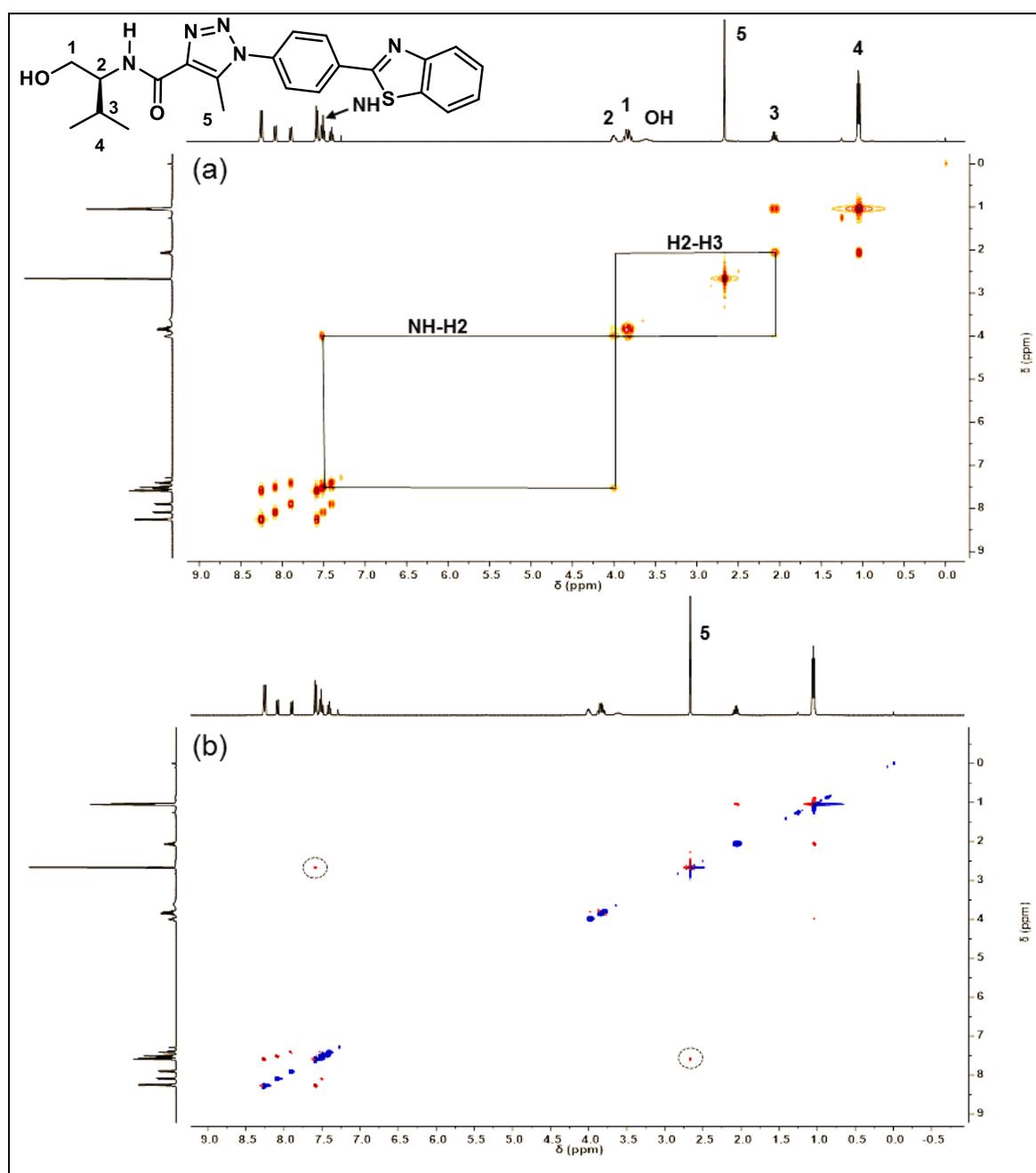


Figura 13. RMN de ^1H -COSY (a) e ^1H -ROESY (b) para o composto **15a** (CDCl_3 , 400 MHz).

Pelo espectro de RMN de ^{13}C do composto **15a** (Figura 14) pode-se observar a carbonila da amida no deslocamento químico de 161,7 ppm e os carbonos aromáticos na região compreendida entre 120 e 170 ppm. Na região dos carbonos alifáticos podemos observar que o sinal mais blindado é o da metila (C5) substituinte do anel triazólico (9,8 ppm), seguida das duas metilas (C4) do grupo *i*-propila (18,7 e 19,5 ppm). O carbono C3 do grupo *i*-propila aparece em 29,1 ppm, o carbono do centro assimétrico (C2) encontra-se em 56,8 ppm e o CH_2 vizinho (C1) aparece em 63,5 ppm. A atribuição dos sinais foi realizada através da análise dos espectros de RMN bidimensionais obtidos.

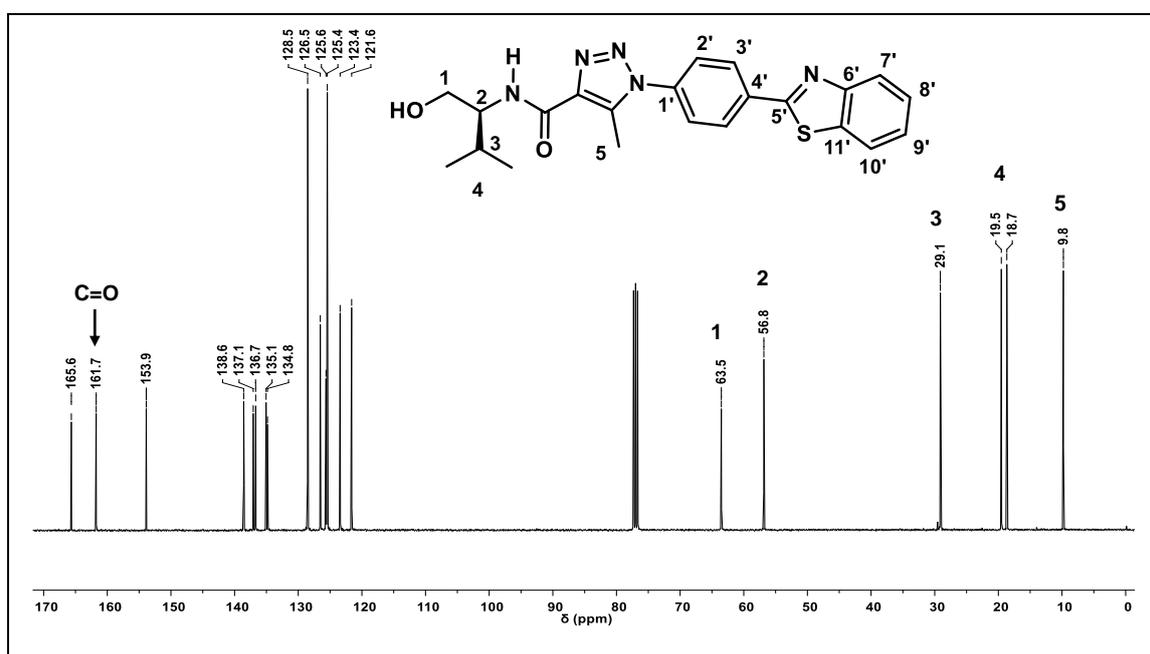


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C para o composto **15a** (CDCl_3 , 100 MHz).

Para maior compreensão da estrutura dos compostos obtidos, foram realizadas duas análises bidimensionais heteronucleares. A primeira delas foi o RMN de $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), na qual se pode determinar o deslocamento químico dos carbonos quaternários. Através da observação do espectro obtido para o composto **15a** (Figura 15a), podemos destacar o acoplamento do C carbonílico com o H da amida. A segunda análise foi o RMN de $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Correlation*), a qual combinada com o HMBC possibilitou a atribuição dos sinais de carbono para o composto **15a**. Na ampliação da região aromática do HSQC (Figura 15b) podem ser observados os carbonos nos seguintes deslocamentos químicos, em ppm:

C7' em 121,6; C10' em 123,4; C2' em 125,4; C9' em 125,6; C8' em 126,5; C3' em 128,5. Além disso, os carbonos quaternários C4' (134,8 ppm), C11' (135,0 ppm) e C1' (137,7 ppm) puderam ser atribuídos. Os carbonos com deslocamento químico em 136,7 e 138,6 ppm pertencem ao anel triazólico. Na ampliação da região dos alifáticos do HSQC (Figura 15c) são apresentadas as correlações dos carbonos já citados anteriormente.

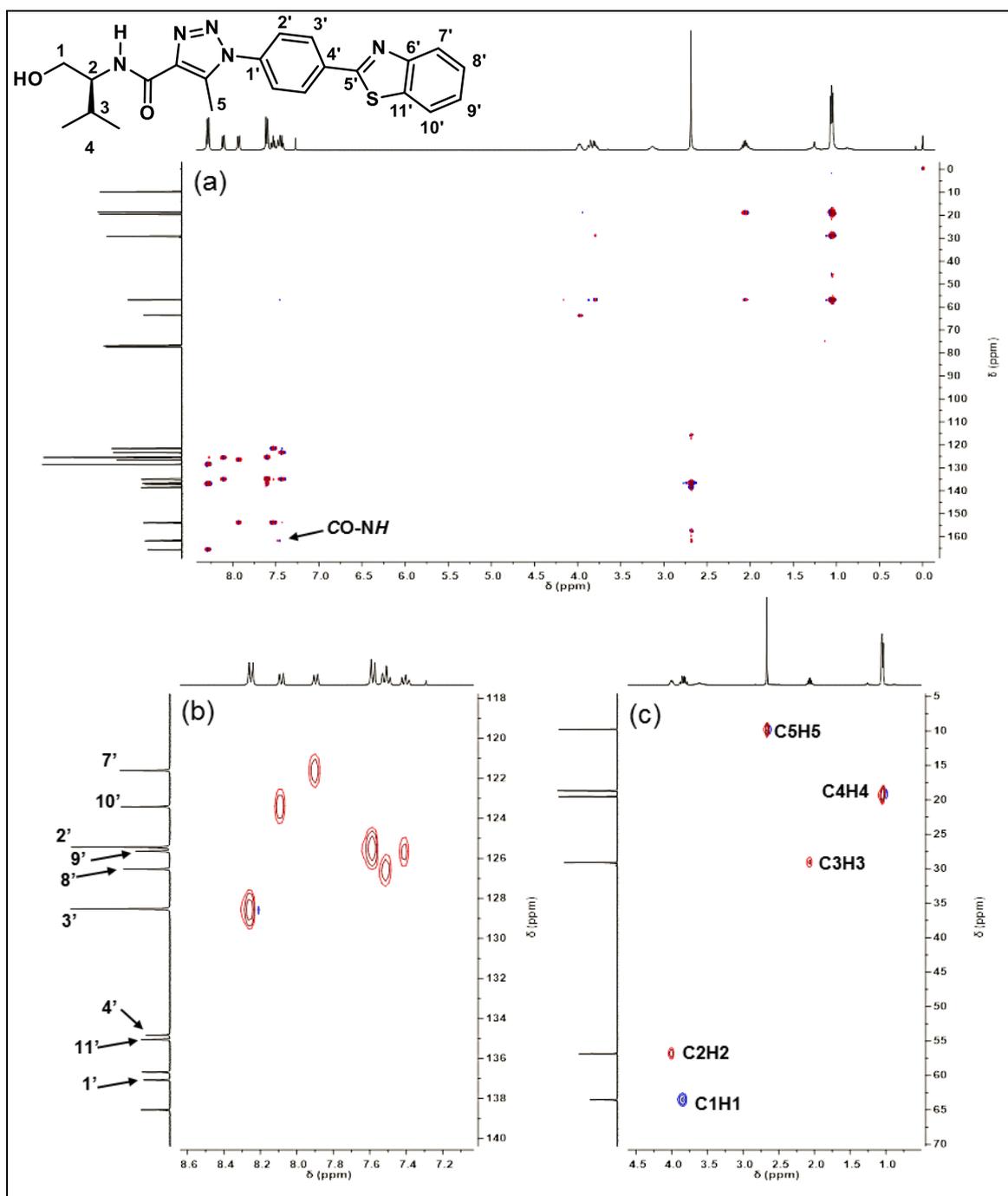


Figura 15. RMN de $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HMBC (a) e ampliação da região aromática (b) e alifática (c) do RMN de $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC para o composto **15a** (CDCl_3 , 400 MHz).

De modo a confirmar que ao longo da rota sintética não houve racemização do centro estereogênico, os dois triazóis sintetizados a partir dos enantiômeros do aminoácido fenilalanina foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Para tanto, empregou-se coluna quiral *Chiralcel IB* com mistura hexano:*i*-propanol (50:50) como eluente em um fluxo de 0,1 mL/min e detector de UV em 254 nm. O cromatograma obtido para uma mistura dos enantiômeros **15d** e **15e** (Figura 16a) mostra dois picos com uma separação de cerca de três minutos no tempo de retenção (T_R) dos compostos. Quando o composto **15d** foi injetado sozinho (Figura 16b) pode-se observar apenas um pico, comprovando que não houve racemização do centro estereogênico oriundo do amino ácido de partida ao longo da rota sintética empregada.

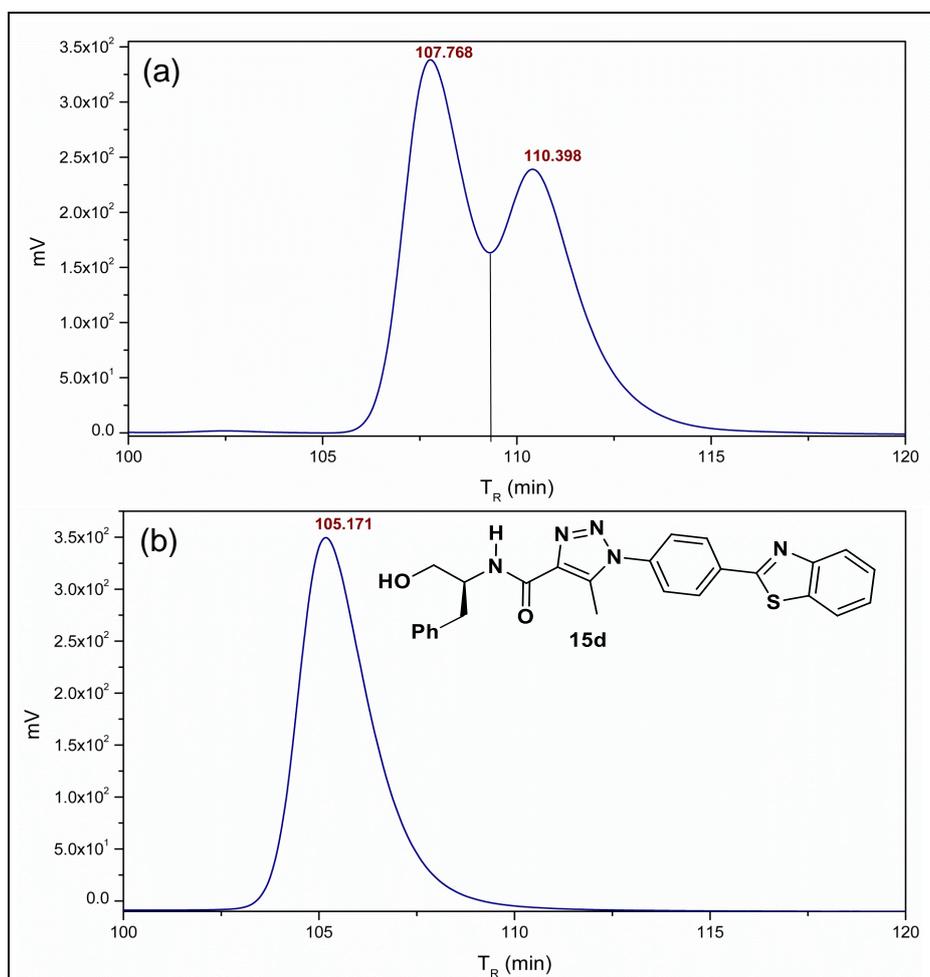


Figura 16. Cromatograma da mistura **15d** + **15e** (a) e do composto **15d** puro (b). Condições utilizadas: coluna quiral *Chiralcel IB*, hexano:*i*-propanol (50:50) como eluente, fluxo de 0,1 mL/min, detector UV 254 nm.

4.2 ESTUDO FOTOFÍSICO DOS 1,2,3-TRIAZÓIS

A caracterização fotofísica dos triazóis sintetizados foi realizada através das espectroscopias de absorção na região do UV-Visível (UV-Vis) e de emissão de fluorescência (EF). Ambas as análises foram realizadas em solução com concentração dos compostos (**13a-i**, **14** e **15a-f**) na ordem de 10^{-6} M utilizando solventes de diferentes constantes dielétricas (ϵ),⁷⁶ a saber: 1,4-dioxano (2,2), diclorometano (9,1), metanol (32,6⁷⁶⁷⁶⁷⁶⁷⁶) e acetonitrila (37,5).

De modo geral, a localização do máximo de absorção para os compostos estudados encontra-se entre 300-310 nm. Para exemplificar, a Figura 17 apresenta os espectros de UV-Vis para os compostos **13g** e **13h**; os demais compostos apresentaram comportamento similar. Além disso, os espectros de absorção de UV-Vis para os compostos estudados não apresentaram variação significativa da localização do máximo de absorção com a variação do solvente, o que pode estar relacionado a um caráter de transferência de carga quase ausente no estado fundamental.

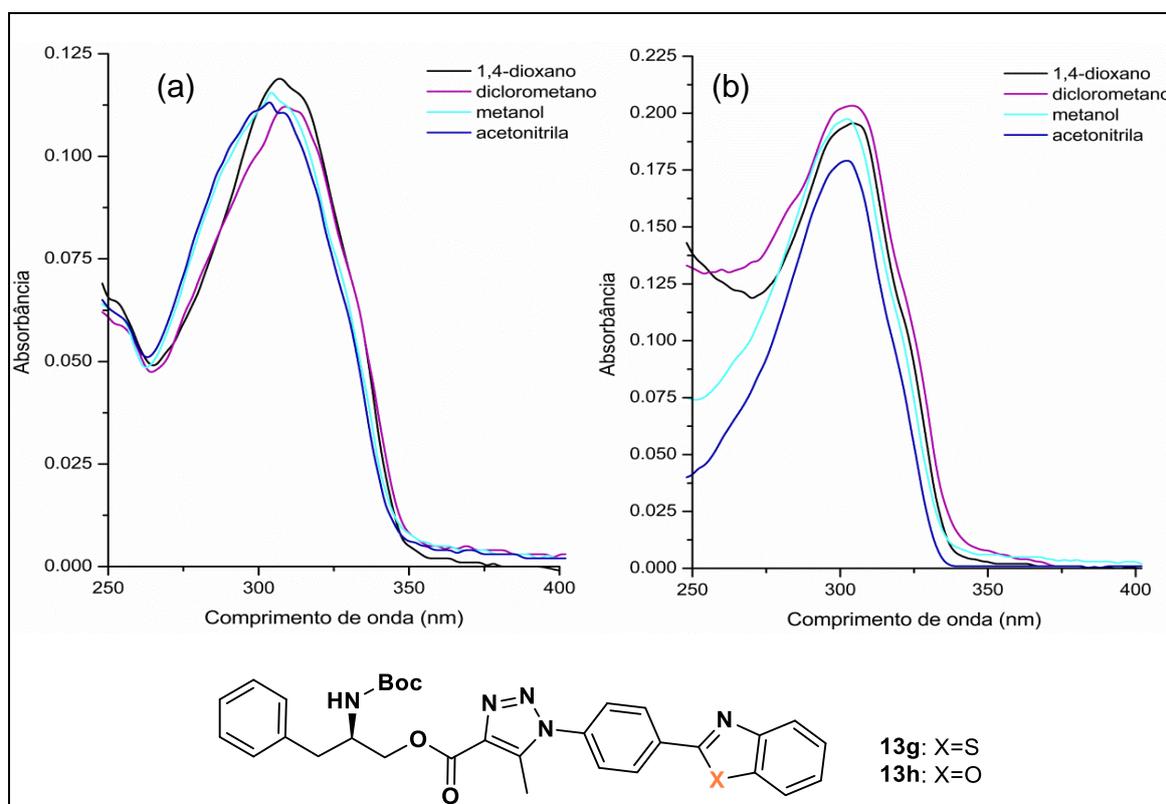


Figura 17. UV-Vis dos compostos **13g** (a) e **13h** (b) nos diferentes solventes testados.

A emissão de fluorescência dos compostos estudados foi realizada utilizando diferentes comprimentos de onda de excitação (λ_{exc}). No geral, os compostos apresentaram maior intensidade de emissão para λ_{exc} em torno de 320 nm ($\lambda_{em} = 371 - 379$ nm) e não apresentaram significativa mudança da localização do máximo de emissão com o aumento de polaridade do solvente. Além disso, para os derivados do benzotiazol pode-se observar um novo máximo de emissão quando os compostos são excitados em comprimentos de onda em torno de 350 nm ($\lambda_{em} = 395 - 412$ nm). O aparecimento dessa nova banda pode indicar violação da regra de Kasha, que diz que o máximo de emissão de fluorescência independe do comprimento de onda de excitação.⁵² Na Figura 18 são apresentados os espectros de emissão de fluorescência para o composto **13g** nos quatro solventes estudados, os demais derivados do benzotiazol apresentam comportamento similar.

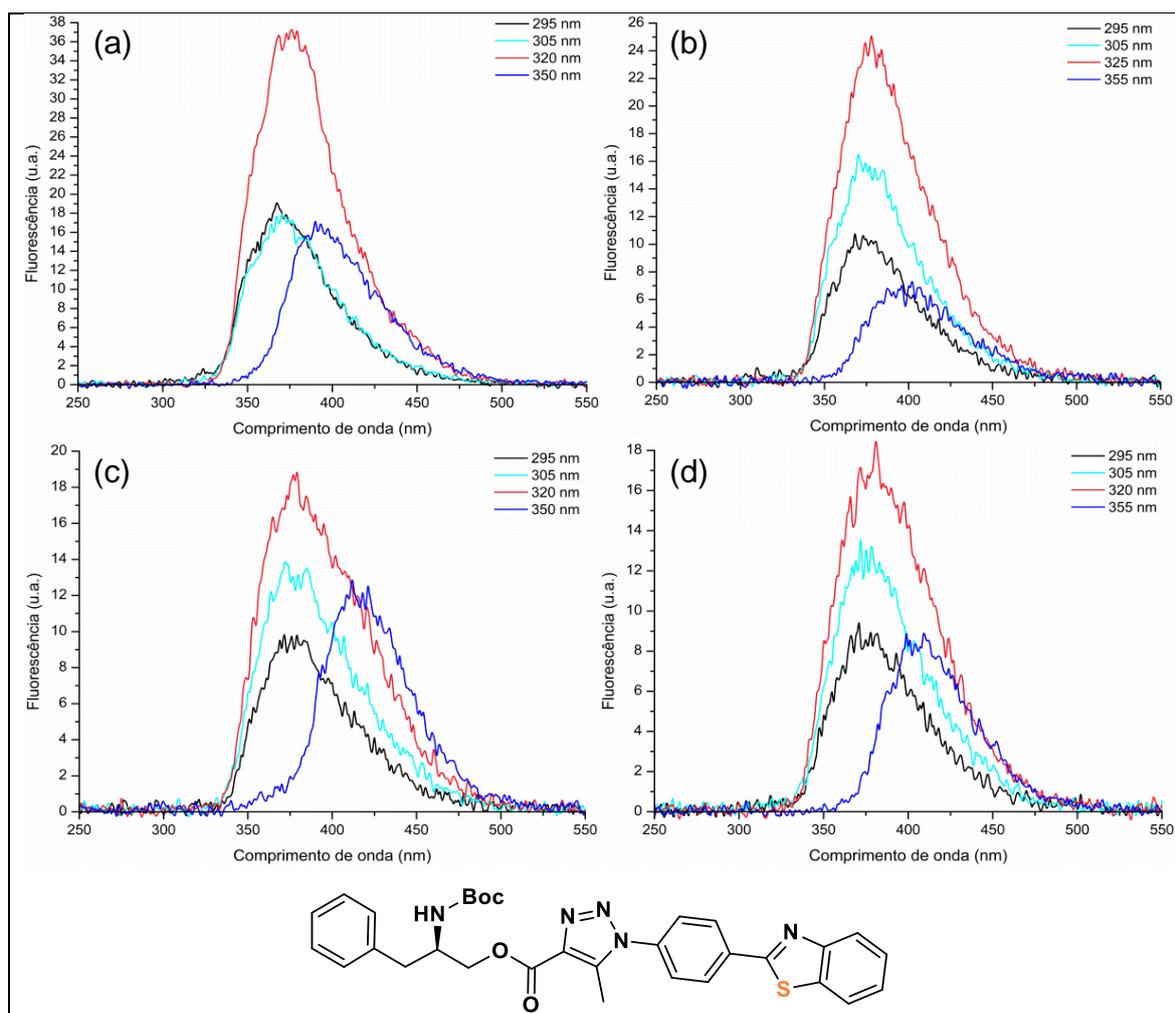


Figura 18. Espectro de fluorescência para o composto **13g** em (a) 1,4-dioxano, (b) diclorometano, (c) metanol e (d) acetonitrila.

Já para os dois derivados do benzoxazol não foi observada nova banda de emissão ao excitar os compostos em 350 nm, estando de acordo com a regra de Kasha. Além disso, observa-se que esses derivados possuem intensidade de fluorescência cerca de 20 vezes maior que os seus respectivos análogos derivados do benzotiazol. Na Figura 19 são apresentados os espectros de emissão de fluorescência para o composto **13h** nos quatro solventes estudados, o outro derivado do benzoxazol apresenta comportamento similar.

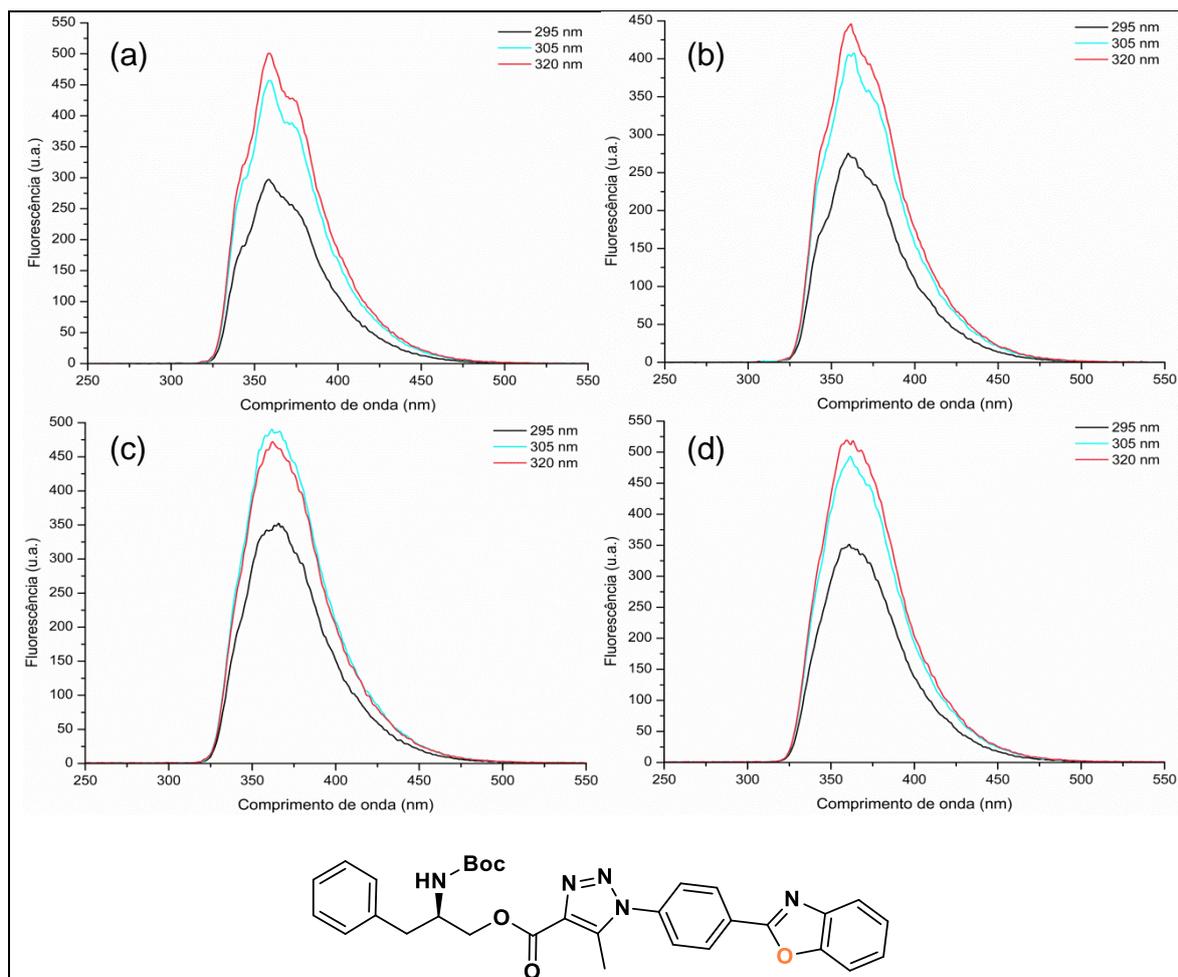


Figura 19. Espectros de fluorescência para o composto **13h** em (a) 1,4-dioxano, (b) diclorometano, (c) metanol e (d) acetonitrila.

Os dados referentes a estas análises para cada composto nos quatro solventes estudados são apresentados na Tabela 1. Nesta tabela também são apresentados os valores calculados para: deslocamento de Stokes ($\Delta\lambda_{ST}$), coeficiente de absorvidade molar (ϵ), força do oscilador (f_e), constante de emissão radiativa (k_e^0), tempo de decaimento de fluorescência (τ^0) e rendimento quântico de fluorescência (Φ_f). A partir da relação entre intensidade de absorção

e tempo de decaimento de fluorescência das moléculas pode-se obter a constante de emissão radiativa (k_e^0), bem como a força do oscilador (f_e) através das Equações 3 e 4, respectivamente.⁷⁷ Nessas equações, a área sob a curva de absorção do gráfico do coeficiente de absorção molar (ε) *versus* o número de onda ($\bar{\nu}$) pode ser relacionada às respectivas constantes de emissão radiativa (k_e^0) e força do oscilador (f_e). Ainda, o tempo de decaimento radiativo (τ^0) pode ser definido como $1/k_e^0$.⁵¹

$$k_e^0 \approx 2.88 \times 10^{-9} \bar{\nu}_0^2 \int \varepsilon d\bar{\nu} \quad (4)$$

$$f_e \approx 4.3 \times 10^{-9} \int \varepsilon d\bar{\nu} \quad (5)$$

onde $\int \varepsilon d\bar{\nu}$ é a área sob a curva do gráfico ε ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$) vs. $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) e $\bar{\nu}_0$ é o número de onda do máximo de absorção.

Tabela 1. Dados fotofísicos dos triazóis sintetizados (**13a-i**, **14** e **15a-f**), onde λ_{abs} e λ_{em} são os máximos de absorção e de emissão, respectivamente (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (nm), ε é a absorvidade molar ($10^4 M^{-1} \text{ cm}^{-1}$), f_e é a força do oscilador, k_e^0 é a constante de emissão radiativa (10^8 s^{-1}), τ^0 é o tempo de decaimento radiativo (ns), e Φ_f é o rendimento quântico (%).

Composto	Solvente	λ_{abs}	λ_{em}	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$	ε	f_e	k_e^0	τ^0	Φ_f
13a	1,4-dioxano	305	370	65	2,28	0,76	2,69	3,72	4,6
	diclorometano	307	376	69	2,24	0,67	2,26	4,43	4,6
	metanol	304	378	74	1,99	0,55	1,46	6,84	4,4
	acetoneitrila	304	380	76	2,16	0,70	2,18	4,59	4,1
13b	1,4-dioxano	304	361	57	2,43	0,62	2,48	4,04	74,3
	diclorometano	306	361	55	2,53	0,51	2,19	4057	72,9
	metanol	301	361	60	2,53	0,61	2,63	3,80	78,8
	acetoneitrila	301	359	58	4,04	0,98	10,8	0,92	41,2
13c	1,4-dioxano	305	374	69	2,35	0,79	2,96	3,38	4,3
	diclorometano	306	377	71	2,01	0,49	1,35	7,39	4,9
	metanol	304	380	76	2,12	0,67	2,03	4,92	4,1
	acetoneitrila	304	379	75	2,23	0,72	2,41	4,15	3,8
13d	1,4-dioxano	305	371	66	2,36	0,71	2,69	3,72	3,6
	diclorometano	307	373	66	2,20	0,60	1,99	5,02	3,8
	metanol	305	376	71	1,92	0,56	1,41	7,09	3,7
	acetoneitrila	304	375	71	2,00	0,58	1,58	6,34	3,3
13e	1,4-dioxano	307	370	63	2,39	0,75	2,88	3,47	4,3
	diclorometano	307	374	67	2,07	0,56	1,63	6,13	4,5
	metanol	302	376	74	2,45	0,75	3,06	3,27	3,3
	acetoneitrila	303	376	73	2,32	0,77	2,79	3,58	3,5

13f	1,4-dioxano	307	372	65	2,32	0,79	2,83	3,54	4,5
	diclorometano	307	377	70	2,16	0,64	2,01	4,98	4,4
	metanol	303	379	76	2,36	0,80	2,99	3,34	3,2
	acetoniitrila	304	381	77	1,91	0,56	1,38	7,27	4,2
13g	1,4-dioxano	307	371	64	2,03	0,47	1,30	7,66	5,1
	diclorometano	308	374	67	1,91	0,51	1,27	7,89	4,9
	metanol	305	379	74	1,94	0,57	1,49	6,71	3,9
	acetoniitrila	304	377	73	1,92	0,57	1,42	7,04	3,8
13h	1,4-dioxano	304	360	56	2,40	0,56	2,16	4,63	69,8
	diclorometano	304	362	58	2,50	0,57	2,38	4,20	61,3
	metanol	303	363	60	2,42	0,60	2,39	4,19	71,7
	acetoniitrila	303	363	60	2,20	0,49	1,62	6,18	78,9
13i	1,4-dioxano	308	371	63	1,92	0,50	1,23	8,10	5,4
	diclorometano	308	377	69	2,33	0,72	2,39	4,19	4,3
	metanol	306	376	70	2,22	0,69	2,32	4,30	3,9
	acetoniitrila	303	380	77	2,05	0,66	1,90	5,27	3,8
14	1,4-dioxano	304	368	64	2,06	0,60	1,76	5,69	4,4
	diclorometano	305	371	66	1,90	0,50	1,24	8,07	4,4
	metanol	303	375	72	1,87	0,49	1,15	8,67	4,0
	acetoniitrila	304	373	69	2,03	0,57	1,64	6,10	3,4
15a	1,4-dioxano	304	368	64	1,98	0,52	1,36	7,38	4,5
	diclorometano	307	372	65	2,15	0,58	1,78	5,60	3,9
	metanol	304	375	71	2,02	0,58	1,60	6,25	3,6
	acetoniitrila	302	374	72	2,08	0,59	1,56	6,42	3,5
15b	1,4-dioxano	304	368	64	2,13	0,59	1,79	5,59	3,8
	diclorometano	306	374	68	2,18	0,56	1,77	5,64	3,9
	metanol	304	376	72	2,35	0,71	2,65	3,78	3,1
	acetoniitrila	303	374	71	2,19	0,61	1,99	5,04	3,1
15c	1,4-dioxano	307	369	62	2,60	0,76	3,45	2,90	3,8
	diclorometano	308	370	62	2,32	0,58	2,11	4,73	4,1
	metanol	304	376	70	2,36	0,68	2,57	3,89	3,5
	acetoniitrila	305	373	68	2,05	0,54	1,52	6,56	3,5
15d	1,4-dioxano	304	370	66	2,02	0,53	1,46	6,84	4,3
	diclorometano	307	371	64	2,03	0,51	1,41	7,09	4,2
	metanol	304	375	71	2,19	0,62	2,02	4,95	3,6
	acetoniitrila	303	374	71	2,30	0,70	2,47	4,05	3,1
15e	1,4-dioxano	307	368	62	2,58	0,74	3,30	3,03	4,6
	diclorometano	307	375	68	2,11	0,58	1,72	5,82	4,6
	metanol	306	374	68	1,96	0,50	1,28	7,82	4,4
	acetoniitrila	302	375	73	2,06	0,60	1,73	5,78	4,1
15f	1,4-dioxano	306	368	62	2,59	0,65	3,45	2,90	4,2
	diclorometano	306	372	66	2,48	0,67	2,11	4,73	4,1
	metanol	305	375	70	2,55	0,77	2,57	3,89	3,4
	acetoniitrila	305	374	69	2,53	0,75	1,52	6,56	3,4

A partir dos dados apresentados na Tabela 1, observa-se que os compostos sintetizados apresentaram valores de absorvidade molar na ordem de $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, referente a uma transição eletrônica permitida por simetria e spin do tipo $^1\pi-\pi^*$. Adicionalmente, a magnitude do tempo de decaimento radiativo (τ^0) indica que após a absorção de radiação os derivados em estudo encontram-se no mesmo estado excitado. Os valores calculados para τ^0 encontram-se na faixa de 2,90 – 8,10 ns em 1,4-dioxano, 3,58 – 8,07 ns em diclorometano, 3,00 – 8,67 ns em metanol e de 0,92 – 7,27 ns em acetonitrila.

Os máximos de emissão de fluorescência encontram-se na faixa de 360 – 379 nm quando os compostos são excitados no seu máximo de absorção. A partir desses dados foi possível obter os valores de deslocamento de Stokes na faixa de 55 a 76 nm, indicando uma significativa perda de energia no estado excitado. Devido às suas características eletrônicas, não foi observada variação significativa da posição do máximo de emissão com o aumento da polaridade do solvente, o que pode estar relacionado a um caráter de transferência de carga quase ausente no estado excitado.

Cabe ressaltar que os valores calculados para o rendimento quântico dos compostos contendo o núcleo benzotiazol apresentaram valores entre 3-6%, enquanto que para os compostos contendo o núcleo benzoxazol estes valores ficaram na faixa de 40 a 80%. Essa grande diferença não pode ser relacionada à unidade de amino ácido ou ao solvente empregado uma vez que as duas famílias de compostos (benzotiazol e benzoxazol) apresentam os mesmos grupos químicos, com exceção do heteroátomo presente na porção benzazólica. Deste modo, pode-se inferir que o átomo de enxofre desempenha papel decisivo na desativação não radiativa do estado excitado. Estas análises foram realizadas com comprimento de onda de excitação de 305 nm para todos os compostos e slit de excitação/emissão de 3,0 nm/3,0 nm. Como padrão de rendimento quântico foi utilizada uma solução de sulfato de quinina em H_2SO_4 0,5 M, também excitado em 305 nm.⁵⁵

4.3 ESTUDO DE INTERAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS

Além da caracterização dos compostos triazólicos sintetizados através de espectroscopias de absorção na região do UV-Visível e de emissão de

fluorescência, foram realizados estudos de interação com a proteína albumina sérica bovina (BSA) e de interação com DNA. Estes estudos foram realizados pelo grupo do professor Bernardo Iglesias, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A fim de averiguar como essas interações ocorrem, foi realizado o estudo de *docking* molecular pelo pesquisador Otávio Chaves do SENAI-RJ.

4.3.1 Interação com BSA

A estrutura da BSA apresenta pico de absorção no UV-Vis em ~ 290 nm, que corresponde principalmente à absorção de resíduos de triptofano (Trp¹³⁴ e Trp²¹²).⁷⁸ A supressão da emissão de fluorescência da BSA em 340 nm ($\lambda_{exc} = 290$ nm) após adições sucessivas (0 a 120 μ M) de cada composto estudado indica que estas moléculas são capazes de interagir com a proteína através da cavidade de ligação onde os resíduos Trp¹³⁴ (subdomínio IB) e/ou Trp²¹² (subdomínio IIA) podem ser encontrados.⁶⁴

Como exemplo, na Figura 20 é possível visualizar a diminuição gradual causada na emissão da BSA devido à crescente adição dos compostos **13a** (Figura 20a) e **14** (Figura 20b); ambos derivados da L-prolina e do benzotiazol, sendo que o composto **13a** apresenta o grupo *N*-Boc e o composto **14** possui o *N*-H livre. Essa supressão na emissão de fluorescência da BSA indica que os derivados em estudo estão interagindo com a proteína, e a natureza dessa interação pode ser determinada pela Equação de Stern-Volmer (5).⁷⁹

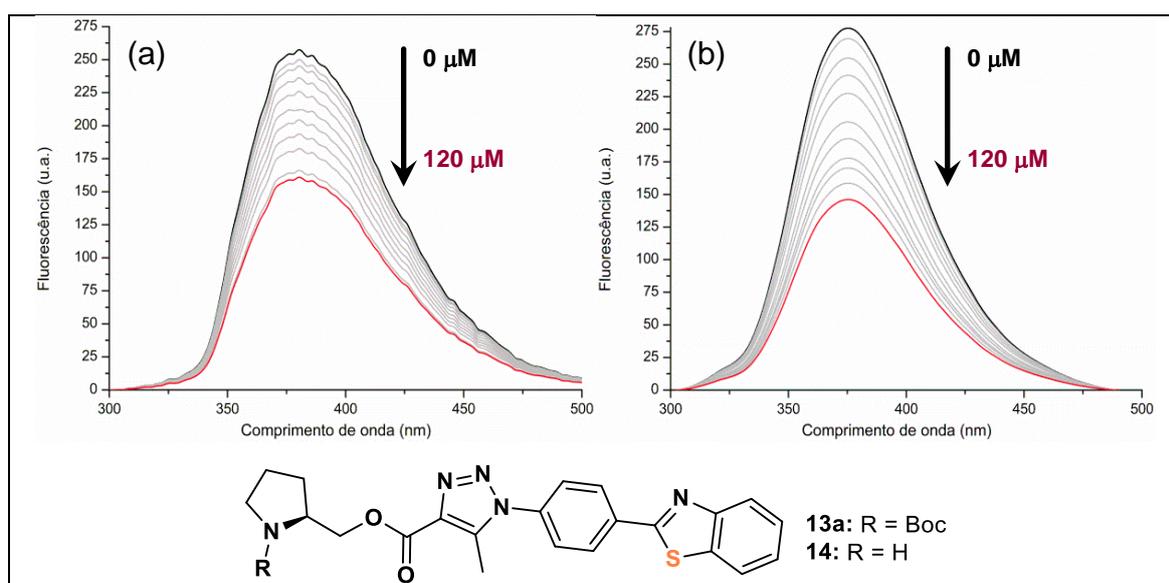


Figura 20. Espectro de emissão de fluorescência da BSA após sucessivas adições dos compostos (a) **13a** e (b) **14**.

$$F_0/F = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{SV}[Q] \quad (5)$$

onde, F_0 e F são as intensidades de fluorescência da proteína antes e depois da adição dos compostos, respectivamente; K_q é a constante da taxa de supressão; τ_0 é o tempo de vida da BSA na ausência do supressor; $[Q]$ é a concentração do supressor; e K_{SV} é a constante de Stern-Volmer. De acordo com a Equação 5, K_{SV} é calculado a partir da inclinação da reta e k_q é igual a K_{SV}/τ_0 . Para concluir a natureza do aduto BSA-composto, foram calculados a constante de ligação aparente (K_{app}) e o número de sítios de ligação (n) através da Equação 6. Sendo que K_{app} pode ser obtido pela interceptação e n pela inclinação da reta construída. Os valores calculados encontram-se na Tabela 2.

$$\log(F_0 - F)/F = \log K_{app} + n \log[Q] \quad (5)$$

Tabela 2. Valores calculados para supressão (Q), constante de Stern-Volmer (K_{SV}), constante da taxa de supressão (k_q), constante de ligação aparente (K_{app}) e número de sítios de ligação (n) para a interação dos compostos sintetizados com a BSA.

Composto	Q (%) ^a	K_{SV} (M^{-1})	k_q ($M^{-1} s^{-1}$)	K_{app} (M^{-1})	n
13a	37,50	$4,39(\pm 0,11) \times 10^4$	$4,39(\pm 0,20) \times 10^{12}$	$5,76(\pm 0,30) \times 10^3$	1,22
13b	38,30	$5,51(\pm 0,11) \times 10^4$	$5,51(\pm 0,20) \times 10^{12}$	$6,55(\pm 0,20) \times 10^3$	1,37
13c	38,25	$5,43(\pm 0,13) \times 10^4$	$5,43(\pm 0,35) \times 10^{12}$	$4,47(\pm 0,20) \times 10^3$	0,94
13d	41,20	$6,03(\pm 0,13) \times 10^4$	$6,03(\pm 0,35) \times 10^{12}$	$5,33(\pm 0,20) \times 10^3$	1,11
13e	50,00	$6,59(\pm 0,13) \times 10^4$	$6,59(\pm 0,35) \times 10^{12}$	$3,98(\pm 0,26) \times 10^3$	0,83
13f	50,74	$7,10(\pm 0,20) \times 10^4$	$7,10(\pm 0,15) \times 10^{12}$	$3,83(\pm 0,26) \times 10^3$	0,79
13g	54,54	$8,47(\pm 0,20) \times 10^4$	$8,47(\pm 0,15) \times 10^{12}$	$3,91(\pm 0,55) \times 10^3$	0,79
13h	56,52	$9,15(\pm 0,11) \times 10^4$	$9,15(\pm 0,15) \times 10^{12}$	$3,78(\pm 0,50) \times 10^3$	0,76
13i	62,19	$9,94(\pm 0,30) \times 10^4$	$9,94(\pm 0,20) \times 10^{12}$	$5,57(\pm 0,60) \times 10^3$	1,11
14	47,36	$7,24(\pm 0,20) \times 10^4$	$7,24(\pm 0,20) \times 10^{12}$	$6,38(\pm 0,60) \times 10^3$	1,31
15a	58,33	$8,99(\pm 0,30) \times 10^4$	$8,99(\pm 0,20) \times 10^{12}$	$3,92(\pm 0,20) \times 10^3$	0,79
15b	52,38	$8,04(\pm 0,30) \times 10^4$	$8,04(\pm 0,20) \times 10^{12}$	$4,39(\pm 0,20) \times 10^3$	0,91
15c	55,15	$8,39(\pm 0,15) \times 10^4$	$8,39(\pm 0,30) \times 10^{12}$	$4,73(\pm 0,11) \times 10^3$	0,95
15d	48,71	$7,65(\pm 0,26) \times 10^4$	$7,65(\pm 0,10) \times 10^{12}$	$5,37(\pm 0,20) \times 10^3$	1,10
15e	55,15	$9,67(\pm 0,26) \times 10^4$	$9,67(\pm 0,30) \times 10^{12}$	$6,33(\pm 0,30) \times 10^3$	1,27
15f	54,33	$8,80(\pm 0,30) \times 10^4$	$8,80(\pm 0,30) \times 10^{12}$	$6,07(\pm 0,15) \times 10^3$	1,23

^a $Q = (Int_{inicial} - Int_{final}) / Int_{inicial} \times 100$.

Os valores encontrados para as constantes da taxa de supressão ($k_q \sim 10^{12} M^{-1} s^{-1}$) são três ordens de magnitude maiores que as constantes de difusão

($k_{diff} \sim 7,40 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), indicando que a natureza do mecanismo de supressão é estático. Como os valores obtidos para o número de sítio de ligação é variável de 0,76 – 1,37, os compostos podem estar ligados a diferentes sítios de ligação da proteína. Além disso, os resultados obtidos para a constante aparente de ligação (K_{app}) determinada pela supressão de fluorescência apresenta boa correlação linear (gráficos no anexo) com os valores das constantes de supressão (K_{sv}).

De modo a identificar o sítio de ligação mais provável para cada composto sintetizado dentro da estrutura da BSA, bem como sugerir o principal resíduo de amino ácido envolvido na interação, foram realizados cálculos de *docking* molecular. Assim, a Figura 21 apresenta como exemplo a melhor conformação para a interação dos compostos **13a** e **14** no interior do subdomínio IIA da BSA. Os resultados do estudo sugerem que as principais interações entre os compostos e a proteína são ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, dentro do sítio de ligação contendo o resíduo de Trp²¹².

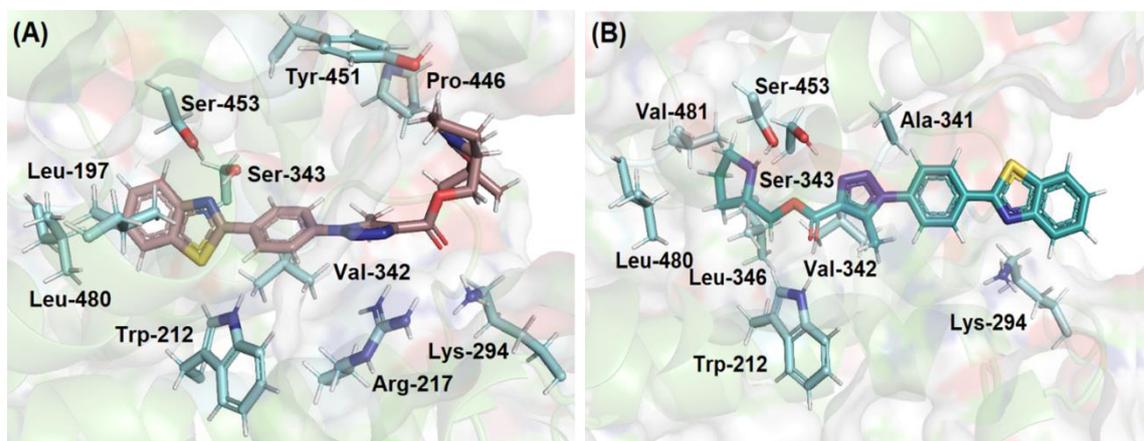


Figura 21. Docking molecular dos compostos (A) **13a** e (B) **14** na cavidade da BSA.

4.3.2 Interação com DNA

Este estudo de interação dos compostos derivados de amino ácidos foi realizado empregando-se DNA de timoⁱⁱ de bezerro (CT-DNA) e foi monitorado por espectroscopia de absorção de UV-Vis. Às soluções dos compostos foram adicionadas quantidades crescentes (0 a 100 μM) de solução de CT-DNA. Na Figura 22 é possível visualizar o efeito na absorção da região de UV-Vis para os

ⁱⁱ Glândula linfóide

compostos **13a** (Figura 22a) e **14** (Figura 22b). O aumento na absorção pode ser atribuído à intercalação dos compostos com os sulcos do DNA. A interação das bases do DNA provavelmente ocorre com a porção aromática das moléculas através de ligações de hidrogênio e/ou forças hidrofóbicas.⁸⁰ As constantes de ligação calculadas (Tabela 3) indicam uma forte ligação entre os compostos sintetizados e o CT-DNA, sendo que os derivados **13a-13i** contendo o grupo Boc apresentaram força de ligação menor que os derivados **14, 15a-15f** sem Boc. Estes dados indicam que o grupo protetor desempenha papel importante na interação dos compostos com o CT-DNA.

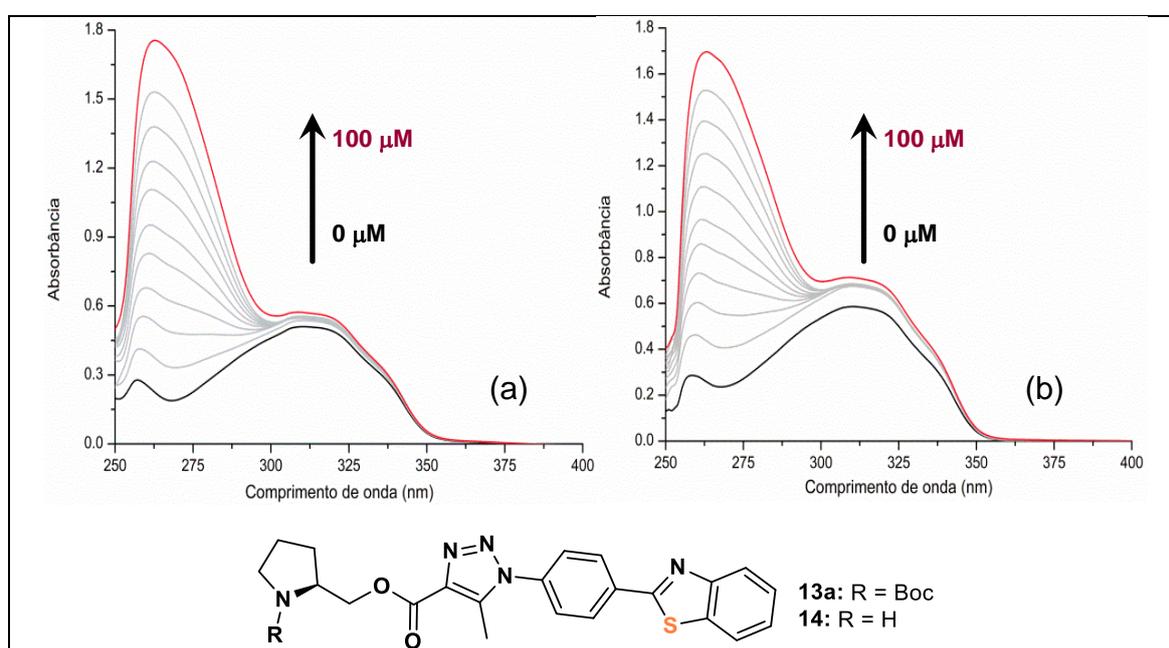


Figura 22. Espectro de absorção no UV-Vis dos compostos (a) **13a** e (b) **14** após sucessivas adições de solução de DNA.

Tabela 3. Valores calculados para constante de ligação (K_{app}), supressão de fluorescência (Q), constante de Stern-Volmer (K_{SV}) e constante da taxa de supressão (k_q) para a interação dos compostos em estudo com CT-DNA.

Composto	Absorção DNA	Emissão BE-DNA		
	K_{app} (M^{-1})	Q (%) ^a	K_{SV} (M^{-1})	k_q ($M^{-1}s^{-1}$)
13a	$1.72(\pm 0.16) \times 10^5$	6.72	$5.26(\pm 0.20) \times 10^2$	$5.26(\pm 0.26) \times 10^{10}$
13b	$9.30(\pm 0.69) \times 10^5$	6.37	$6.34(\pm 0.30) \times 10^2$	$6.34(\pm 0.26) \times 10^{10}$
13c	$9.75(\pm 0.69) \times 10^5$	5.65	$6.05(\pm 0.30) \times 10^2$	$6.05(\pm 0.26) \times 10^{10}$
13d	$1.51(\pm 0.10) \times 10^5$	6.18	$4.49(\pm 0.40) \times 10^2$	$4.49(\pm 0.15) \times 10^{10}$
13e	$8.35(\pm 0.80) \times 10^5$	11.97	$6.62(\pm 0.10) \times 10^2$	$6.62(\pm 0.15) \times 10^{10}$
13f	$7.40(\pm 0.15) \times 10^5$	5.14	$5.32(\pm 0.10) \times 10^2$	$5.32(\pm 0.30) \times 10^{10}$
13g	$3.44(\pm 0.15) \times 10^5$	5.49	$5.60(\pm 0.10) \times 10^2$	$5.60(\pm 0.03) \times 10^{10}$
13h	$4.57(\pm 0.20) \times 10^5$	14.23	$1.24(\pm 0.10) \times 10^3$	$1.24(\pm 0.03) \times 10^{11}$

13i	4.79(±0.20)x10 ⁵	9.73	1.05(±0.15)x10 ³	1.05(±0.03)x10 ¹¹
14	2.34(±0.30)x10 ⁶	6.24	6.46(±0.10)x10 ²	6.46(±0.20)x10 ¹⁰
15a	1.10(±0.25)x10 ⁶	3.15	3.29(±0.10)x10 ²	3.29(±0.20)x10 ¹⁰
15b	2.10(±0.30)x10 ⁶	5.76	3.79(±0.30)x10 ²	3.79(±0.40)x10 ¹⁰
15c	1.67(±0.60)x10 ⁶	5.94	5.93(±0.20)x10 ²	5.93(±0.40)x10 ¹⁰
15d	1.61(±0.30)x10 ⁶	6.13	4.44(±0.40)x10 ²	4.44(±0.70)x10 ¹⁰
15e	6.29(±0.50)x10 ⁵	5.34	3.37(±0.40)x10 ²	3.37(±0.40)x10 ¹⁰
15f	3.68(±0.60)x10 ⁶	4.29	1.70(±0.20)x10 ²	1.70(±0.40)x10 ¹⁰

$$^aQ = (Int_{inicial} - Int_{final}) / Int_{inicial} \times 100.$$

Também foi realizado um estudo de competição de intercalação utilizando uma sonda de intercalação já estabelecida (brometo de etídio – BE). Dessa forma, é possível avaliar a capacidade dos compostos de deslocar essa sonda e podem ser obtidos mais dados sobre a afinidade de ligação das moléculas sintetizadas com o DNA. Para tanto o espectro de emissão de fluorescência foi monitorado conforme se procedeu a adição sucessiva de cada composto a uma solução de CT-DNA de concentração fixa pré-tratada com BE. A Figura 23 apresenta, como exemplo, os espectros obtidos mediante adição dos compostos **13a** (Figura 23a) e **14** (Figura 23b) à solução de BE-DNA.

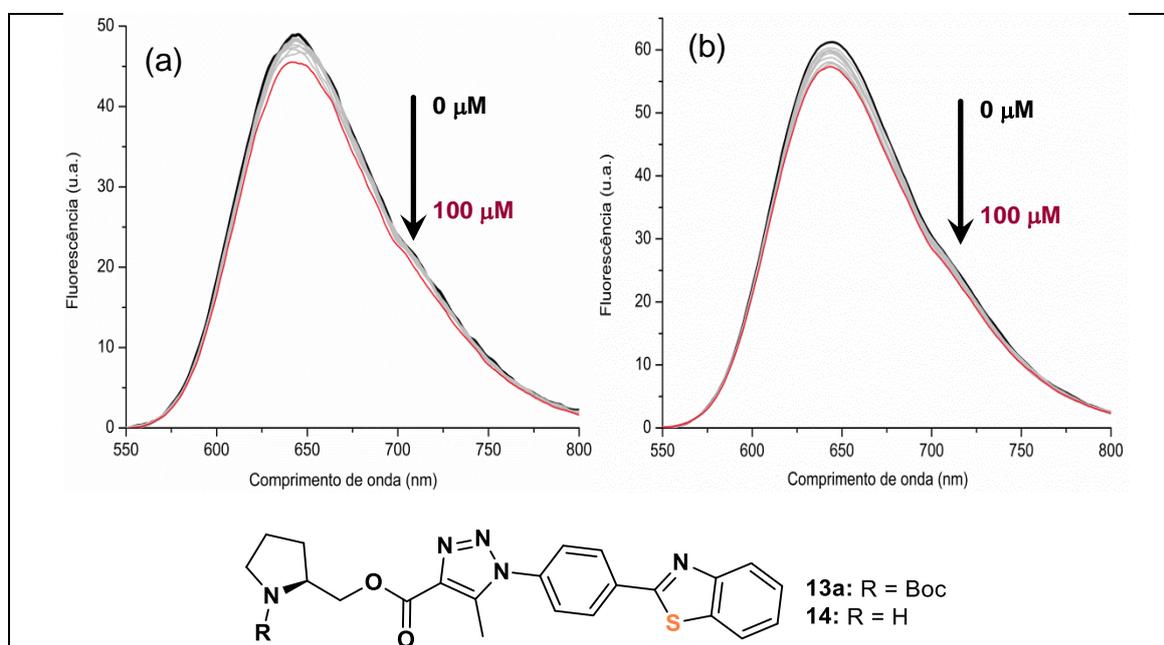


Figura 23. Espectro de emissão de fluorescência de solução BE-DNA após sucessivas adições de (a) **13a** e (b) **14**.

A sonda BE quando ligada ao CT-DNA na ausência dos derivados de amino ácido em estudo apresenta intensa banda de emissão de fluorescência

localizada em 643 nm ($\lambda_{exc} = 540$ nm). Após a adição dos compostos, pode ser observada a diminuição de intensidade na emissão de fluorescência a medida que a concentração dos compostos aumenta. Este fato é um indicativo de competitividade das moléculas em estudo com o BE pelo sítio de ligação no CT-DNA, ou seja, observa-se o deslocamento do BE do sítio de ligação do DNA pelos compostos testados. Além disso, as constantes de ligação calculadas (Tabela 3) indicaram uma possível interação estática entre os derivados de amino ácidos e a estrutura do DNA.

Cálculos de *docking* molecular foram realizados para investigar o modo de ligação preferencial, bem como as forças de interação de cada derivado de amino ácido com o DNA. Os resultados indicam que os derivados interagem com o sulco maior das hélices do DNA, mais especificamente com as bases nitrogenadas guanina, citosina, timina e adenina. Na Figura 24A é apresentado o *docking* para o composto **13a**, no qual pode-se perceber a interação com todas as bases nitrogenadas. Já na Figura 24B, tem-se o *docking* do composto **14** e observa-se que não há interação com a base nitrogenada guanina. Os compostos **15b**, **15c** e **15e** não apresentaram interação com a adenina (em anexo). Ainda de acordo com os resultados computacionais, as principais forças de interação são van der Waals, ligação de hidrogênio e interação hidrofóbica via *T-stacking*. No entanto, os compostos **13e**, **13f**, **13h**, **15a**, **15b**, **15c**, **15d**, **15e** e **15f** não interagem via forças hidrofóbicas com as bases nitrogenadas do DNA.

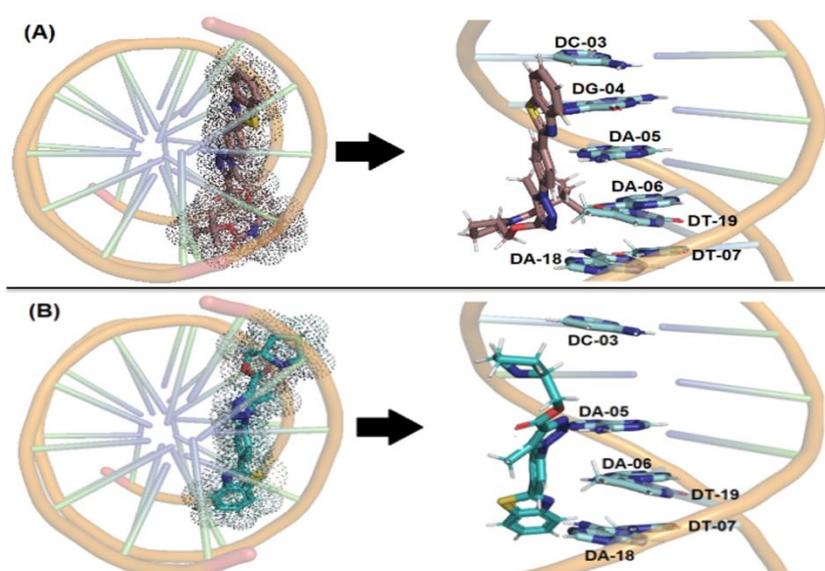


Figura 24. Docking molecular dos compostos (A) **13a** e (B) **14** interagindo com as bases nitrogenadas do DNA.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram sintetizados três β -ceto ésteres inéditos derivados de amino ácidos e dezesseis 1,2,3-triazóis 1,4,5-trissubstituídos também inéditos. A metodologia aplicada para tal foi a reação de cicloadição [3 + 2] enamina-azida organocatalisada. Todos os compostos sintetizados foram obtidos com rendimentos de bons a excelentes e foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , espectroscopia de absorção na região de infravermelho, análise de massas de alta resolução, rotação óptica específica e ponto de fusão. Além disso, para o composto **15a** foram realizadas análises de RMN bidimensionais, tais como ^1H -COSY, ^1H -ROESY, $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HMBQ e $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC, visando comprovação/elucidação da estrutura. Para os compostos **15d** e **15e** (enantiômeros) foi realizada análise de CLAE para comprovar que durante a rota sintética não ocorre racemização do centro assimétrico oriundo dos amino ácidos de partida.

Realizou-se a caracterização fotofísica de todos os compostos triazólicos sintetizados através de espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e de emissão de fluorescência em quatro solventes com constantes dielétricas variando de 2,2 a 37,5. Com base na avaliação dos dados de absorção no UV-Vis, pode-se inferir que os compostos apresentaram máximo de absorção em torno 305 nm e o aumento de polaridade do solvente não provocou mudança significativa na localização destas bandas de absorção. Além disso, de acordo com a constante de absorvidade molar calculada para cada composto pode-se dizer que a transição eletrônica envolvida é permitida por simetria e spin do tipo π - π^* .

Através da análise dos dados de emissão de fluorescência obtidos para os compostos, é possível afirmar que os derivados contendo o núcleo benzotiazol apresentam intensidade de emissão cerca de 20 vezes menor que os derivados contendo o núcleo benzoxazol. Além disso, observa-se nos derivados do benzotiazol o aparecimento de uma segunda banda de emissão quando os compostos são excitados em 350 nm, banda a qual não aparece nos derivados do benzoxazol. Os valores de rendimento quântico calculados mostram que os derivados contendo o núcleo benzoxazol apresentam maior eficiência de conversão de energia (~40 a 80%) do que os derivados contendo o núcleo benzotiazol (~3,0 a 6,0 %).

A partir dos estudos realizados pelo grupo de pesquisa colaborador da UFSM, estima-se que os triazóis sintetizados apresentam boa interação com a proteína albumina sérica bovina (BSA). A supressão da emissão de fluorescência intrínseca à BSA deve-se à capacidade dos compostos estudados de interagir com os resíduos do amino ácido triptofano (Trp¹³⁴ e Trp²¹²) localizados na cavidade de ligação da proteína. As constantes de ligação calculadas sugerem que o fenômeno é colisional e ocorre no estado fundamental. Ainda, os ensaios de interação com o DNA realizados indicaram que os compostos apresentaram forte ligação com o CT-DNA, o que pode ser atribuído a interações como ligação de hidrogênio e/ou forças hidrofóbicas entre a porção aromática das moléculas e as bases do DNA. Os derivados de amino ácidos também foram testados contra um conhecido intercalador de DNA, e os resultados indicaram competitividade pelo sítio de ligação do CT-DNA. Neste contexto, cálculos de *docking* molecular foram realizados para melhor entendimento das interações entre os derivados de amino ácidos sintetizados e as duas biomoléculas estudadas.

6 EXPERIMENTAL

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes utilizados para a execução deste trabalho foram obtidos através de fontes comerciais e foram utilizados sem prévia purificação, salvo quando indicado. As reações foram acompanhadas através de cromatografia em camada delgada utilizando-se folhas de alumínio recobertas com sílica-gel GF254 de 0,25 mm de espessura. Como métodos de revelação foram utilizados vapores de iodo, luz ultravioleta, solução alcoólica ácida de vanilina ou solução alcoólica de ácido fosfomolibdico. Os produtos foram purificados através de cromatografia em coluna com sílica gel 60 (230-400 mesh).

As análises de RMN de ^1H e RMN ^{13}C foram obtidas através de aparelhos Varian 400 MHz ou Bruker 400 MHz. Os espectros de RMN bidimensionais (COSY, HSQC, HMBC e ROESY) foram obtidos em espectrômetro Bruker que opera na frequência de 400 MHz. Os deslocamentos químicos foram expressos em parte por milhão (ppm), tendo como padrão interno tetrametilsilano (TMS) como referência para o RMN ^1H ($\delta = 0,00$ ppm) ou clorofórmio residual ($\delta = 7,27$ ppm), e o sinal central do tripleto do clorofórmio deuterado (CDCl_3) para RMN ^{13}C ($\delta = 77,00$ ppm). As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz) e as multiplicidades expressas abreviadamente (simpleto, s; duplete, d; duplo duplete, dd; tripleto, t; quarteto, q; singleto largo, sl; multiplete, m).

As medidas de ponto de fusão das moléculas foram obtidas utilizando o equipamento M-565 da Buchi. As análises de rotação óptica específica foram efetuadas em polarímetro digital Jasco (P-2000) com lâmpada de sódio, em cubeta de 10 mm de comprimento utilizando diclorometano como solvente e reportadas como $[\alpha]_D^{20}$ e concentração (g/100 mL). Os espectros de massas de alta resolução foram adquiridos a partir de um aparelho Waters Synapt (HRMS Micro-QTOF) operando em modo ESI (*Electrospray Ionization*). Os espectros de IV foram obtidos em espectrômetro Alpha P da Bruker, no modo ATR utilizando um cristal de seleneto de zinco.

Os espectros de absorção de UV-Visível foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2450PC. Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos em um espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC, utilizando slit 3,0/3,0. As medidas de absorção e emissão foram realizadas à temperatura ambiente em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Para

a determinação do rendimento quântico dos compostos foi utilizado sulfato de quinina como padrão, em solução de H₂SO₄ 0,5 M; as medidas foram realizadas utilizando-se slit 3,0 nm/3,0 nm. As análises de HPLC foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, LC – 20AT, utilizando-se coluna quiral Daicel Chiracel IB, hexano/*iso*-propanol (50:50) como eluente em fluxo de 0,1 mL/min e detector UV-vis com comprimento de onda de 254 nm.

6.2 PREPARAÇÃO DO 2-(4'-AMINOFENIL)BENZOTIAZOL

Em um balão pré-aquecido a 150 °C, adicionou-se 20 mL de ácido polifosfórico. Após o ácido estar menos viscoso, adicionou-se o ácido *p*-aminobenzóico (1 equiv.; 22 mmol) e esperou-se até homogeneizar. Em seguida, adicionou-se 2,35 mL de *o*-aminotiofenol (1 equiv.; 22 mmol) e manteve-se agitação a 180 °C durante 5h. Após tempo reacional, deixou-se o sistema esfriar um pouco e verteu-se ainda quente sobre gelo picado em um béquer de 1 L. Deixou-se decantar por 24 h e removeu-se o excesso de água antes de neutralizar com NaHCO₃. A seguir, o precipitado foi filtrado em funil de Büchner e seco em estufa a 60 °C por 24 h. A purificação foi realizada através de cromatografia em coluna utilizando diclorometano como fase móvel e sílica gel como fase estacionária.

6.3 PREPARAÇÃO DO 2-(4'-AZIDOFENIL)BENZOTIAZOL

Em um balão de 250 mL foi adicionado o 2-(4aminofenil)benzotiazol (1 equiv.; 2 mmol), 15 mL de uma mistura HCl/H₂O (3:1) e manteve-se agitação por 20 min. Após esse tempo, o sistema foi resfriado a 0 °C e adicionou-se NaNO₂ (1,2 equiv.; 2,4 mmol) dissolvido em água e manteve-se agitação nessa temperatura por 30 min. A seguir, foi adicionada NaN₃ (2 equiv.; 4 mmol) aos poucos. A solução foi agitada a temperatura ambiente por 2 h. Ao término do tempo reacional, o produto foi extraído com diclorometano. O produto bruto foi obtido com elevada pureza e foi utilizado na etapa seguinte sem necessidade de purificação.

6.4 REDUÇÃO DA *N*-BOC L-PROLINA

Em balão de duas bocas sob argônio foi adicionado NaBH₄ (2,5 equiv.; 12,5 mmol) e 14 mL de THF seco. Após, foi adicionado o aminoácido *N*-Boc L-

prolina (1 equiv.; 5 mmol) e o sistema foi resfriado a 0 °C. Preparou-se uma solução de I₂ (1 equiv.; 5 mmol) em 4 mL de THF seco e adicionou-se lentamente ao sistema reacional. Deixou-se em refluxo por 18 h. Após o período reacional, resfriou-se o sistema à temperatura ambiente e adicionou-se MeOH cuidadosamente até a mistura tornar-se clara. Agitou-se por 30 min. Removeu-se o solvente em rotaevaporador obtendo-se um sólido pastoso branco, ao qual adicionou-se 10 mL de uma solução de KOH 20% (m/v). Deixou-se agitando durante 2 h e extraiu-se com diclorometano. A fase orgânica foi seca com MgSO₄ e o solvente foi evaporado em rotaevaporador. Não foi necessária purificação do produto obtido.

6.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA A ESTERIFICAÇÃO DE AMINO ÁCIDOS

À solução do aminoácido (1 equiv.; 10 mmol) em 12 mL de MeOH foi adicionado lentamente SOCl₂ (2 equiv.; 20 mmol) à 0 °C. Quando a adição foi finalizada, o banho de gelo foi removido. A mistura reacional foi agitada por um tempo adicional de 12 h. Após esse tempo o solvente e outros componentes voláteis foram removidos em rotaevaporador. O cloridrato obtido foi utilizado na forma bruta na reação seguinte.

6.6 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PROTEÇÃO COM GRUPO BOC

À suspensão do cloridrato de aminoéster (1 equiv.; 3 mmol) em 10 mL de diclorometano a 0 °C foi adicionada Et₃N (2,18 equiv.; 6,5 mmol) e manteve-se agitação nessa temperatura por 30 min. A seguir, ainda a 0 °C, Boc₂O foi adicionado lentamente ao sistema (1,1 equiv.; 3,3 mmol) e manteve-se agitação adicional por 12h após o sistema voltar a temperatura ambiente. A mistura resultante foi diluída com CH₂Cl₂ e lavada com solução de KHSO₄ 1M (3 x 10 mL), com solução saturada de NaHCO₃ (1 x 10 mL) e por fim com solução satura de NaCl (1 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ anidro, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador. O produto foi purificado empregando-se sílica gel como fase estacionária e uma solução de AcOEt/Hexano (30:70) como fase móvel.

6.7 PROCEDIMENTO GERAL PARA REDUÇÃO COM LiAlH₄

Em um balão de duas bocas, sob argônio, adicionou-se o LiAlH₄ (3 equiv.; 6 mmol) e adicionou-se 6 mL de THF seco. Resfriou-se o balão contendo o LiAlH₄ a 0 °C e adicionou-se gota-a-gota o aminoéster (1 equiv.; 2 mmol) dissolvido em 2 mL de THF seco. A agitação foi mantida por um tempo adicional de 12h à temperatura ambiente. Após período reacional, adicionou-se a 0 °C uma solução de NaOH 10% (m/v) até ficar uma solução branca. Filtrou-se sobre celite utilizando-se diclorometano para lavar. A fase orgânica foi seca com MgSO₄ e evaporou-se o solvente em rotaevaporador. O produto foi purificado empregando-se sílica gel como fase estacionária e uma solução de AcOEt/Hexano (30:70) como fase móvel.

6.8 PROCEDIMENTO GERAL PARA TRANSESTERIFICAÇÃO

Em um balão de duas bocas, sob argônio, adicionou-se o aminoálcool (1 equiv.; 1,70 mmol), o DMAP (0,25 equiv.; 0,42 mmol) e 6 mL de tolueno seco. Em seguida foi adicionado o β-cetoéster (1,2 equiv.; 2,04 mmol) lentamente. Manteve-se em refluxo por 24* h. Após tempo reacional, lavou-se com água destilada (2 x 10 mL), solução saturada de NH₄Cl (1 x 10 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 10 mL). Secou-se a fase orgânica com MgSO₄ e o solvente foi evaporado em rotaevaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando sílica gel como fase estacionária e solução de AcOEt/Hexano (30:70) como eluente.

*Para o exemplo da L-prolina o tempo de refluxo foi de 48 h.

β-cetoéster derivado da L-prolina (3). Obtido com um óleo amarelo em 71% de rendimento (730,2 mg; 2,56 mmol). $[\alpha]_D^{20} = -40,55$ (c 0,75; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 2982; 1749; 1721; 1690; 1395; 1365; 1253; 1164; 1102; 773; 538. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,02 (s, 0,1H); 4,99 (s, 0,1H); 4,33 – 3,90 (m, 3H); 3,48 (s, 2H); 3,42 – 3,29 (m, 2H); 2,28 (s, 3H); 1,93 – 1,78 (m, 4H); 1,47 (s, 9H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 199,6; 171,5; 166,1; 153,7; 153,4; 88,7; 78,7; 78,4; 64,4; 54,9; 54,6; 49,1; 45,9; 45,7; 27,6; 22,9; 22,2; 20,3. EMAR-ESI calculado para [C₁₄H₂₃NO₅+H]⁺: 286,1654; encontrado 286,1656.

β -cetoéster derivado da L-valina (8a). Obtido como um sólido pastoso amarelado em 85% de rendimento (434,5 mg; 1,44 mmol). $[\alpha]_D^{20} = -29,67$ (*c* 0,77; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3370; 2976; 1744; 1714; 1686; 1524; 1368; 1242; 1143; 627. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 11,97 (s, 0,1H); 5,00 (s, 0,1H); 4,68 – 4,57 (m, 1H); 4,23 (dd, *J* = 11,1 Hz, *J* = 4,2 Hz, 1H); 4,16 (dd, *J* = 11,1 Hz, *J* = 6,3 Hz, 1H); 3,72 – 3,62 (m, 1H); 3,47 (s, 2H); 2,28 (s, 3H); 1,79 (oct, *J* = 6,6 Hz, 1H); 1,44 (s, 9H); 0,96 (d, *J* = 5,1 Hz, 3H); 0,94 (d, *J* = 5,1 Hz, 3H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 200,4; 166,9; 155,6; 89,4; 79,2; 65,4; 54,4; 49,8; 29,5; 28,2; 19,2; 18,2. EMAR-ESI calculado para [C₁₄H₂₅NO₅+H]⁺: 288,1811; encontrado 288,1809.

β -cetoéster derivado da L-alanina (8b). Obtido como um sólido branco em 89% de rendimento (392,7 mg; 1,51 mmol). Pf: 45 – 47 °C. $[\alpha]_D^{20} = -19,04$ (*c* 0,56; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3372; 2983; 1731; 1720; 1686; 1525; 1361; 1251; 1160; 620; 538. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 11,97 (s, 0,1H); 5,02 (s, 0,1H); 4,62 (sl, 1H); 4,16 (dd, *J* = 11,2 Hz, *J* = 4,4 Hz, 1H); 4,08 (dd, *J* = 11,2 Hz, *J* = 5,6 Hz, 1H); 3,97 (sl, 1H); 3,49 (s, 2H); 2,28 (s, 3H); 1,44 (s, 9H); 1,17 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 200,4; 166,8; 155,0; 89,3; 79,2; 67,8; 66,5; 49,7; 45,1; 28,2; 21,0; 17,4. EMAR-ESI calculado para [C₁₂H₂₁NO₅+H]⁺: 260,1498; encontrado 260,1469.

β -cetoéster derivado da L-fenilglicina (8c). Obtido como um sólido amarelo claro em 77% de rendimento (496,0 mg; 1,54 mmol). Pf: 62 – 65 °C. $[\alpha]_D^{20} = +28,20$ (*c* 0,98; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3350; 2973; 2918; 2850; 1694; 1528; 1244; 1149; 699. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 11,90 (s, 1H); 7,40 – 7,33 (m, 2H); 7,32 – 7,25 (m, 3H); 5,31 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); 5,06 – 4,97 (m, 1H); 4,45 – 4,39 (m, 1H); 4,34 (dd, *J* = 10,7 Hz, *J* = 6,2 Hz, 1H); 3,44 (s, 2H); 2,19 (s, 3H); 1,43 (s, 9H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,3; 172,0; 166,8; 155,1; 138,4; 128,5; 127,6; 126,4; 89,2; 79,5; 67,0; 65,8; 53,2; 49,6; 29,8; 28,1; 21,0. EMAR-ESI calculado para [C₁₇H₂₃NO₅+Na]⁺: 344,1474; encontrado 344,1484.

β -cetoéster derivado da L-fenilalanina (8d). Obtido como um sólido branco em 84% de rendimento (478,7 mg; 1,43 mmol). Pf: 65 – 67 °C. $[\alpha]_D^{20} = -14,04$ (c 0,63; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3383; 3023; 2979; 1734; 1717; 1686, 1518, 1362, 1160, 698. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 11,95 (s, 0,1H); 7,32 – 7,15 (m, 5H); 5,05 (s, 0,1H); 4,80 – 4,71 (m, 1H); 4,24 – 4,15 (m, 1H); 4,12 – 4,01 (m, 2H); 3,51 (s, 2H); 2,88 (dd, Hz, $J = 13,6$ Hz, $J = 6,0$ 1H); 2,79 (dd, $J = 13,6$ Hz, $J = 7,6$ Hz, 1H); 2,29 (s, 3H); 1,41 (s, 9H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,4; 166,8; 155,1; 137,0; 129,1; 128,4; 126,5; 89,3; 79,4; 65,5; 50,5; 49,8; 37,7; 28,2; 21,1. EMAR-ESI calculado para [C₁₈H₂₅NO₅+H]⁺: 336,1811; encontrado 336,1814.

β -cetoéster derivado da D-fenilalanina (8e). Obtido como um sólido branco em 86% de rendimento (493,0 mg; 1,46 mmol). Pf: 65 – 67 °C. $[\alpha]_D^{20} = +14,37$ (c 1,06; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3386; 3354; 3019; 2978; 2937; 1717; 1685; 1520; 1295; 1152; 699. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 11,95 (s, 0,1H); 7,32 – 7,26 (m, 2H); 7,24 – 7,17 (m, 3H); 5,04 (s, 0,1H); 4,78 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 4,18 (dd, $J = 10,5$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H); 4,08 – 4,02 (m, 2H); 3,50 (s, 2H); 2,87 (dd, $J = 13,6$ Hz, $J = 6,1$ Hz, 1H); 2,78 (dd, $J = 13,5$ Hz, $J = 7,6$ Hz, 1H); 2,28 (s, 3H); 1,40 (s, 9H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,3; 175,8; 172,07; 166,7; 155,0; 137,0; 129,0; 128,3; 126,4; 89,2; 79,2; 65,4; 50,4; 49,6; 37,6; 29,9; 28,1; 21,0. EMAR-ESI calculado para [C₁₈H₂₅NO₅+Na]⁺: 358,1631; encontrado 358,1628.

β -cetoéster derivado da S-benzil-L-cisteína (8f). Obtido como um sólido branco em 77% de rendimento (590,0 mg; 1,55 mmol). Pf: 76 – 79 °C. $[\alpha]_D^{20} = +2,28$ (c 0,98; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3377; 3024; 2978; 2923; 1739; 1680; 1519; 1171; 1152; 699. Equilíbrio ceto-enólico detectado. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 11,92 (s, 0,1H); 7,37 – 7,21 (m, 5H), 4,97 (s, 0,1H); 4,92 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 4,29 – 4,23 (m, 2H), 4,07 – 3,99 (m, 1H); 3,74 (s, 2H); 3,46 (s, 2H); 2,58 (dd, $J = 12,8$ Hz, $J = 5,2$ Hz, 1H); 2,53 (dd, $J = 12,8$ Hz, $J = 6,0$ Hz, 1H); 2,25 (s, 3H); 1,45 (s, 9H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ 200,4; 176,2; 172,1; 166,7; 155,2; 137,8; 128,9; 128,5; 127,1; 89,2; 79,7; 65,3; 64,0; 49,8; 48,7; 36,3; 32,6; 30,1; 28,3; 21,2. EMAR-ESI calculado para [C₁₉H₂₇NO₅S+Na]⁺: 404,1508; encontrado 404,1508.

6.9 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS 1,2,3-TRIAZÓIS

Em um frasco, sob argônio, foi adicionada 2-(4-azidofenil)benzazol (1,5 equiv.; 0,75 mmol), o composto β -cetoéster derivado de aminoácido (1 equiv.; 0,50 mmol), DMSO seco (2,0 mL) e por fim o catalisador Et₂NH (0,1 equiv.; 0,05 mmol). Manteve-se a agitação a 80 °C durante 24 h. Ao término do período reacional, o DMSO foi evaporado sob vácuo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel como fase estacionária e solução de AcOEt/Hexano (40:60) como eluente.

1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)metil (13a). Obtido como um sólido amarelo queimado em 96 % de rendimento (252,1 mg; 0,48 mmol). Pf: 183 – 187°C. $[\alpha]_D^{20} = -41,35$ (c 1,06; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3055, 2971, 2870, 1696, 1385, 1171, 1095, 965, 842, 763. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,28 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H); 8,13 – 8,07 (m, 1H); 7,96 – 7,90 (m, 1H); 7,60 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H); 7,56 – 7,49 (m, 1H); 7,46 – 7,39 (m, 1H); 4,58 – 4,33 (m, 2H); 4,31 – 4,13 (m, 1H); 3,49 – 3,35 (m, 2H); 2,65 (s, 3H); 2,11 – 1,97 (m, 3H); 1,93 – 1,83 (m, 1H); 1,57 – 1,41 (m, 9H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165,5; 161,2; 154,4; 154,2; 153,8; 138,8; 138,7; 136,8; 136,7; 136,5; 135,0; 134,9; 128,5; 126,5; 125,6; 125,5; 123,3; 121,6; 79,6; 79,2; 64,8; 55,4; 46,6; 46,3; 28,3; 23,6; 22,7; 10,0. EMAR-ESI calculado para [C₂₇H₂₉N₅O₄S+Na]⁺: 542,1838; encontrado 542,1833.

1-(4-(benzo[d]oxazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-(1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)metil (13b). Obtido como um sólido bege em 80 % de rendimento (122,2 mg; 0,24 mmol). Pf: 206 – 210°C. $[\alpha]_D^{20} = -37,72$ (c 1,08; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3063; 2974; 2874; 1722; 1696; 1389; 1174; 1099; 977; 851; 754. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,85 – 7,78 (m, 1H); 7,66 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,64 – 7,60 (m, 1H); 7,45 – 7,36 (m, 2H); 4,60 – 4,34 (m, 2H); 4,32 – 4,14 (m, 1H), 3,49 – 3,32 (m, 2H); 2,68 (s, 3H); 2,15 – 1,97 (m, 3H); 1,93 – 1,84 (m, 1H); 1,55 – 1,42 (m, 9H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 161,22; 161,15; 154,5; 154,3; 150,8; 141,8; 138,9; 138,8; 137,4; 136,8; 136,7; 128,7; 128,6; 125,7; 125,5; 124,8; 120,2; 110,7; 79,7; 79,2; 64,9; 55,5; 46,7; 46,4; 28,4; 23,7; 22,8; 10,1. EMAR-ESI calculado para [C₂₇H₂₉N₅O₅+Na]⁺: 526,2067; encontrado 526,2073.

1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-metilbutil (13c). Obtido como um sólido amarelo escuro em 83 % de rendimento (215,8 mg; 0,41 mmol). Pf: 193 – 196°C. $[\alpha]_D^{20} = -32,73$ (c 1,11; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3375; 3059; 2971; 1709; 1507; 1158; 1112; 969; 842; 758. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,30 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 8,14 – 8,10 (m, 1H); 7,97 – 7,93 (m, 1H); 7,61 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 7,56 – 7,51 (m, 1H); 7,47 – 7,42 (m, 1H); 4,86 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H); 4,49 (dd, *J* = 11,2 Hz, *J* = 6,0 Hz, 1H); 4,40 (dd, *J* = 11,2 Hz, *J* = 4,0 Hz, 1H); 3,88 – 3,80 (m, 1H); 2,66 (s, 3H); 2,01 – 1,91 (m, 1H); 1,42 (s, 9H); 1,05 – 0,99 (m, 6H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165,6; 161,4; 155,7; 154,0; 138,9; 137,0; 136,7; 135,18; 135,15; 128,7; 126,7; 125,8; 125,7; 123,6; 121,7; 79,2; 65,4; 54,7; 29,7; 28,3; 19,5; 18,4; 10,2. EMAR-ESI calculado para [C₂₇H₃₁N₅O₄S+Na]⁺: 544,1995; encontrado 544,1995.

1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)propil (13d). Obtido como um sólido amarelo queimado em 93 % de rendimento (229,5 mg; 0,46 mmol). Pf: 192 – 196°C. $[\alpha]_D^{20} = -18,42$ (c 0,99; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3379; 3059; 2975; 2925; 1704; 1519; 1166; 1099; 1066; 969; 842; 758. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,30 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 8,13 – 8,09 (m, 1H); 7,96 – 7,92 (m, 1H); 7,61 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 7,56 – 7,51 (m, 1H); 7,47 – 7,41 (m, 1H); 4,98 – 4,87 (m, 1H); 4,44 – 4,32 (m, 2H); 4,21 – 4,08 (m, 1H); 2,66 (s, 3H); 1,43 (s, 9H); 1,29 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165,6; 161,4; 155,2; 154,0; 139,0; 137,0; 136,6; 135,2; 135,1; 128,6; 126,6; 125,8; 125,6; 123,5; 121,7; 79,4; 67,7; 45,5; 28,3; 17,7; 10,1. EMAR-ESI calculado para [C₂₅H₂₇N₅O₄S+Na]⁺: 516,1682; encontrado 516,1688.

1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-2-feniletil (13e). Obtido como um sólido amarelo queimado em 84 % de rendimento (233,4 mg; 0,42 mmol). Pf: 193 – 198°C. $[\alpha]_D^{20} = 19,40$ (c 1,12; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3382; 3061; 2974; 1704; 1162; 1112; 965; 841; 759; 699. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,29 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 8,14 – 8,09 (m, 1H); 7,96 – 7,92 (m, 1H); 7,59 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 7,56 – 7,51 (m, 1H); 7,46 – 7,26 (m, 6H); 5,52 – 5,42 (m, 1H); 5,24 – 5,11 (m, 1H); 4,68 –

4,56 (m, 2H); 2,57 (s, 3H); 1,40 (s, 9H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,6; 161,3; 155,2; 154,0; 139,0; 138,8; 137,0; 136,5; 135,17; 135,15; 128,7; 128,6; 127,8; 126,6; 126,5; 125,8; 125,6; 123,5; 121,7; 79,8; 67,1; 53,8; 28,2; 10,1. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}+\text{Na}]^+$: 578,1838; encontrado 578,1839.

1-(4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-fenil-propil (13f). Obtido como um sólido amarelado em 96 % de rendimento (230,5 mg; 0,40 mmol). Pf: 173 – 178°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8,89$ (*c* 0,96; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3387; 3059; 2979; 1696; 1511; 1221; 1166; 1120; 969; 847; 750; 733; 695. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,30 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 8,13 – 8,09 (m, 1H); 7,96 – 7,92 (m, 1H); 7,61 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H); 7,56 – 7,50 (m, 1H); 7,46 – 7,40 (m, 1H); 7,34 – 7,20 (m, 5H); 5,14 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 4,39 – 4,34 (m, 2H); 4,33 – 4,24 (m, 1H); 3,05 – 2,91 (m, 2H); 2,65 (s, 3H); 1,40 (s, 9H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,6; 161,3; 155,2; 154,0; 139,1; 137,2; 136,9; 136,5; 135,1; 135,1; 129,2; 128,6; 128,5; 126,6; 126,5; 125,7; 125,6; 123,5; 121,7; 79,4; 65,5; 50,7; 37,8; 28,2; 10,1. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}+\text{Na}]^+$: 592,1995; encontrado 592,1989.

1-(4-(benzo[*d*]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-fenilpropil (13g). Obtido como um sólido amarelo escuro em 99 % de rendimento (283,7 mg; 0,49 mmol). Pf: 173– 178°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 8,89$ (*c* 0,96; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3382; 2978; 2923; 1708; 1519; 1208; 1167; 1117; 969; 845; 763; 731; 694. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,30 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 8,13 – 8,09 (m, 1H); 7,95 – 7,92 (m, 1H); 7,61 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 7,55 – 7,50 (m, 1H); 7,46 – 7,41 (m, 1H); 7,32 – 7,20 (m, 5H); 5,04 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 4,38 – 4,34 (m, 2H); 4,33 – 4,25 (m, 1H); 3,03 – 2,93 (m, 2H); 2,65 (s, 3H), 1,40 (s, 9H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,6; 161,3; 155,2; 154,0; 139,0; 137,2; 136,9; 136,5; 135,12; 135,09; 129,2; 128,6; 128,5; 126,6; 126,5; 125,7; 125,6; 123,5; 121,7; 79,4; 65,5; 50,7; 37,9; 28,2; 10,1. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}+\text{Na}]^+$: 592,1995; encontrado 592,1998.

1-(4-(benzo[*d*]oxazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-3-fenilpropil (13h). Obtido como um sólido amarelo escuro em 80 % de rendimento (84,2 mg; 0,15 mmol). Pf: 198 – 202 °C.

$[\alpha]_D^{20} = 3,96$ (c 1,17; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3380; 2980; 2925; 1701; 1515; 1209; 1172; 1126; 1056; 853; 746; 692. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,52 – 8,44 (m, 2H); 7,84 – 7,78 (m, 1H); 7,70 – 7,60 (m, 3H); 7,45 – 7,37 (m, 2H); 7,33 – 7,19 (m, 5H); 5,11 – 5,01 (m, 1H); 4,40 – 4,35 (m, 2H); 4,34 – 4,24 (m, 1H); 3,05 – 2,92 (m, 2H); 2,67 (s, 3H); 1,40 (s, 9H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 161,3; 161,2; 155,2; 150,8; 141,8; 139,0; 137,4; 137,2; 136,6; 129,2; 128,8; 128,7; 128,5; 126,5; 125,8; 125,5; 124,9; 120,3; 110,7; 79,4; 65,5; 50,7; 37,9; 28,2; 10,2. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_5+\text{Na}]^+$: 576,2223; encontrado 576,2216.

1-(4-(benzo[d]-tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (*R*)-3-(benziltio)-2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)propil (13i). Obtido como um sólido amarelo queimado em 60 % de rendimento (184,7 mg; 0,30 mmol). Pf: 171 – 175°C. $[\alpha]_D^{20} = -8,01$ (c 0,97; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3386; 3061; 2978; 2923; 1707; 1520; 1208; 1167; 1117; 965; 841; 759; 699. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,31 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 8,14 – 8,10 (m, 1H); 7,97 – 7,93 (m, 1H); 7,61 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 7,57 – 7,52 (m, 1H); 7,47 – 7,42 (m, 1H); 7,36 – 7,21 (m, 5H); 5,14 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 4,59 (dd, $J = 11,2$ Hz, 4,2 Hz $J =$, 1H); 4,42 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 4,3$ Hz, 1H); 4,25 – 4,17 (m, 1H); 3,78 (s, 2H); 2,74 – 2,68 (m, 2H); 2,63 (s, 3H); 1,45 (s, 9H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,6; 161,2; 155,3; 154,0; 139,2; 137,9; 137,0; 136,5; 135,22; 135,20; 129,0; 128,7; 128,5; 127,1; 126,7; 125,8; 125,7; 123,6; 121,8; 79,7; 65,2; 48,9; 36,4; 32,7; 28,3; 10,1. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}_2+\text{Na}]^+$: 638,1872; encontrado 638,1869.

6.10 PROCEDIMENTO PARA A DESPROTEÇÃO DO GRUPO BOC

O composto triazólico contendo o grupo *N*-Boc (1 equiv.; 0,30 mmol) foi dissolvido em 1,0 mL de diclorometano e adicionou-se lentamente 0,30 mL de TFA (13 equiv.; 0,70 mmol). A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por 2 h. Após, as substâncias voláteis foram evaporadas em rotaevaporador. O resíduo foi dissolvido em diclorometano e o solvente foi evaporado novamente (esse processo foi repetido três vezes). O óleo resultante foi dissolvido em 1,0 mL de diclorometano e adicionou-se K_2CO_3 (3,6 equiv.; 1,08 mmol). Manteve-se agitação à temperatura ambiente por 2 h. A seguir os sólidos foram separados por filtração e o filtrado foi evaporado em

rotaevaporador. O produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando-se sílica gel como fase estacionária e solução AcOEt/Et₃N/Hexano (79:1:20) como eluente.

1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxilato de (S)-pirrolidin-2-ilmetil (14). Obtido como um sólido bege em 81 % de rendimento (67,9 mg; 0,16 mmol). Pf: 152 – 157°C. $[\alpha]_D^{20} = -42,82$ (c 0,97; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3408; 2953; 2920; 1725; 1591; 1444; 1053; 960; 847; 758. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,30 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 8,13 – 8,10 (m, 1H); 7,97 – 7,92 (m, 1H); 7,62 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H); 7,57 – 7,51 (m, 1H); 7,47 – 7,42 (m, 1H); 5,03 – 4,94 (m, 1H); 4,55 – 4,44 (m, 1H); 4,40 – 4,32 (m, 1H); 4,15 – 4,02 (m, 1H); 3,83 – 3,72 (m, 2H); 2,64 (s, 3H); 2,20 – 2,10 (m, 1H); 2,04 – 1,97 (m, 1H); 1,95 – 1,87 (m, 1H); 1,77 – 1,66 (m, 1H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165,8; 163,2; 154,0; 140,3; 138,3; 137,3; 135,2; 135,0; 128,6; 126,6; 125,8; 125,7; 123,5; 121,7; 67,3; 62,2; 50,4; 28,0; 25,0; 10,5. EMAR-ESI calculado para [C₂₂H₂₁N₅O₂S+Na]⁺: 442,1314; encontrado 442,1324.

(S)-1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-*N*-(1-hidroxi-3-metilbutan-2-il)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxamida (15a). Obtido como um sólido amarelado em 79 % de rendimento (66,8 mg; 0,16 mmol). Pf: 160 – 164°C. $[\alpha]_D^{20} = -35,36$ (c 0,94; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3391; 3055; 2958; 2925; 2869; 1650; 1511; 1482; 969; 838; 758. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 8,11 – 8,07 (m, 1H); 7,92 – 7,87 (m, 1H); 7,58 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H); 7,54 – 7,48 (m, 2H); 7,43 – 7,38 (m, 1H); 4,04 – 3,96 (m, 1H); 3,87 (dd, *J* = 11,3 Hz, *J* = 3,6 Hz, 1H), 3,81 (dd, *J* = 11,3 Hz, *J* = 6,3 Hz, 1H); 3,61 (sl, 1H); 2,67 (s, 3H); 2,13 – 2,00 (m, 1H); 1,06 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H); 1,04 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 165,6; 161,8; 153,9; 138,6; 137,1; 136,7; 135,0; 134,8; 128,5; 126,5; 125,6; 125,4; 123,4; 121,6; 63,5; 56,8; 29,1; 19,5; 18,7; 9,8. EMAR-ESI calculado para [C₂₂H₂₃N₅O₄S+Na]⁺: 444,1470; encontrado 444,1461.

(S)-1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-*N*-(1-hidroxiopropan-2-il)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carboxamida (15b). Obtido como um sólido bege em 76 % de rendimento (59,9 mg; 0,15 mmol). Pf: 196 – 200°C. $[\alpha]_D^{20} = -26,52$ (c 0,94; CH₂Cl₂). IV (cm⁻¹): 3475; 3387; 3063; 2971; 2916; 2870; 1642; 1507; 1490; 998;

964; 838; 754. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) 8,27 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 8,11 – 8,07 (m, 1H); 7,93 – 7,89 (m, 1H); 7,59 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 7,54 – 7,49 (m, 1H); 7,46 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,44 – 7,39 (m, 1H); 4,37 – 4,26 (m, 1H); 3,81 (dd, $J = 11,0$ Hz, $J = 3,7$ Hz, 1H); 3,70 (dd, $J = 11,0$ Hz, $J = 6,2$ Hz, 1H); 3,63 (sl, 1H); 2,67 (s, 3H); 1,33 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,7; 161,5; 153,9; 138,5; 137,1; 136,8; 135,1; 134,9; 128,6; 126,6; 125,7; 125,5; 123,5; 121,6; 66,8; 47,6; 17,1; 9,8. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}+\text{Na}]^+$: 416,1157; encontrado 416,1159.

(S)-1-(4-(benzo[d]tiazol-2-yl)fenil)-N-(2-hidroxi-1-feniletíl)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamida (15c). Obtido como um sólido amarelado em 73 % de rendimento (33,5 mg; 0,07 mmol). Pf: 187 – 191°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 6,76$ (c 1,10; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3488; 3414; 3056; 3032; 2933; 2877; 1653; 1506; 1487; 960; 841; 759; 694. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,29 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 8,13 – 8,09 (m, 1H); 7,97 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,95 – 7,92 (m, 1H); 7,60 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,56 – 7,51 (m, 1H); 7,46 – 7,41 (m, 3H); 7,40 – 7,36 (m, 2H); 7,33 – 7,28 (m, 1H); 5,34 – 5,27 (m, 1H); 4,02 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H); 3,05 (sl, 1H); 2,67 (s, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,7; 161,5; 154,0; 138,9; 138,5; 137,1; 137,0; 135,2; 135,0; 128,9; 128,7; 127,9; 126,8; 126,7; 125,8; 125,6; 123,6; 121,7; 66,5; 55,8; 9,9. EMAR-ESI calculado para $[\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}+\text{Na}]^+$: 478,1314; encontrado 478,1313.

(S)-1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamida (15d). Obtido como um sólido bege em 76 % de rendimento (71,8 mg; 0,15 mmol). Pf: 214 – 219°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -49,42$ (c 1,00; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3459; 3412; 3025; 2925; 1654; 1506; 1490; 1053; 960; 838; 758; 670. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,29 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 8,14 – 8,09 (m, 1H); 7,96 – 7,92 (m, 1H); 7,60 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 7,56 – 7,51 (m, 2H); 7,47 – 7,41 (m, 1H); 7,35 – 7,28 (m, 4H); 7,26 – 7,21 (m, 1H); 4,46 – 4,36 (m, 1H); 3,83 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 3,7$ Hz, 1H); 3,72 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 5,4$ Hz, 1H); 3,05 (dd, $J = 11,9$ Hz, $J = 5,4$ Hz, 1H); 3,00 (dd, $J = 11,9$ Hz, $J = 5,3$ Hz, 1H); 2,67 (s, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 165,8; 161,6; 154,0; 138,6; 137,6; 137,2; 136,8; 135,2; 135,1; 129,3; 128,7; 128,6; 126,7; 126,6; 125,8; 125,6;

123,6; 121,8; 64,3; 52,9; 37,3; 9,9. EMAR-ESI calculado para $[C_{26}H_{23}N_5O_2S+Na]^+$: 492,1470; encontrado 492,1478.

(R)-1-(4-(benzo[d]tiazol-2-yl)fenil)-N-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamida (15e). Obtido como um sólido bege em 84 % de rendimento (79,3 mg; 0,17 mmol). Pf: 214 – 219°C. $[\alpha]_D^{20} = 49,42$ (c 0,97; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3459; 3413; 3029; 2923; 1653; 1506; 1483; 1052; 960; 841; 754; 704. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,29 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 8,13 – 8,10 (m, 1H); 7,96 – 7,92 (m, 1H); 7,60 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H); 7,56 – 7,52 (m, 2H); 7,47 – 7,42 (m, 1H); 7,35 – 7,29 (m, 4H); 7,27 – 7,21 (m, 1H); 4,46 – 4,37 (m, 1H); 3,83 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 3,6$ Hz, 1H); 3,72 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 5,4$ Hz, 1H); 3,05 (dd, $J = 11,9$ Hz, $J = 5,4$ Hz, 1H); 3,00 (dd, $J = 11,9$ Hz, $J = 5,3$ Hz, 1H); 2,67 (s, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165,76; 161,62; 154,04; 138,54; 137,57; 137,17; 136,81; 135,20; 135,05; 129,27; 128,67; 128,65; 126,69; 126,65; 125,79; 125,57; 123,58; 121,75; 64,30; 52,93; 37,27; 9,87. EMAR-ESI calculado para $[C_{26}H_{23}N_5O_2S+Na]^+$: 492,1470; encontrado 492,1466.

(R)-1-(4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil)-N-(1-(benziltio)-3-hidroxiopropan-2-il)-5-metil-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamida (15f). Obtido como um sólido amarelado em 88 % de rendimento (77,1 mg; 0,15 mmol). Pf: 155 – 160°C. $[\alpha]_D^{20} = -28,09$ (c 0,96; CH_2Cl_2). IV (cm^{-1}): 3460; 3409; 3024; 2960; 2928; 2873; 1643; 1515; 1483; 969; 837; 759. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,31 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 8,14 – 8,11 (m, 1H); 7,98 – 7,94 (m, 1H); 7,66 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,62 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H); 7,57 – 7,52 (m, 1H); 7,48 – 7,43 (m, 1H); 7,38 – 7,29 (m, 4H); 7,26 – 7,22 (m, 1H); 4,34 – 4,24 (m, 1H); 3,91 – 3,82 (m, 2H); 3,81 (s, 2H); 2,79 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 4,2$ Hz, 1H); 2,75 (dd, $J = 11,2$ Hz, $J = 4,4$ Hz, 1H); 2,70 (s, 3H); 2,68 – 2,62 (m, 1H). RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165,8; 161,5; 154,0; 138,5; 137,9; 137,2; 136,9; 135,2; 135,1; 129,0; 128,7; 128,57; 127,1; 126,7; 125,8; 125,6; 123,6; 121,8; 64,0; 50,6; 36,6; 32,3; 9,9. EMAR-ESI calculado para $[C_{27}H_{25}N_5O_2S_2+Na]^+$: 538,1348; encontrado 538,1334.

6.11 ESTUDO DE INTERAÇÃO COM BSA

Os ensaios de interação com a albumina sérica bovina (BSA) foram realizados à temperatura ambiente em tampão Tris-HCl a pH 7,4, empregando

solução estoque dos compostos em DMSO (10^{-5} M). Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos após adições crescentes da solução estoque dos compostos em estudo (0 a 120 μ M). Para tanto, foi utilizado comprimento de onda de excitação de 290 nm e slit de 5,0 mm para emissão/excitação.

6.12 ESTUDO DE INTERAÇÃO COM DNA

Para os ensaios de ligação com DNA, os compostos triazólicos foram postos para interagir com DNA de timoⁱⁱⁱ de bezerro (CT-DNA). As medidas de absorção na região de UV-Visível foram realizadas à temperatura ambiente em tampão Tris-HCl a pH 7,4, utilizando solução estoque dos compostos em DMSO (10^{-5} M). Preparou-se soluções dos compostos em DMSO(2%)/tampão Tris-HCl e titulou-se com concentrações crescentes de CT-DNA (0 a 100 μ M).

Para os ensaios de competitividade com o brometo de etídio (BE), as análises de emissão de fluorescência foram realizadas com adições crescentes da solução estoque dos compostos triazólicos em DMSO à cubeta contendo solução BE ($2,0 \times 10^{-7}$ M) e DNA ($2,0 \times 10^{-5}$ M) em tampão Tris-HCl a pH 7,4. A faixa de concentração adicionada variou de 0 a 100 μ M e todos os compostos foram excitados em 510 nm. O espectro de emissão foi obtido 5 min após as adições de forma a ocorrer a incubação, utilizando slit de 5,0 mm para emissão/excitação.

ⁱⁱⁱ Glândula linfóide

7 REFERÊNCIAS

1. Katritzky, A. R.; Pozharskii, A. F.; Soldatenkov, A. T., *Heterocycles in Life and Society: An Introduction to Heterocyclic Chemistry, Biochemistry and Applications*. Second Edition ed.; John Wiley & Sons, Ltd.: 2011.
2. Park, Y. S.; Kale, T. S.; Nam, C. Y.; Choi, D.; Grubbs, R. B., Effects of heteroatom substitution in conjugated heterocyclic compounds on photovoltaic performance: from sulfur to tellurium. *Chemical Communications* **2014**, 50 (59), 7964-7967.
3. Stepien, M.; Gonka, E.; Zyla, M.; Sprutta, N., Heterocyclic Nanographenes and Other Polycyclic Heteroaromatic Compounds: Synthetic Routes, Properties, and Applications. *Chemical Reviews* **2017**, 117 (4), 3479-3716.
4. Kathiravan, M. K.; Salake, A. B.; Chothe, A. S.; Dudhe, P. B.; Watode, R. P.; Mukta, M. S.; Gadhwe, S., The biology and chemistry of antifungal agents: A review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2012**, 20 (19), 5678-5698.
5. Albaladejo, M. J.; Gonzalez-Soria, M. J.; Alonso, F., Metal-free remote-site C-H alkenylation: regio- and diastereoselective synthesis of solvatochromic dyes. *Green Chemistry* **2018**, 20 (3), 701-712.
6. Katritzky, A. R.; Ramsden, C. A.; Joule, J. A.; Zhdankin, V. V., *Handbook of Heterocyclic Chemistry*. Third Edition ed.; Elsevier: The Netherlands, 2010; p 981.
7. Eicher, T.; Hauptmann, S., *The Chemistry of Heterocycles*. Second Edition ed.; Wiley-VCH: 2003 p 572 .
8. Tomas, F.; Abboud, J. L. M.; Laynez, J.; Notario, R.; Santos, L.; Nilsson, S. O.; Catalan, J.; Claramunt, R. M.; Elguero, J., Tautomerism and aromaticity in 1,2,3-triazoles - the case of benzotriazole. *Journal of the American Chemical Society* **1989**, 111 (19), 7348-7353.
9. Mo, O.; Depaz, J. L. G.; Yanez, M., Protonation energies and tautomerism of azoles - basis set effects. *Journal of Physical Chemistry* **1986**, 90 (22), 5597-5604.
10. Huisgen, R., 1,3-Dipolar Cycloadditions: Past and Future. *Angewandte Chemie-International Edition* **1963**, 2 (10), 565-632.
11. Juricek, M.; Kouwer, P. H. J.; Rowan, A. E., Triazole: a unique building block for the construction of functional materials. *Chemical Communications* **2011**, 47 (31), 8740-8749.
12. Kautny, P.; Zhao, C. Y.; Kader, T.; Stoger, B.; Horkel, E.; Chen, J. S.; Ma, D. G.; Frohlich, J.; Lumpi, D., Functional organic click-materials: application in phosphorescent organic light emitting diodes. *RSC Advances* **2017**, 7 (20), 12150-12160.
13. Murugavel, S.; Ravikumar, C.; Jaabil, G.; Alagusundaram, P., Synthesis, crystal structure analysis, spectral investigations (NMR, FT-IR, UV), DFT calculations, ADMET studies, molecular docking and anticancer activity of 2-(1-

benzyl-5-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-4-(2-chlorophenyl)-6-methoxy pyridine - A novel potent human topoisomerase II alpha inhibitor. *Journal of Molecular Structure* **2019**, 1176, 729-742.

14. Sainas, S.; Temperini, P.; Farnsworth, J. C.; Yi, F.; Mollerud, S.; Jensen, A. A.; Nielsen, B.; Passoni, A.; Kastrup, J. S.; Hansen, K. B.; Boschi, D.; Pickering, D. S.; Clausen, R. P.; Lolli, M. L., Use of the 4-Hydroxytriazole Moiety as a Bioisosteric Tool in the Development of Ionotropic Glutamate Receptor Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 62 (9), 4467-4482.

15. Debia, N. P.; Saraiva, M. T.; Martins, B. S.; Beal, R.; Goncalves, P. F. B.; Rodembusch, F. S.; Alves, D.; Ludtke, D. S., Synthesis of Amino Acid-Derived 1,2,3-Triazoles: Development of a Nontrivial Fluorescent Sensor in Solution for the Enantioselective Sensing of a Carbohydrate and Bovine Serum Albumin Interaction. *Journal of Organic Chemistry* **2018**, 83 (3), 1348-1357.

16. Paul, S.; Roy, P.; Sardar, P. S.; Majhi, A., Design, Synthesis, and Biophysical Studies of Novel 1,2,3-Triazole-Based Quinoline and Coumarin Compounds. *ACS Omega* **2019**, 4 (4), 7213-7230.

17. Schulze, B.; Schubert, U. S., Beyond click chemistry - supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. *Chemical Society Reviews* **2014**, 43 (8), 2522-2571.

18. Huisgen, R., Concerted nature of 1,3-dipolar cycloadditions and question of diradical intermediates. *Journal of Organic Chemistry* **1976**, 41 (3), 403-419.

19. Sustmann, R., Orbital energy control of cycloaddition reactivity. *Pure and Applied Chemistry* **1974**, 40 (4), 569-593.

20. Padwa, A., Intermolecular 1,3-dipolar cycloadditions. In *Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry*, First Edition ed.; Trost, B. M.; Fleming, I.; Semmelhack, M. F., Eds. 1993; Vol. 4.

21. Michael, A., Ueber die Einwirkung von Diazobenzolimid auf Acetylcendicarbonsäuremethylester. *J. Prakt. Chem.* **1893**, 48, 94-95.

22. Sheehan, J. C.; Robinson, C. A., The synthesis of phenyl-substituted triazole analogs of histamine. *Journal of the American Chemical Society* **1951**, 73 (3), 1207-1210.

23. Kirmse, W.; Horner, L., Umsetzung von phenylacetylen mit aziden und diazoverbindungen. *Annalen Der Chemie-Justus Liebig* **1958**, 614 (1-3), 1-3.

24. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B., A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie-International Edition* **2002**, 41 (14), 2596.

25. Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M., Peptidotriazoles on solid phase: 1,2,3-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67 (9), 3057-3064.

26. Boren, B. C.; Narayan, S.; Rasmussen, L. K.; Zhang, L.; Zhao, H. T.; Lin, Z. Y.; Jia, G. C.; Fokin, V. V., Ruthenium-catalyzed azide-alkyne cycloaddition: Scope and mechanism. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (28), 8923-8930.
27. McNulty, J.; Keskar, K.; Vemula, R., The First Well-Defined Silver(I)-Complex-Catalyzed Cycloaddition of Azides onto Terminal Alkynes at Room Temperature. *Chemistry-a European Journal* **2011**, *17* (52), 14727-14730.
28. Ding, S. T.; Jia, G. C.; Sun, J. W., Iridium-Catalyzed Intermolecular Azide-Alkyne Cycloaddition of Internal Thioalkynes under Mild Conditions. *Angewandte Chemie-International Edition* **2014**, *53* (7), 1877-1880.
29. Danence, L. J. T.; Gao, Y. J.; Li, M. G.; Huang, Y. A.; Wang, J. A., Organocatalytic Enamide-Azide Cycloaddition Reactions: Regiospecific Synthesis of 1,4,5-Trisubstituted-1,2,3-Triazoles. *Chemistry-a European Journal* **2011**, *17* (13), 3584-3587.
30. Saraiva, M. T.; Costa, G. P.; Seus, N.; Schumacher, R. F.; Perin, G.; Paixao, M. W.; Luque, R.; Alves, D., Room-Temperature Organocatalytic Cycloaddition of Azides with beta-Keto Sulfones: Toward Sulfonyl-1,2,3-triazoles. *Organic Letters* **2015**, *17* (24), 6206-6209.
31. Seus, N.; Goldani, B.; Lenardao, E. J.; Savegnago, L.; Paixao, M. W.; Alves, D., Organocatalytic Synthesis of (Arylselanyl)phenyl-1H-1,2,3-triazole-4-carboxamides by Cycloaddition between Azidophenyl Arylselenides and beta-Oxo-amides. *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, *2014* (5), 1059-1065.
32. Savegnago, L.; do Sacramento, M.; Brod, L. M. P.; Fronza, M. G.; Seus, N.; Lenardao, E. J.; Paixao, M. W.; Alves, D., Phenylselanyl-1H-1,2,3-triazole-4-carbonitriles: synthesis, antioxidant properties and use as precursors to highly functionalized tetrazoles. *RSC Advances* **2016**, *6* (10), 8021-8031.
33. Thomas, J.; John, J.; Parekh, N.; Dehaen, W., A Metal-Free Three-Component Reaction for the Regioselective Synthesis of 1,4,5-Trisubstituted 1,2,3-Triazoles. *Angewandte Chemie-International Edition* **2014**, *53* (38), 10155-10159.
34. Ramachary, D. B.; Ramakumar, K.; Narayana, V. V., Amino Acid-Catalyzed Cascade 3+2 -Cycloaddition/Hydrolysis Reactions Based on the Push-Pull Dienamine Platform: Synthesis of Highly Functionalized NH-1,2,3-Triazoles. *Chemistry-a European Journal* **2008**, *14* (30), 9143-9147.
35. Zhang, J.; Jin, G. Y.; Xiao, S. H.; Wu, J. J.; Cao, S., Novel synthesis of 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles via a one-pot three-component reaction of boronic acids, azide, and active methylene ketones. *Tetrahedron* **2013**, *69* (10), 2352-2356.
36. Gonzalez-Calderon, D.; Santillan-Iniesta, I.; Gonzalez-Gonzalez, C. A.; Fuentes-Benites, A.; Gonzalez-Romero, C., A novel and facile synthesis of 1,4,5-trisubstituted 1,2,3-triazoles from benzylic alcohols through a one-pot, three-component system. *Tetrahedron Letters* **2015**, *56* (3), 514-516.

37. Lopez, S. A.; Munk, M. E.; Houk, K. N., Mechanisms and Transition States of 1,3-Dipolar Cycloadditions of Phenyl Azide with Enamines: A Computational Analysis. *Journal of Organic Chemistry* **2013**, *78* (4), 1576-1582.
38. Xie, S.; Lopez, S. A.; Ramstroom, O.; Yan, M. D.; Houk, K. N., 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactivities of Perfluorinated Aryl Azides with Enamines and Strained Dipolarophiles. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137* (8), 2958-2966.
39. Bakulev, V. A.; Beryozkina, T.; Thomas, J.; Dehaen, W., The Rich Chemistry Resulting from the 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions of Enamines and Azides. *European Journal of Organic Chemistry* **2018**, (3), 262-294.
40. Radatz, C. S.; Alves, D.; Schneider, P. H., Direct synthesis of 2-aryl-1,3-benzoselenazoles by reaction of bis(2-aminophenyl) diselenides with aryl aldehydes using sodium metabisulfite. *Tetrahedron* **2013**, *69* (4), 1316-1321.
41. Horak, E.; Kassal, P.; Steinberg, I. M., Benzimidazole as a structural unit in fluorescent chemical sensors: the hidden properties of a multifunctional heterocyclic scaffold. *Supramolecular Chemistry* **2018**, *30* (10), 838-857.
42. Morais, G. R.; Vicente Miranda, H.; Santos, I. C.; Santos, I.; Outeiro, T. F.; Paulo, A., Synthesis and in vitro evaluation of fluorinated styryl benzazoles as amyloid-probes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19* (24), 7698-7710.
43. da Silva, C. B.; Gil, E. S.; Santos, F. D.; Moras, A. M.; Steffens, L.; Goncalves, P. F. B.; Moura, D. J.; Ludtke, D. S.; Rodembusch, F. S., Proton-Transfer-Based Azides with Fluorescence Off-On Response for Detection of Hydrogen Sulfide: An Experimental, Theoretical, and Bioimaging Study. *Journal of Organic Chemistry* **2018**, *83* (24), 15210-15224.
44. Tokgoz, G.; Ozkay, U. D.; Osmaniye, D.; Yucel, N. T.; Can, O. D.; Kaplancikli, Z. A., Synthesis of Novel Benzazole Derivatives and Evaluation of Their Antidepressant-Like Activities with Possible Underlying Mechanisms. *Molecules* **2018**, *23* (11).
45. Prajapati, N. P.; Vekariya, R. H.; Borad, M. A.; Patel, H. D., Recent advances in the synthesis of 2-substituted benzothiazoles: a review. *RSC Advances* **2014**, *4* (104), 60176-60208.
46. Rajasekhar, S.; Maiti, B.; Chanda, K., A Decade Update on Benzoxazoles, a Privileged Scaffold in Synthetic Organic Chemistry. *Synlett* **2017**, *28* (5), 521-541.
47. Noel, S.; Cadet, S.; Gras, E.; Hureau, C., The benzazole scaffold: a SWAT to combat Alzheimer's disease. *Chemical Society Reviews* **2013**, *42* (19), 7747-7762.
48. Wang, B.; Zhang, Y. C.; Li, P. H.; Wang, L., An Efficient and Practical Synthesis of Benzoxazoles from Acyl Chlorides and 2-Aminophenols Catalyzed by Lewis Acid In(OTf)₃ under Solvent-Free Reaction Conditions. *Chinese Journal of Chemistry* **2010**, *28* (9), 1697-1703.

49. Seth, K.; Purohit, P.; Chakraborti, A. K., Microwave Assisted Synthesis of Biorelevant Benzazoles. *Current Medicinal Chemistry* **2017**, *24* (41), 4638-4676.
50. Braslavsky, S. E., Glossary of terms used in Photochemistry 3(rd) Edition (IUPAC Recommendations 2006). *Pure and Applied Chemistry* **2007**, *79* (3), 293-465.
51. Valeur, B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*. Wiley-VHC Verlag GmbH: Germany, 2001.
52. Lakowicz, J. R., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Third ed.; Springer: USA, 2006.
53. Parkesh, R.; Veale, E. B.; Gunnlaugsson, T., Fluorescent Detection Principles and Strategies. In *Chemosensors: Principles, Strategies and Applications*, First ed.; Wang, B.; Anslyn, E. V., Eds. John Wiley & Sons, Inc.: 2011.
54. Wardle, B., *Principles and Applications of Photochemistry*. First ed.; John Wiley & Sons, Ltd: United Kingdom, 2009.
55. Wurth, C.; Grabolle, M.; Pauli, J.; Spieles, M.; Resch-Genger, U., Relative and absolute determination of fluorescence quantum yields of transparent samples. *Nature Protocols* **2013**, *8* (8), 1535-1550.
56. Accetta, A.; Corradini, R.; Marchelli, R., Enantioselective Sensing by Luminescence. In *Luminescence Applied in Sensor Science* Prodi, L.; Montalti, M.; Zaccheroni, N., Eds. Springer: Germany, 2011; Vol. 300.
57. Sulaiman, S. A. J.; Al-Rasbi, G. S.; Abou-Zied, O. K., Photophysical properties of hydroxyphenyl benzazoles and their applications as fluorescent probes to study local environment in DNA, protein and lipid. *Luminescence* **2016**, *31* (3), 614-625.
58. Abou-Zied, O. K., Spectroscopy of hydroxyphenyl benzazoles in solution and human serum albumin: detecting flexibility, specificity and high affinity of the warfarin drug binding site. *Rsc Advances* **2013**, *3* (23), 8747-8755.
59. Ronzetti, M.; Baljinnyam, B.; Yasgar, A.; Simeonov, A., Testing for drug-human serum albumin binding using fluorescent probes and other methods. *Expert Opinion on Drug Discovery* **2018**, *13* (11), 1005-1014.
60. Majorek, K. A.; Porebski, P. J.; Dayal, A.; Zimmerman, M. D.; Jablonska, K.; Stewart, A. J.; Chruszcz, M.; Minor, W., Structural and immunologic characterization of bovine, horse, and rabbit serum albumins. *Molecular Immunology* **2012**, *52* (3-4), 174-182.
61. Bujacz, A., Structures of bovine, equine and leporine serum albumin. *Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography* **2012**, *68*, 1278-1289.
62. Wenskowsky, L.; Schreuder, H.; Derau, V.; Matter, H.; Volkmar, J.; Nazare, M.; Opatz, T.; Petry, S., Identification and Characterization of a Single High-Affinity Fatty Acid Binding Site in Human Serum Albumin. *Angewandte Chemie-International Edition* **2018**, *57* (4), 1044-1048.

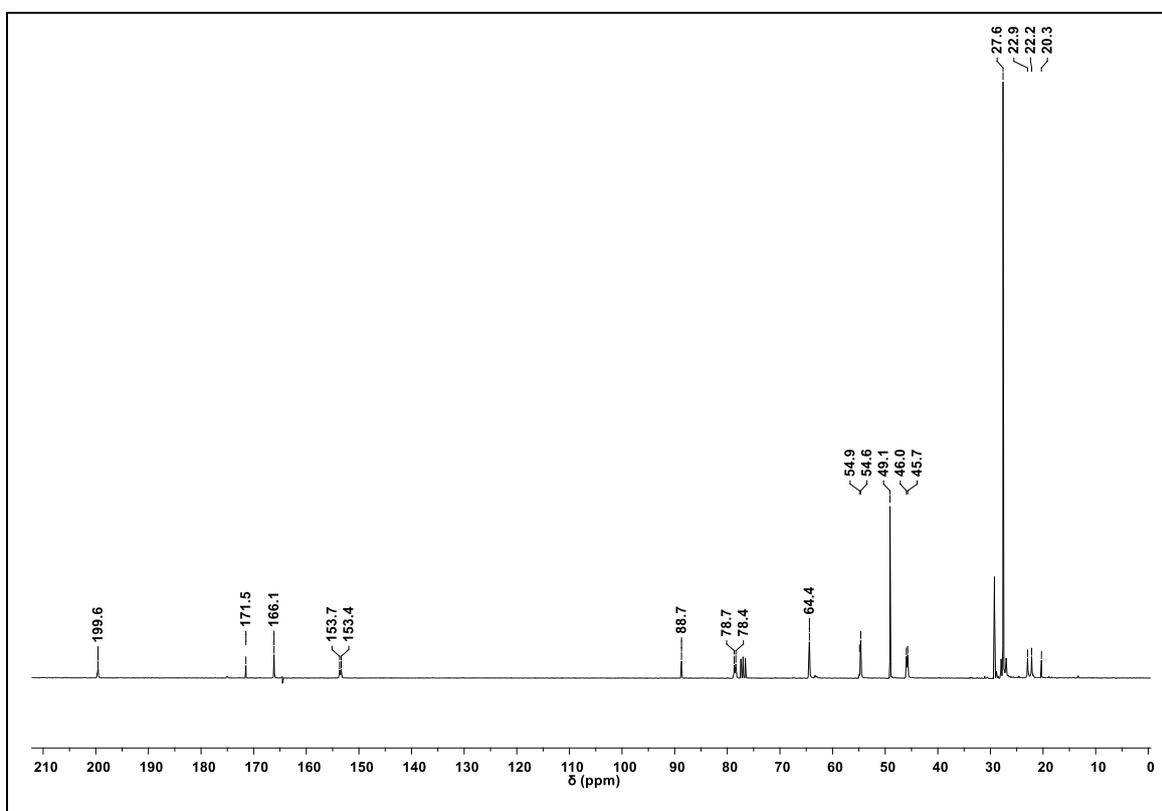
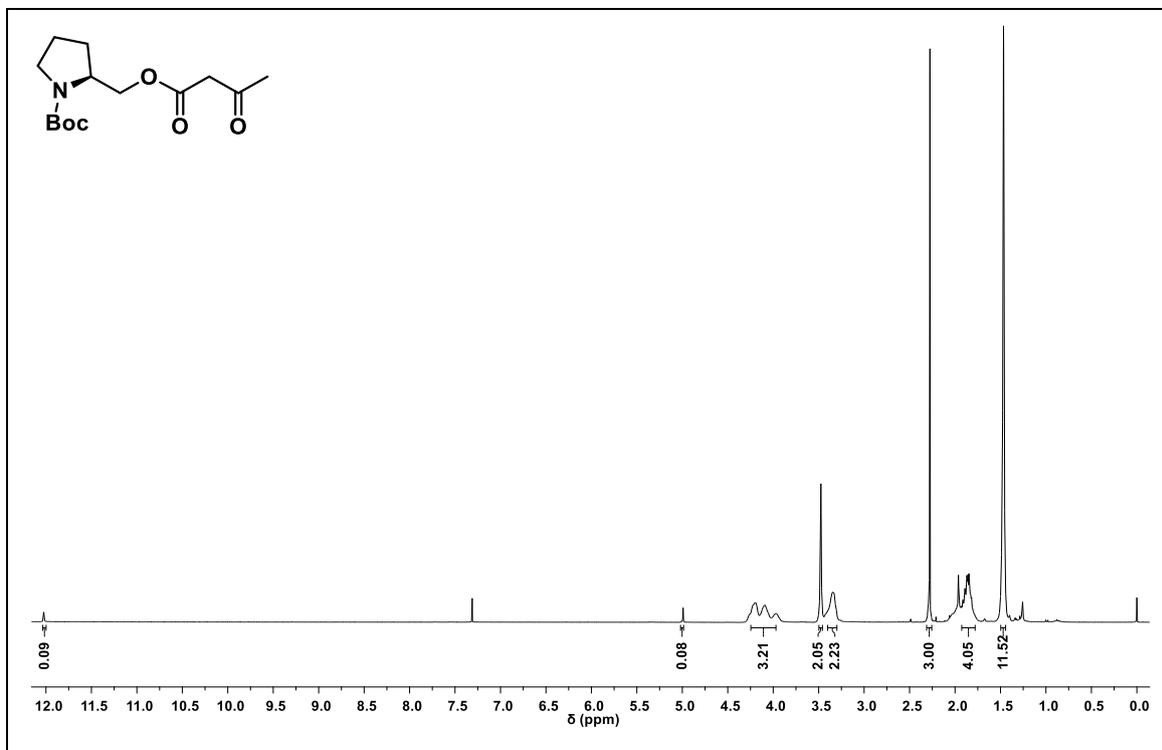
63. Belatik, A.; Hotchandani, S.; Carpentier, R.; Tajmir-Riahi, H. A., Locating the Binding Sites of Pb(II) Ion with Human and Bovine Serum Albumins. *Plos One* **2012**, *7* (5).
64. Chaves, O. A.; de Barros, L. S.; de Oliveira, M. C. C.; Sant'Anna, C. M. R.; Ferreira, A. B. B.; da Silva, F. A.; Cesarin-Sobrinho, D.; Netto-Ferreira, J. C., Biological interactions of fluorinated chalcones: Stimulation of tyrosinase activity and binding to bovine serum albumin. *Journal of Fluorine Chemistry* **2017**, *199*, 30-38.
65. Wang, M. L.; Yu, Y. Y.; Liang, C.; Lu, A. P.; Zhang, G., Recent Advances in Developing Small Molecules Targeting Nucleic Acid. *International Journal of Molecular Sciences* **2016**, *17* (6).
66. Zhai, J. H.; Cui, H.; Yang, R. F., DNA based biosensors. *Biotechnology Advances* **1997**, *15* (1), 43-58.
67. Almaqwashi, A. A.; Paramanathan, T.; Rouzina, I.; Williams, M. C., Mechanisms of small molecule-DNA interactions probed by single-molecule force spectroscopy. *Nucleic Acids Research* **2016**, *44* (9), 3971-3988.
68. McKennon, M. J.; Meyers, A. I.; Drauz, K.; Schwarm, M., A convenient reduction of amino-acids and their derivatives. *Journal of Organic Chemistry* **1993**, *58* (13), 3568-3571.
69. Koval, L. I.; Dzyuba, V. I.; Il'nitska, O. L.; Pekhnyo, V. I., Efficient transesterification of ethyl acetoacetate with higher alcohols without catalysts. *Tetrahedron Letters* **2008**, *49* (10), 1645-1647.
70. Sinha, M.; Dola, V. R.; Soni, A.; Agarwal, P.; Srivastava, K.; Haq, W.; Puri, S. K.; Katti, S. B., Synthesis of chiral chloroquine and its analogues as antimalarial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2014**, *22* (21), 5950-5960.
71. Brandstatter, M.; Roth, F.; Luedtke, N. W., Synthesis of 2-Oxazolines by in Situ Desilylation and Cyclodehydration of beta-Hydroxyamides. *Journal of Organic Chemistry* **2015**, *80* (1), 40-51.
72. Mishra, J. K.; Panda, G., Diversity-oriented synthetic approach to naturally abundant S-amino acid based benzannulated enantiomerically pure medium ring heterocyclic scaffolds employing inter- and intramolecular Mitsunobu reactions. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2007**, *9* (2), 321-338.
73. Gil, E. S.; da Silva, C. B.; Nogara, P. A.; da Silveira, C. H.; da Rocha, J. B. T.; Iglesias, B. A.; Lüdtkke, D. S.; Gonçalves, P. F. B.; Rodembusch, F. S., Synthesis, photophysical characterization, CASSCF/CASPT2 calculations and CT-DNA interaction study of amino and azido benzazole analogues. *Journal of Molecular Liquids* **2019**, Accepted.
74. Sohma, Y.; Sasaki, M.; Hayashi, Y.; Kimura, T.; Kiso, Y., Novel and efficient synthesis of difficult sequence-containing peptides through O-N intramolecular acyl migration reaction of O-acyl E isopeptides. *Chemical Communications* **2004**, (1), 124-125.

75. Ferrara, S. J.; Meinig, J. M.; Placzek, A. T.; Banerji, T.; McTigue, P.; Hartley, M. D.; Sanford-Crane, H. S.; Bourdette, D.; Scanlan, T. S., Ester-to-amide rearrangement of ethanolamine-derived prodrugs of sobetirome with increased blood-brain barrier penetration. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25* (10), 2743-2753.
76. Smallwood, I. M., *Handbook of organic solvent properties*. First Edition ed.; ARNOLD: London, 1996; p 326.
77. Strickler, S. J.; Berg, R. A., Relationship between absorption intensity and fluorescence lifetime of molecules. *Journal of Chemical Physics* **1962**, *37* (4), 814.
78. Bonacorso, H. G.; Calheiro, T. P.; Acunha, T. V.; Iglesias, B. A.; Franceschini, S. Z.; Ketzer, A.; Meyer, A. R.; Nogara, P. A.; Rocha, J. B. T.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P., Novel aryl(heteroaryl)-substituted (pyrimidyl)benzamide-based BF₂ complexes: Synthesis, photophysical properties, BSA-binding, and molecular docking analysis. *Dyes and Pigments* **2019**, *161*, 396-402.
79. Ni, Y. N.; Zhu, R. R.; Kokot, S., Competitive binding of small molecules with biopolymers: a fluorescence spectroscopy and chemometrics study of the interaction of aspirin and ibuprofen with BSA. *Analyst* **2011**, *136* (22), 4794-4801.
80. Rakesh, K. P.; Kumara, H. K.; Manukumar, H. M.; Gowda, D. C., Anticancer and DNA binding studies of potential amino acids based quinazolinone analogs: Synthesis, SAR and molecular docking. *Bioorganic Chemistry* **2019**, *87*, 252-264.

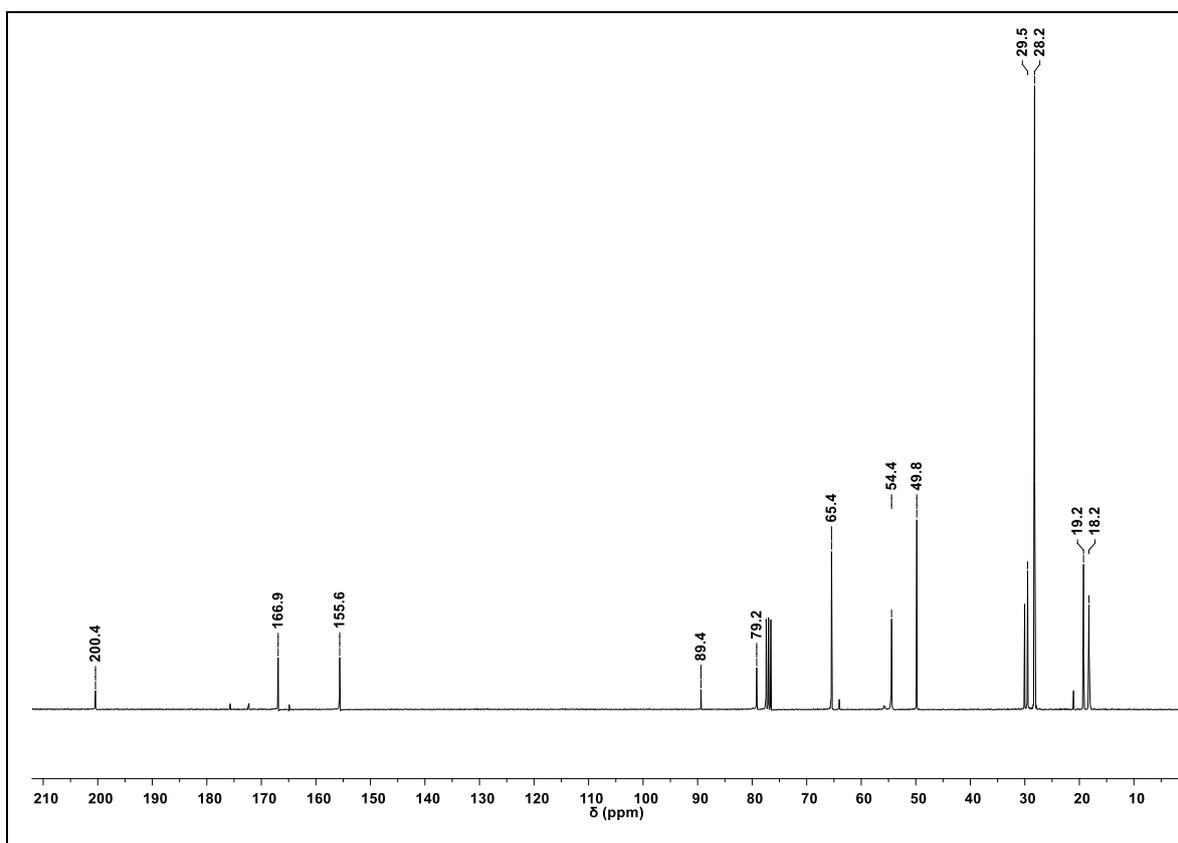
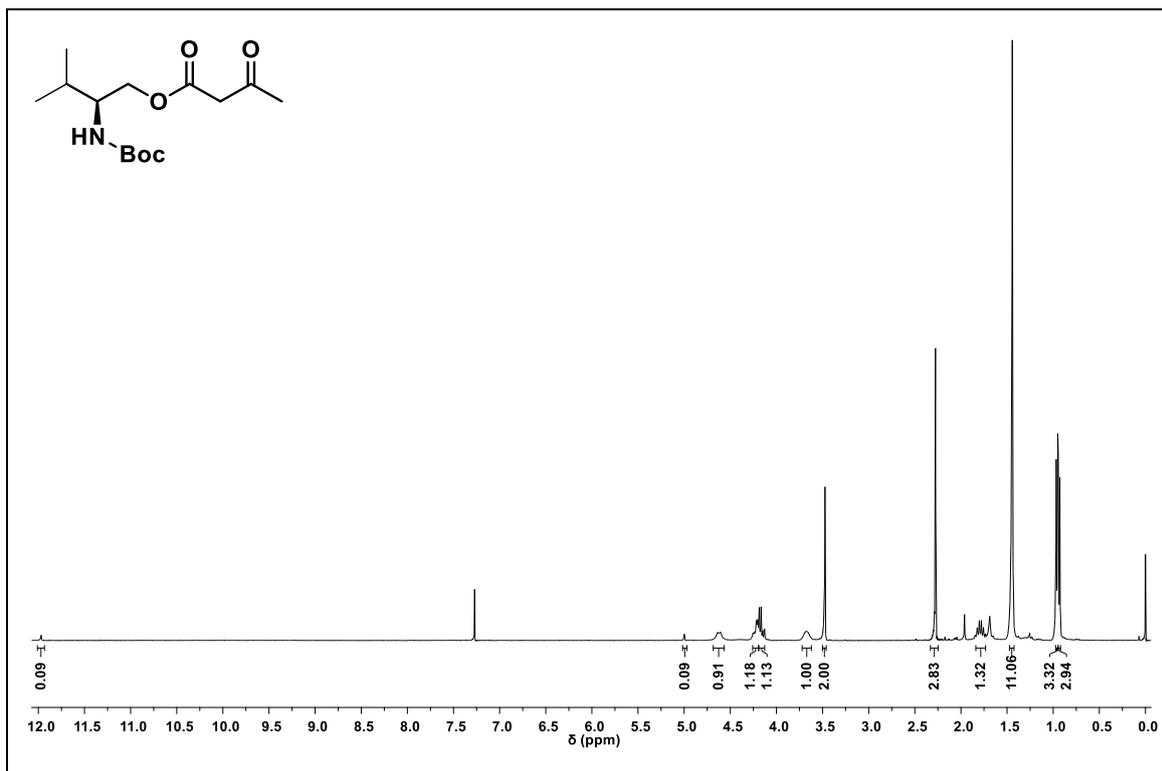
8 ANEXOS

Espectros de ressonância magnética nuclear (RMN)

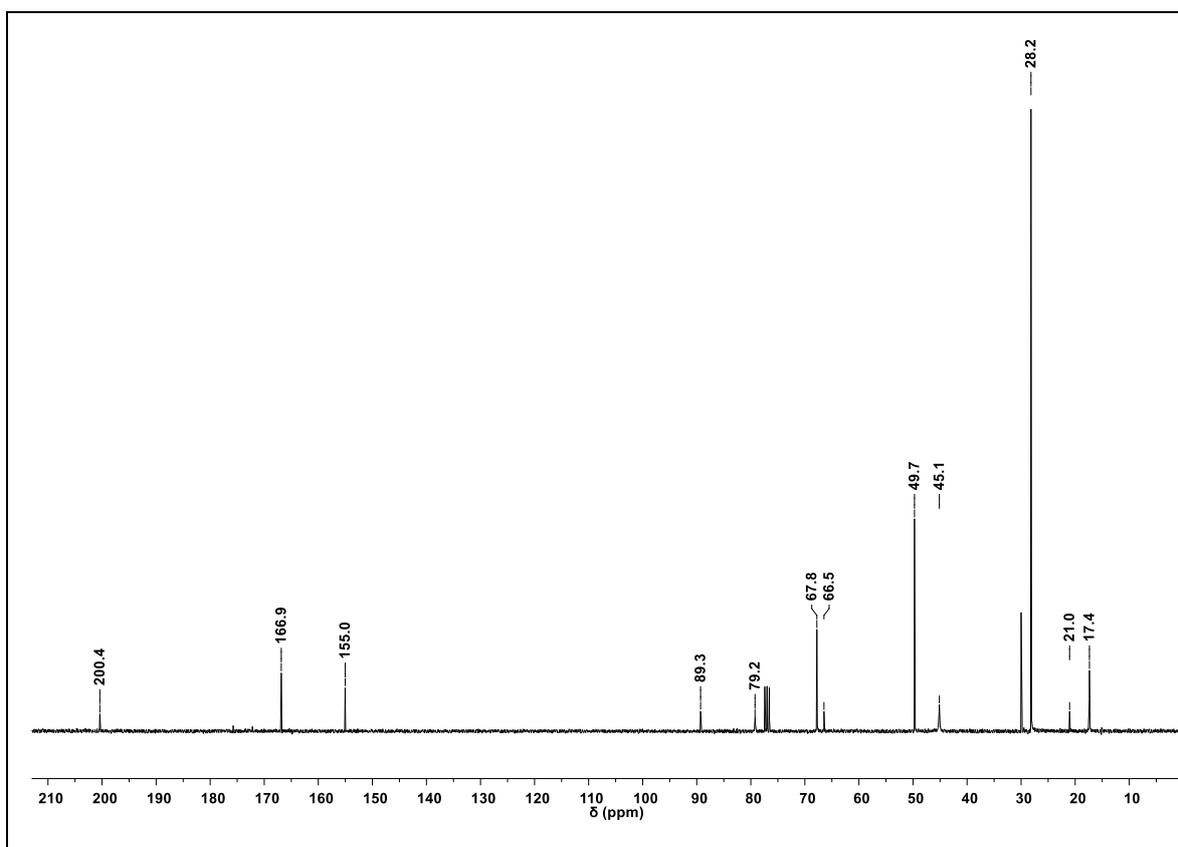
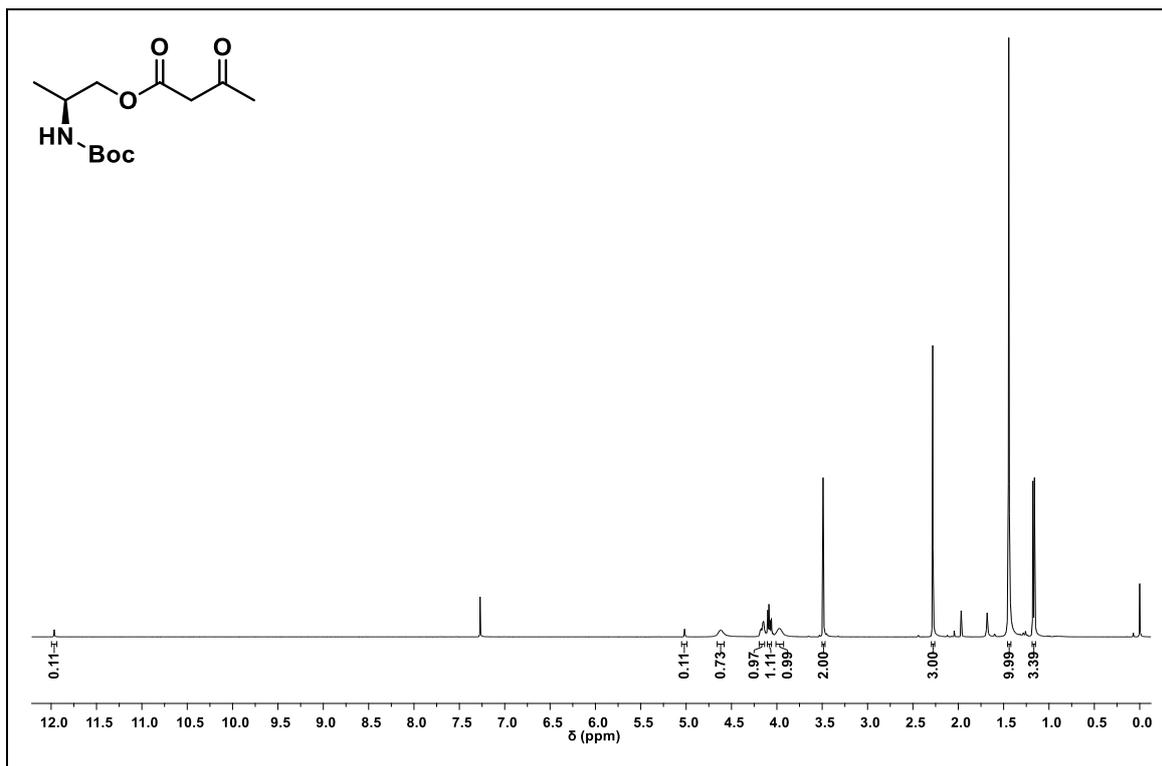
RMN-¹H (300 MHz) e RMN-¹³C (75 MHz) do composto **3** em CDCl₃.



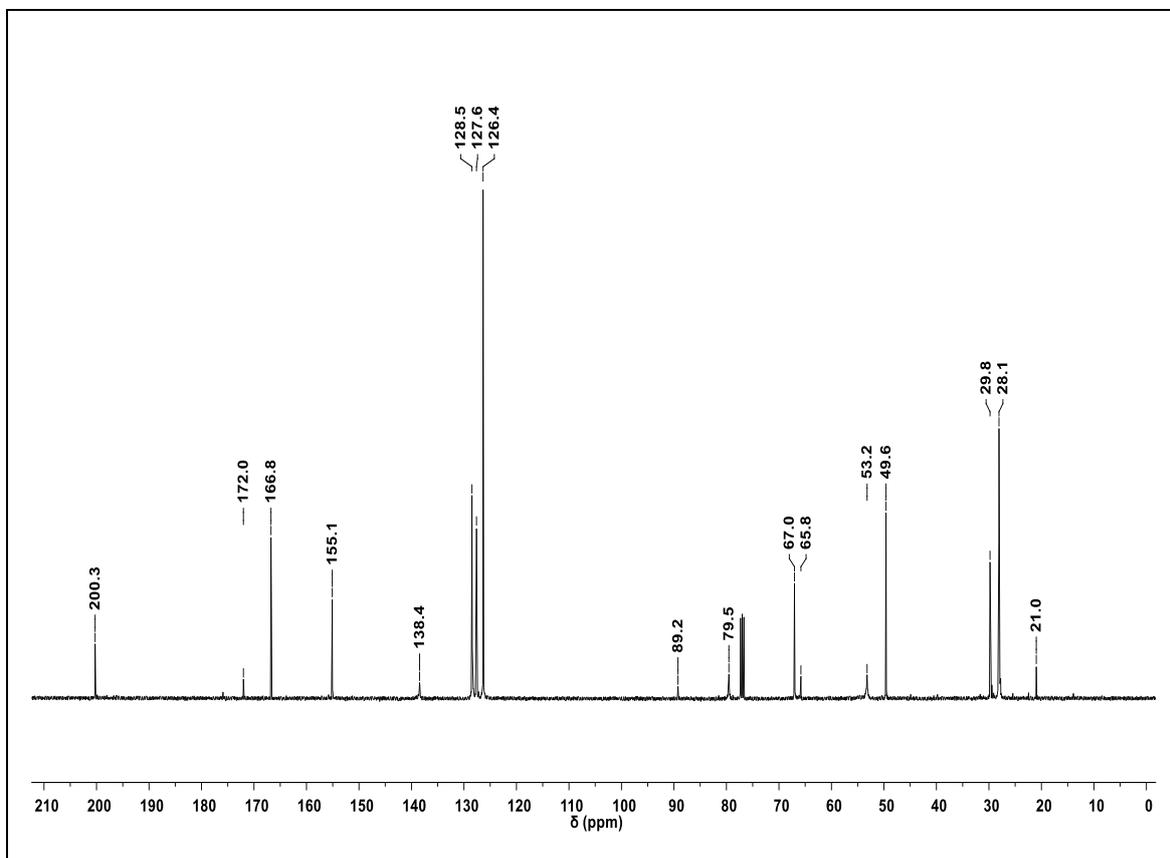
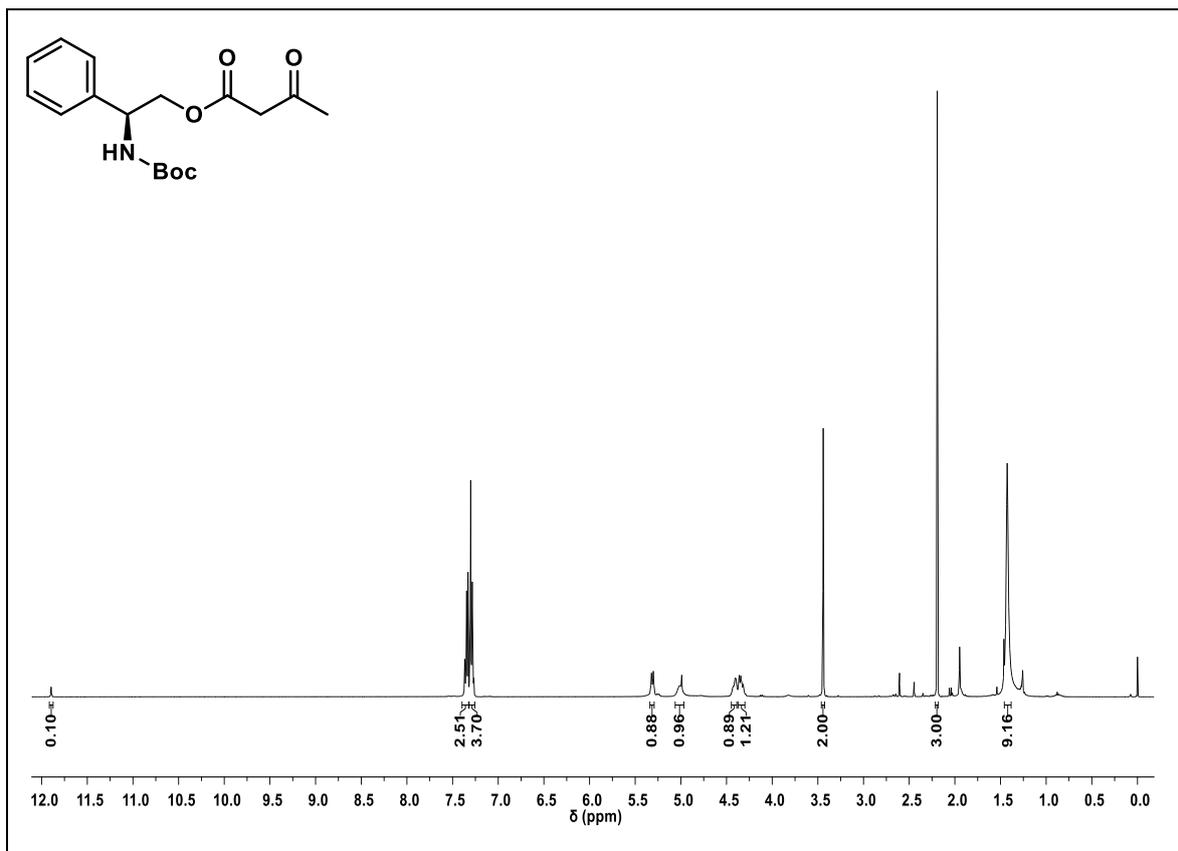
RMN-¹H (300 MHz) e RMN-¹³C (75 MHz) do composto **8a** em CDCl₃.



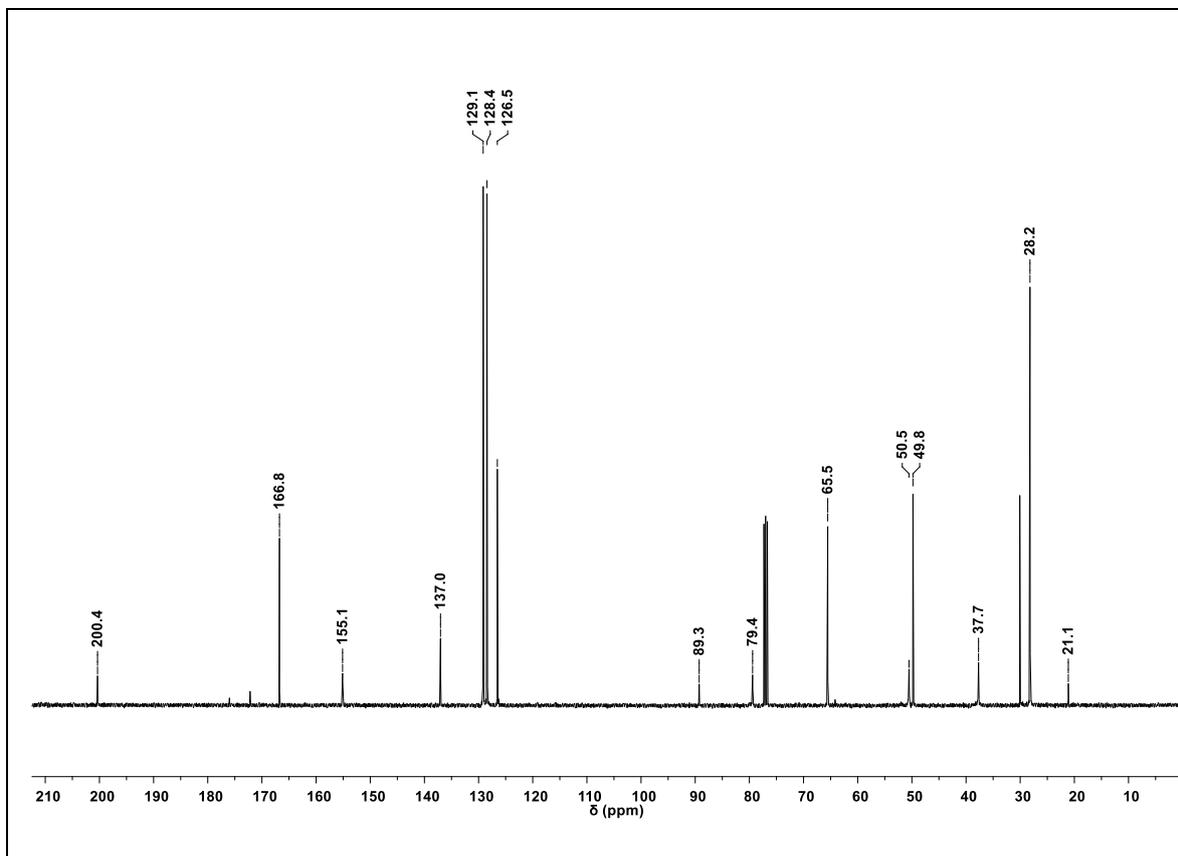
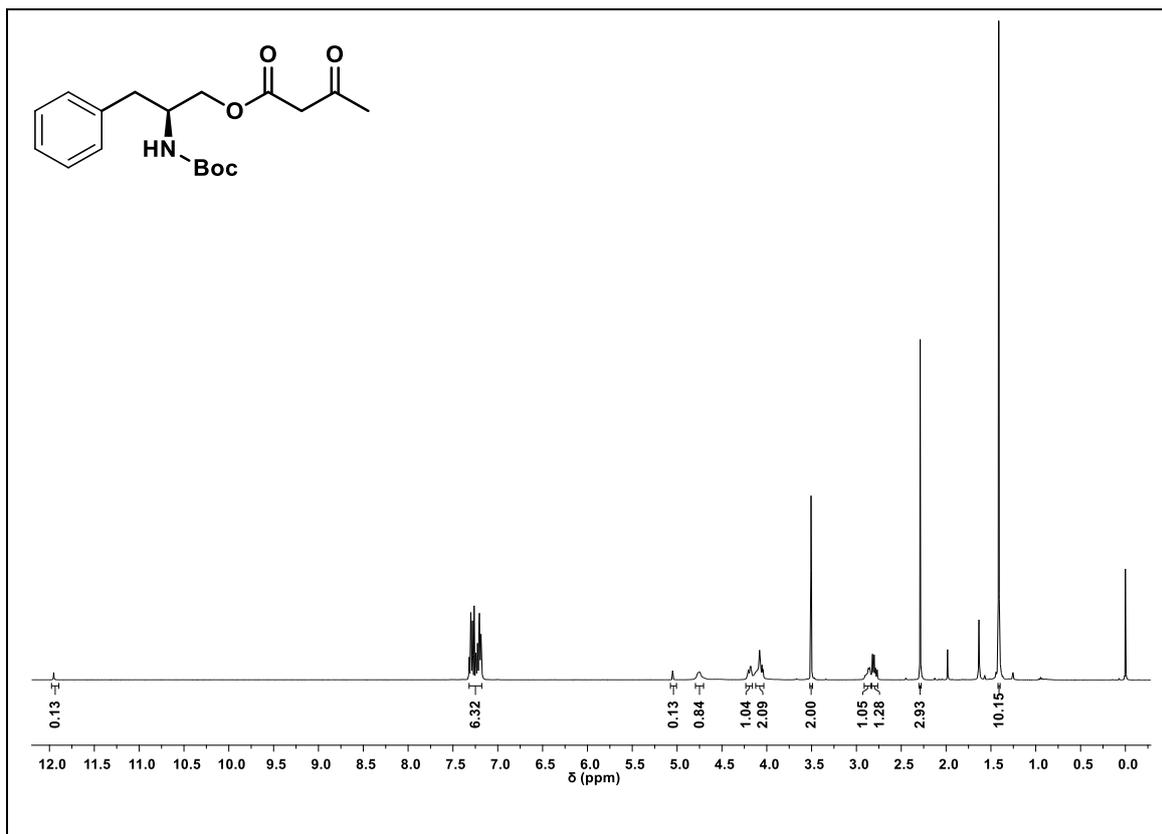
RMN-¹H (300 MHz) e RMN-¹³C (75 MHz) do composto **8b** em CDCl₃.



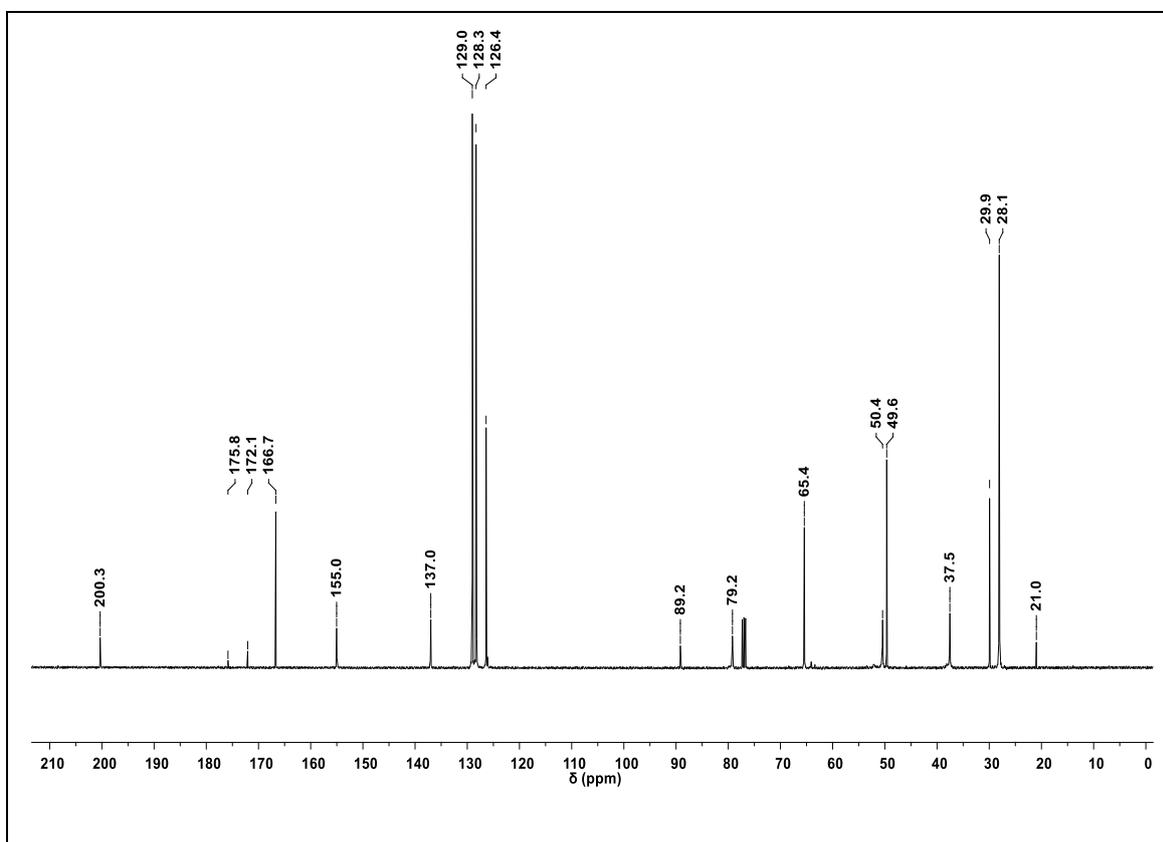
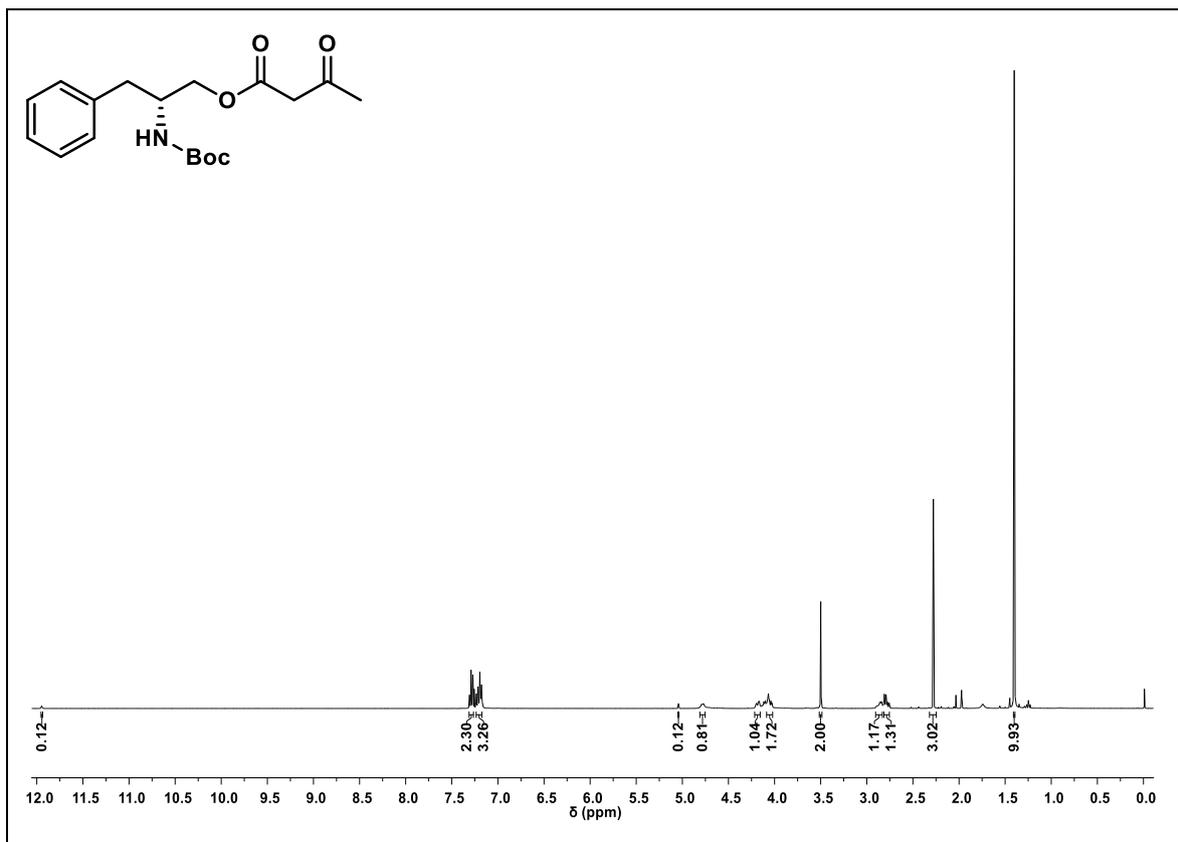
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **8c** em CDCl₃.



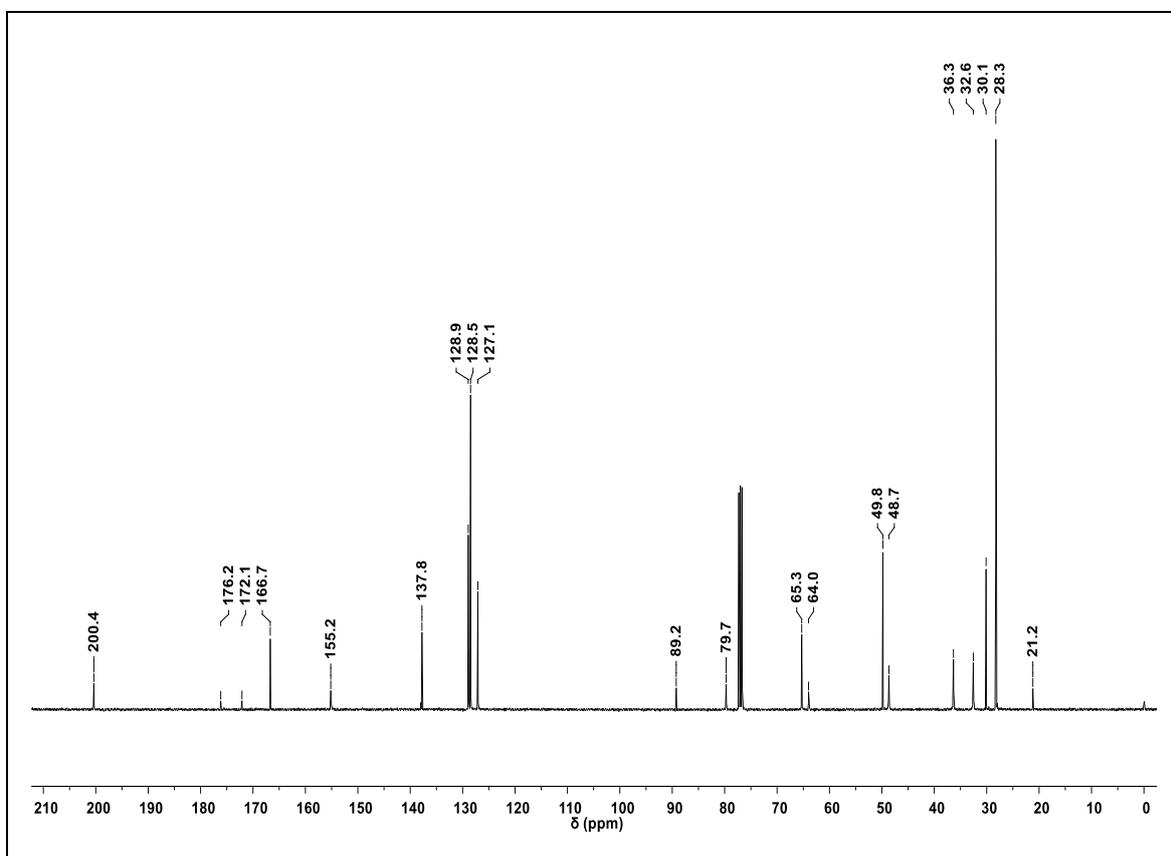
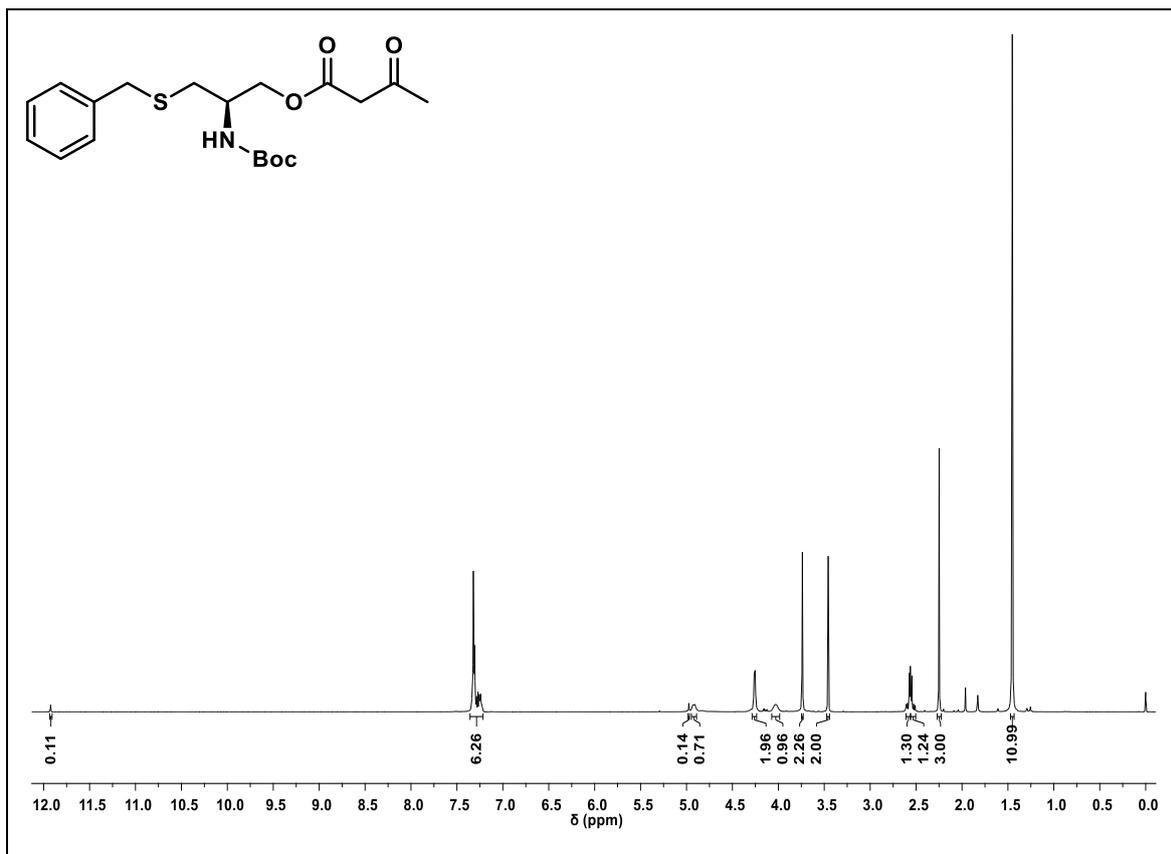
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **8d** em CDCl₃.



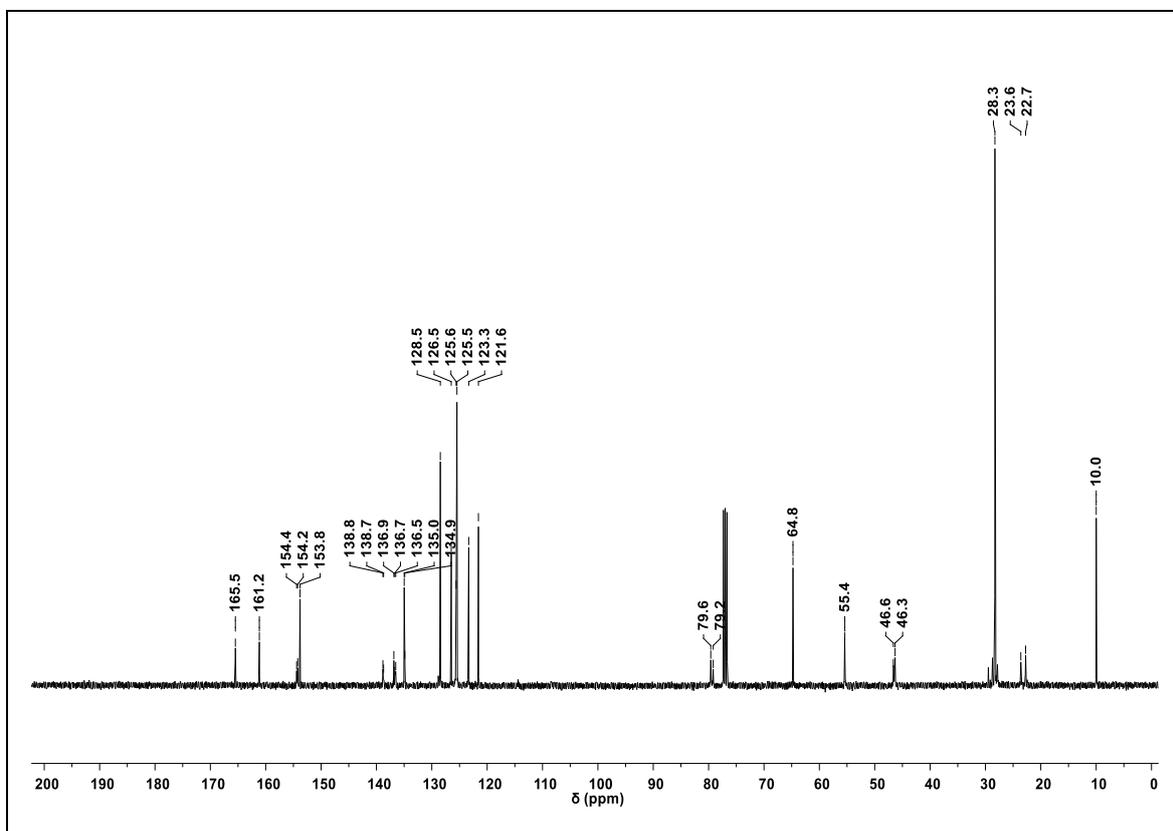
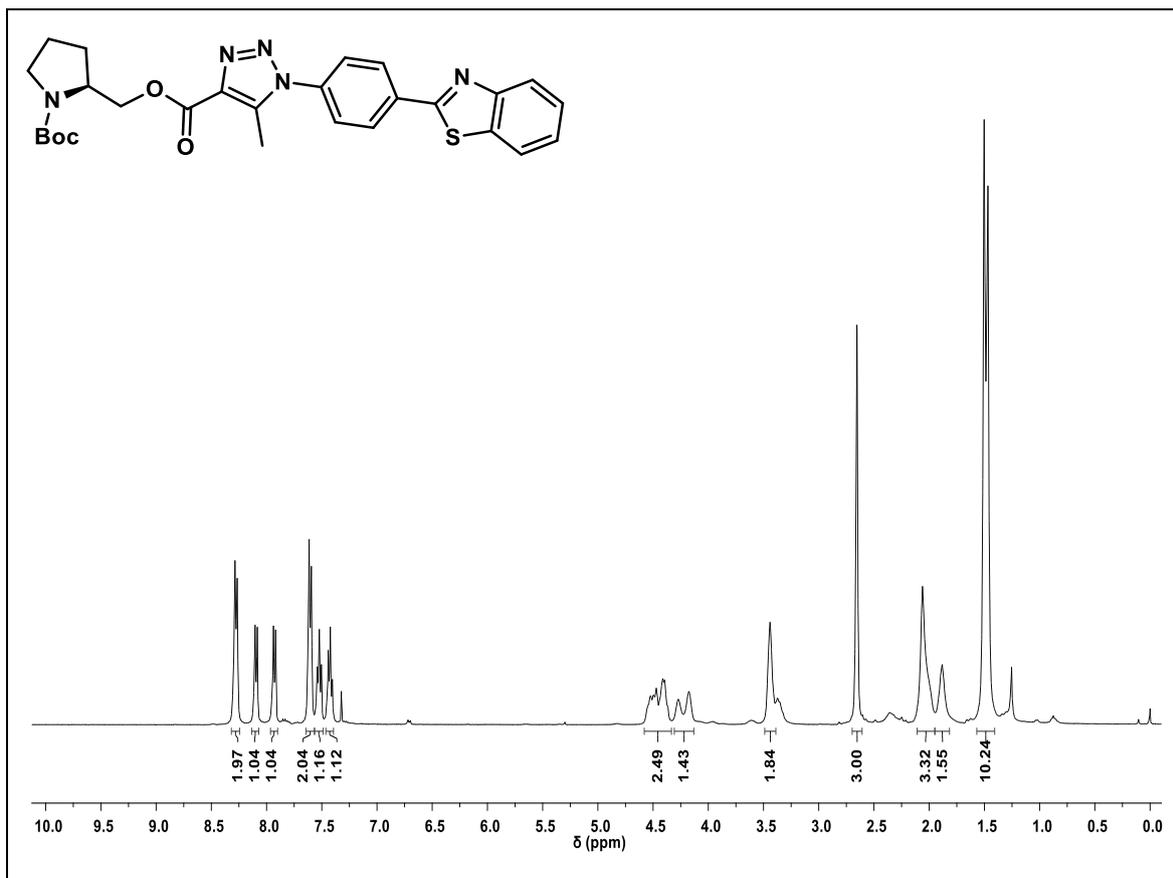
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **8e** em CDCl₃.



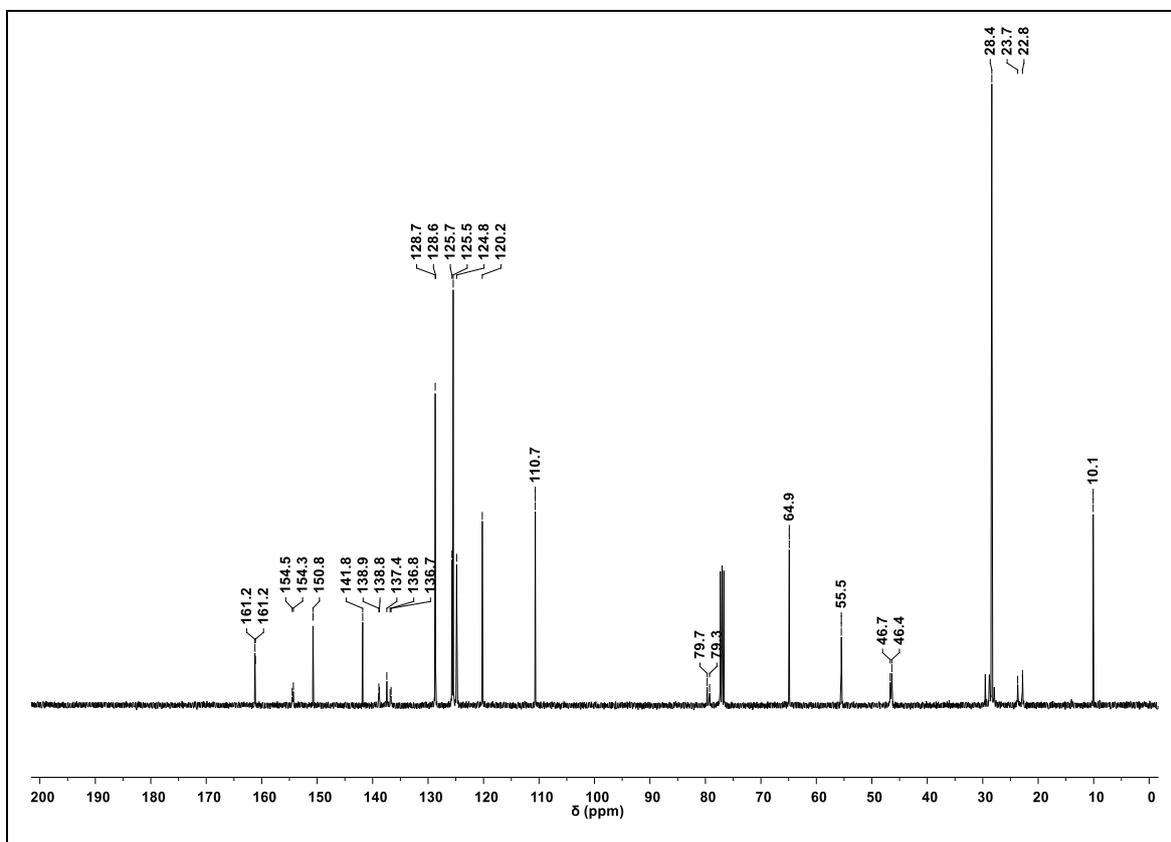
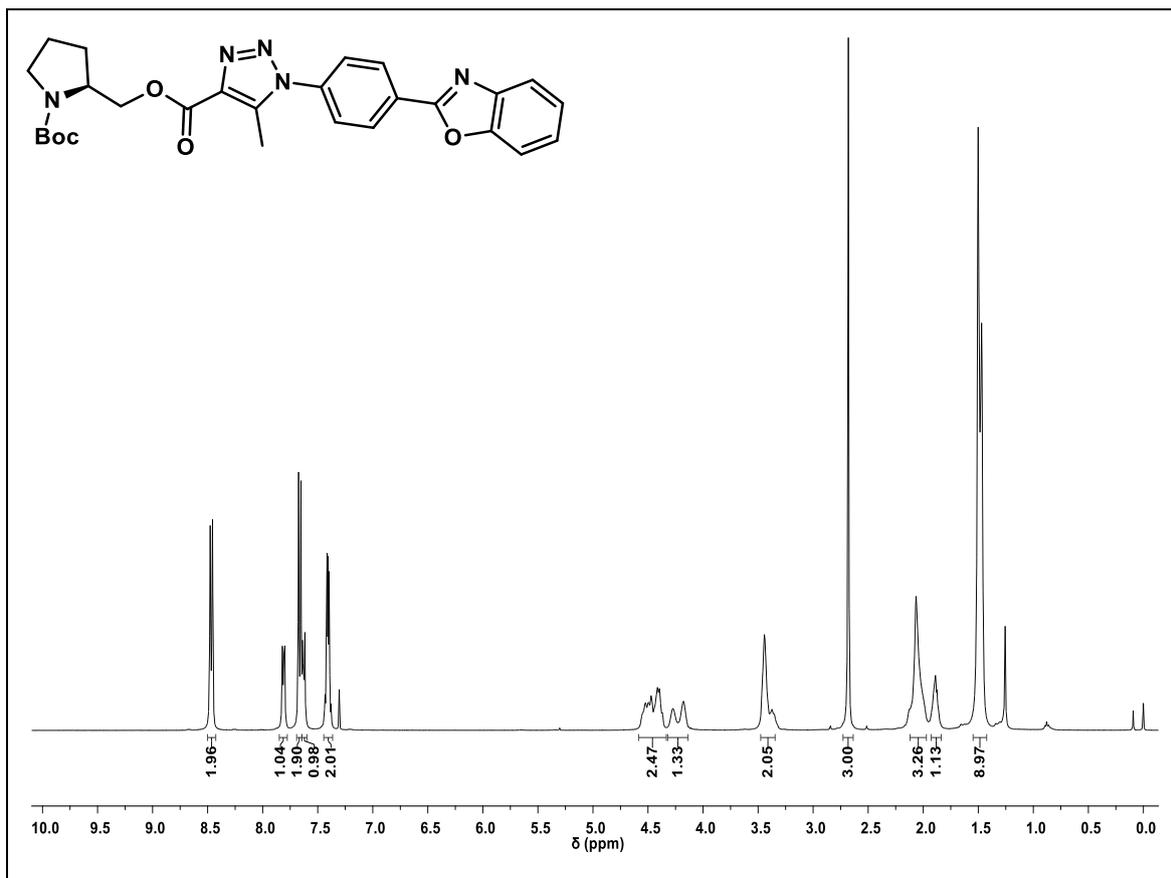
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **8f** em CDCl₃.



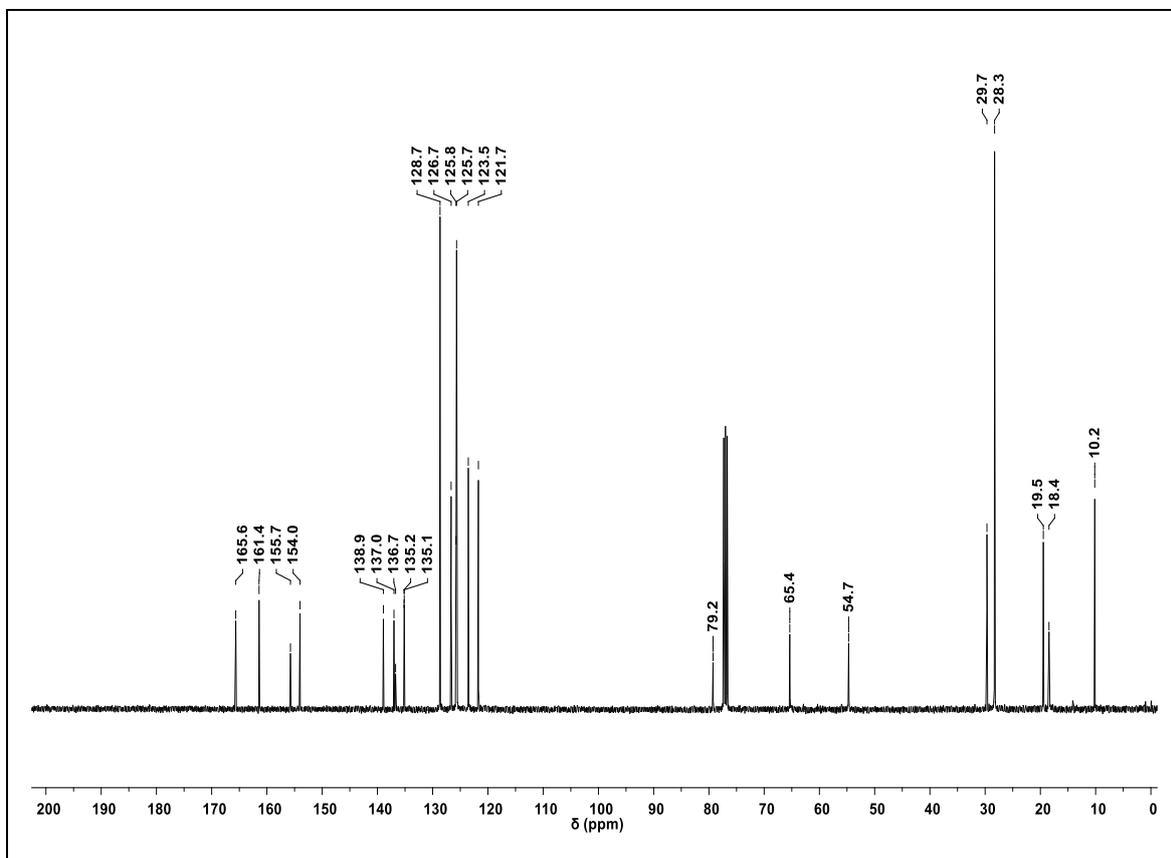
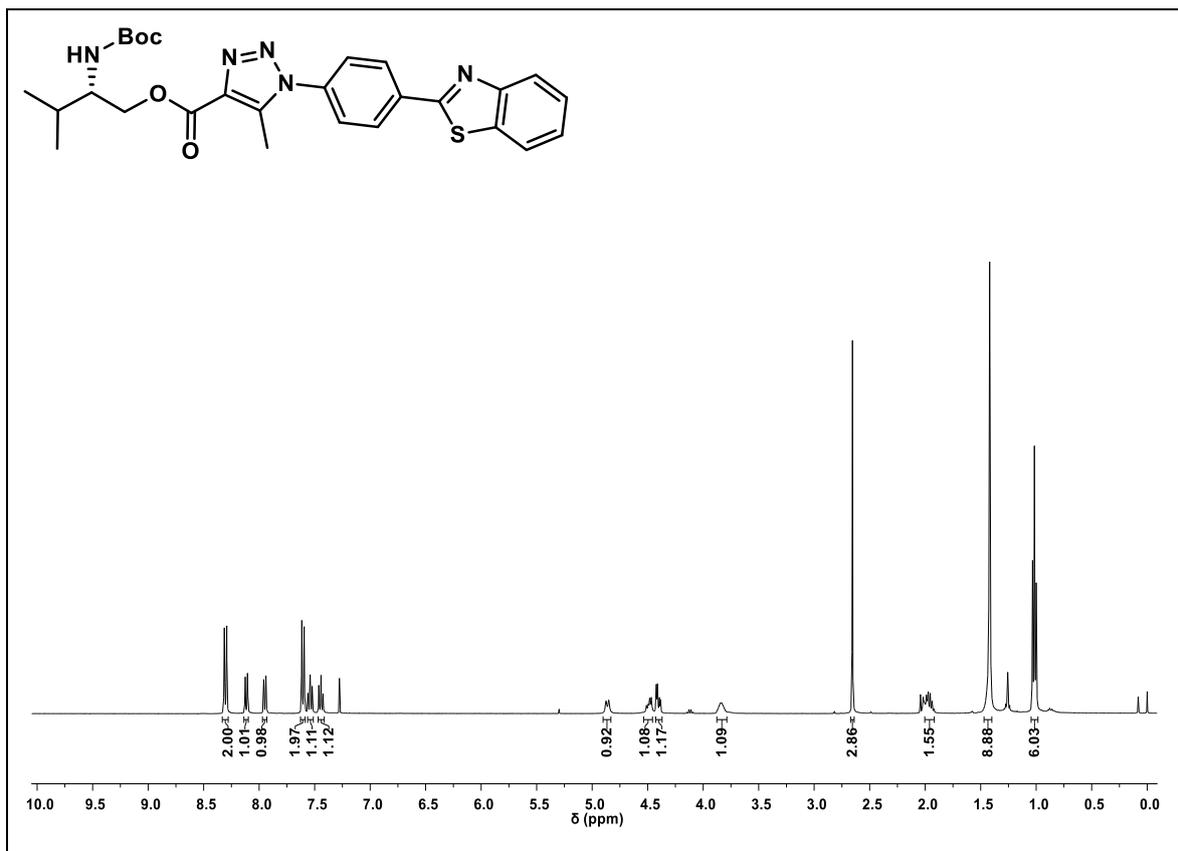
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13a** em CDCl₃.



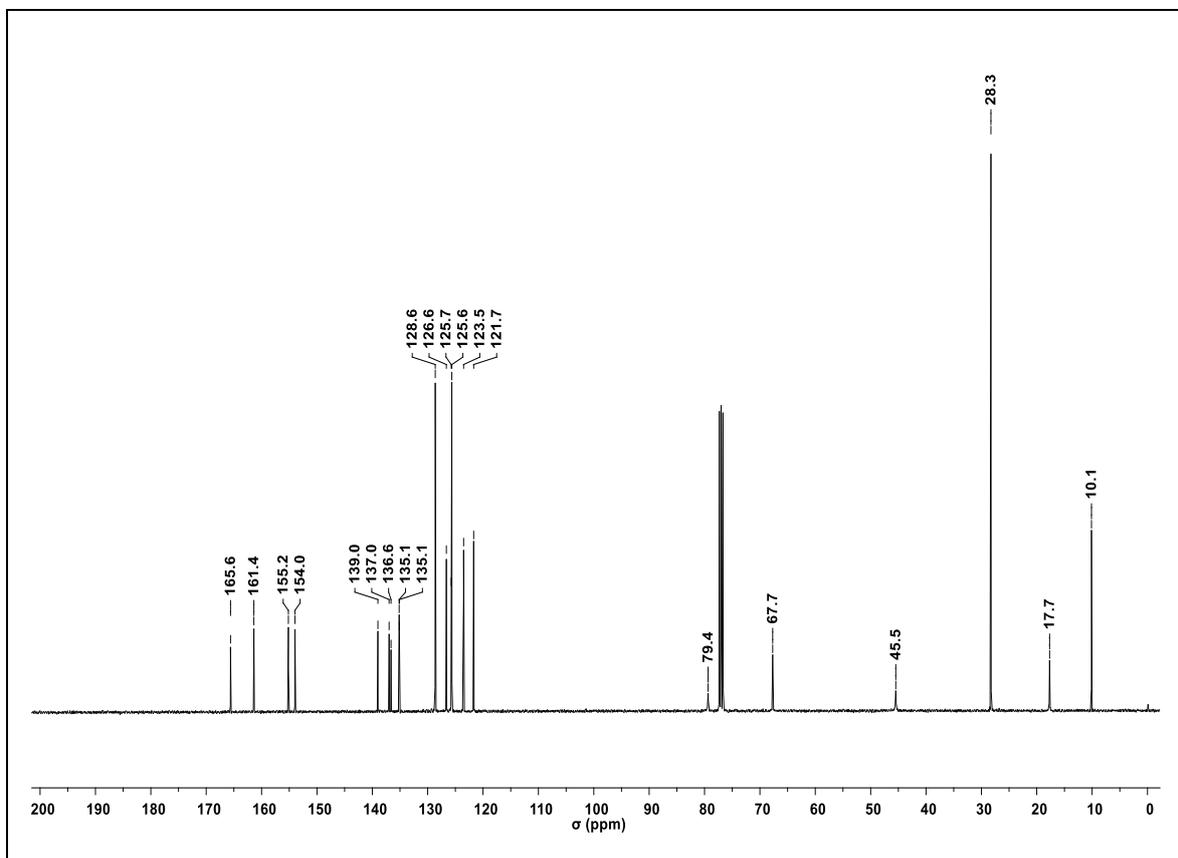
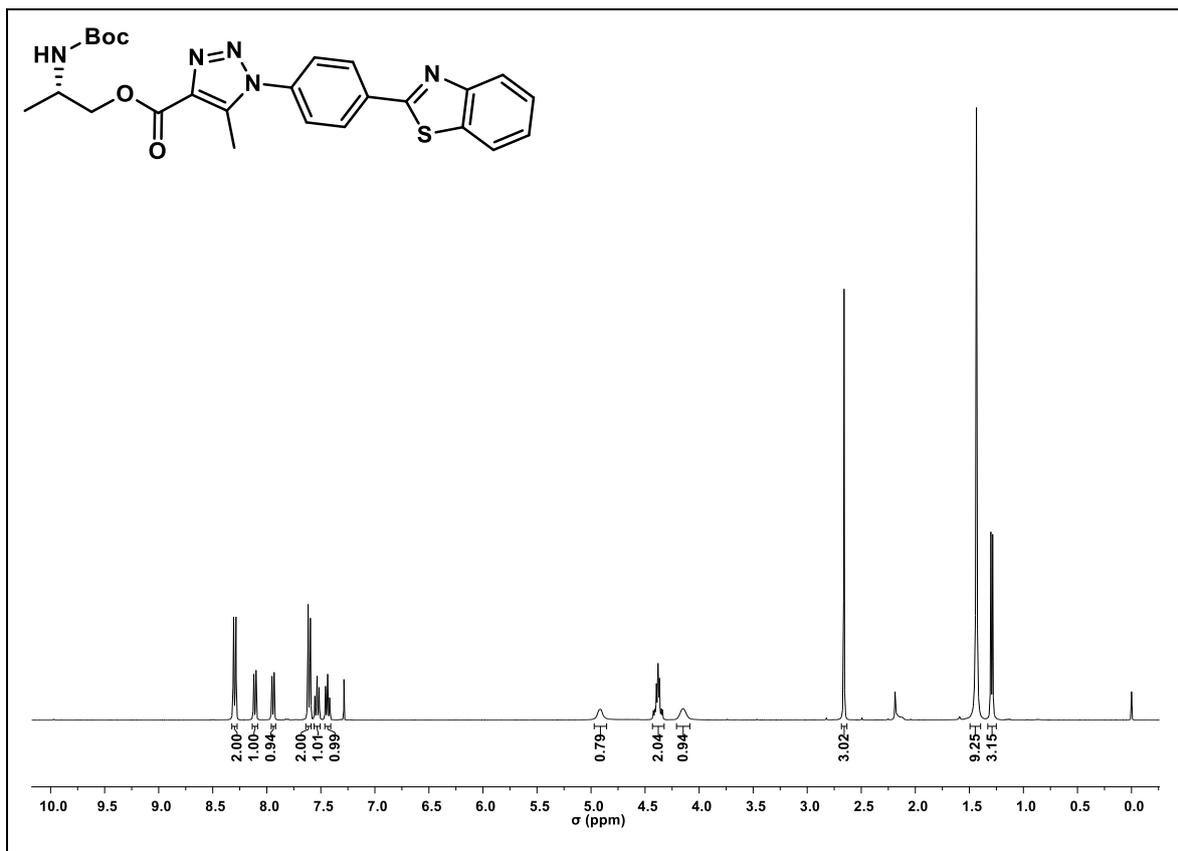
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13b** em CDCl₃.



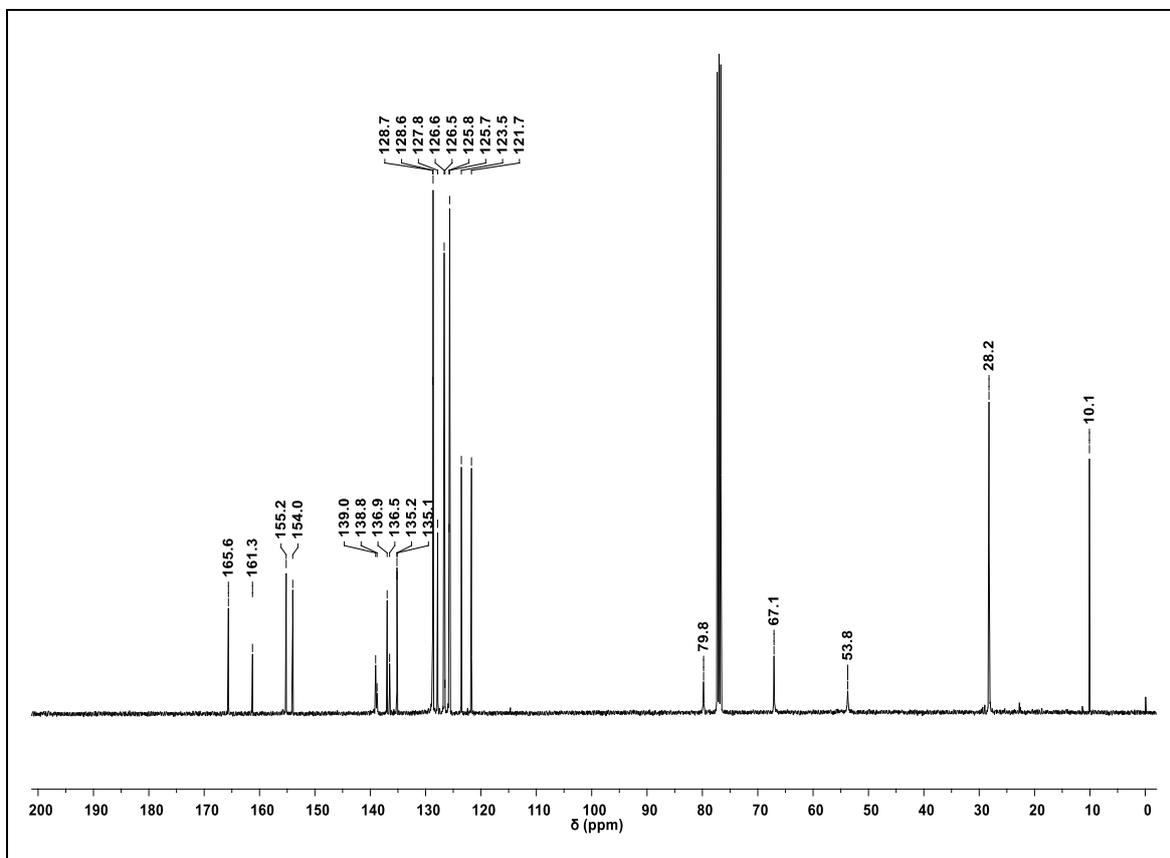
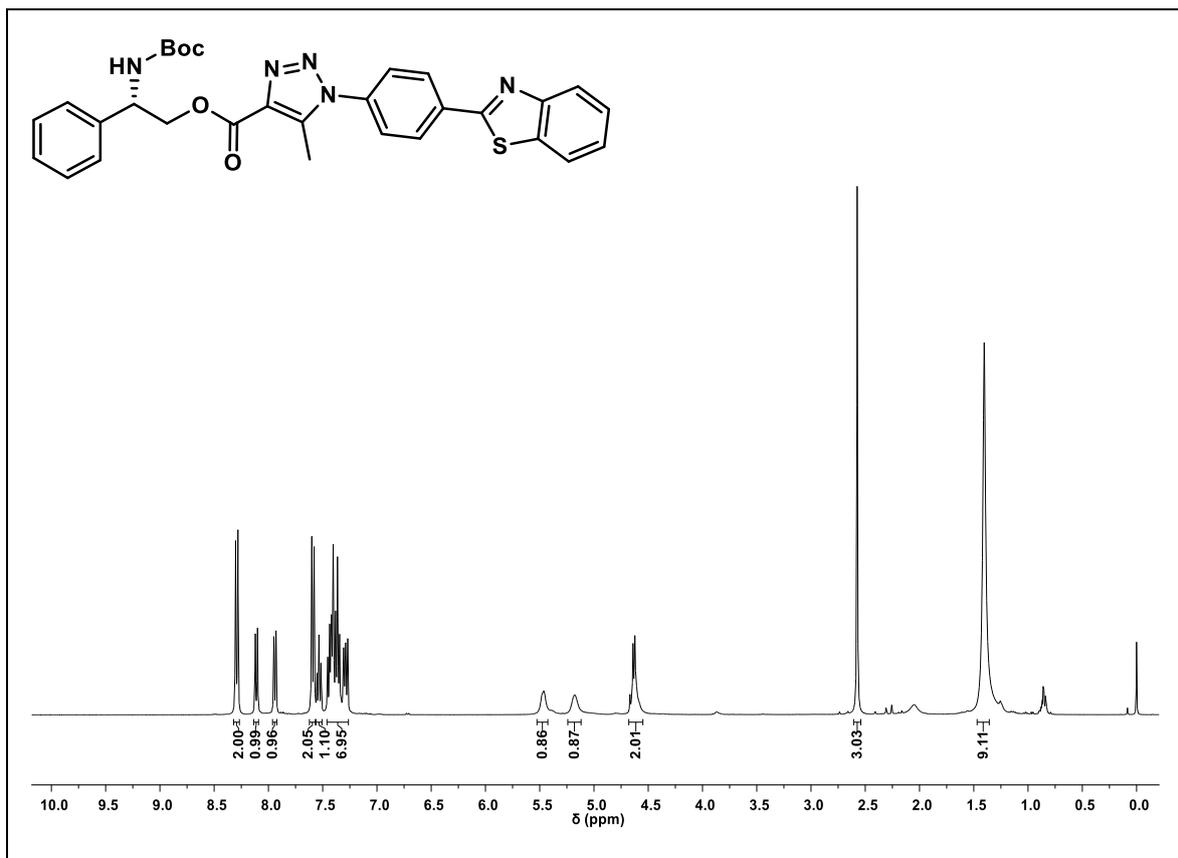
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13c** em CDCl₃.



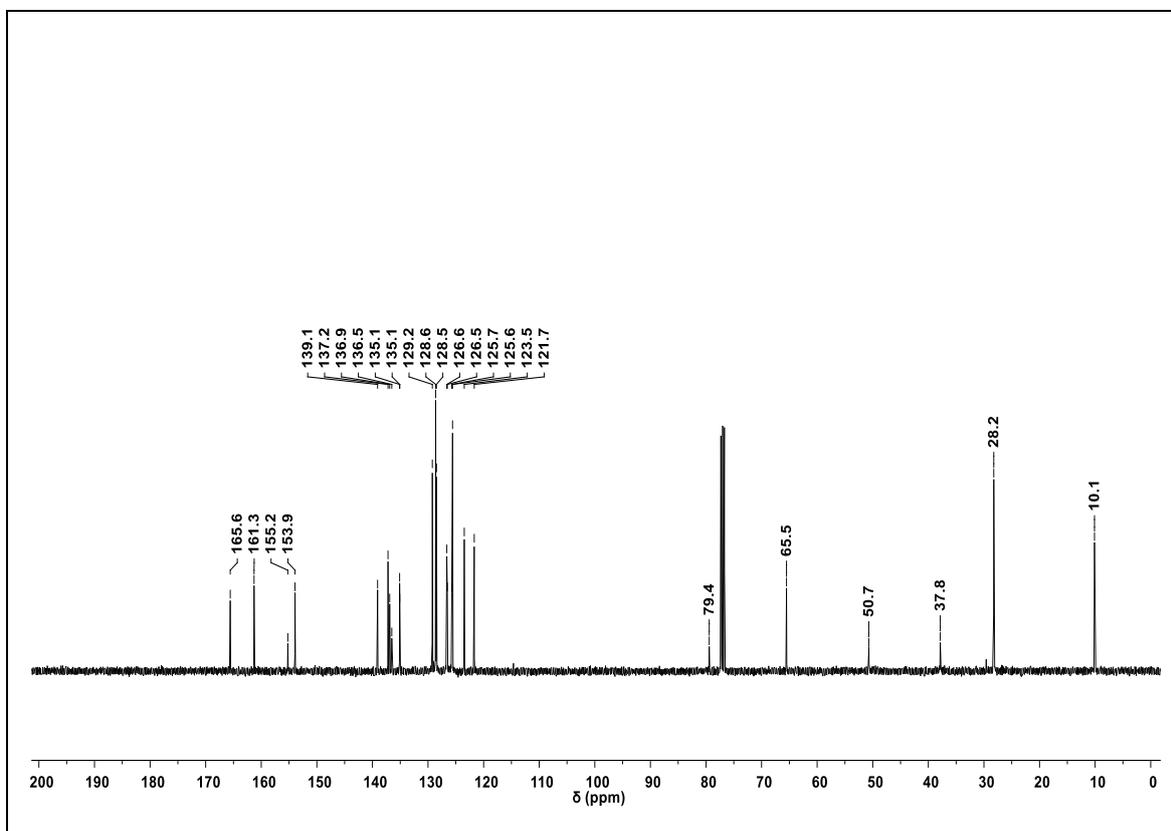
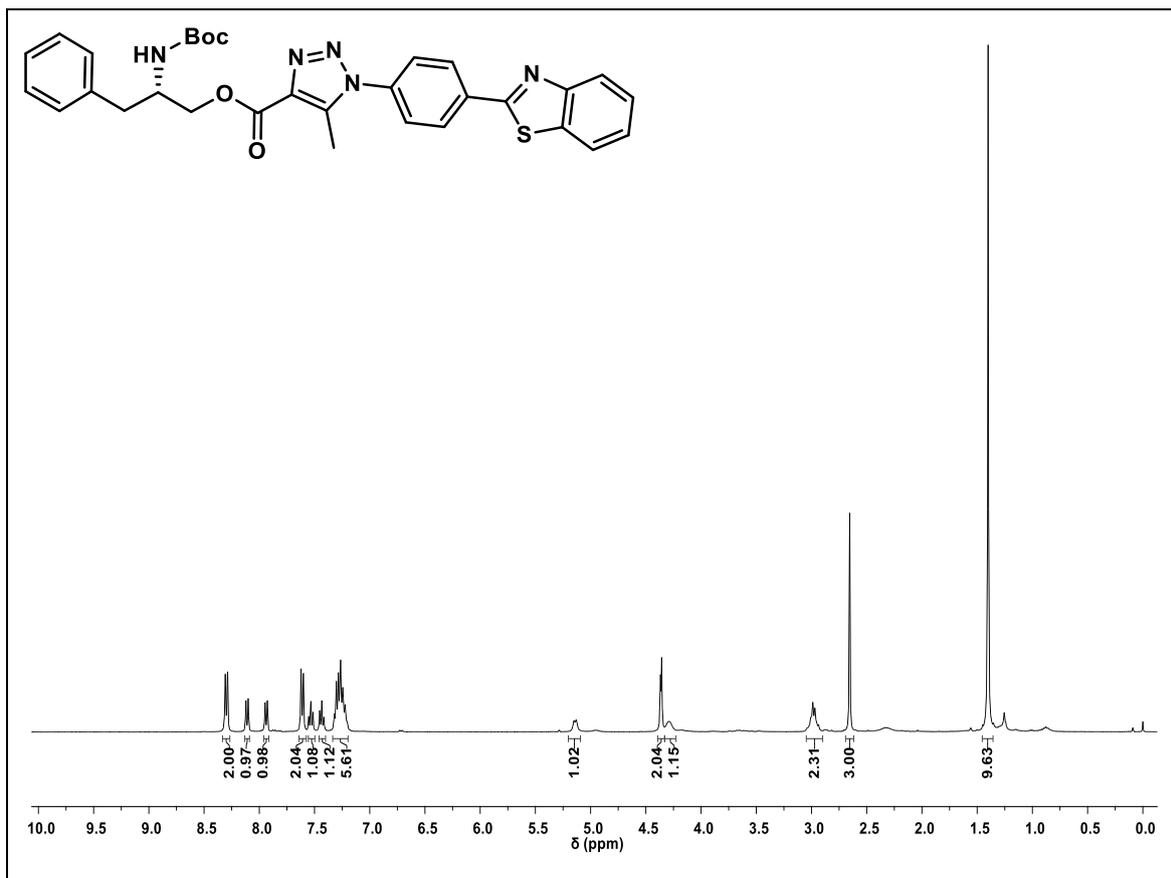
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13d** em CDCl₃.



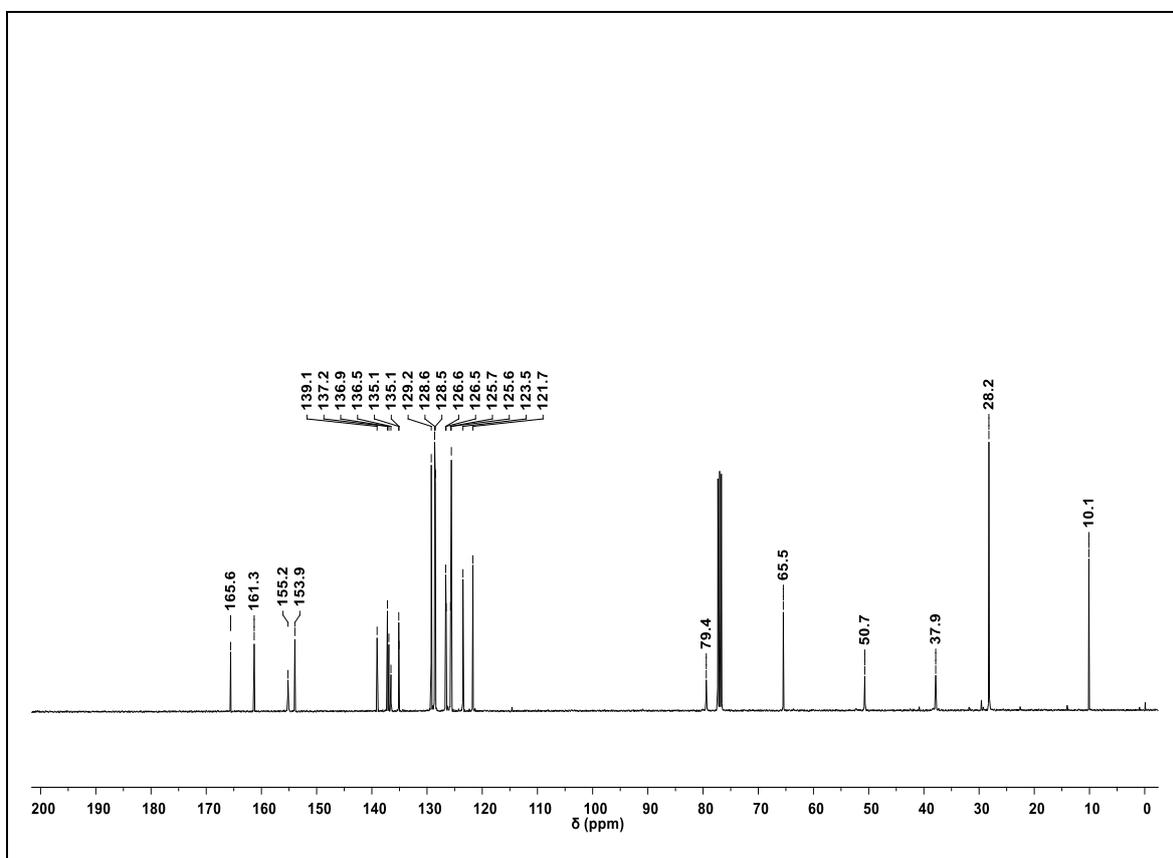
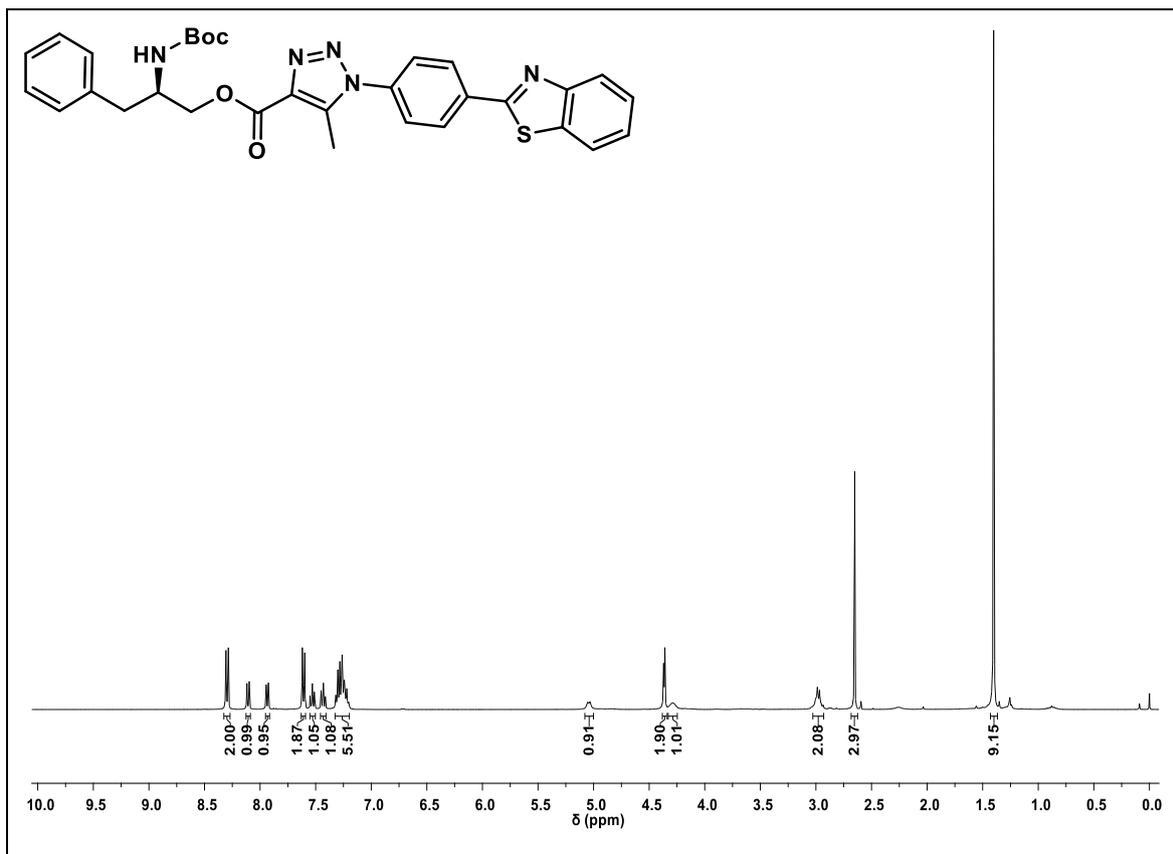
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13e** em CDCl₃.



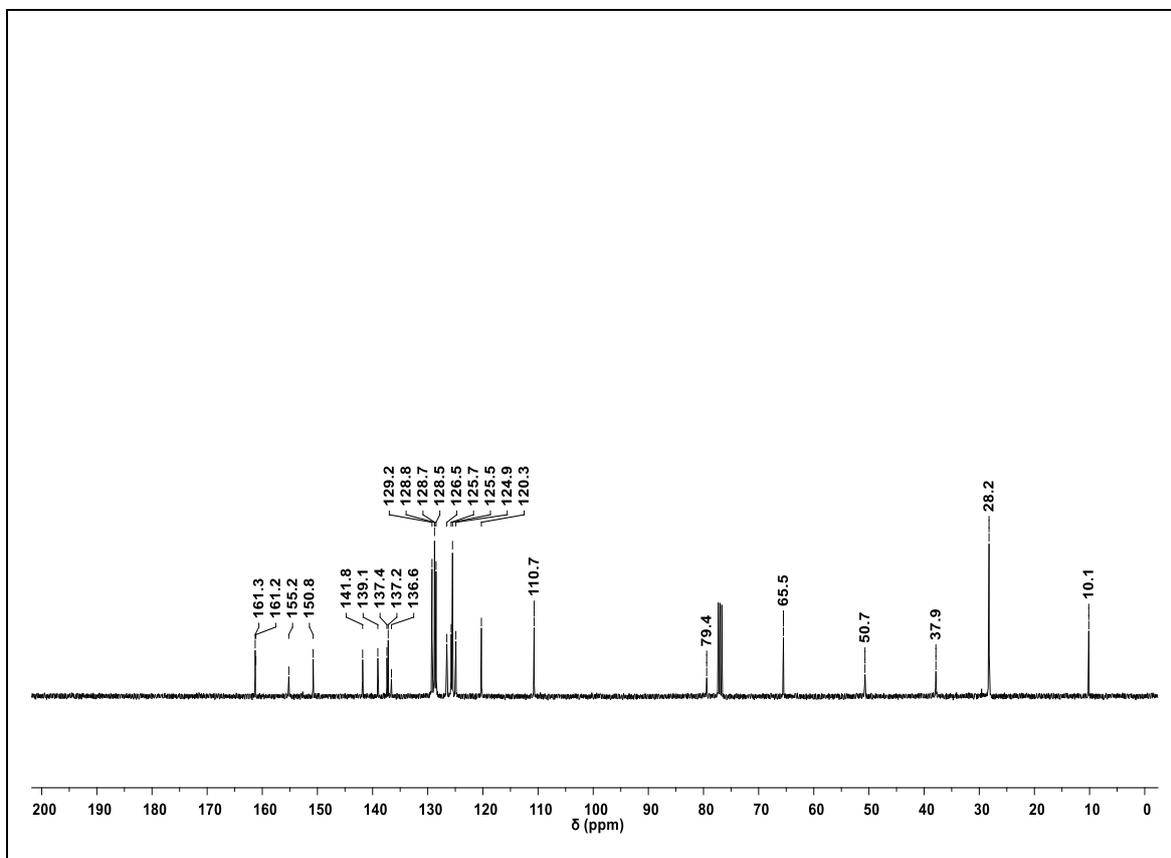
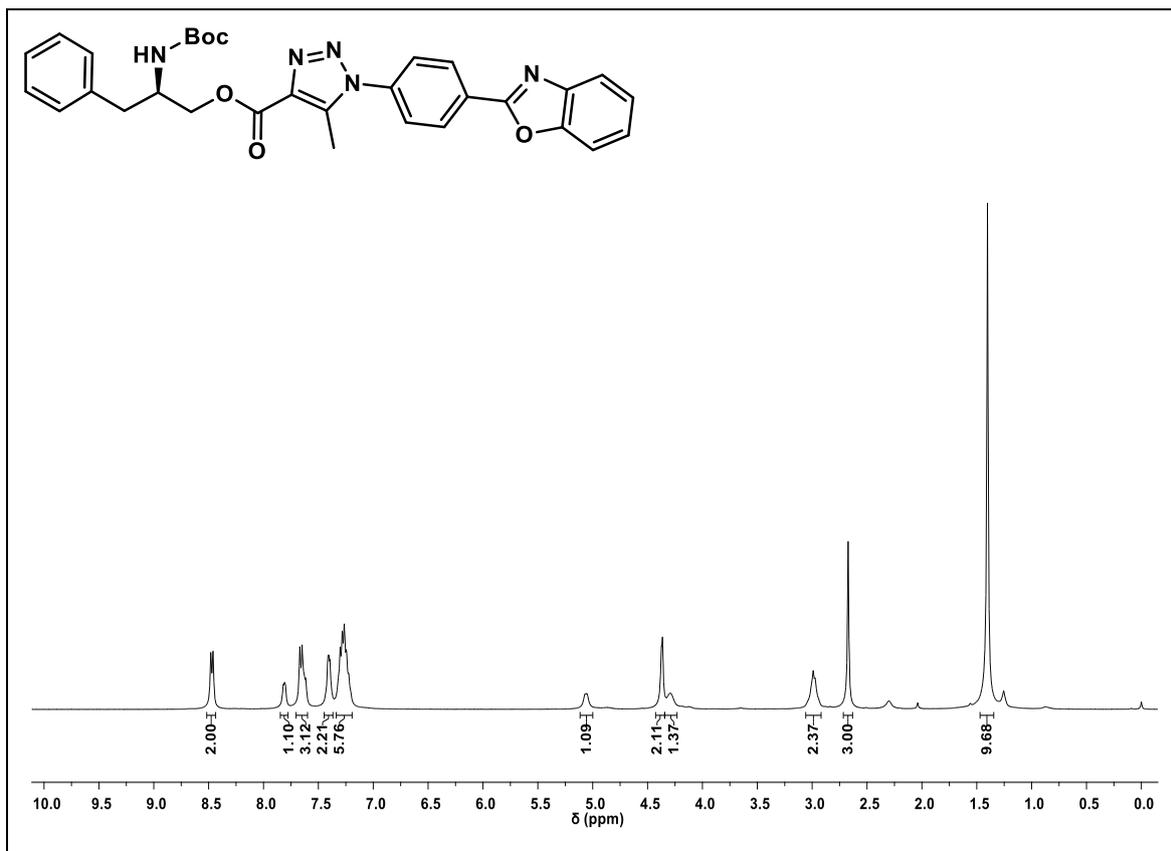
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13f** em CDCl₃.



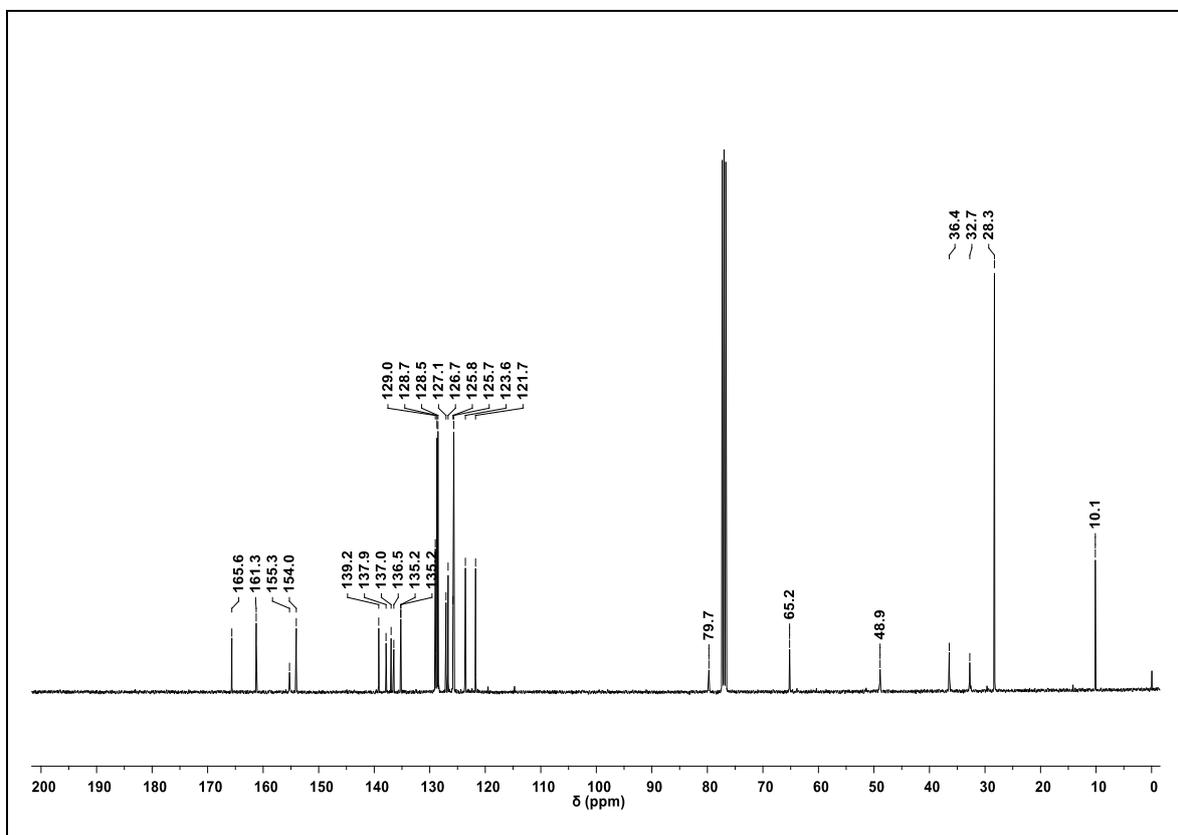
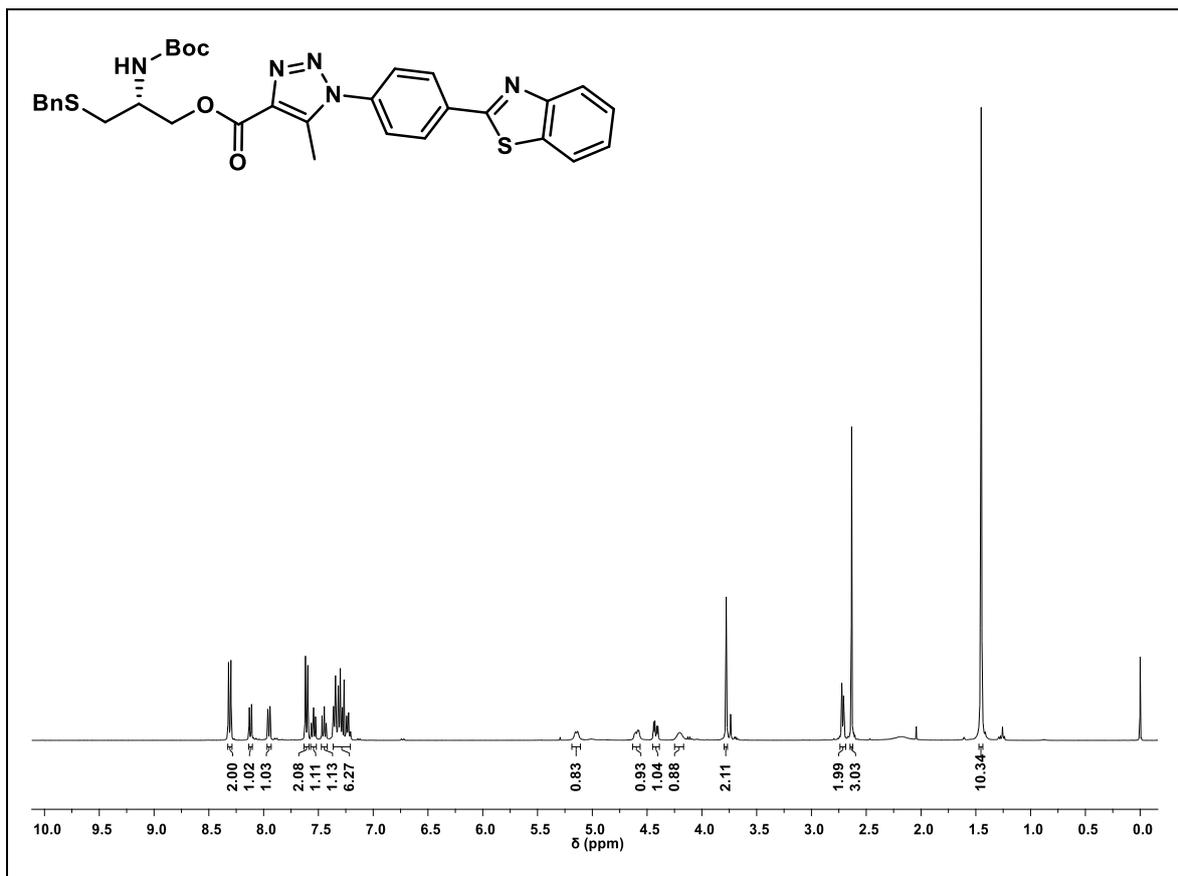
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13g** em CDCl₃.



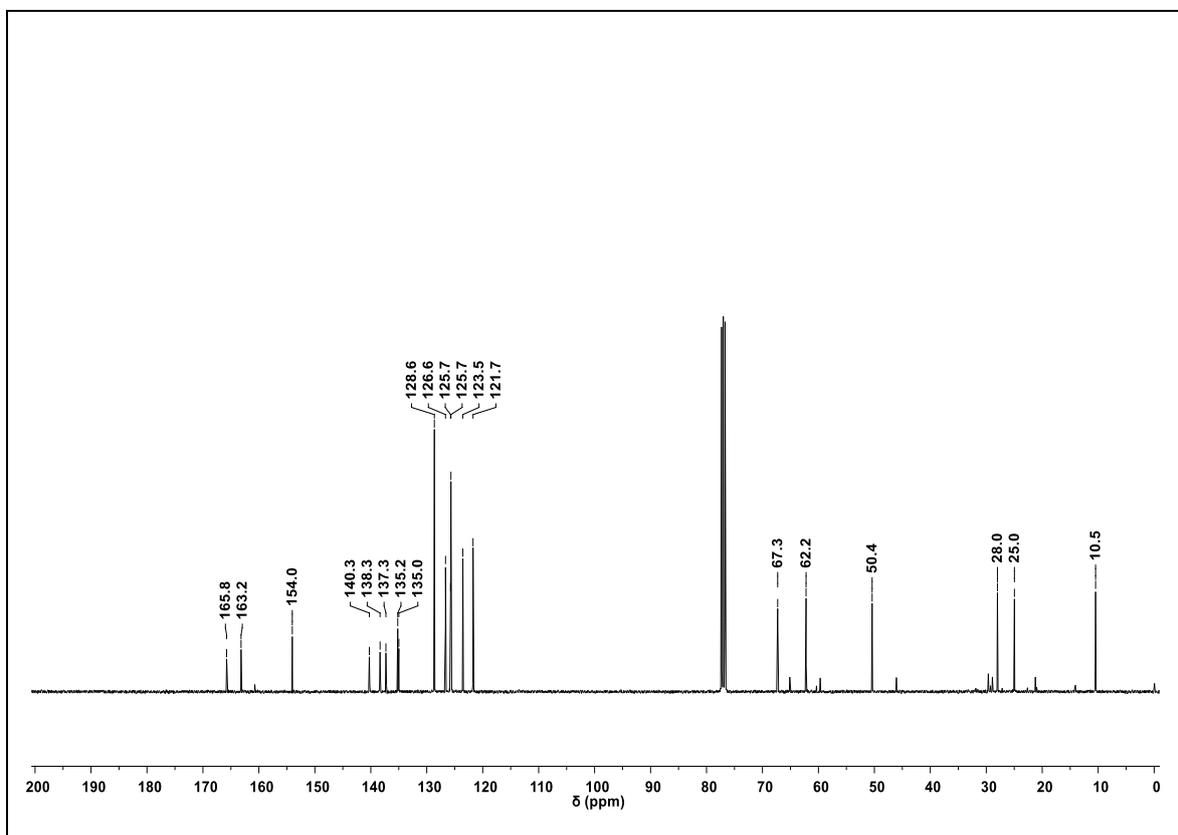
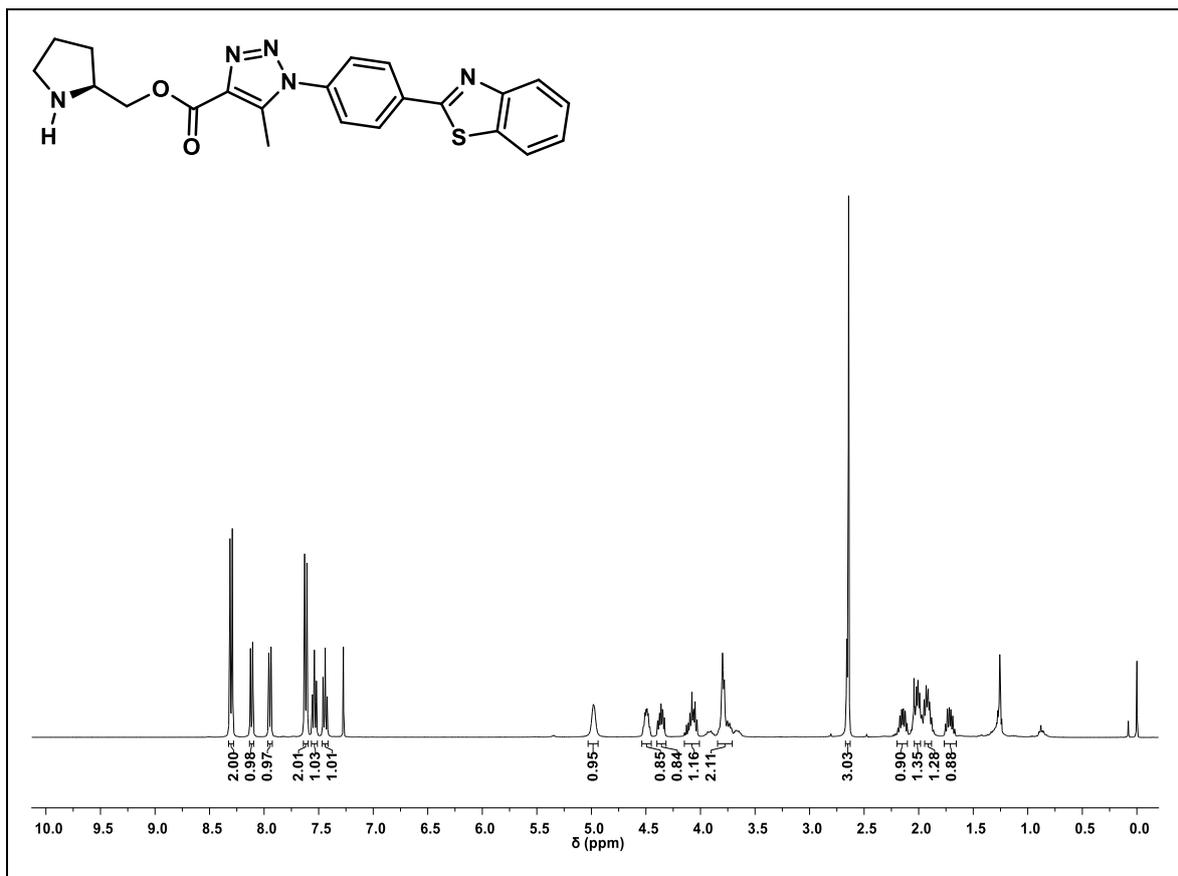
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13h** em CDCl₃.



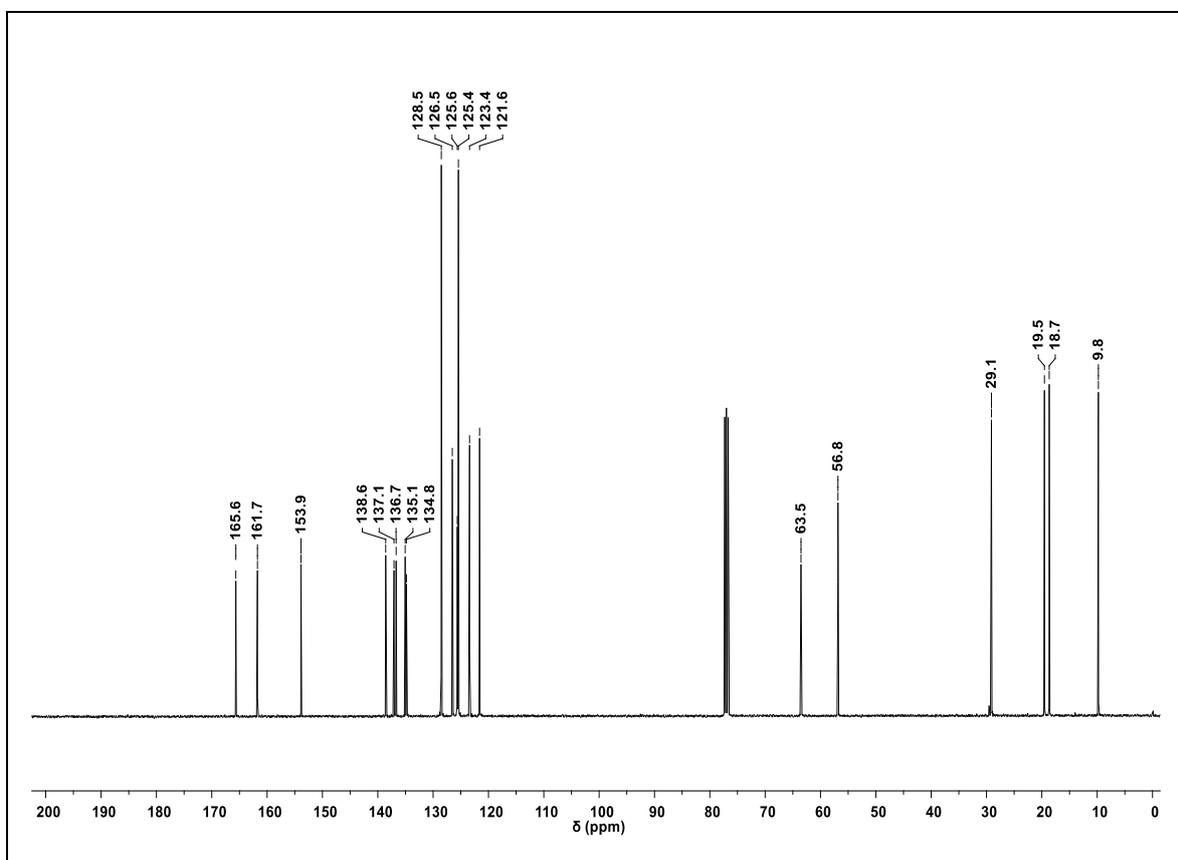
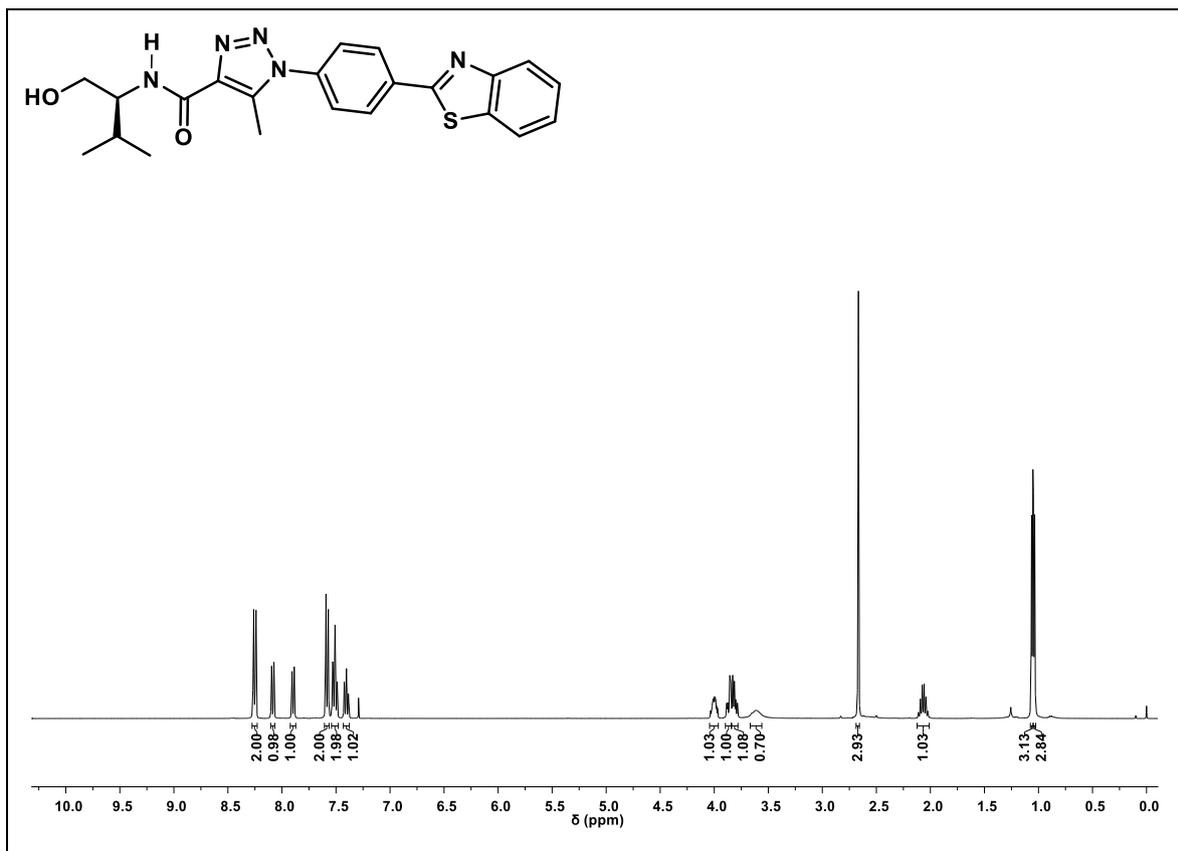
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **13i** em CDCl₃.



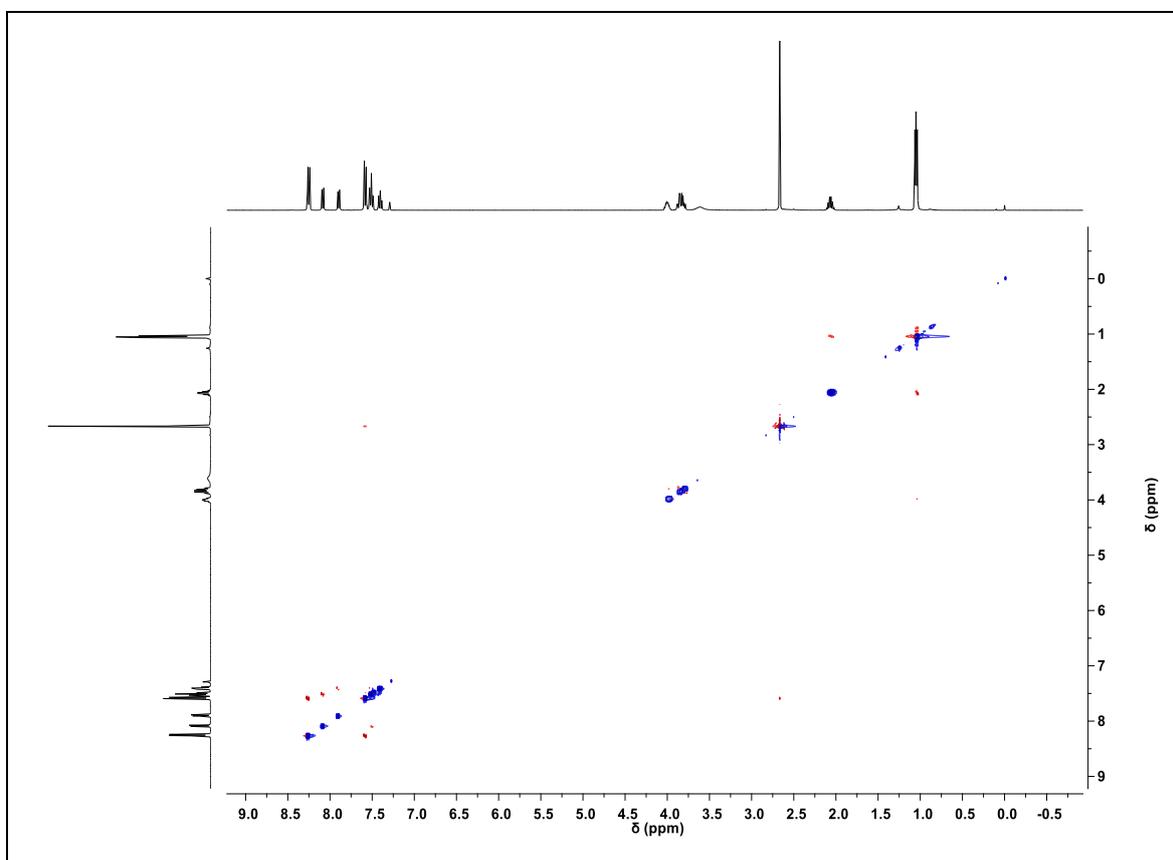
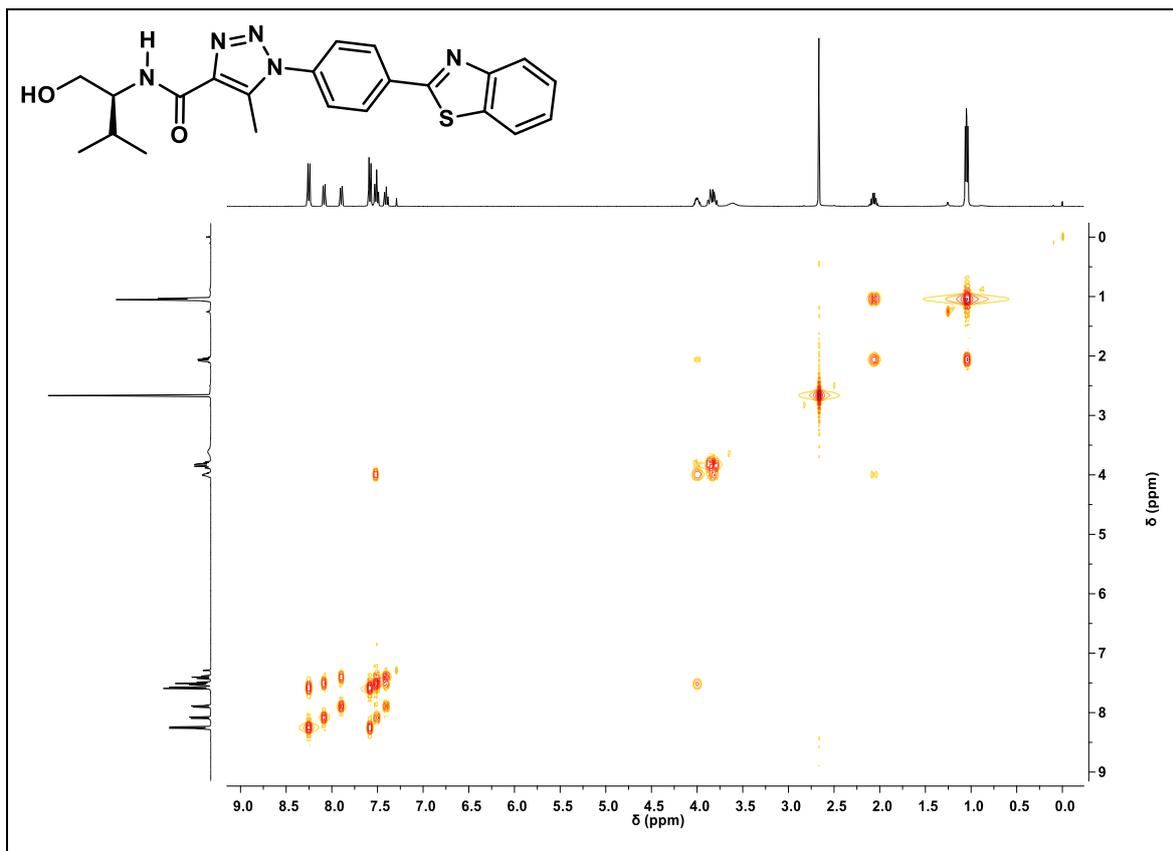
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **14** em CDCl₃.



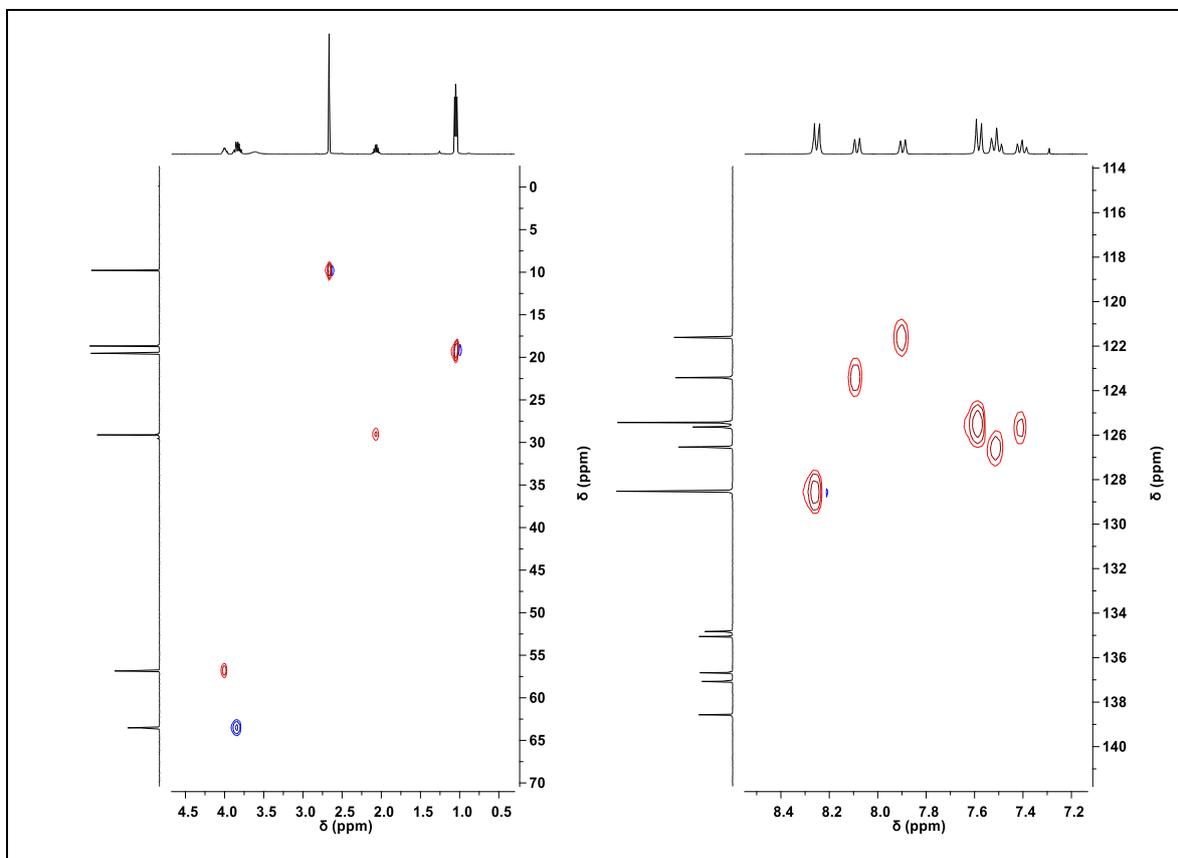
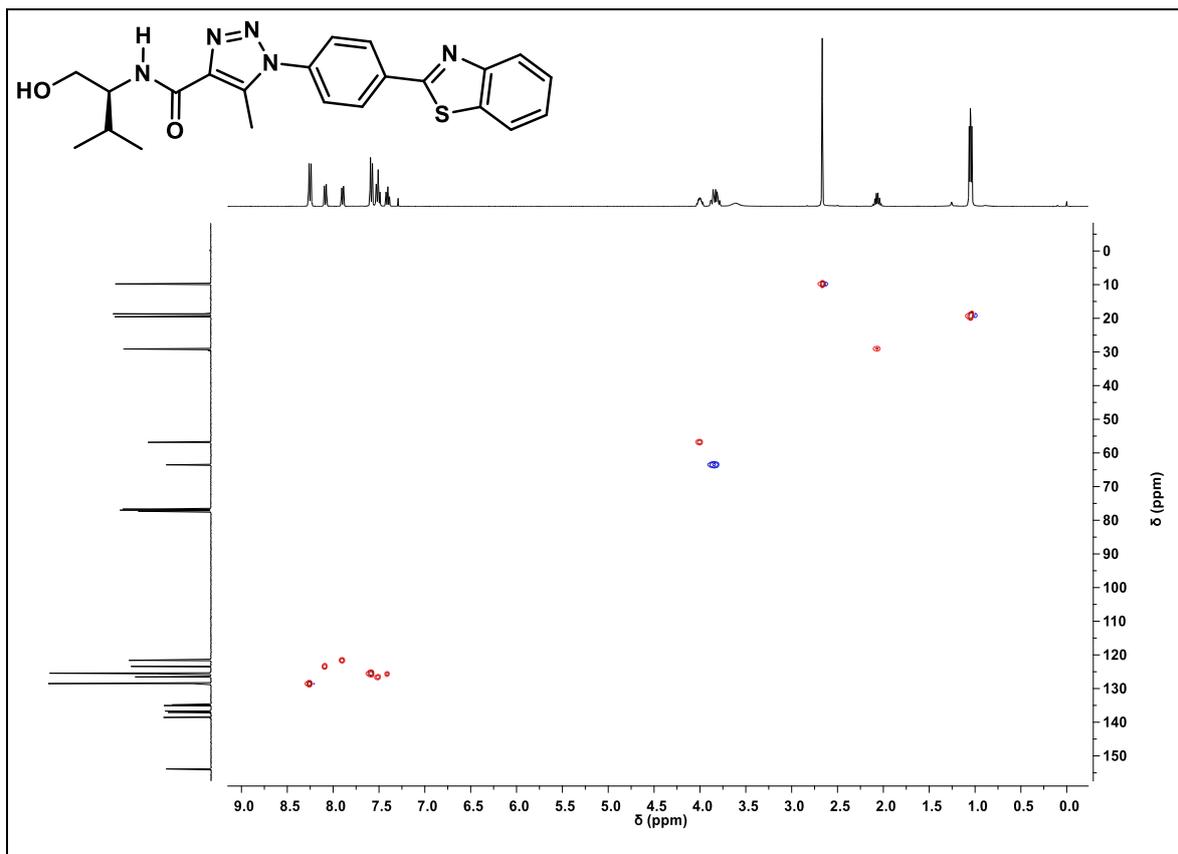
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **15a** em CDCl₃.



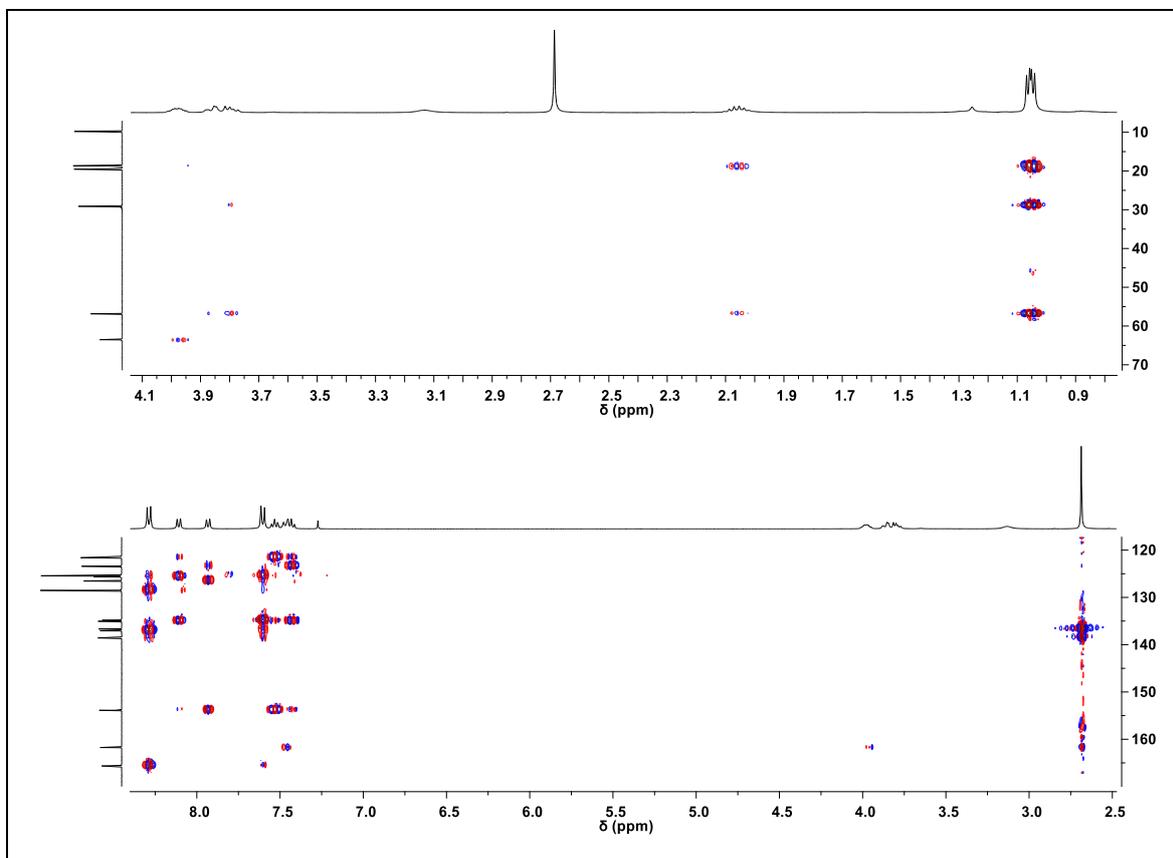
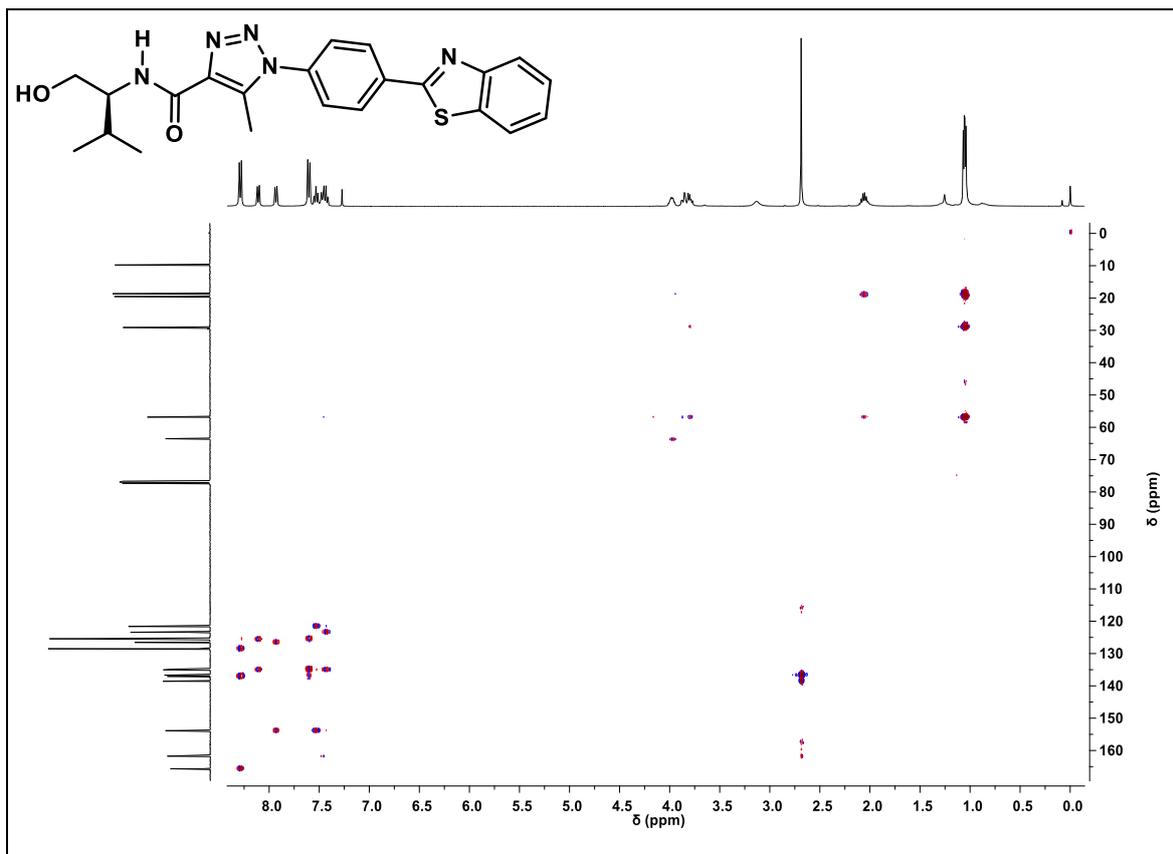
RMN-¹H-COSY e RMN-¹H-ROESY (400 MHz) do composto **15a** em CDCl₃.



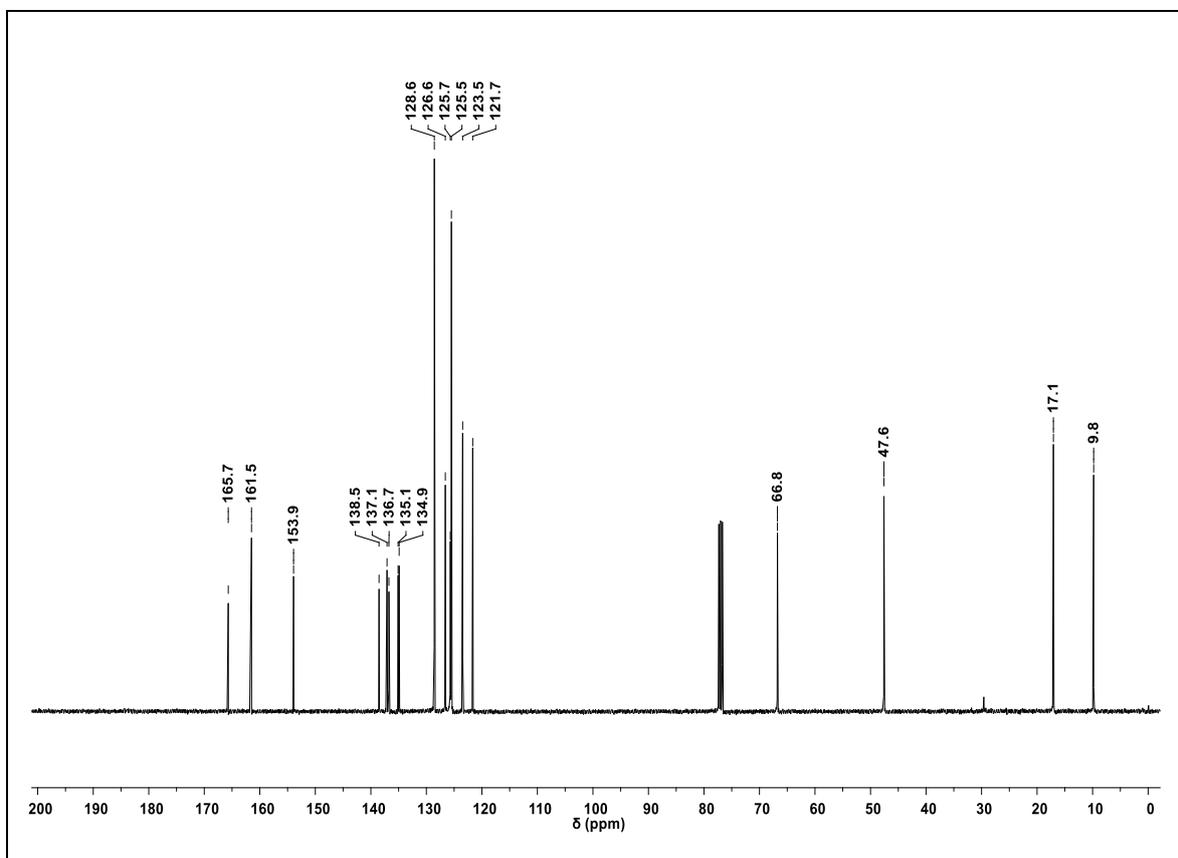
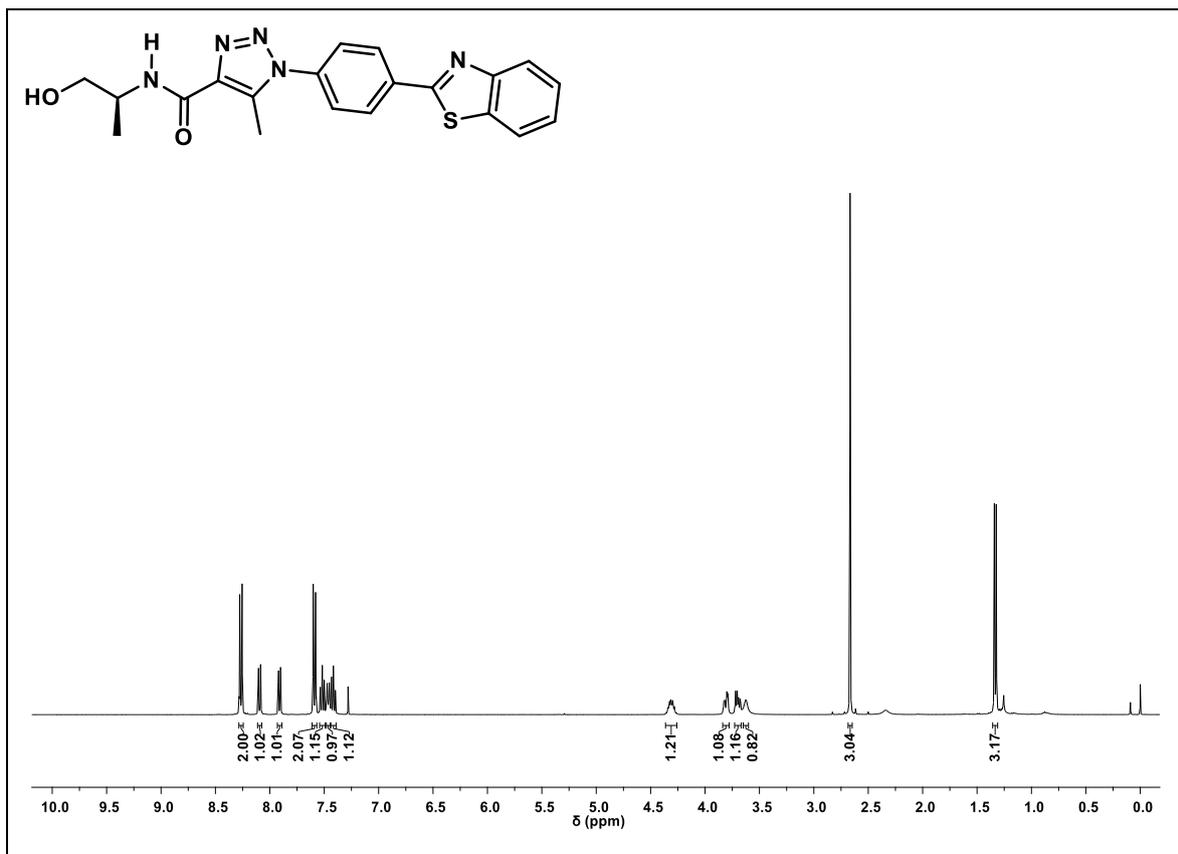
RMN- $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HSQC (400 MHz) do composto **15a** em CDCl_3 .



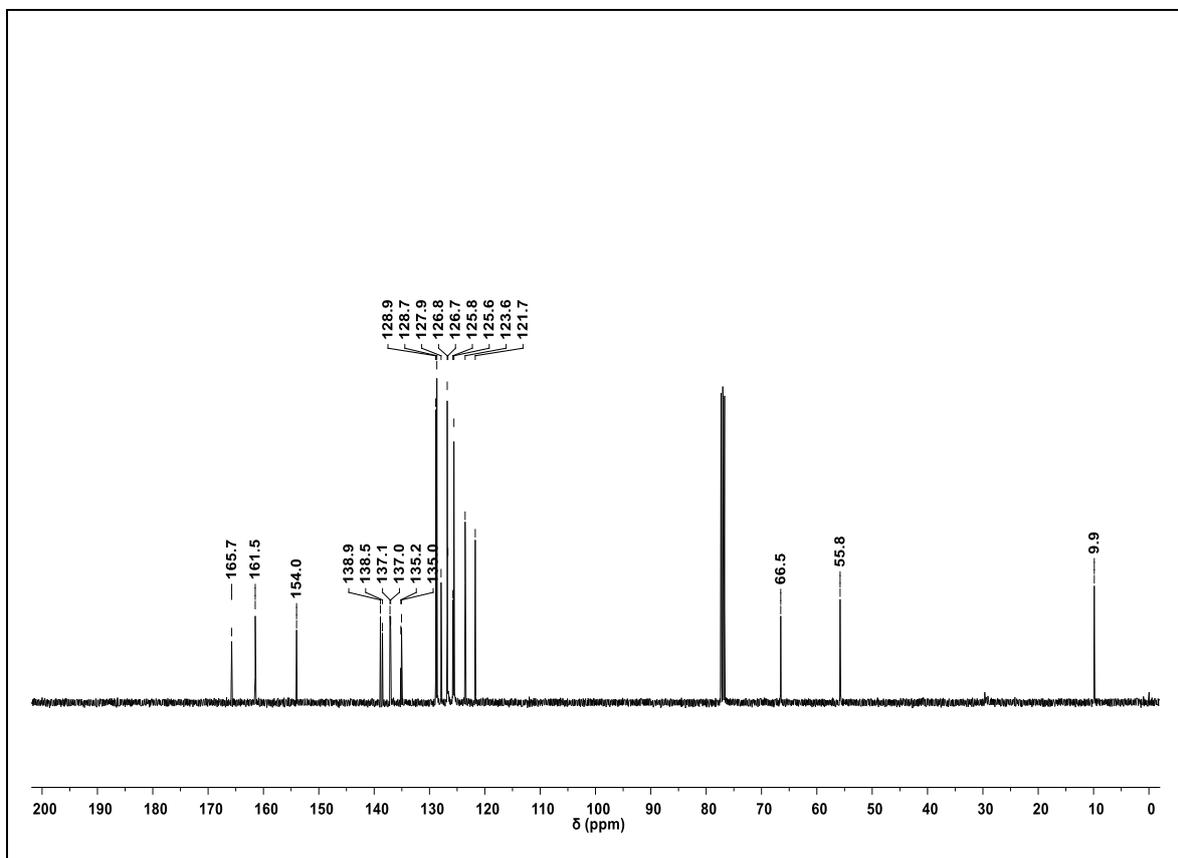
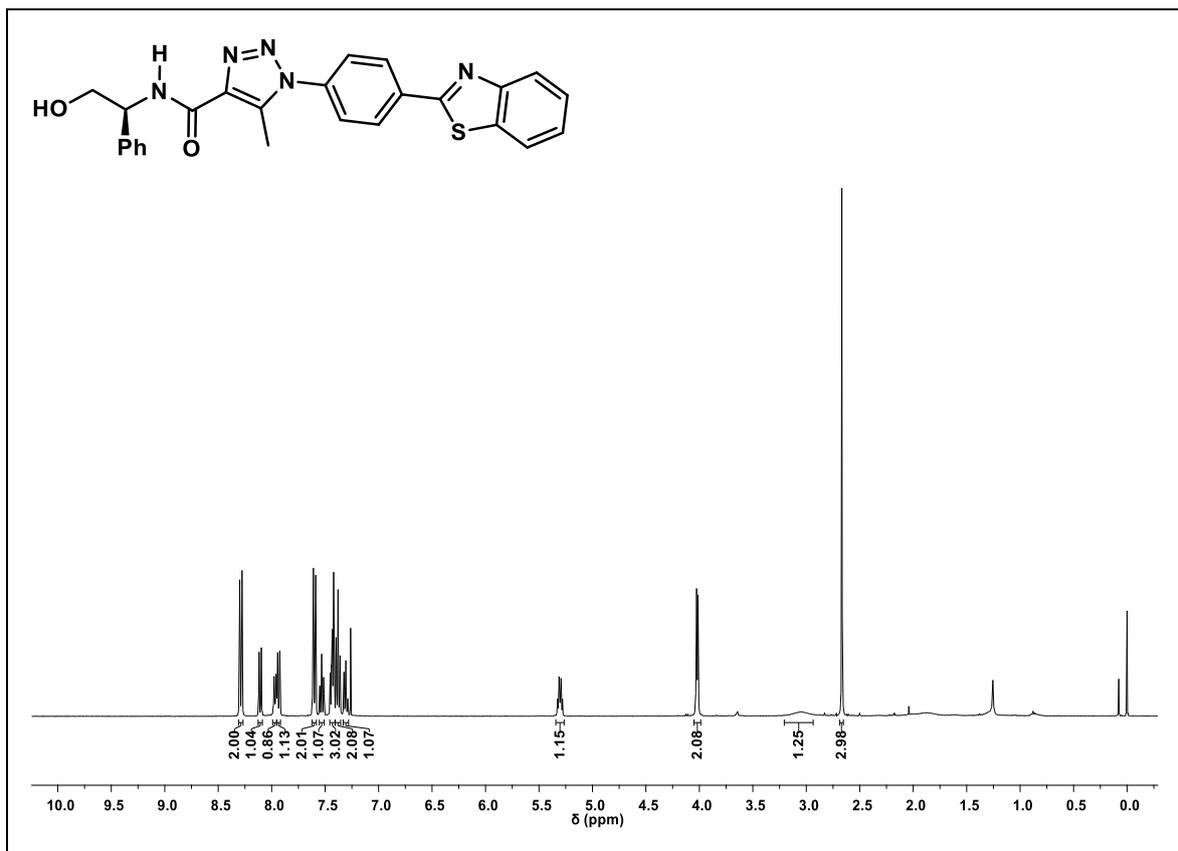
RMN- $^1\text{H}^{13}\text{C}$ -HMBC (400 MHz) do composto **15a** em CDCl_3 .



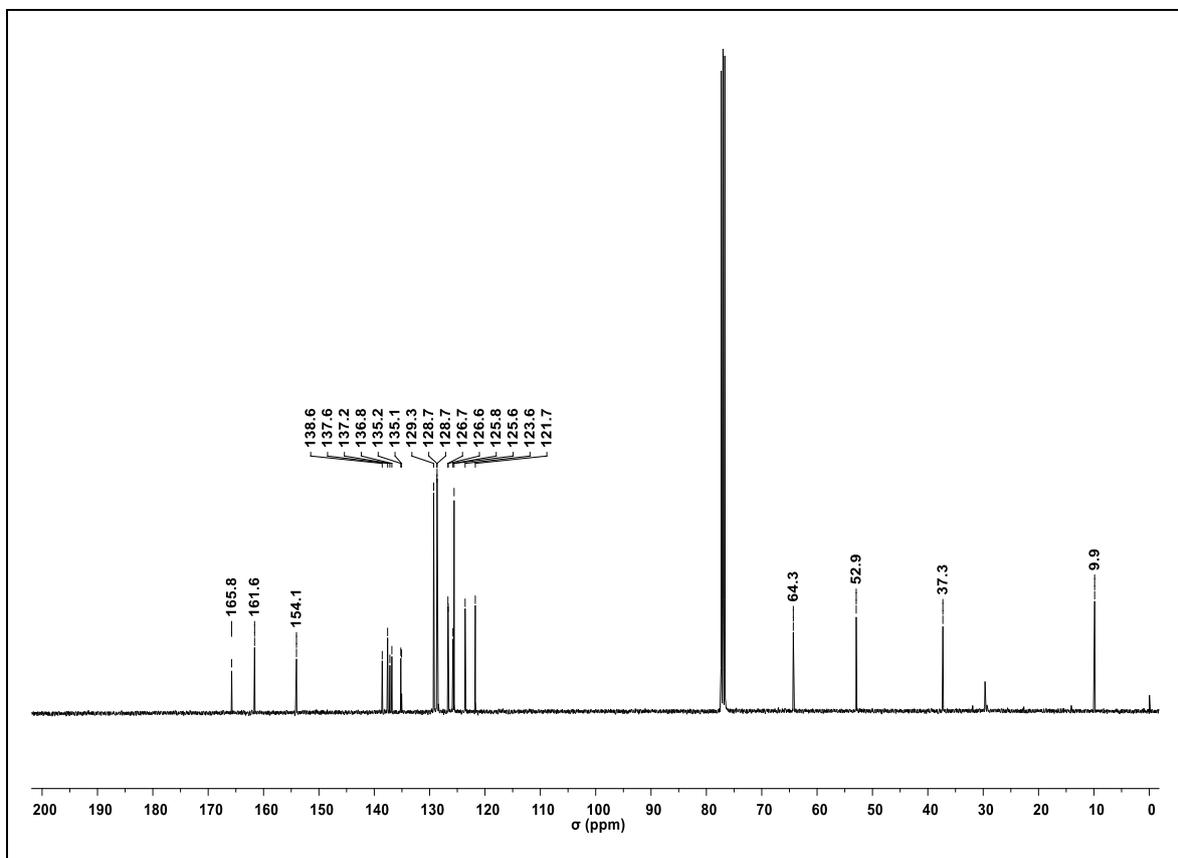
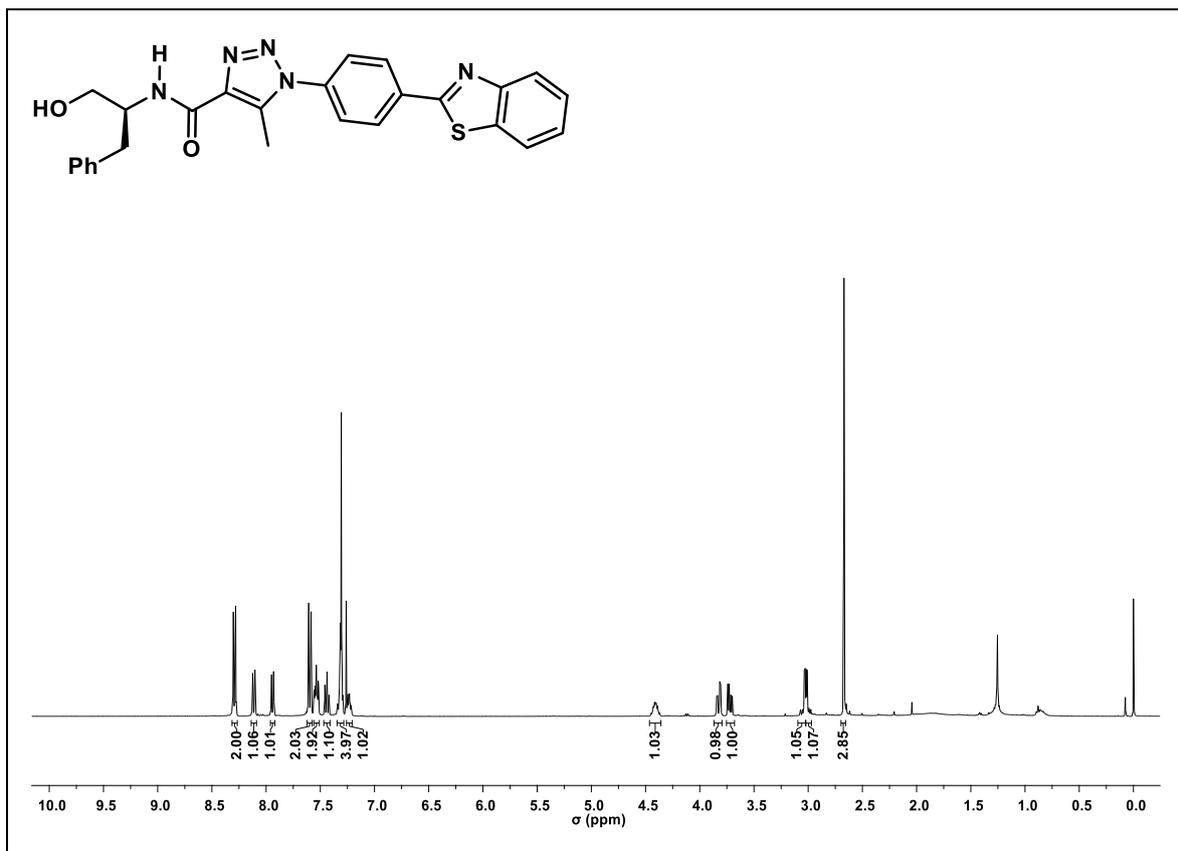
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **15b** em CDCl₃.



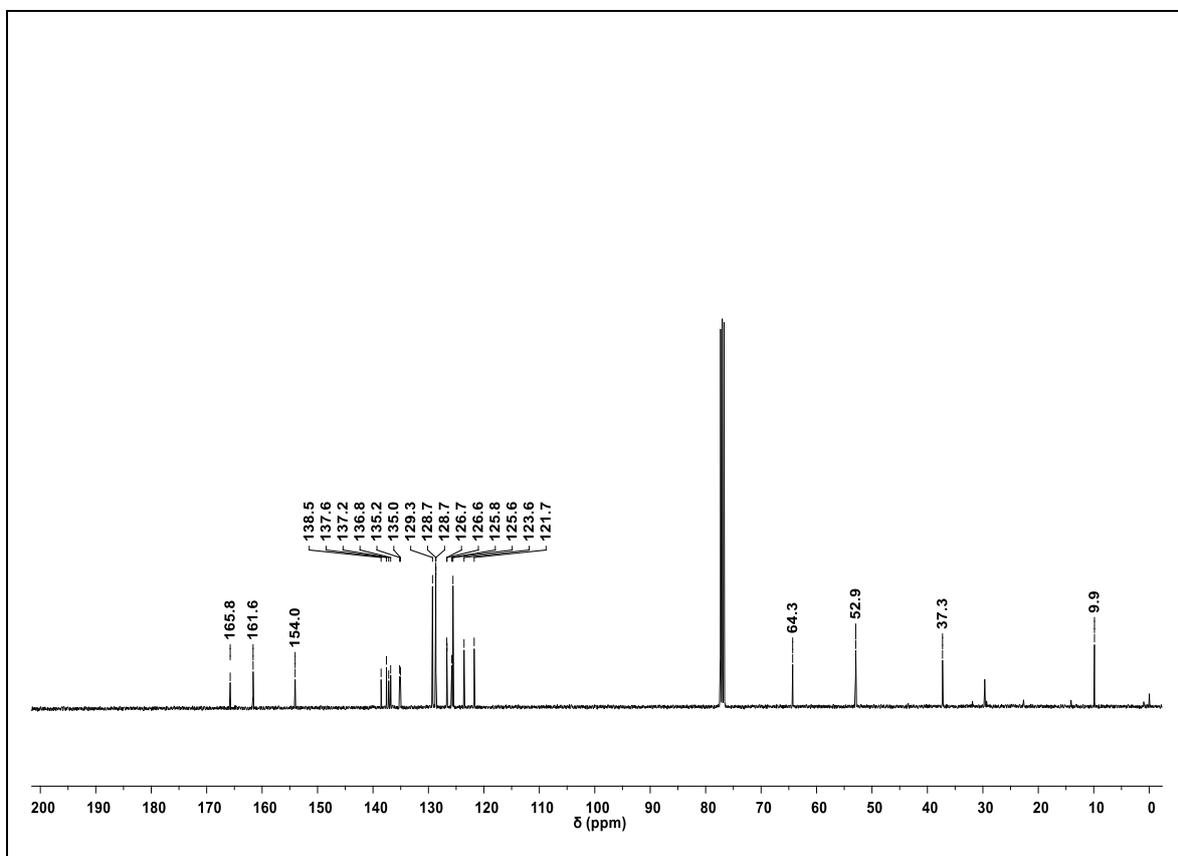
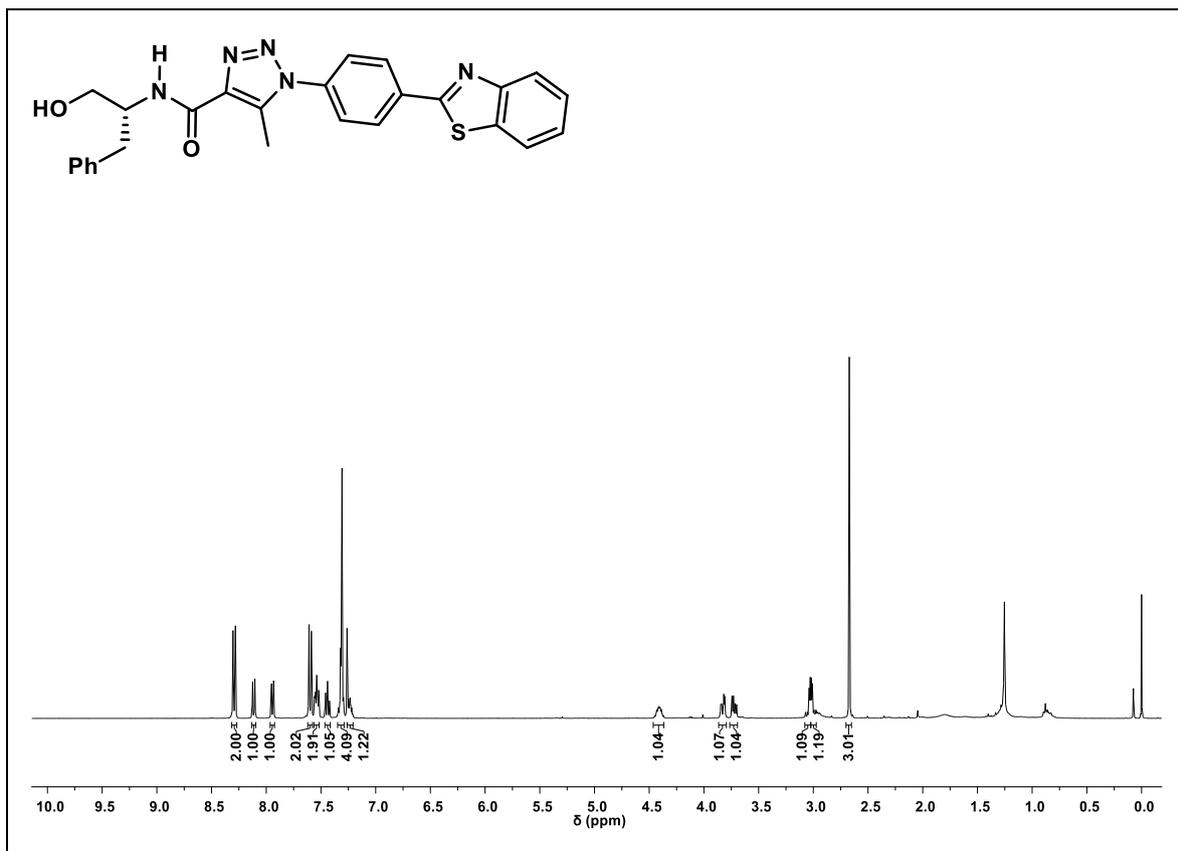
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **15c** em CDCl₃.



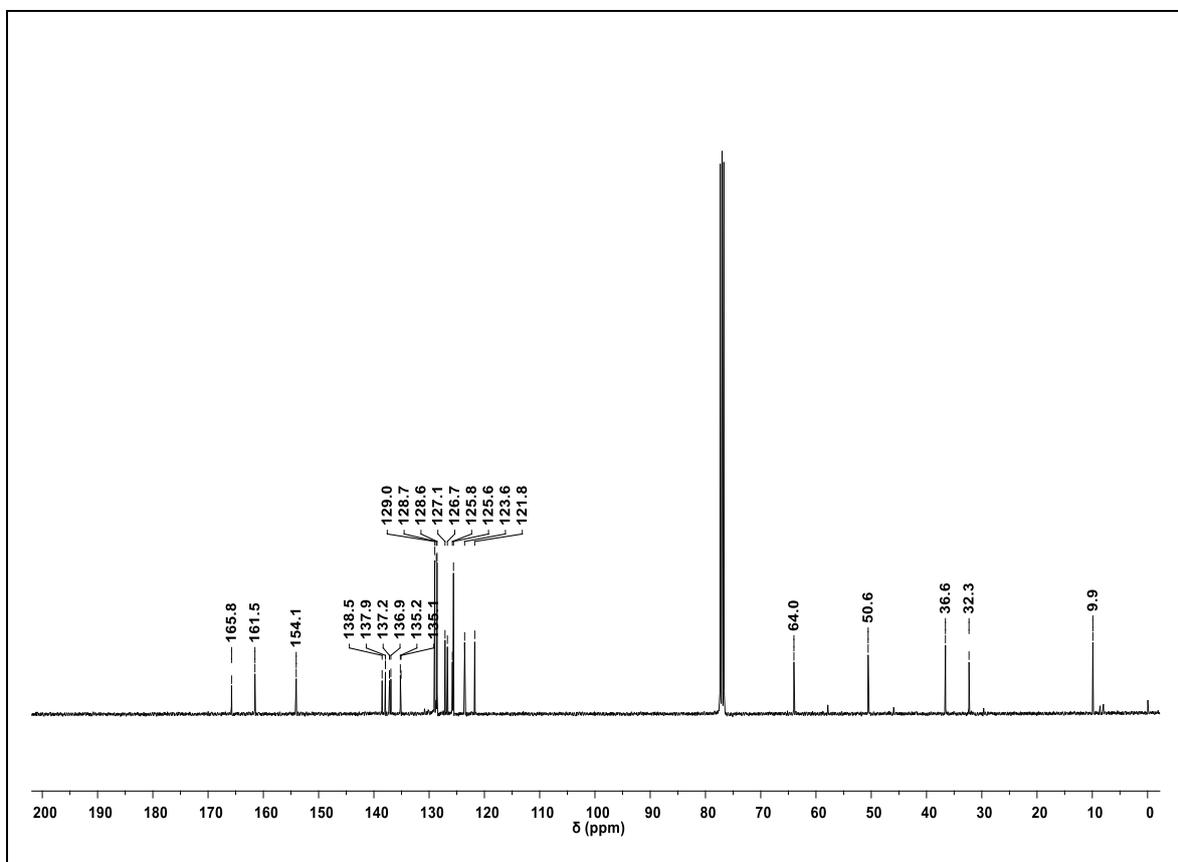
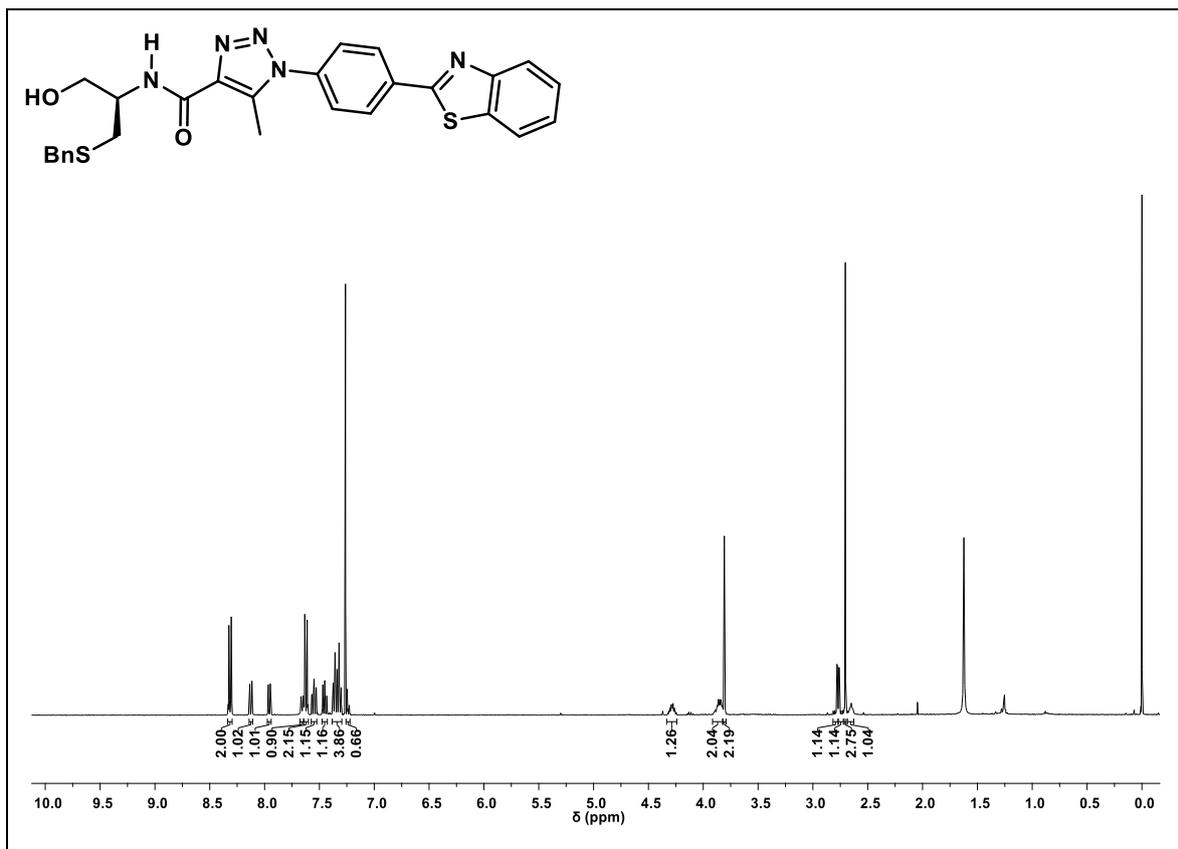
RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **15d** em CDCl₃.



RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **15e** em CDCl₃.

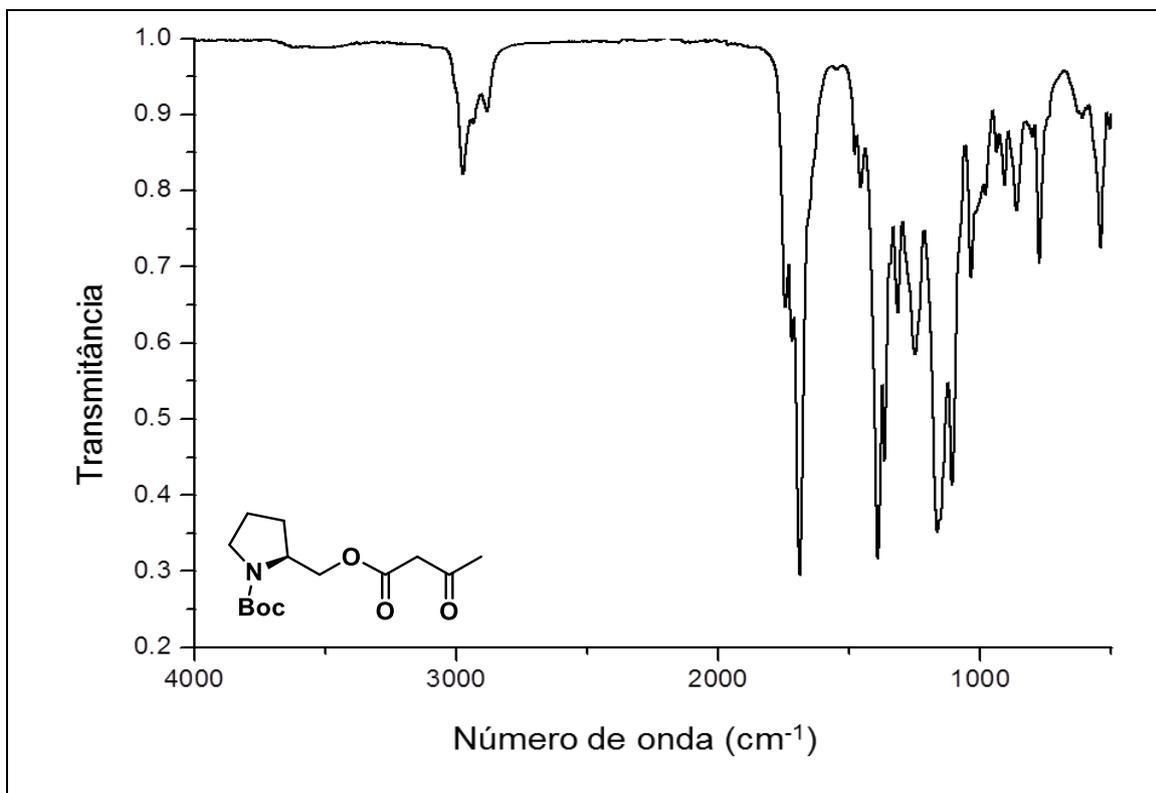


RMN-¹H (400 MHz) e RMN-¹³C (100 MHz) do composto **15f** em CDCl₃.

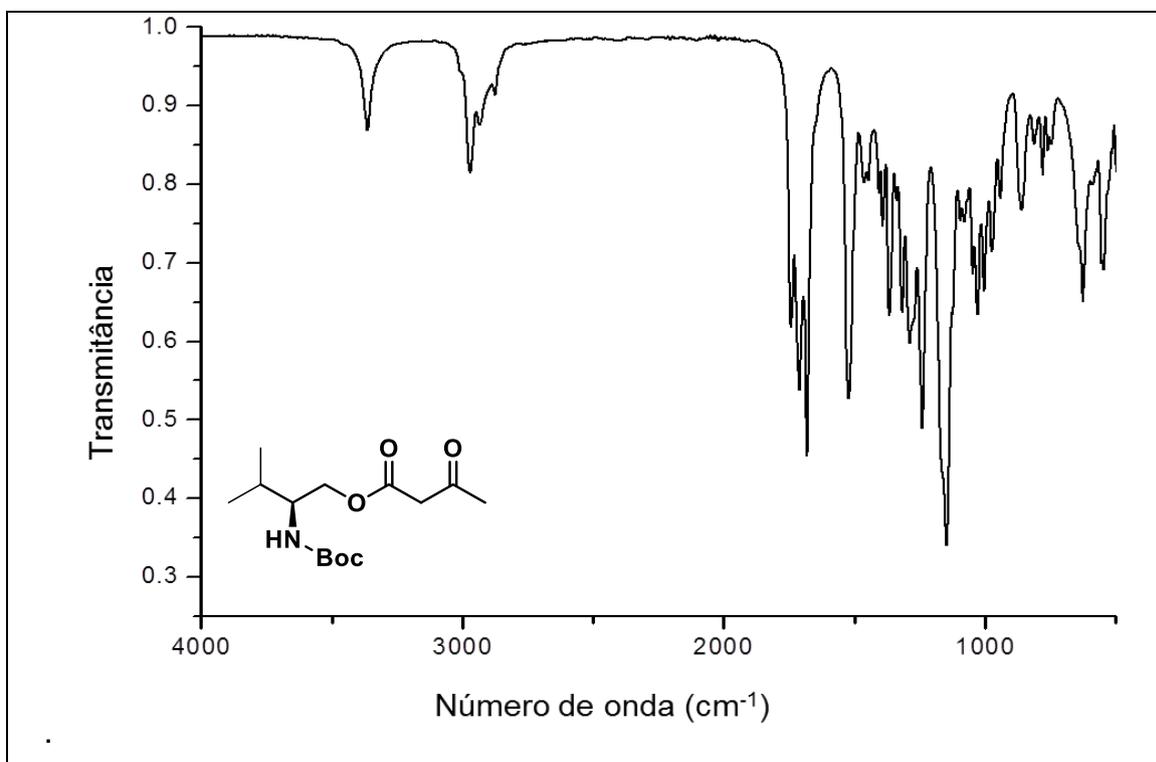


Espectros de infravermelho (FTIR-ATR)

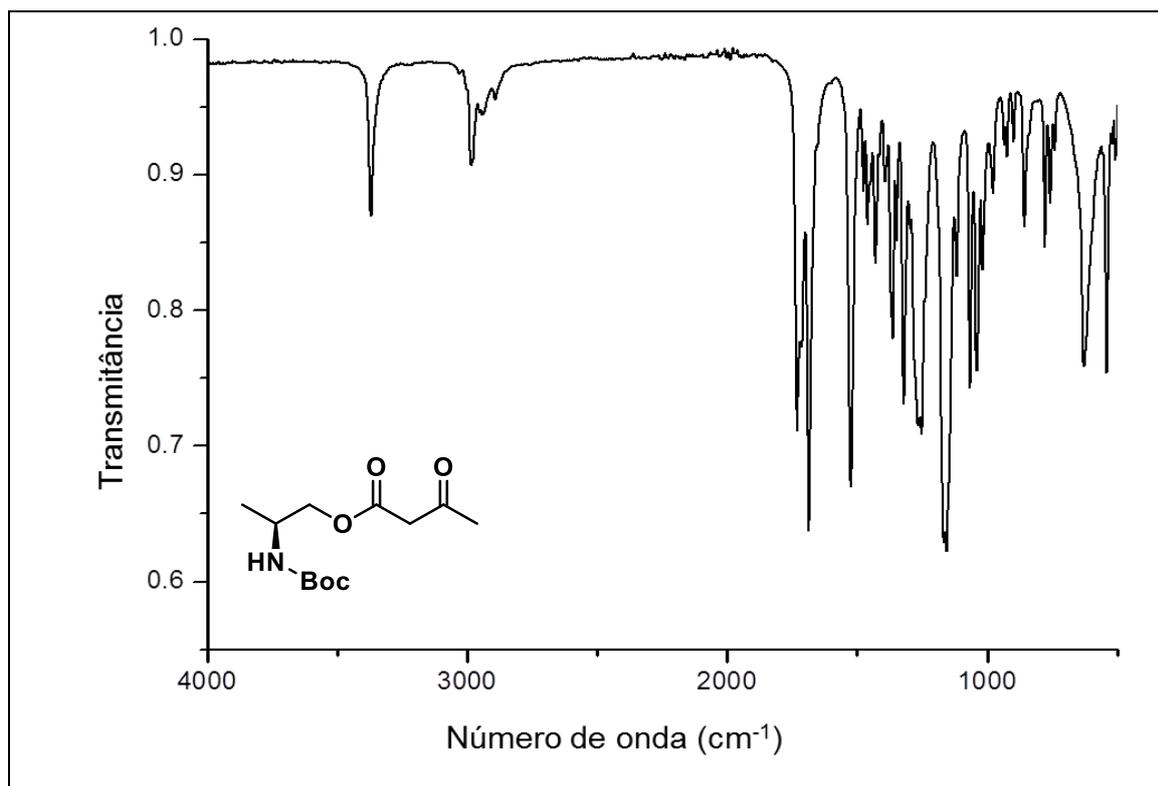
FTIR-ATR do composto **3**.



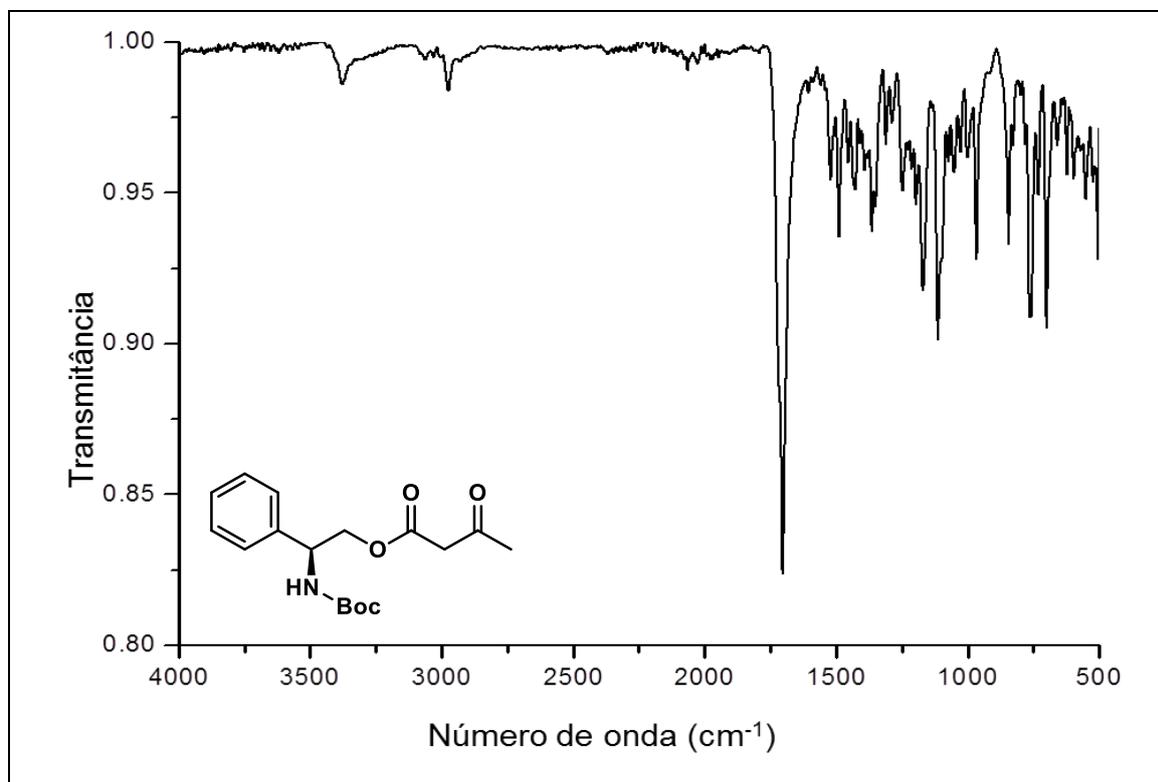
FTIR-ATR do composto **8a**.



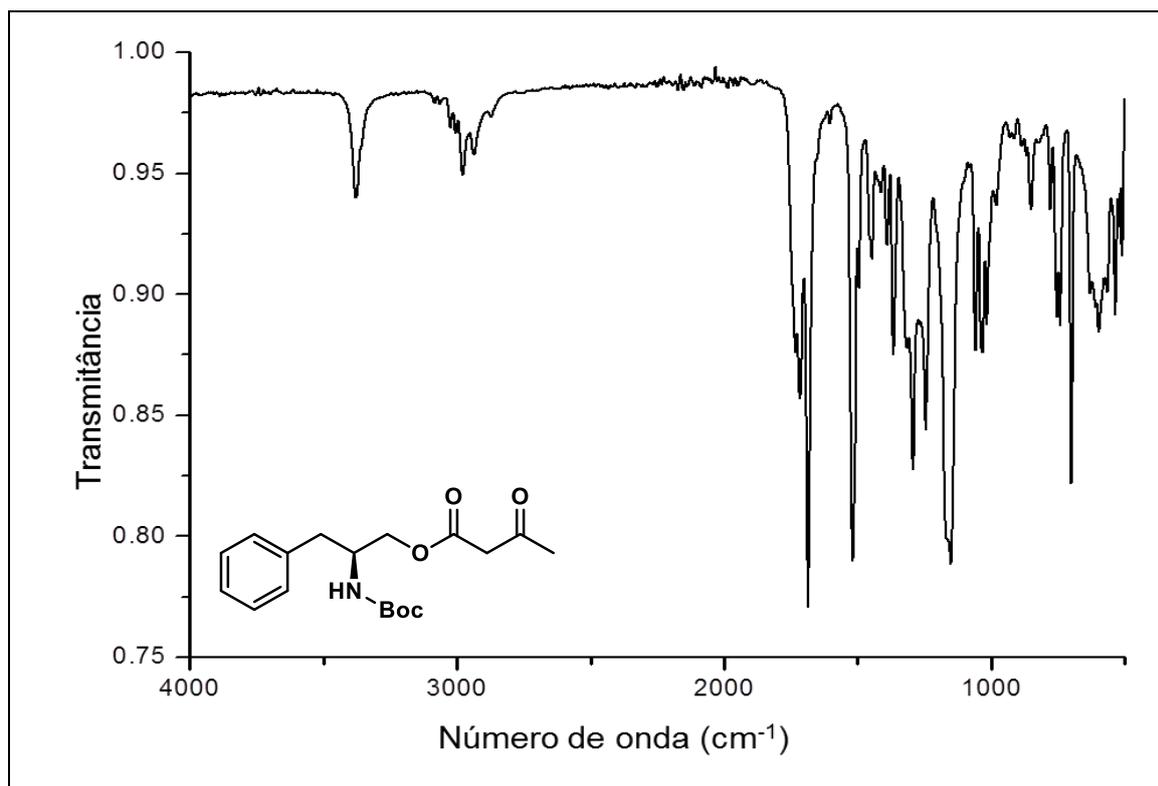
FTIR-ATR do composto **8b**.



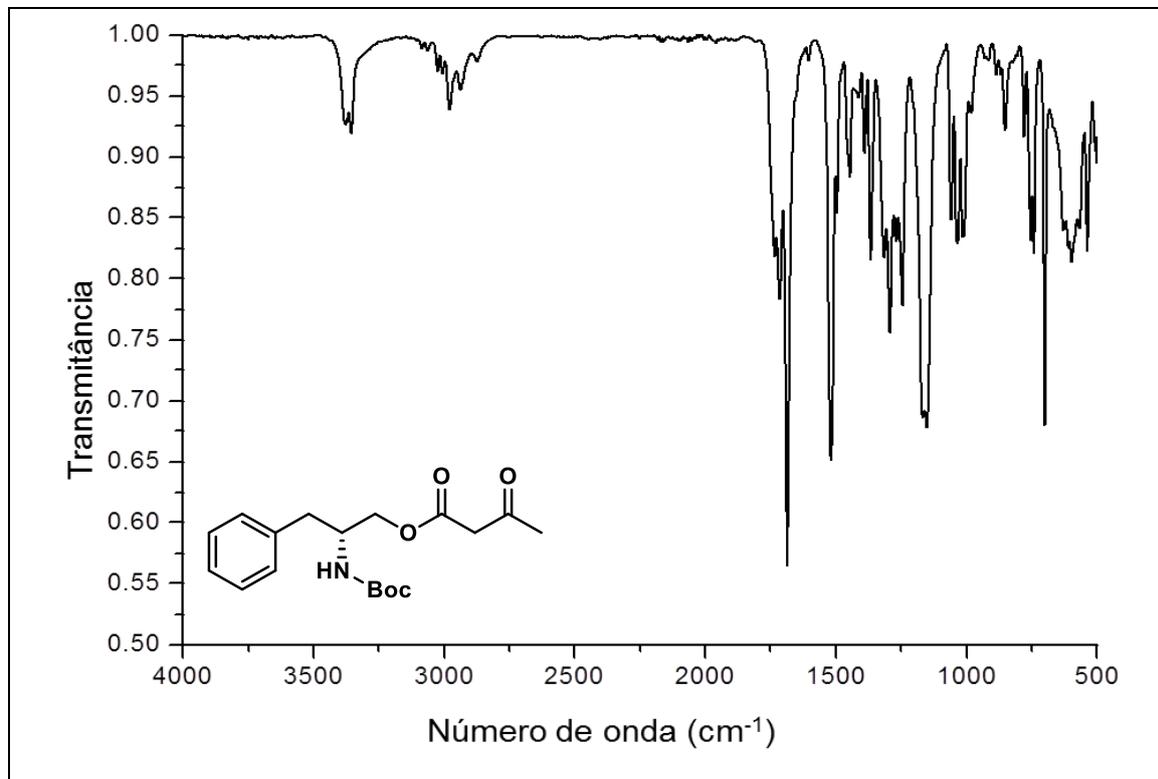
FTIR-ATR do composto **8c**.



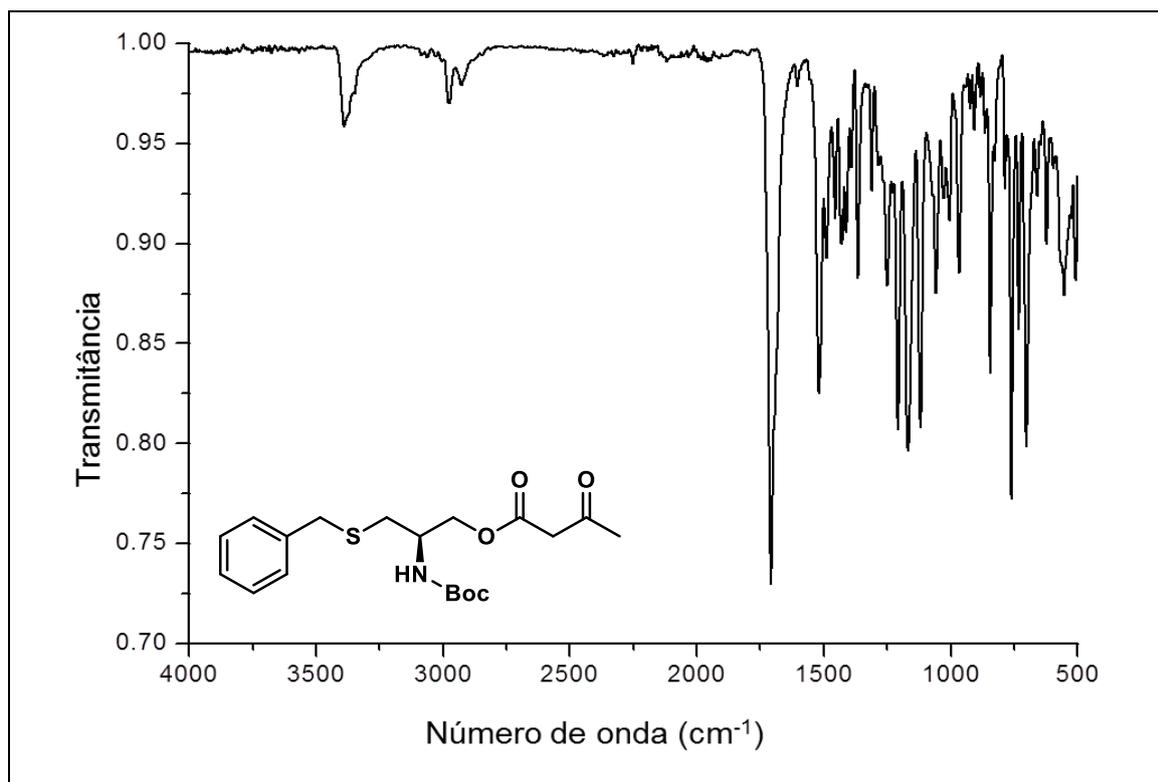
FTIR-ATR do composto **8d**.



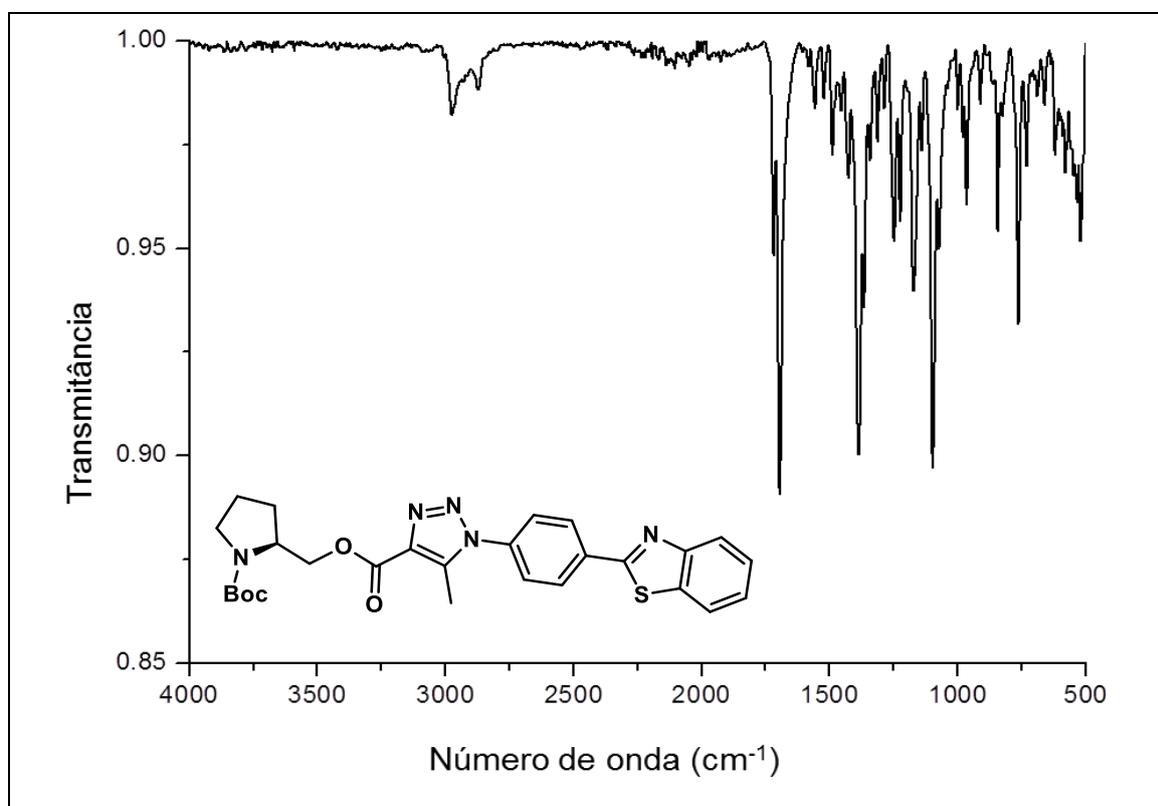
FTIR-ATR do composto **8e**.



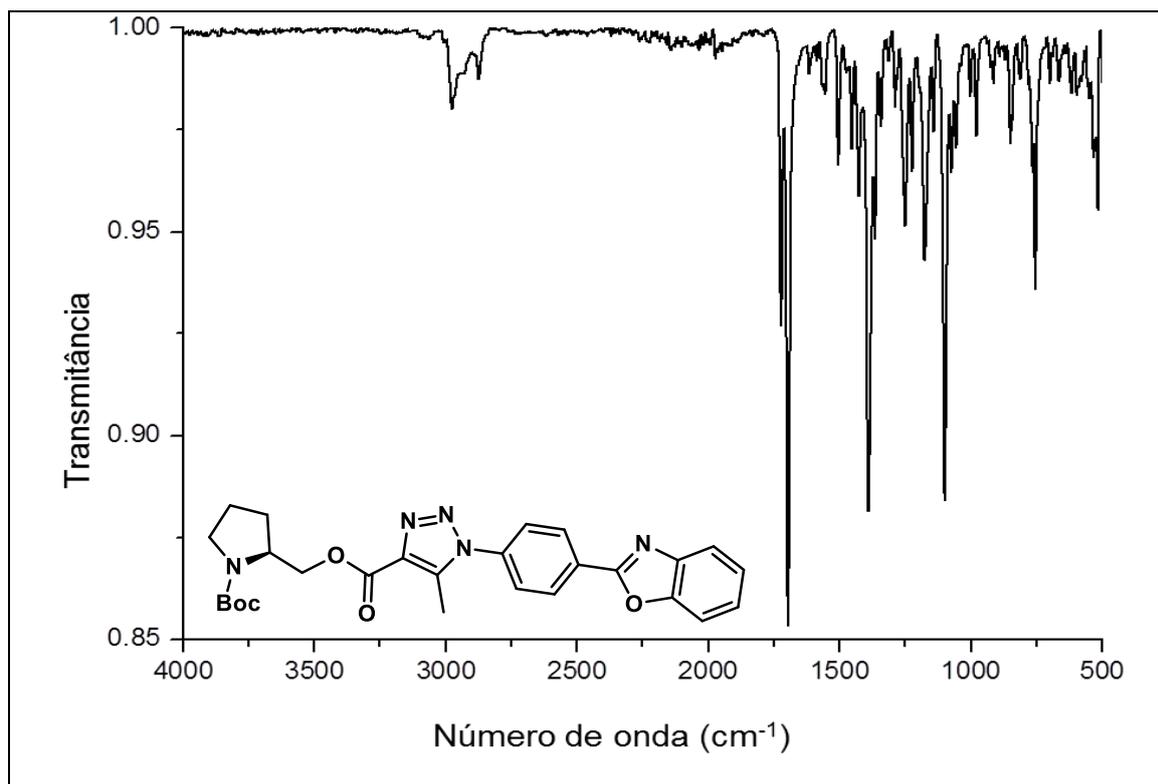
FTIR-ATR do composto **8f**.



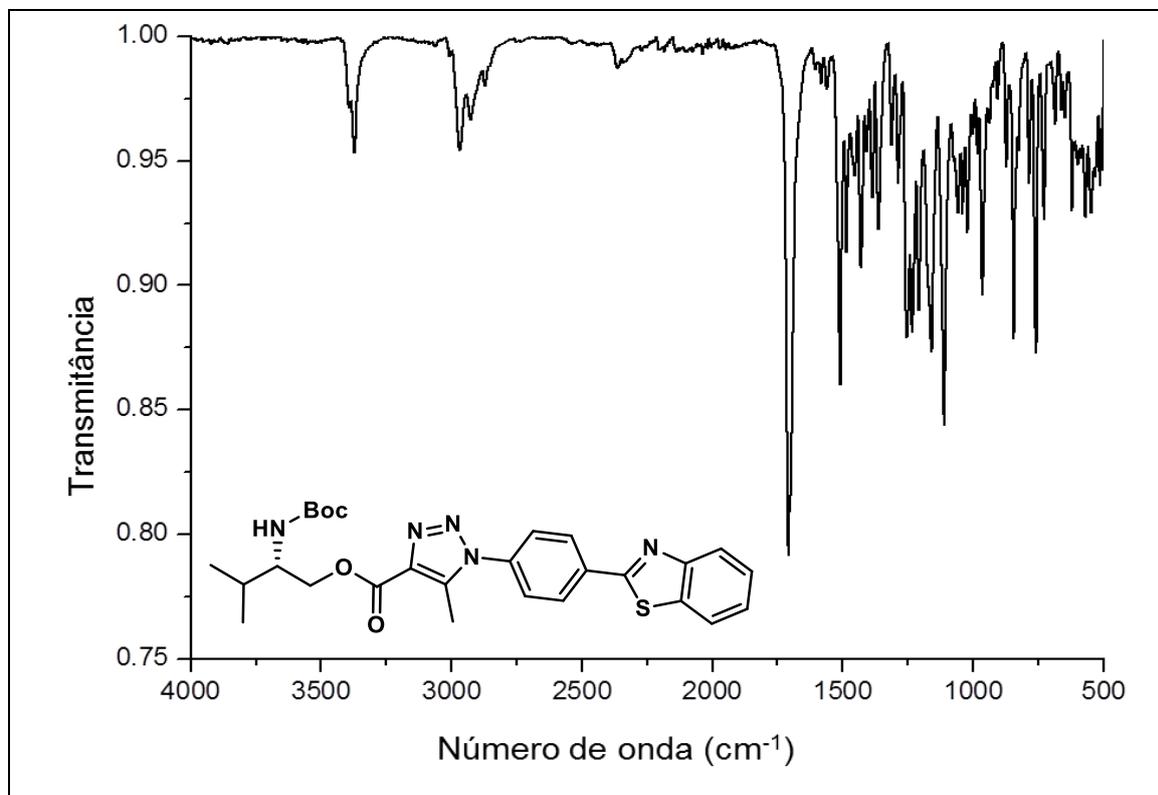
FTIR-ATR do composto **13a**.



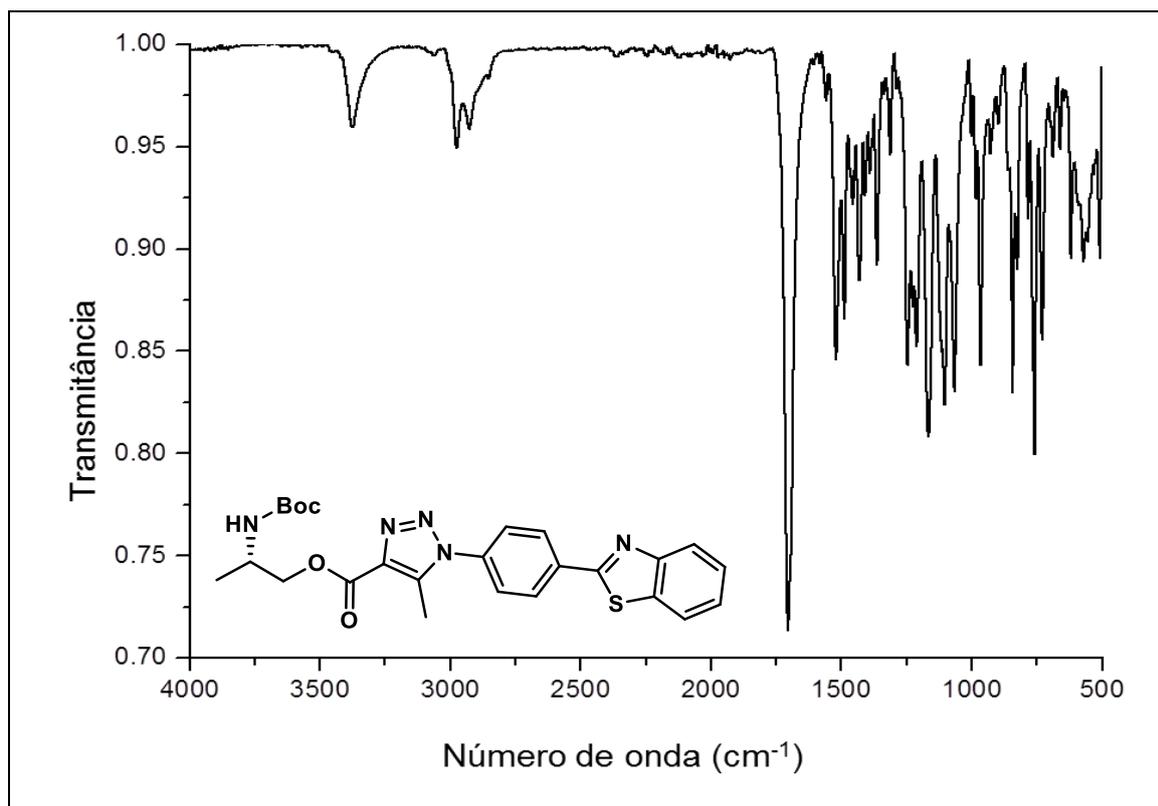
FTIR-ATR do composto **13b**.



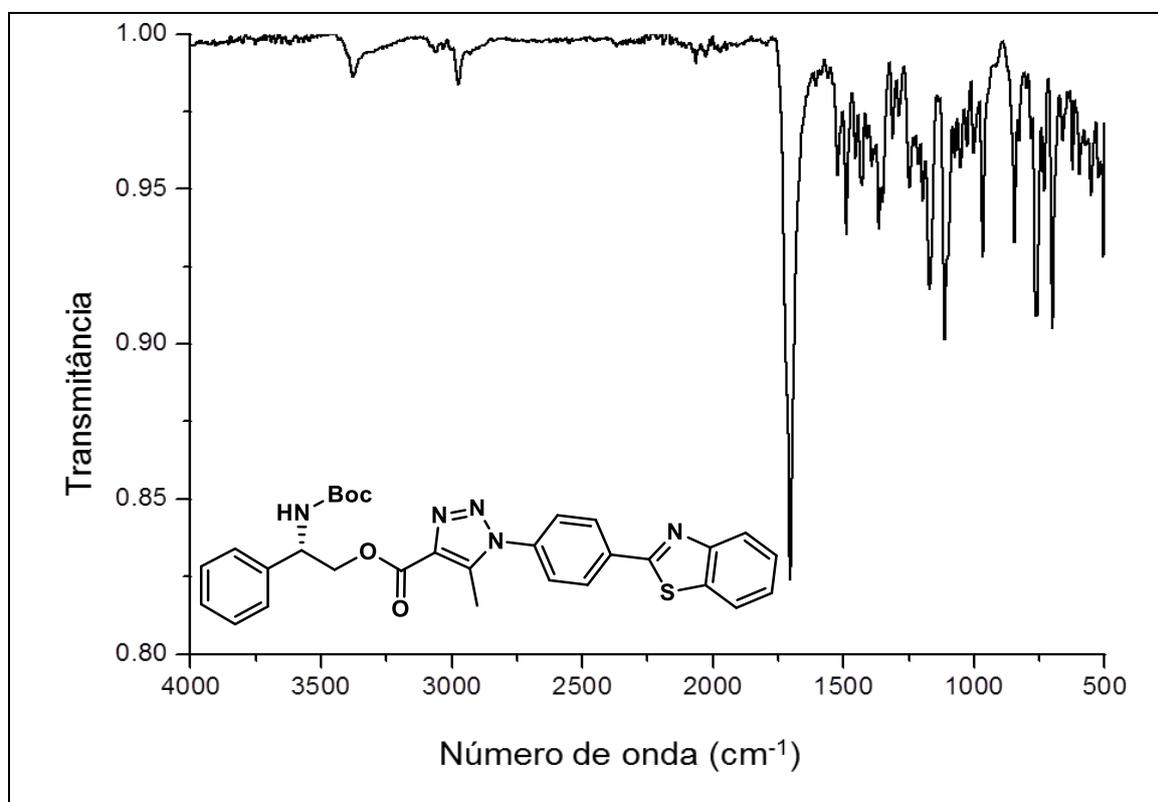
FTIR-ATR do composto **13c**.



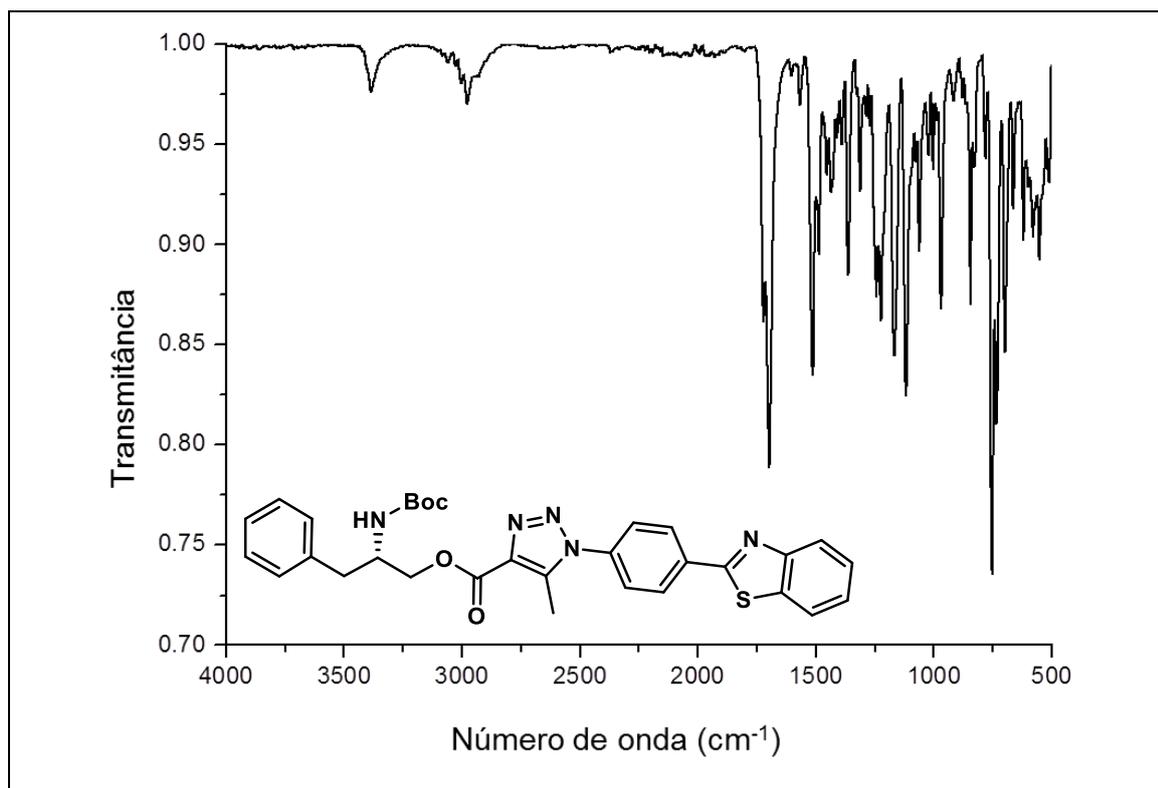
FTIR-ATR do composto **13d**.



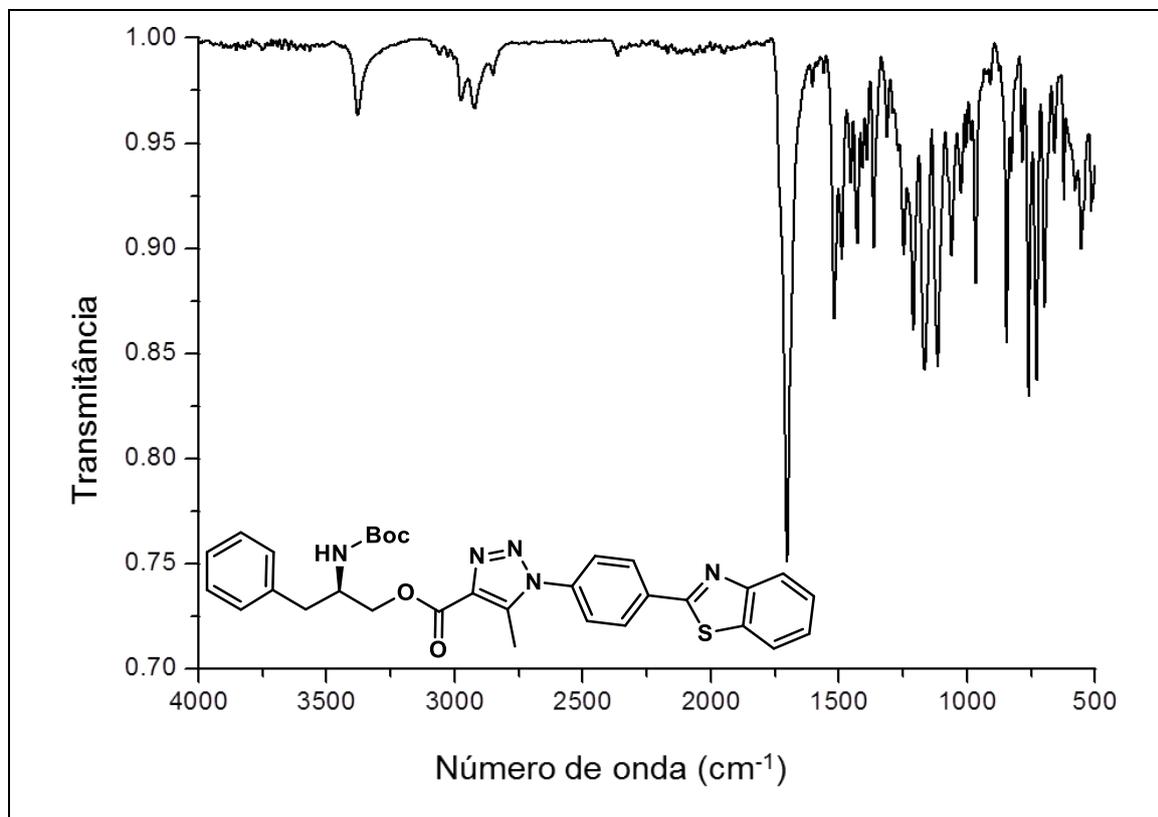
FTIR-ATR do composto **13e**.



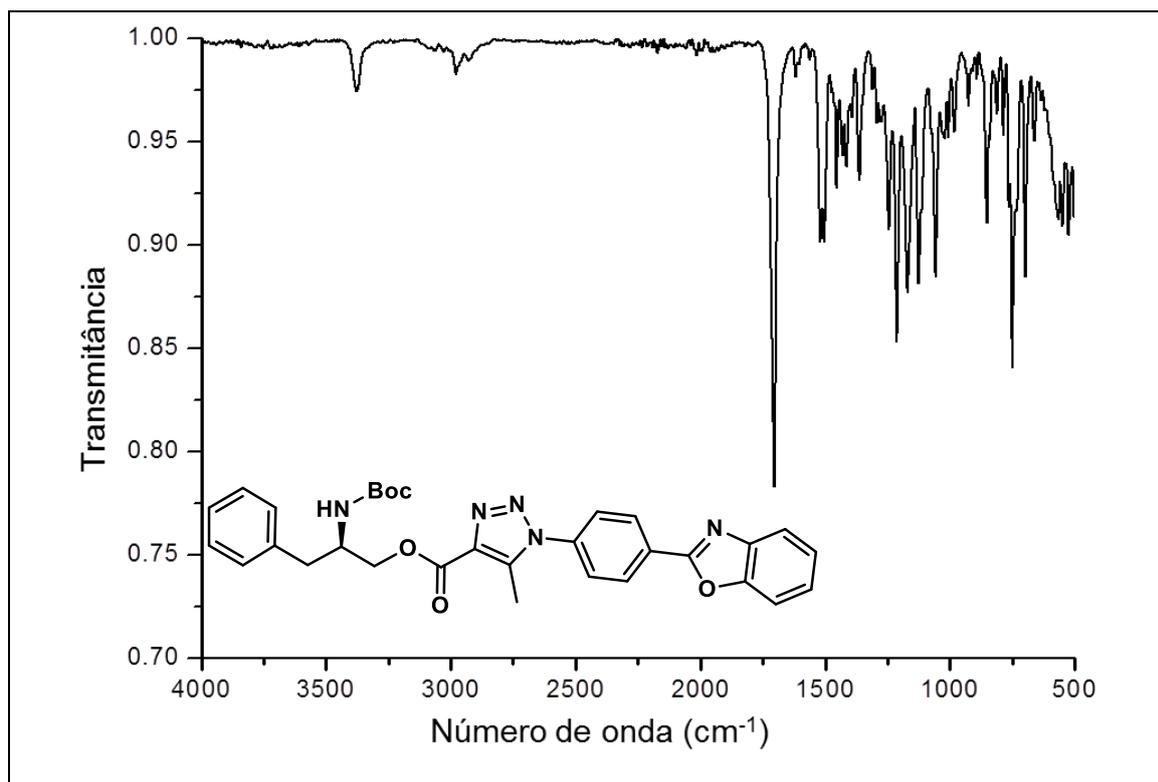
FTIR-ATR do composto **13f**.



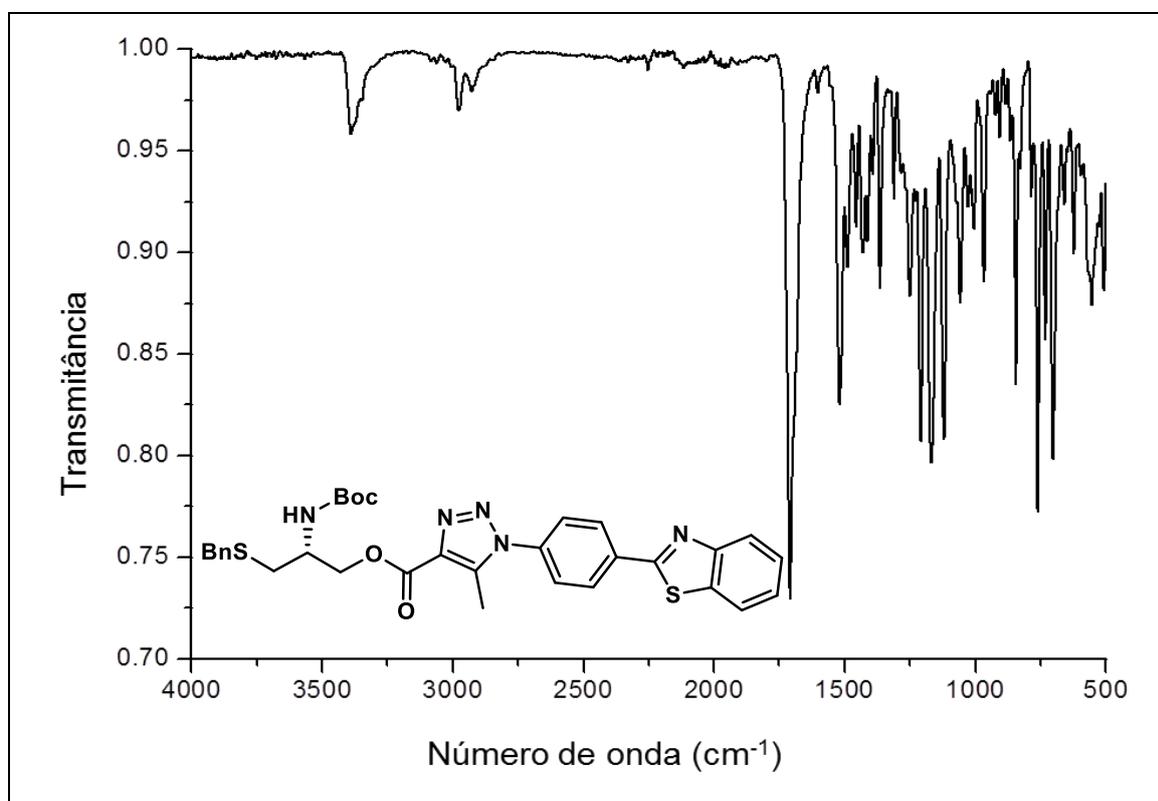
FTIR-ATR do composto **13g**.



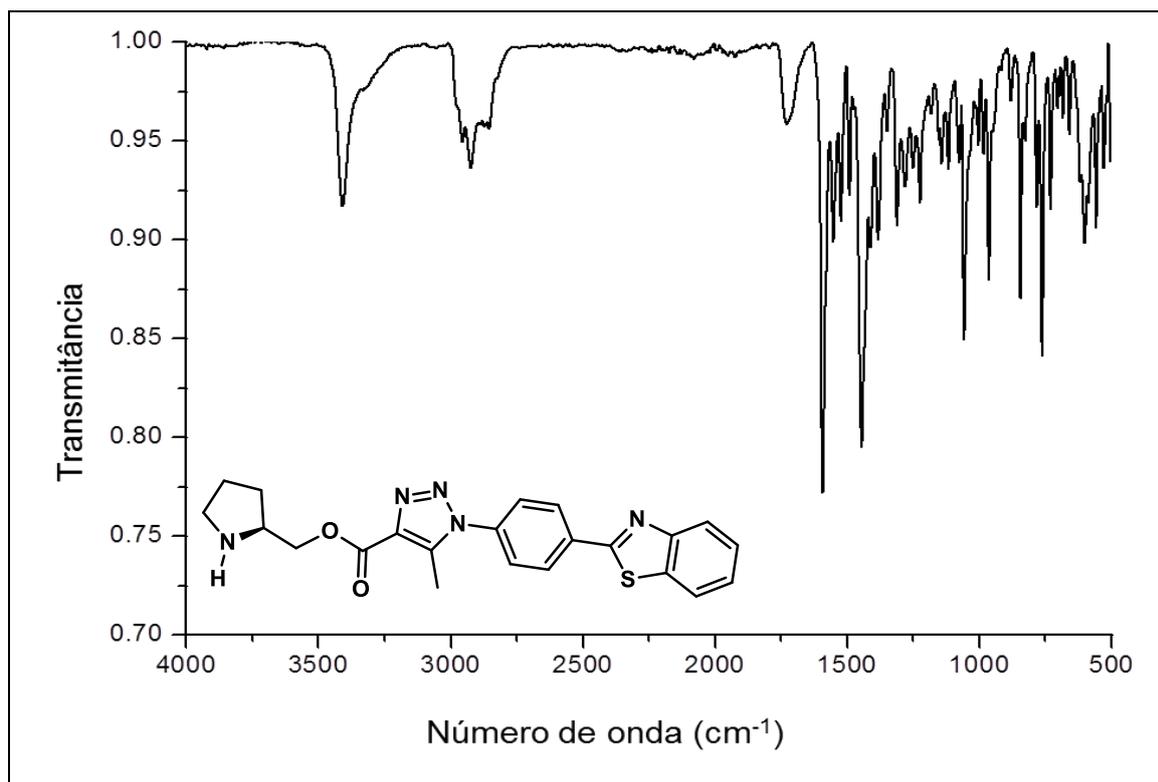
FTIR-ATR do composto **13h**.



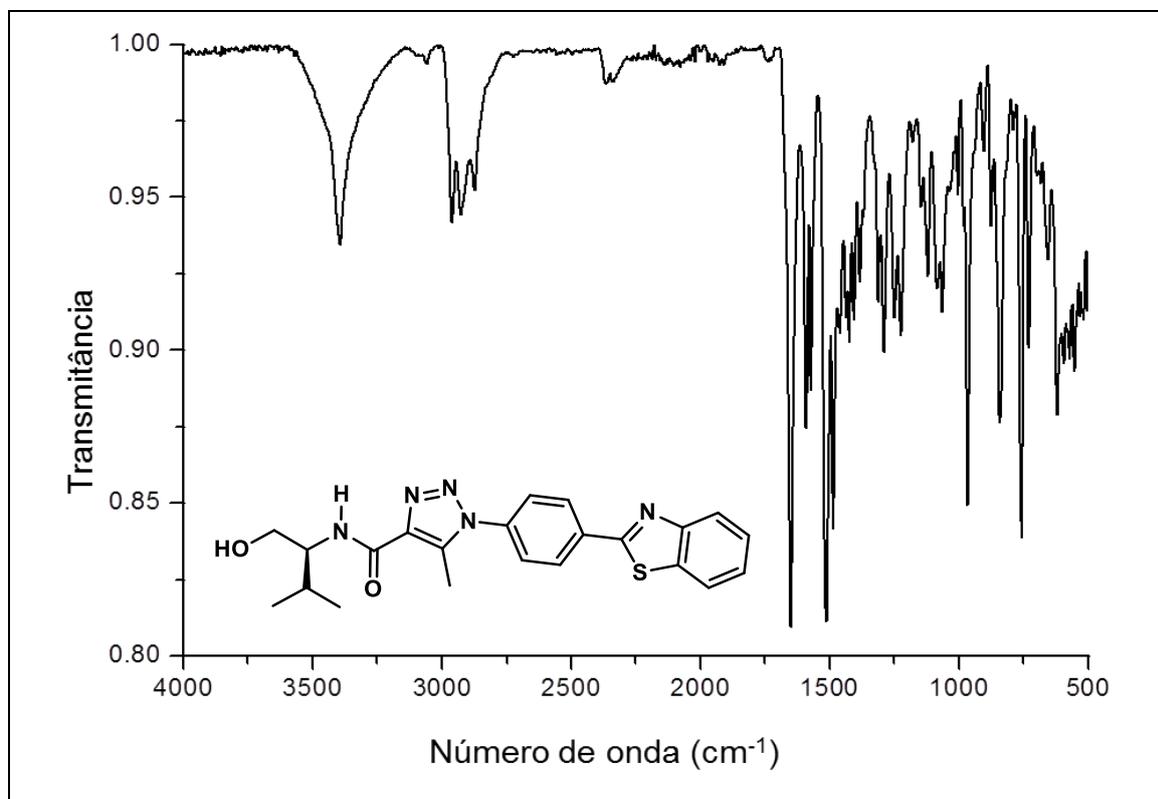
FTIR-ATR do composto **13i**.



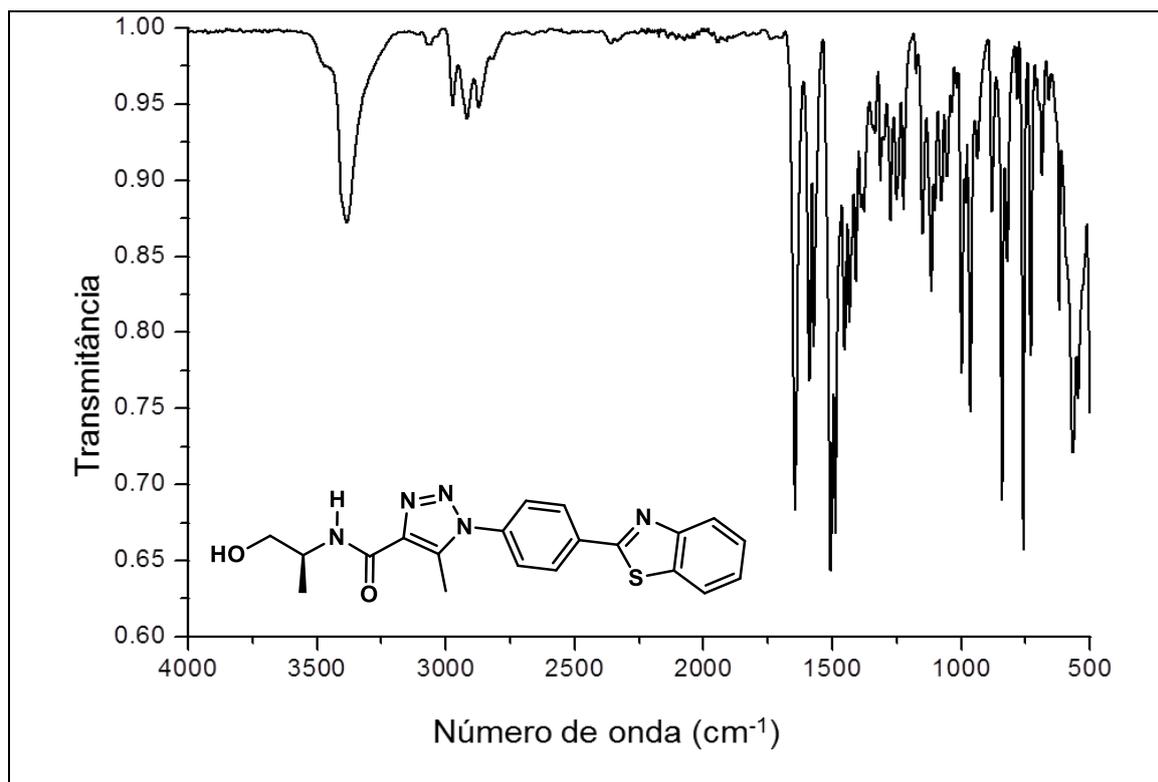
FTIR-ATR do composto **14**.



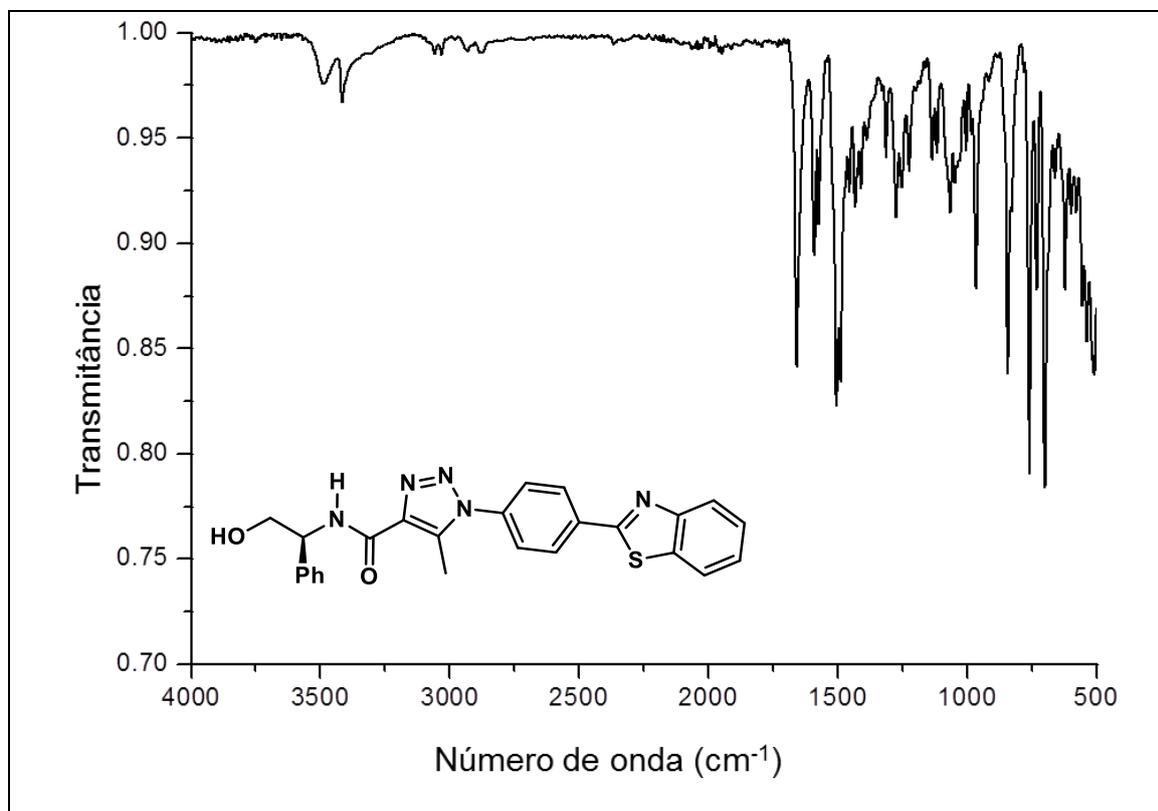
FTIR-ATR do composto **15a**.



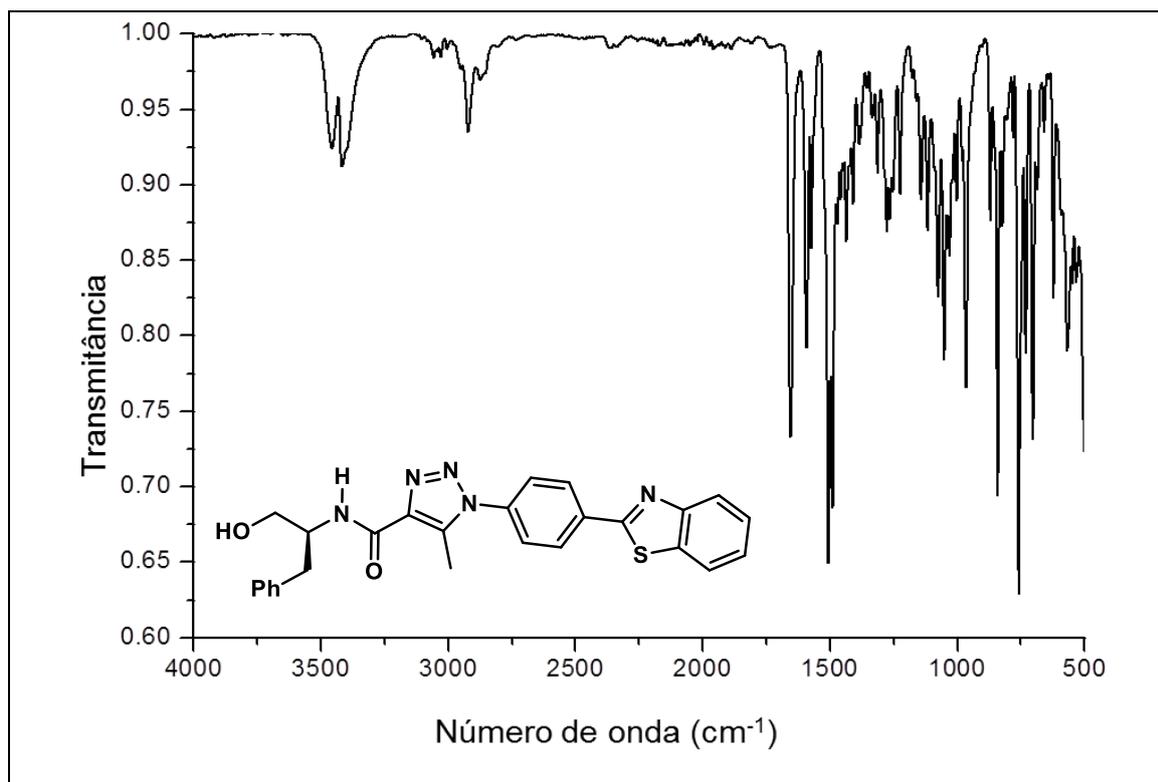
FTIR-ATR do composto **15b**.



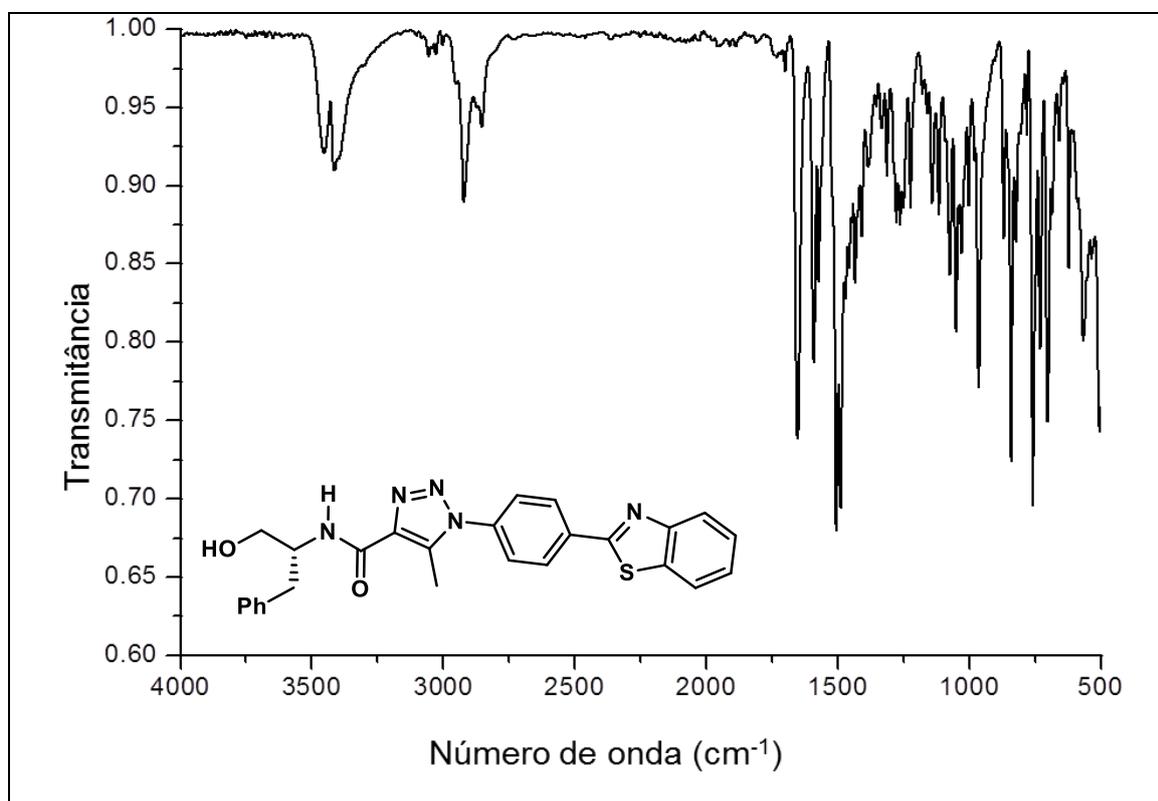
FTIR-ATR do composto **15c**.



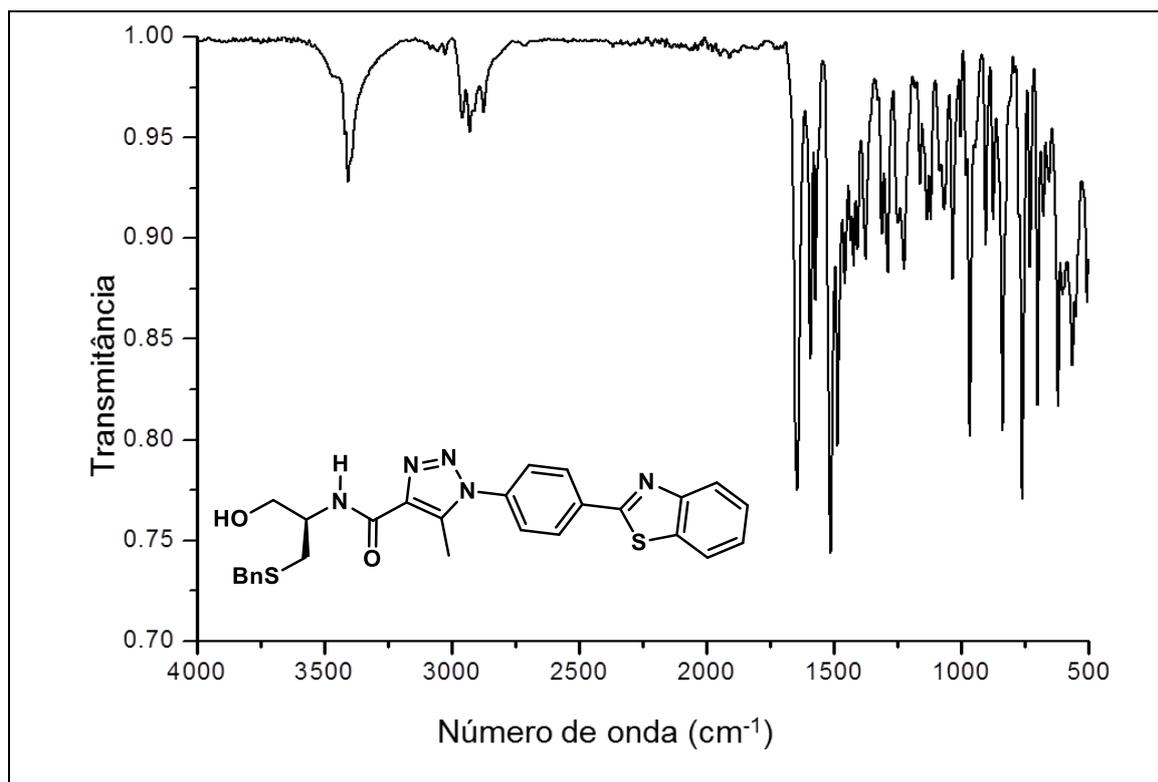
FTIR-ATR do composto **15d**.



FTIR-ATR do composto **15e**.

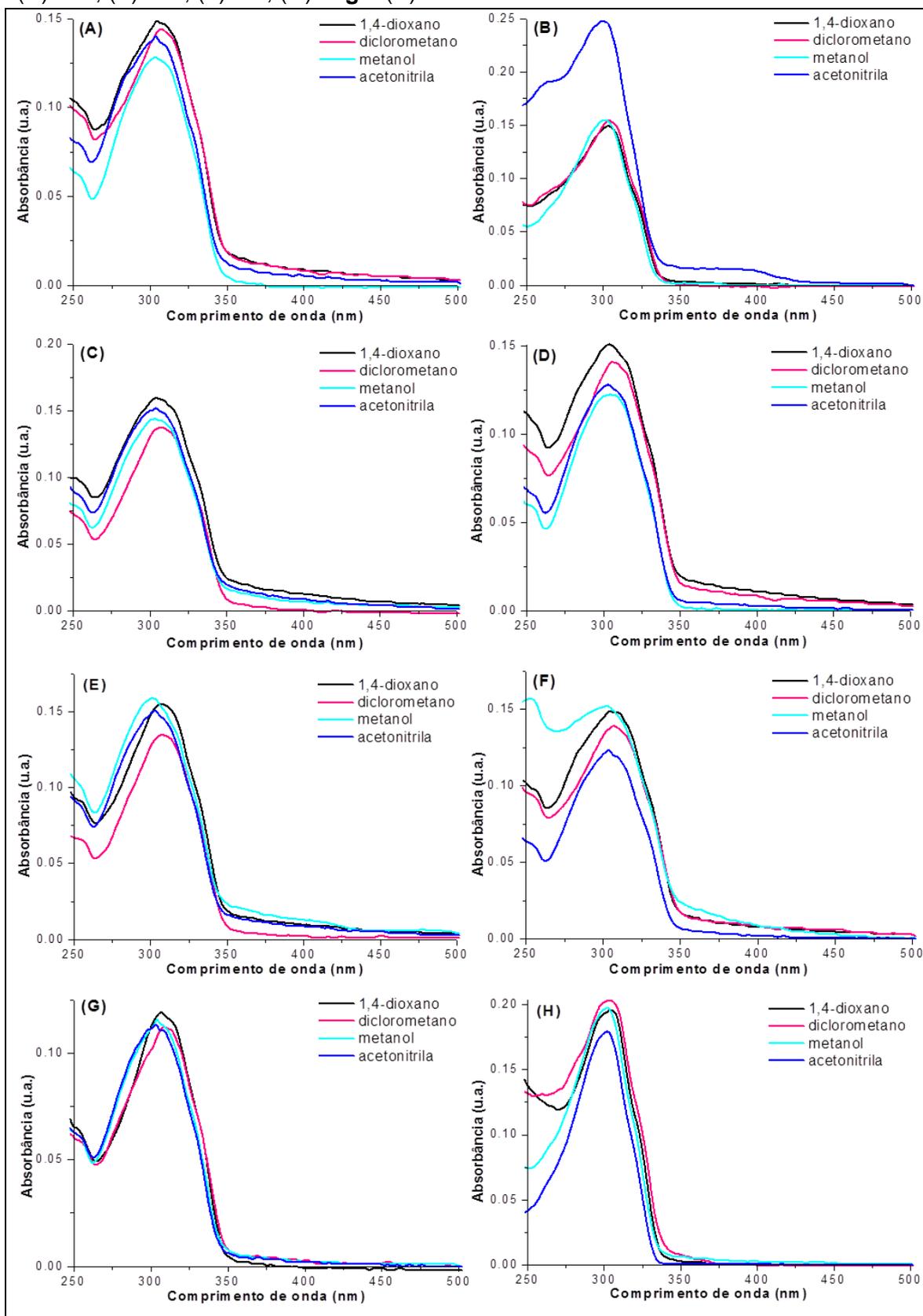


FTIR-ATR do composto **15f**.

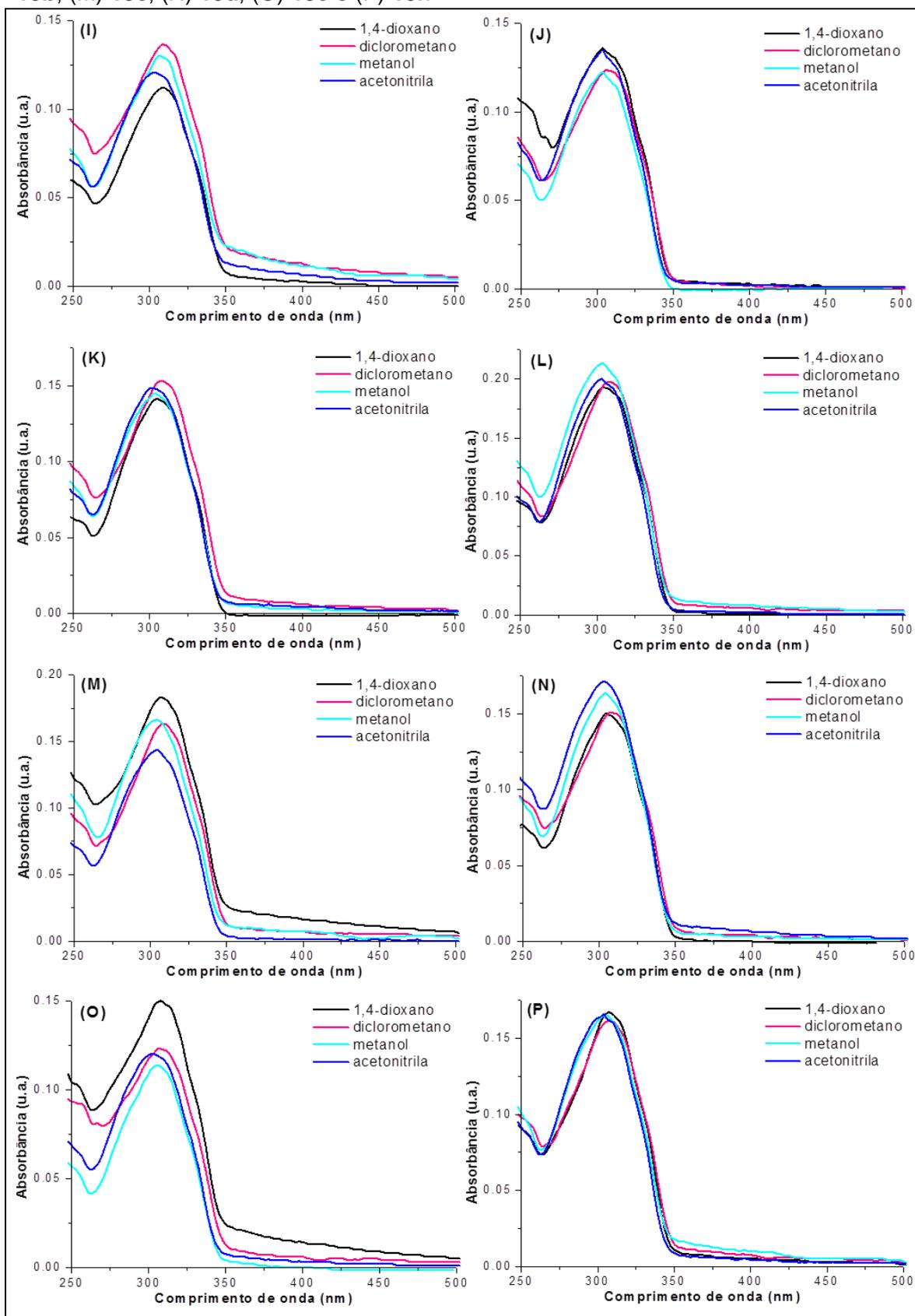


Espectros de absorção na região do UV-Visível (UV-Vis)

UV-Vis dos compostos nos diferentes solventes estudados: (A) **13a**, (B) **13b**, (C) **13c**, (D) **13d**, (E) **13e**, (F) **13f**, (G) **13g** e (H) **13h**.

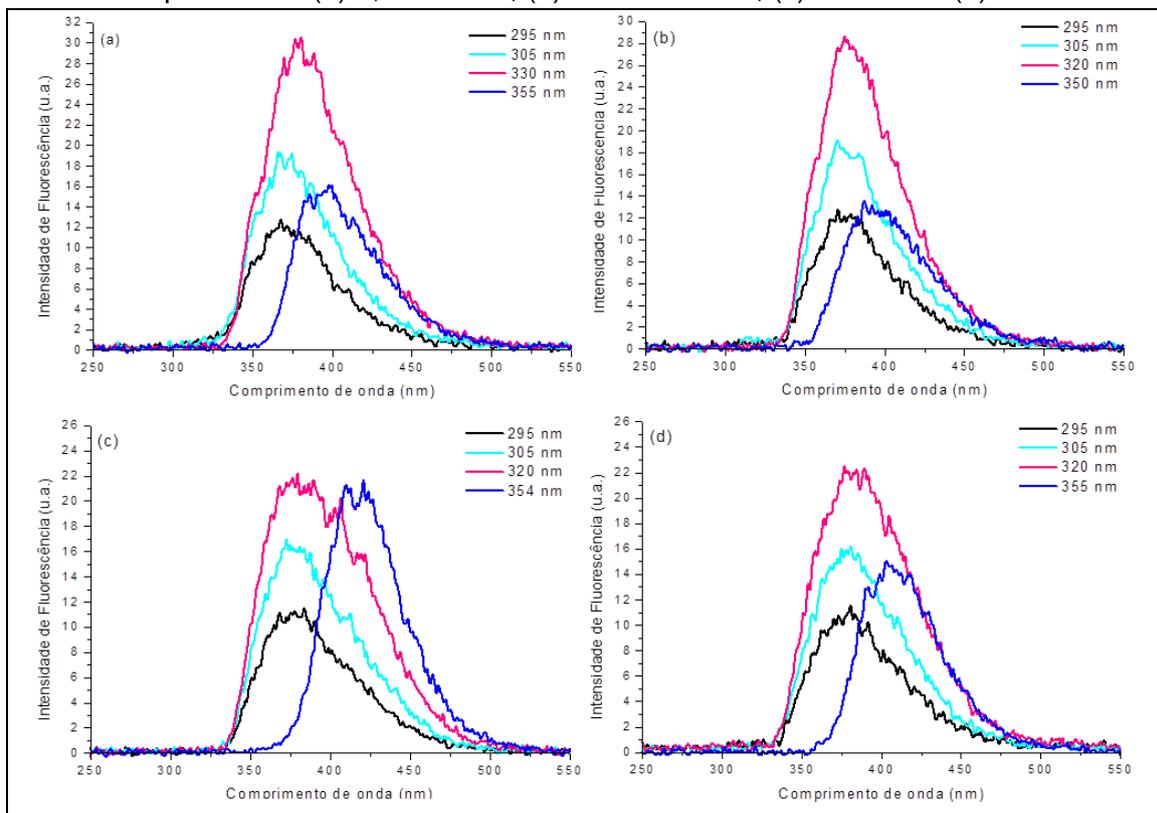


UV-Vis dos compostos nos diferentes solventes estudados: (I) **13i**, (J) **14**, (K) **15a**, (L) **15b**, (M) **15c**, (N) **15d**, (O) **15e** e (P) **15f**.

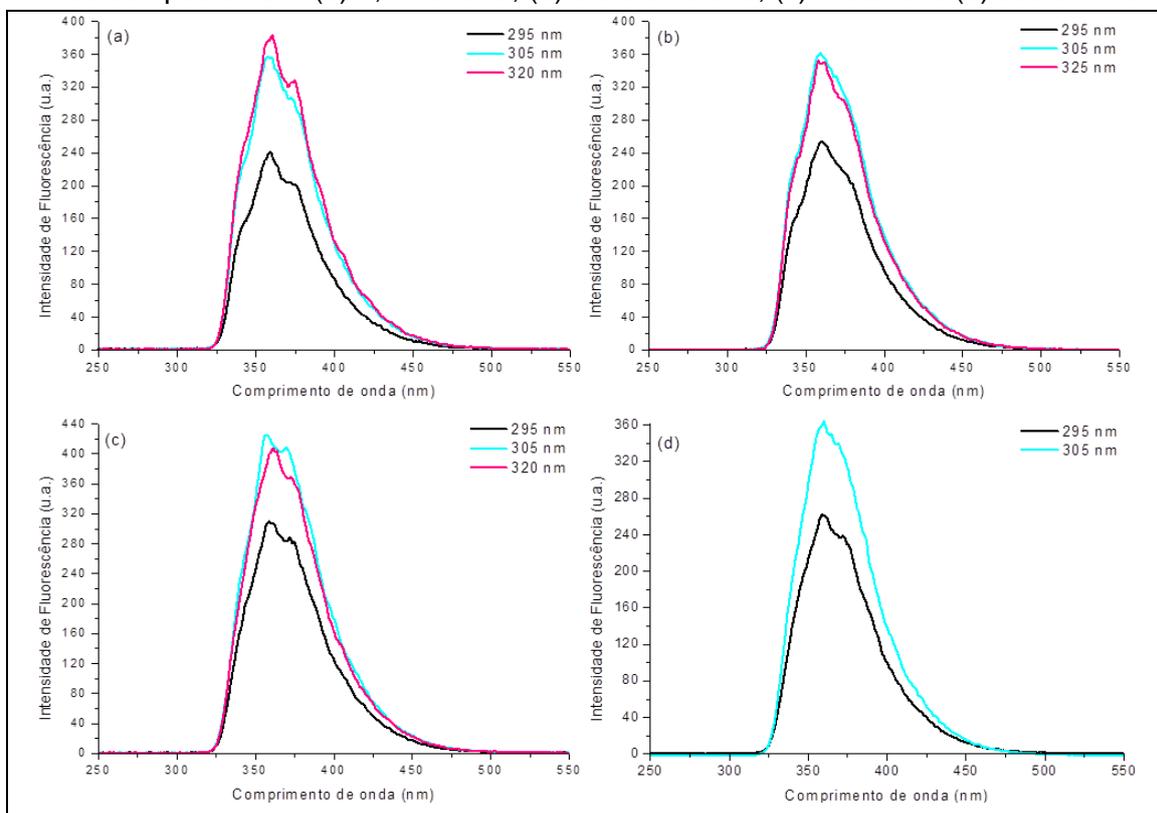


Espectros de emissão de fluorescência (EF)

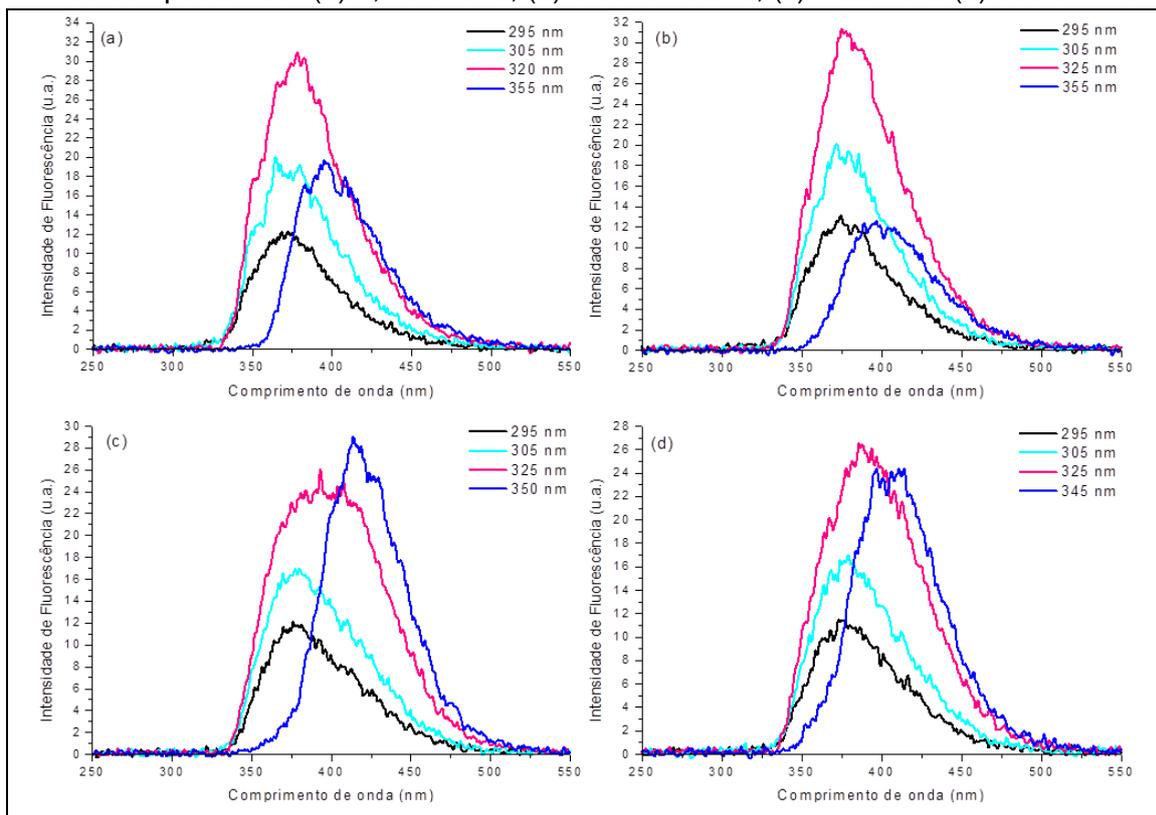
EF do composto **13a**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



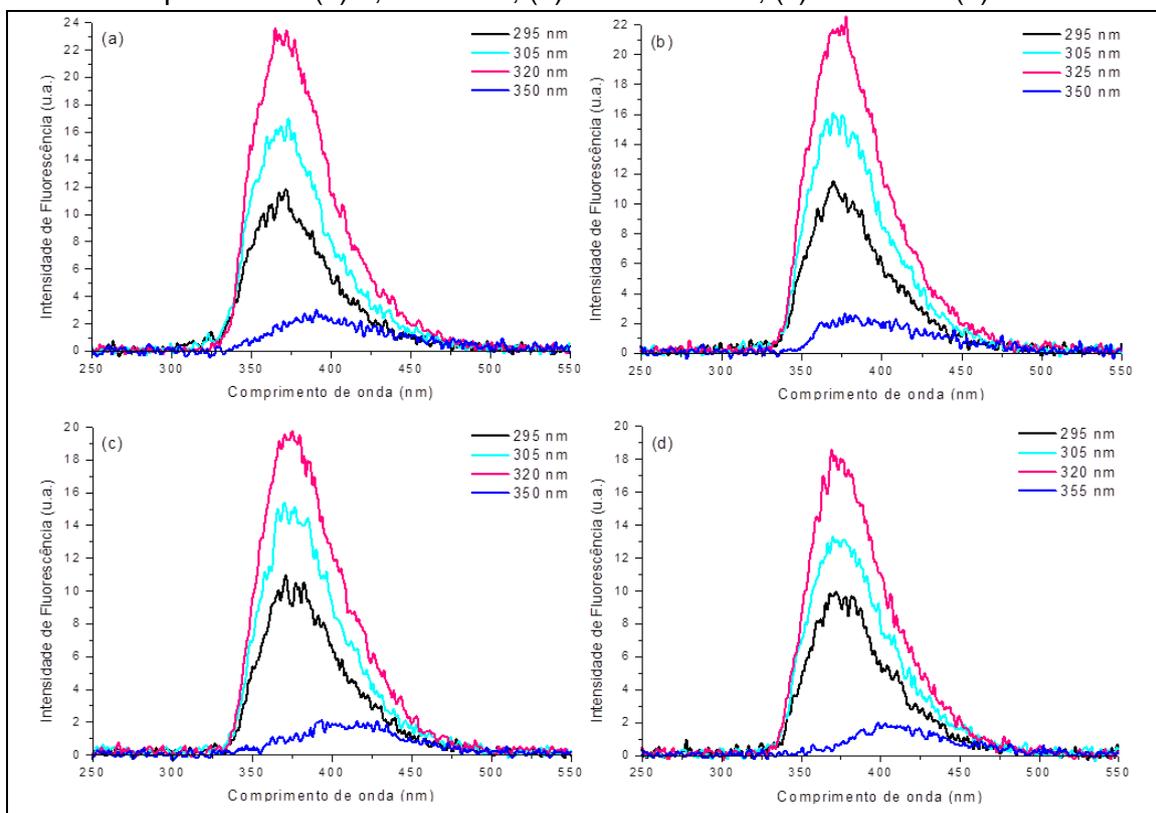
EF do composto **13b**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



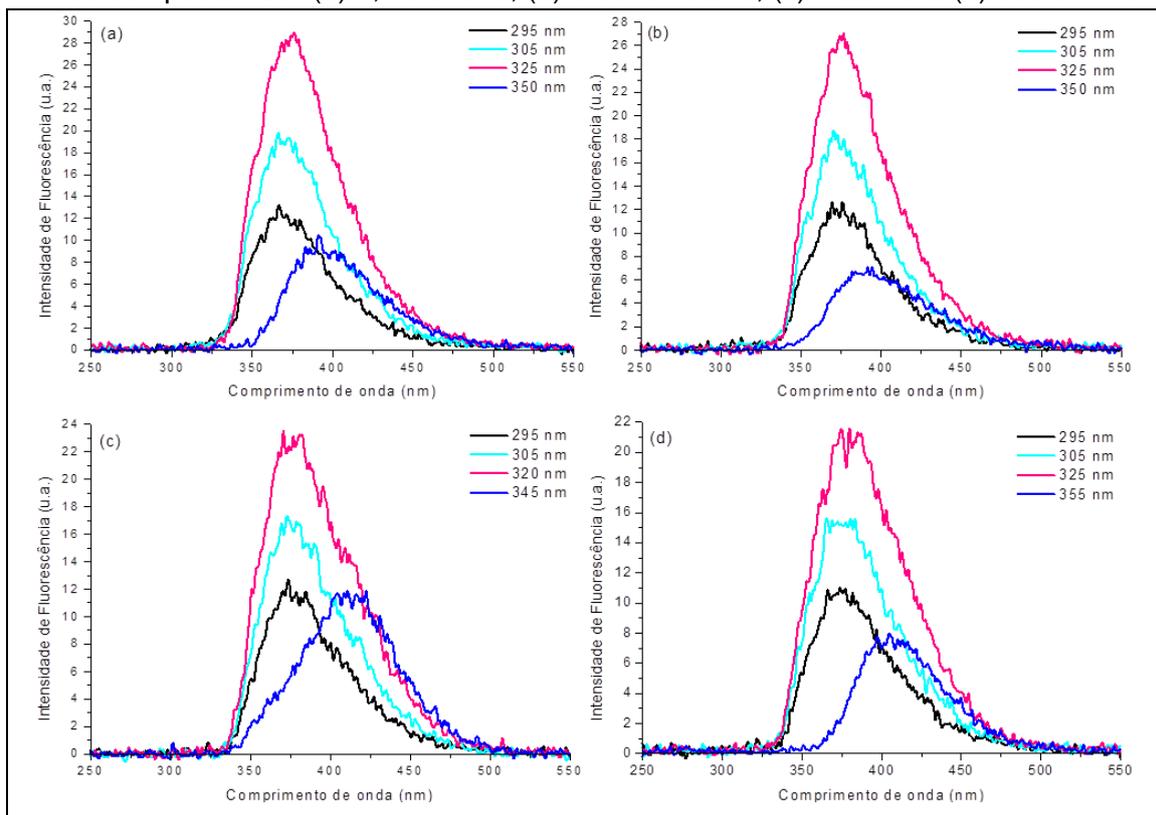
EF do composto **13c**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



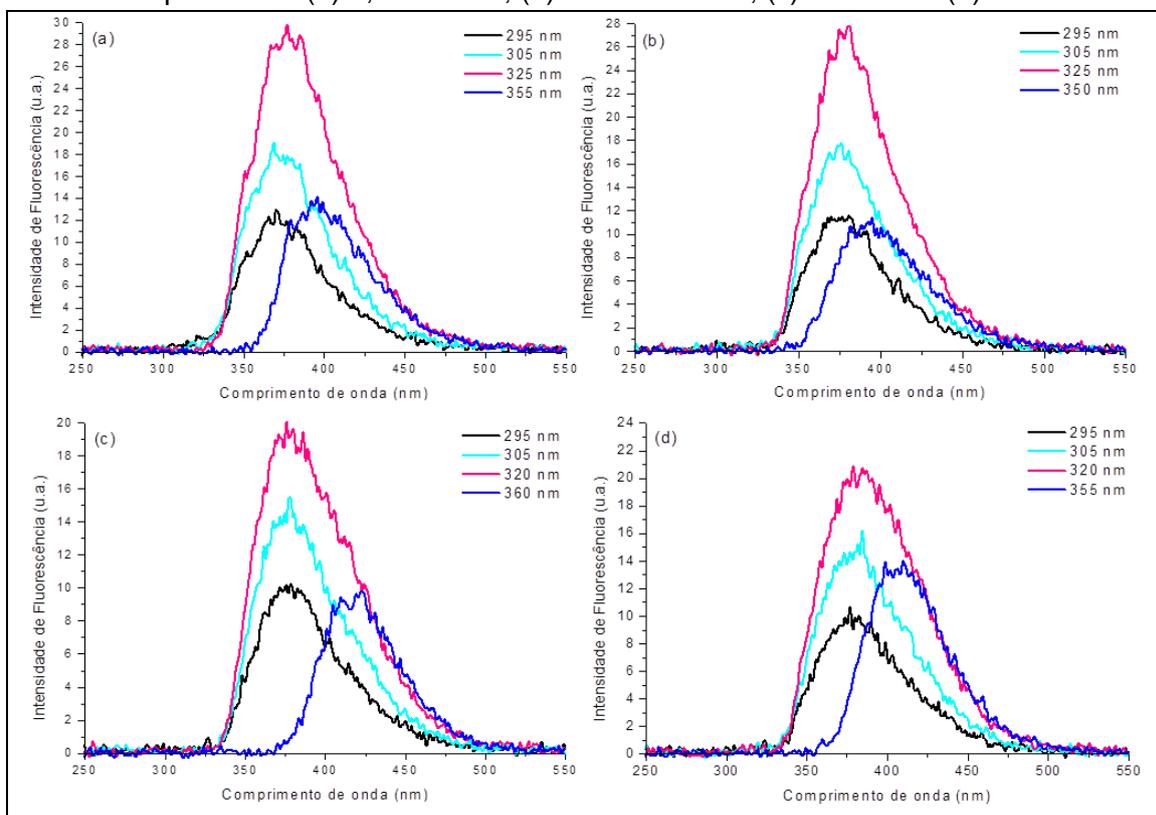
EF do composto **13d**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



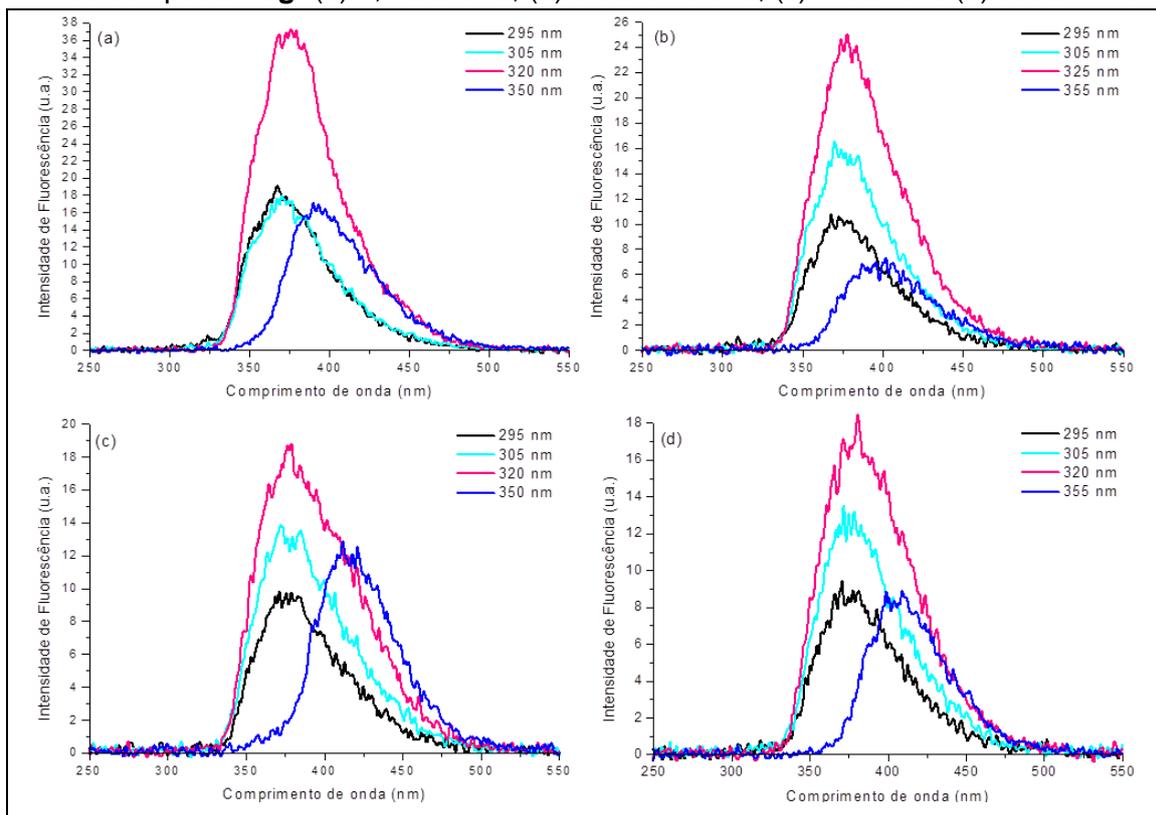
EF do composto **13e**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



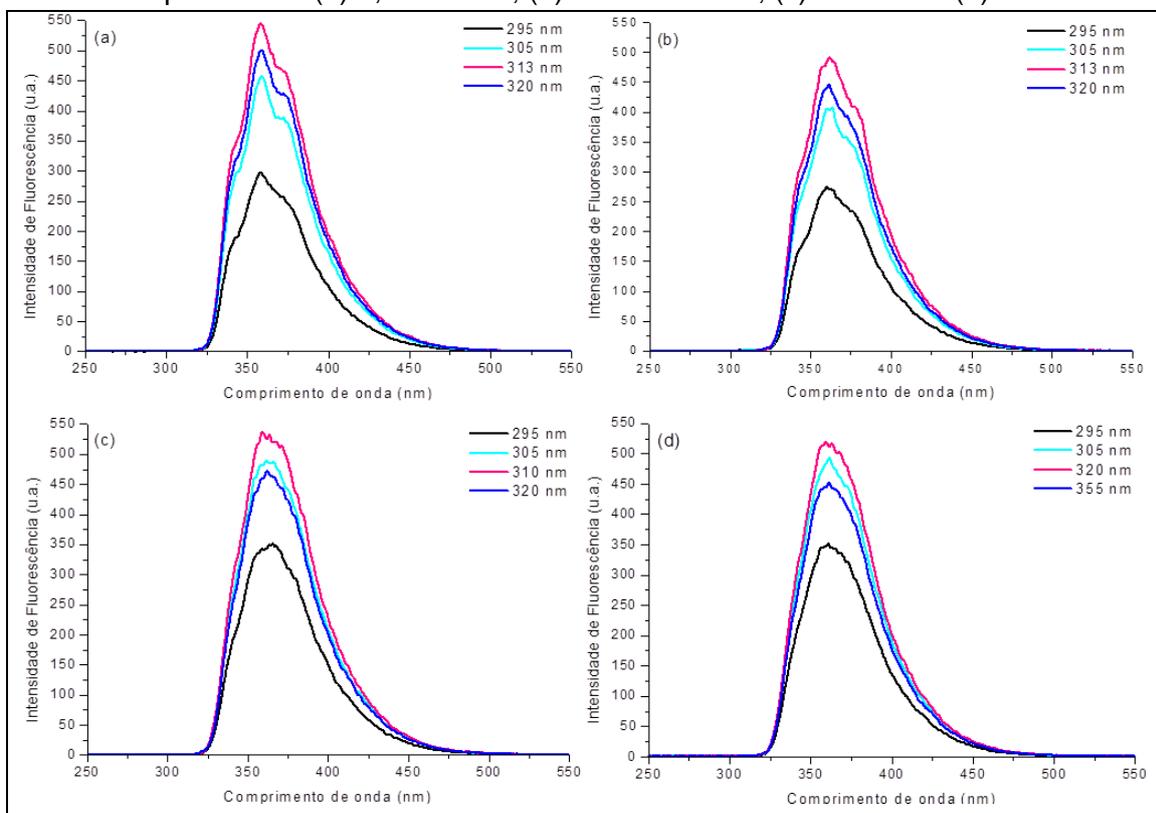
EF do composto **13f**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



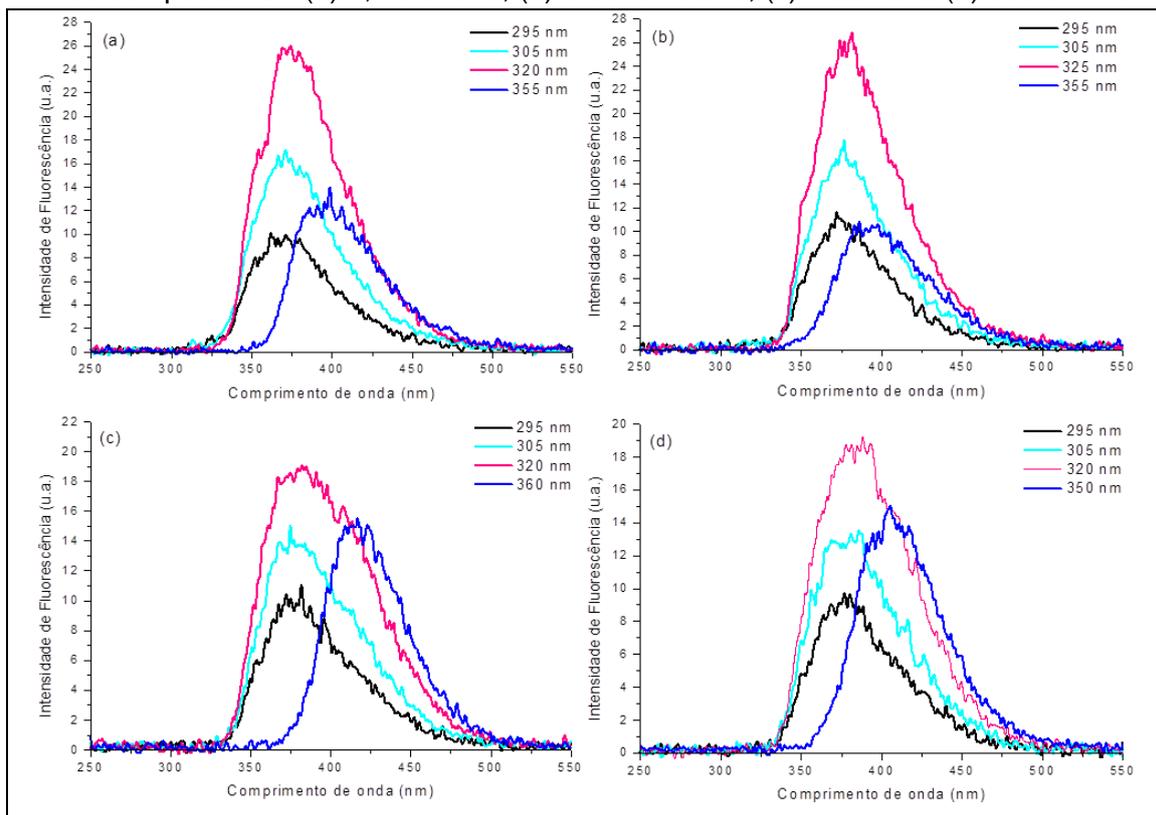
EF do composto **13g**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



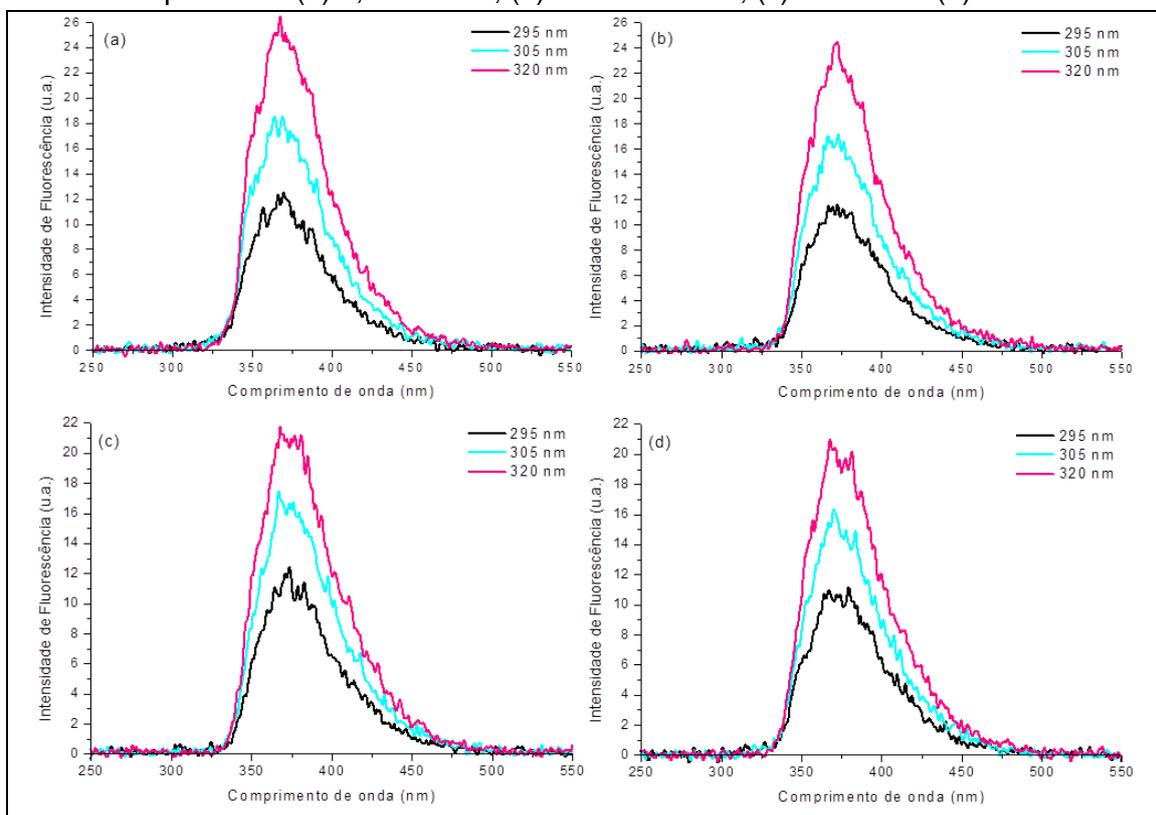
EF do composto **13h**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



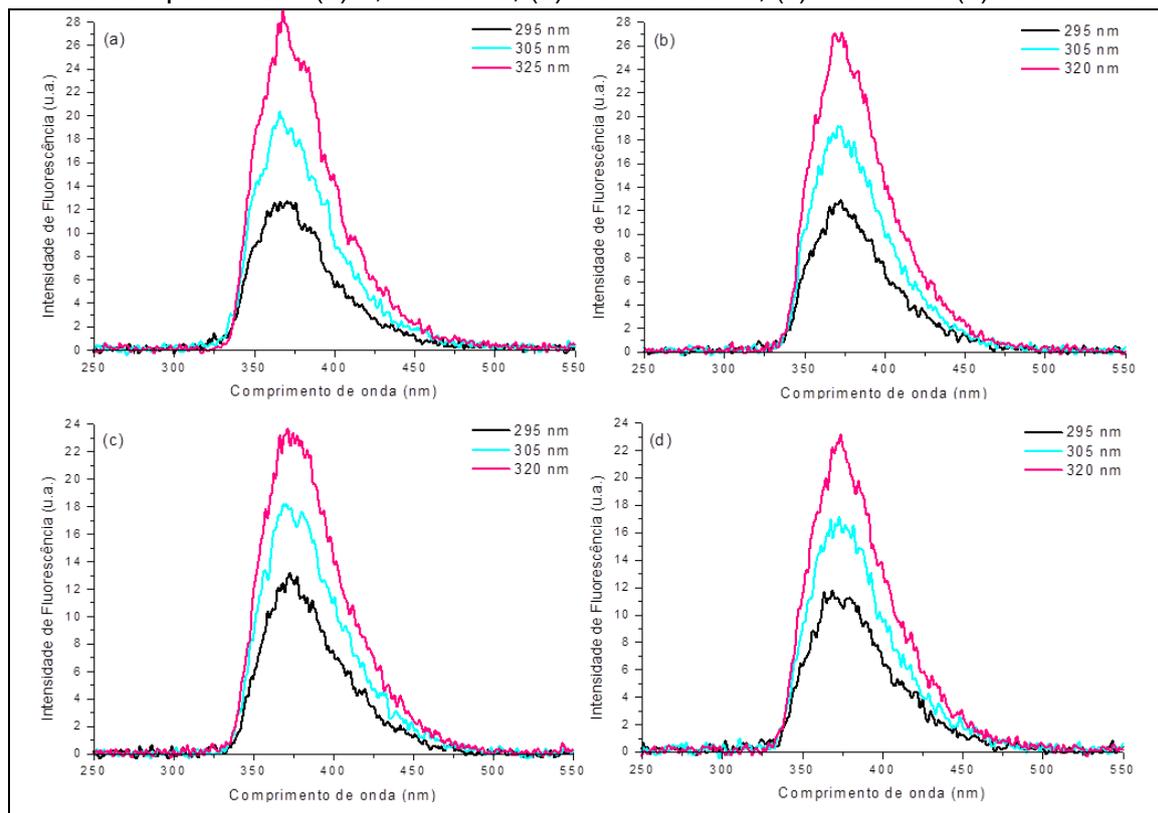
EF do composto **13i**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



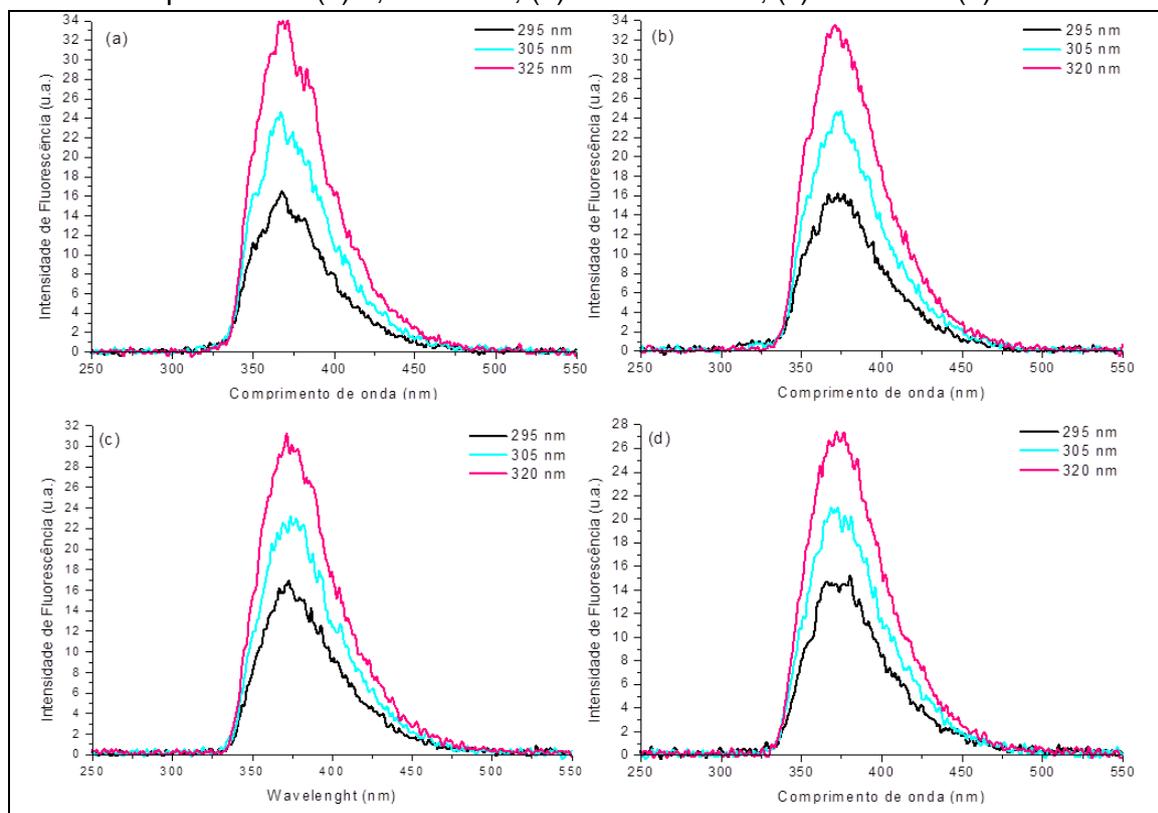
EF do composto **14**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



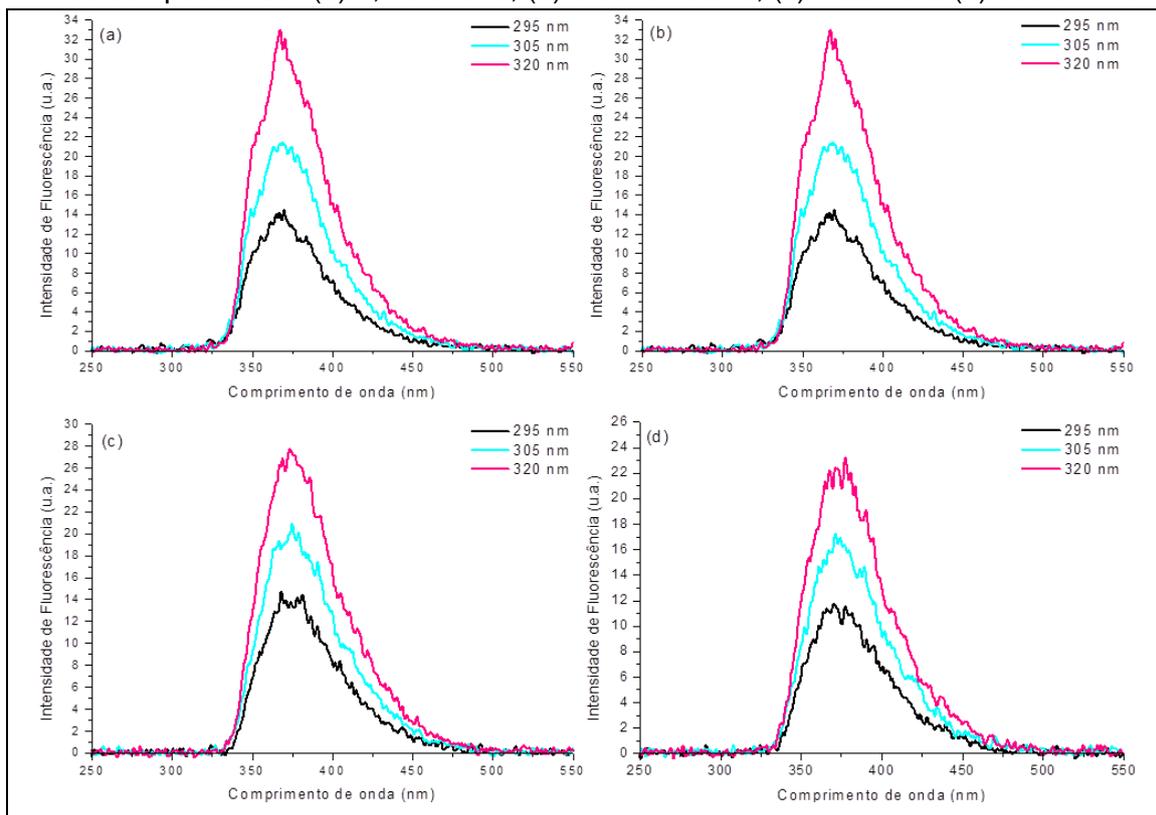
EF do composto **15a**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



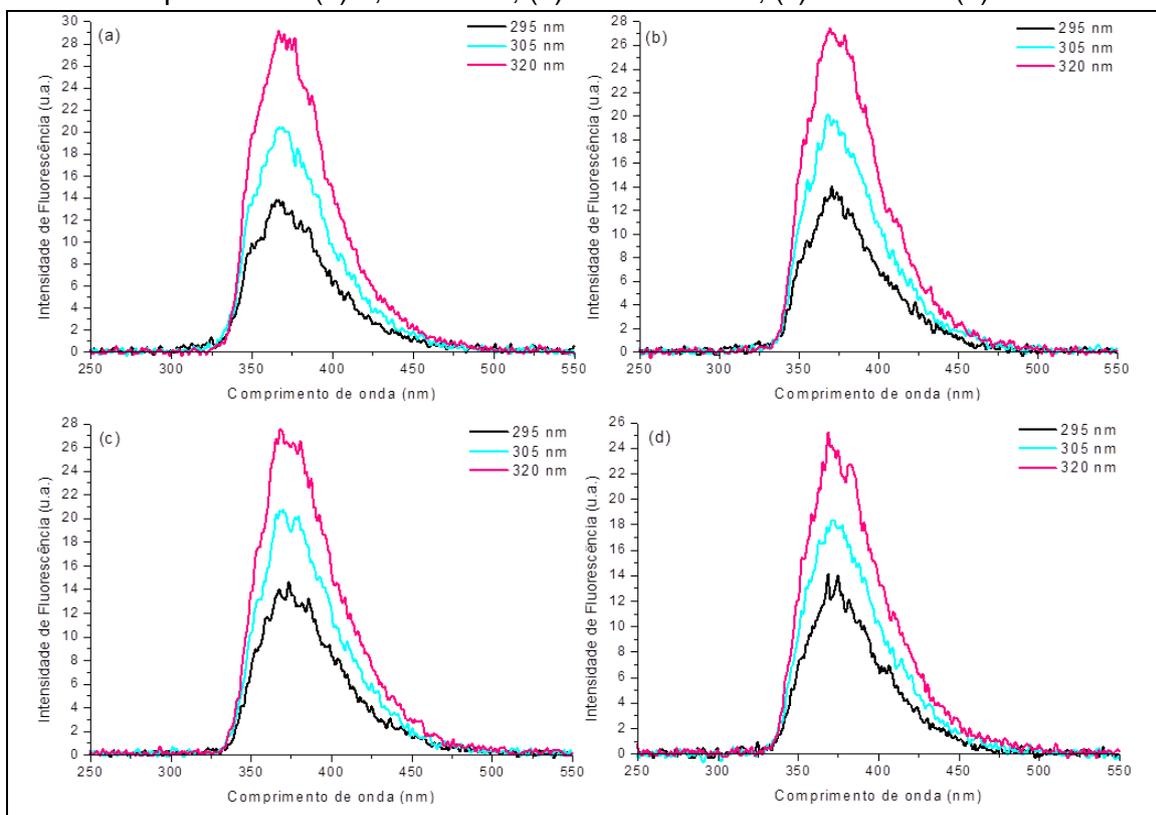
EF do composto **15b**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



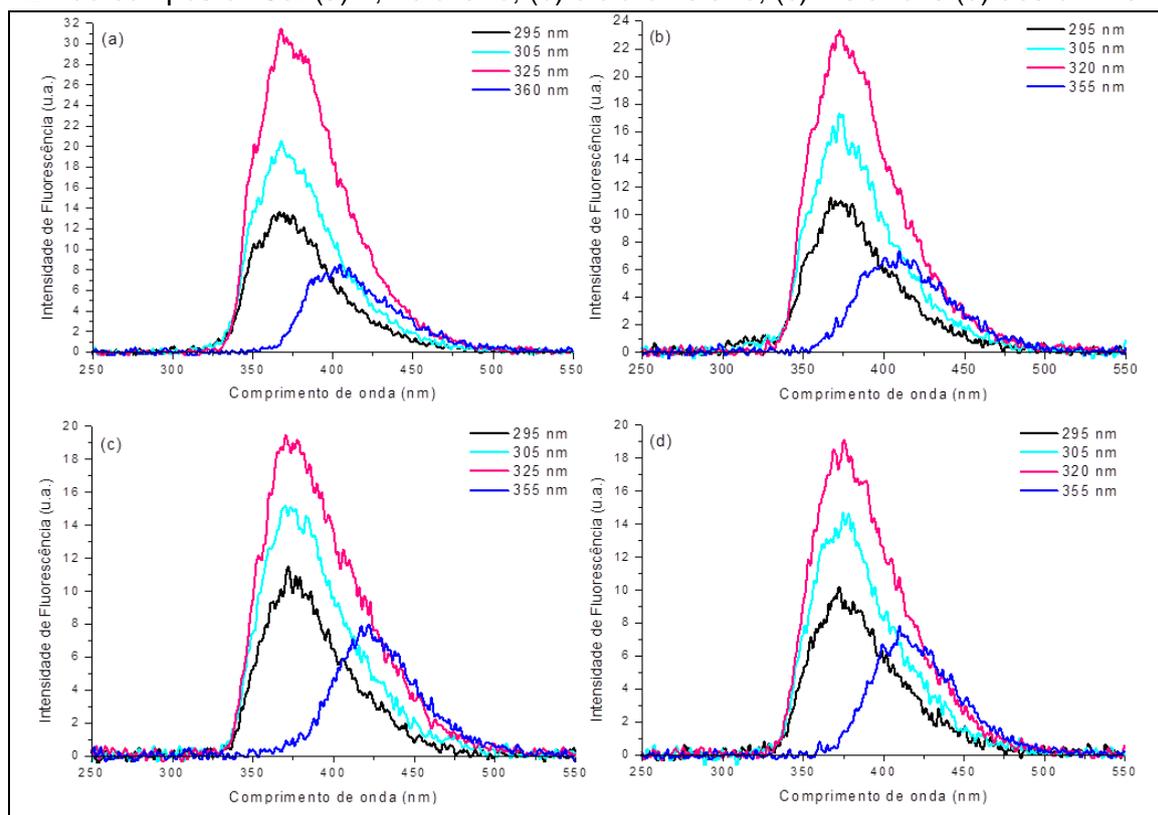
EF do composto **15c**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



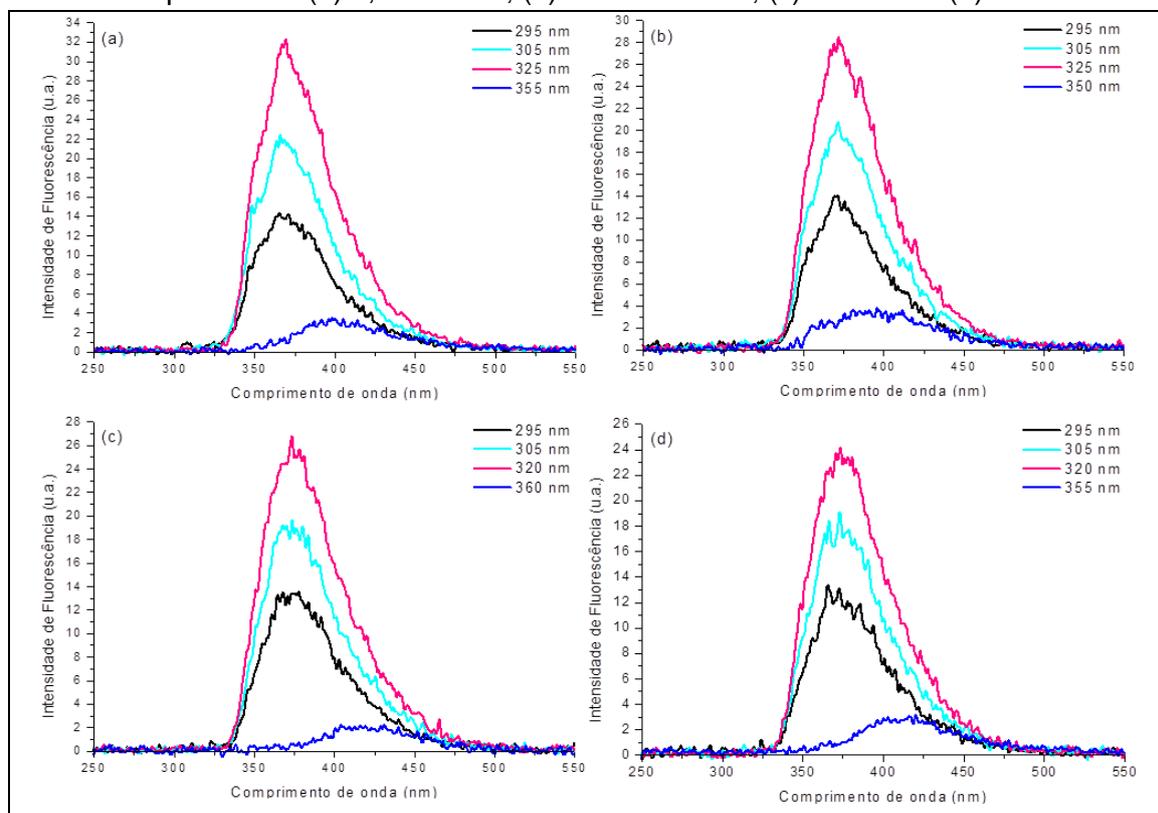
EF do composto **15d**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.



EF do composto **15e**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.

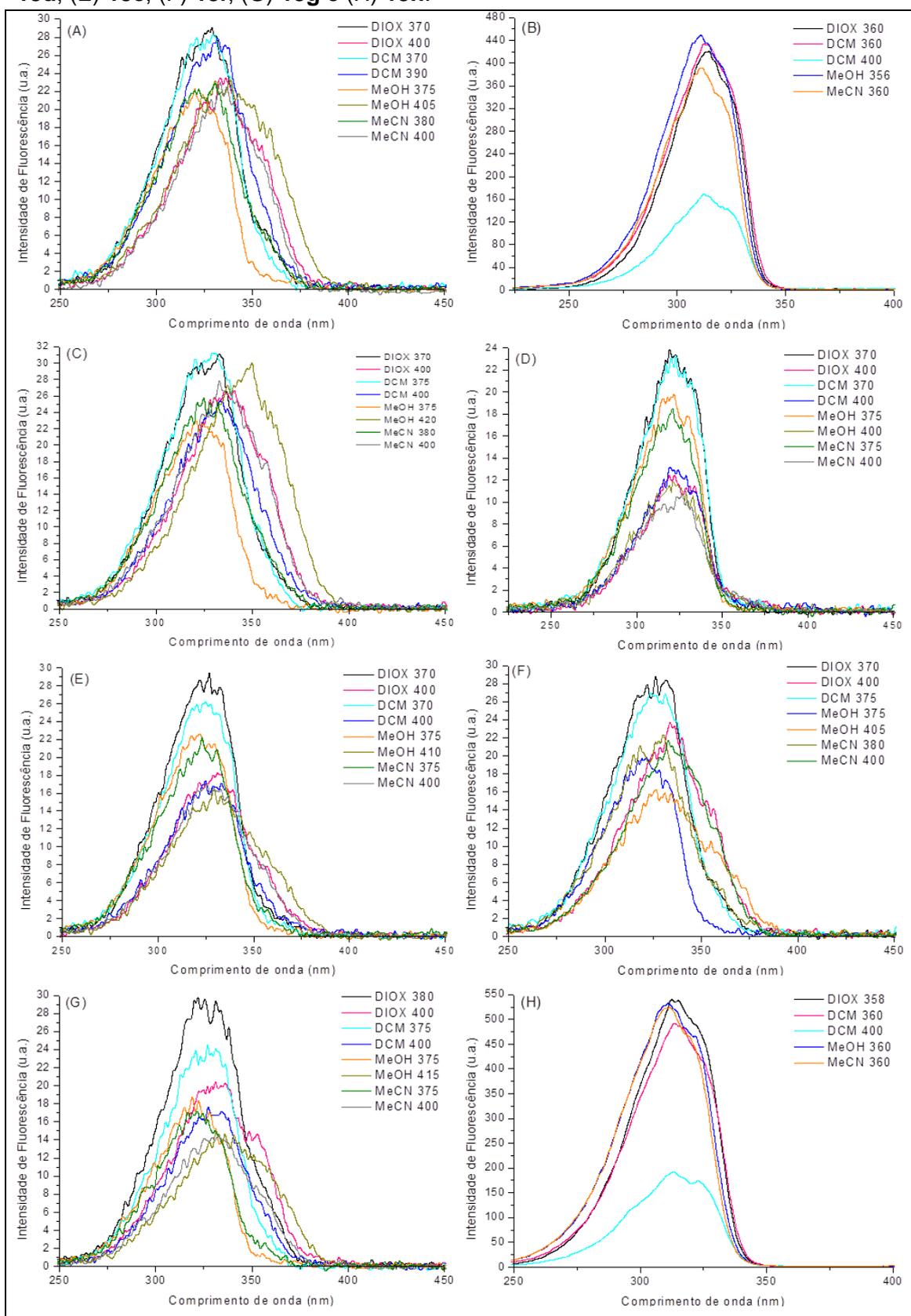


EF do composto **15f**: (a) 1,4-dioxano; (b) diclorometano; (c) metanol e (d) acetonitrila.

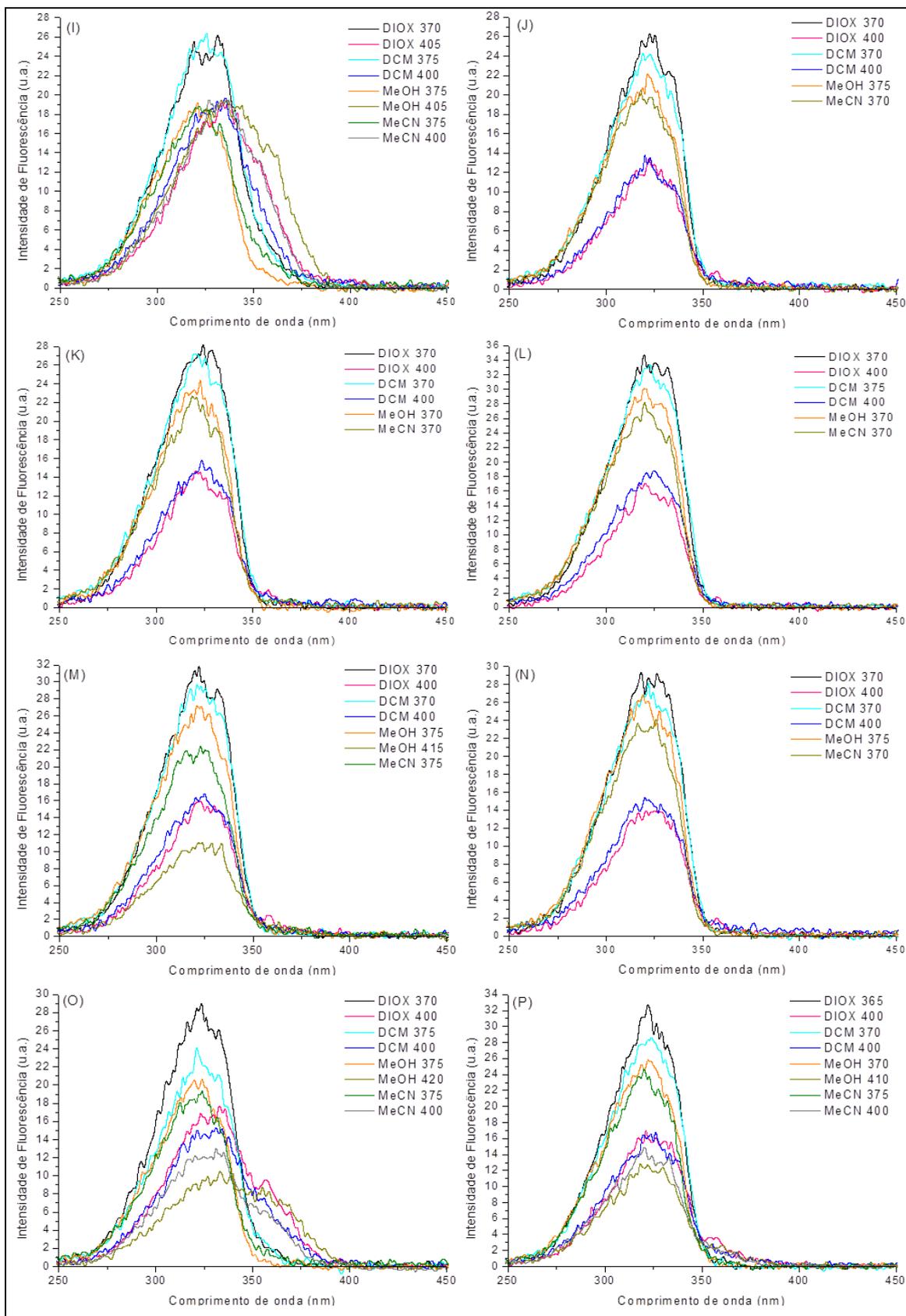


Espectros de excitação (EX)

EX dos compostos nos diferentes solventes estudados: (A) **13a**, (B) **13b**, (C) **13c**, (D) **13d**, (E) **13e**, (F) **13f**, (G) **13g** e (H) **13h**.

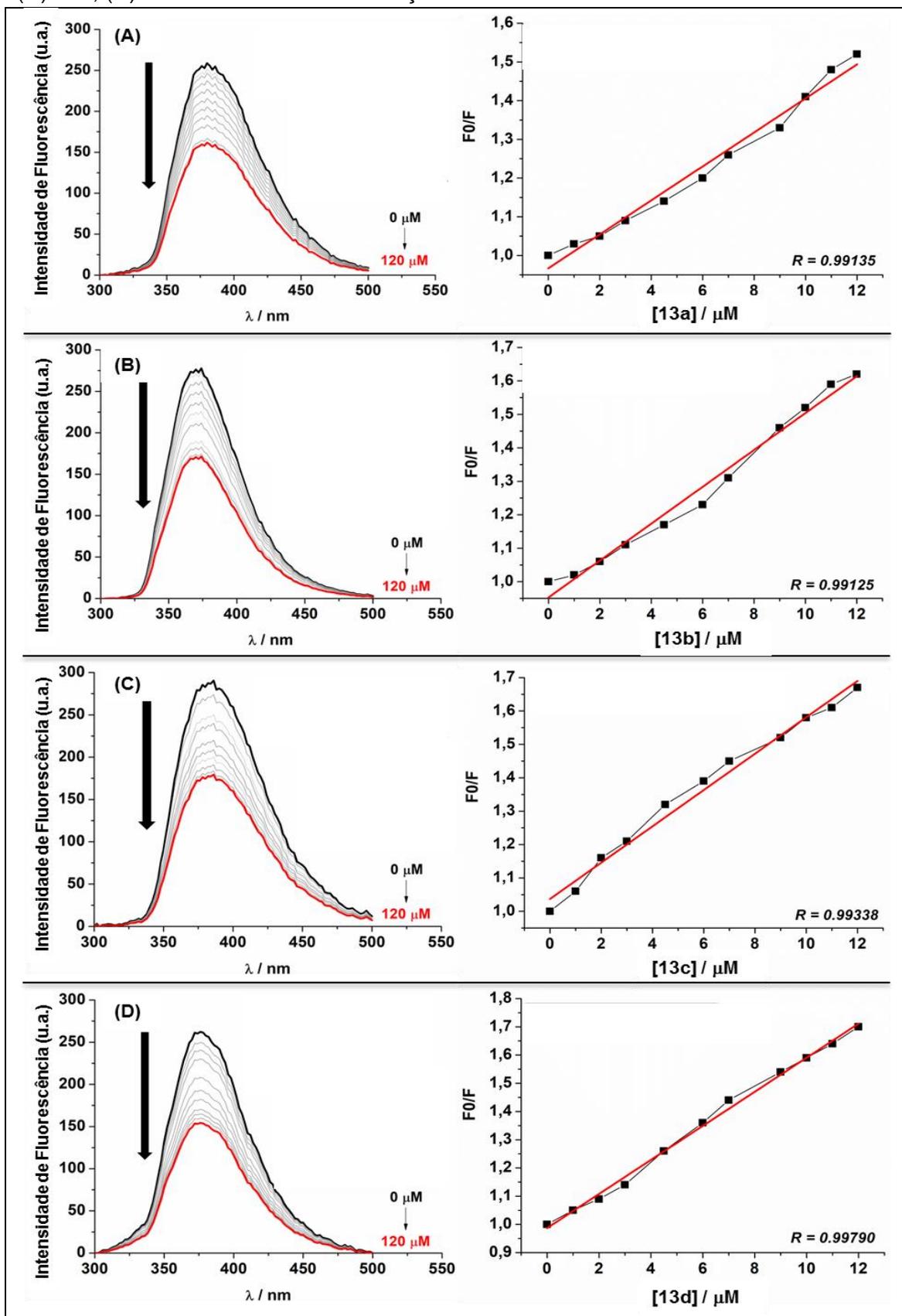


EX dos compostos nos diferentes solventes estudados: (I) **13i**, (J) **14**, (K) **15a**, (L) **15b**, (M) **15c**, (N) **15d**, (O) **15e** e (P) **15f**.

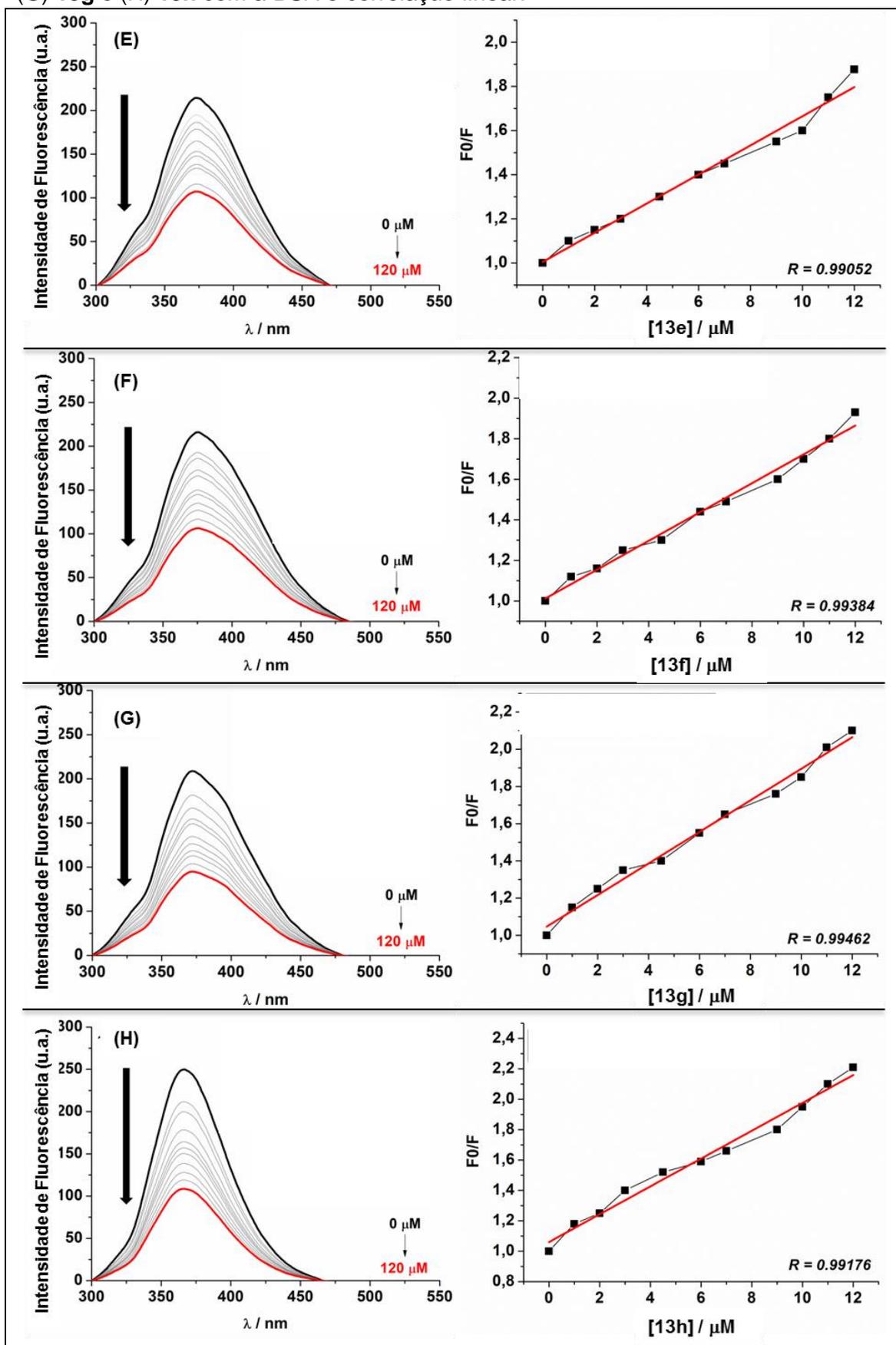


Estudo de interação com biomoléculas

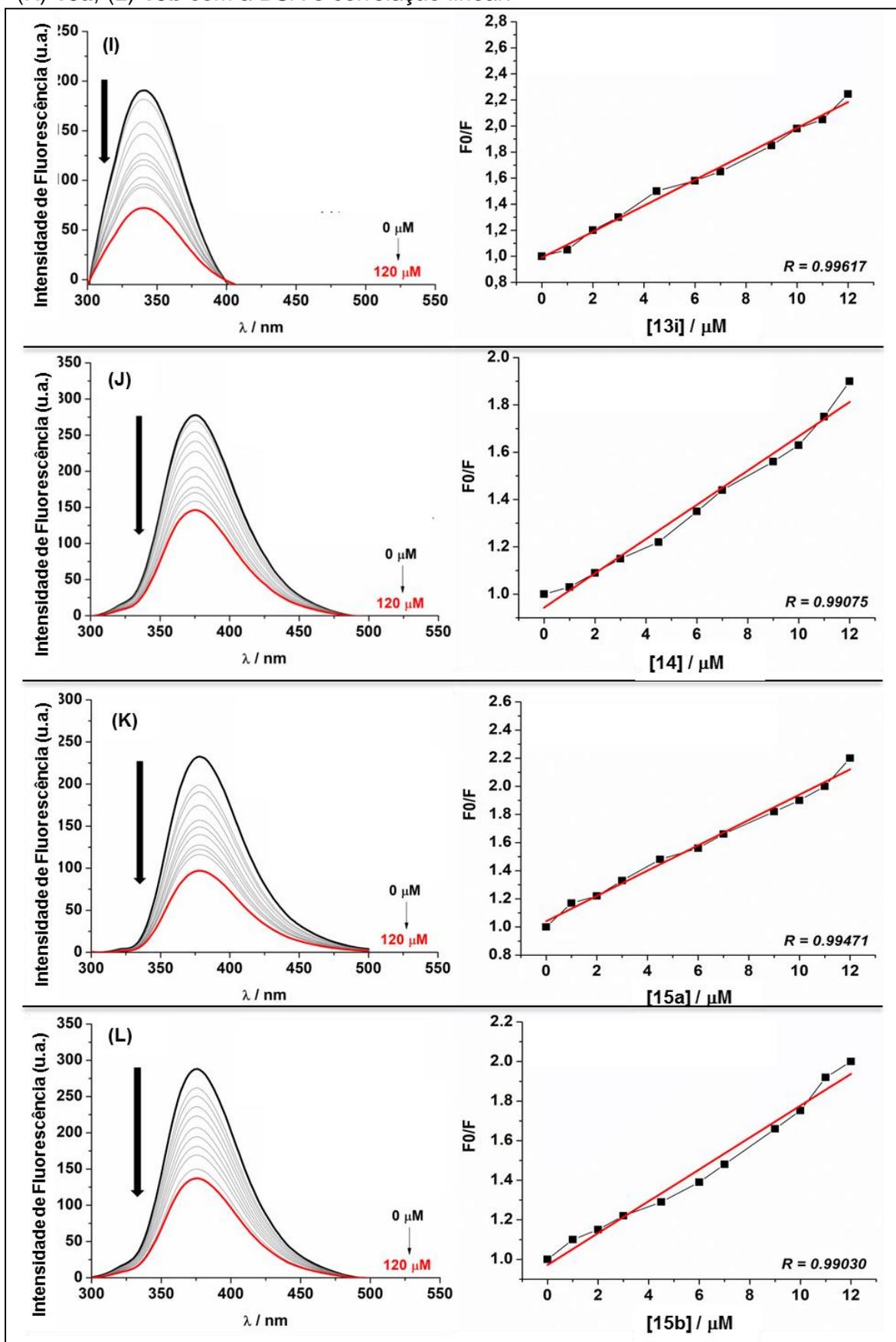
Espectros de emissão de fluorescência da interação dos compostos (A) **13a**, (B) **13b**, (C) **13c**, (D) **13d** com a BSA e correlação linear.



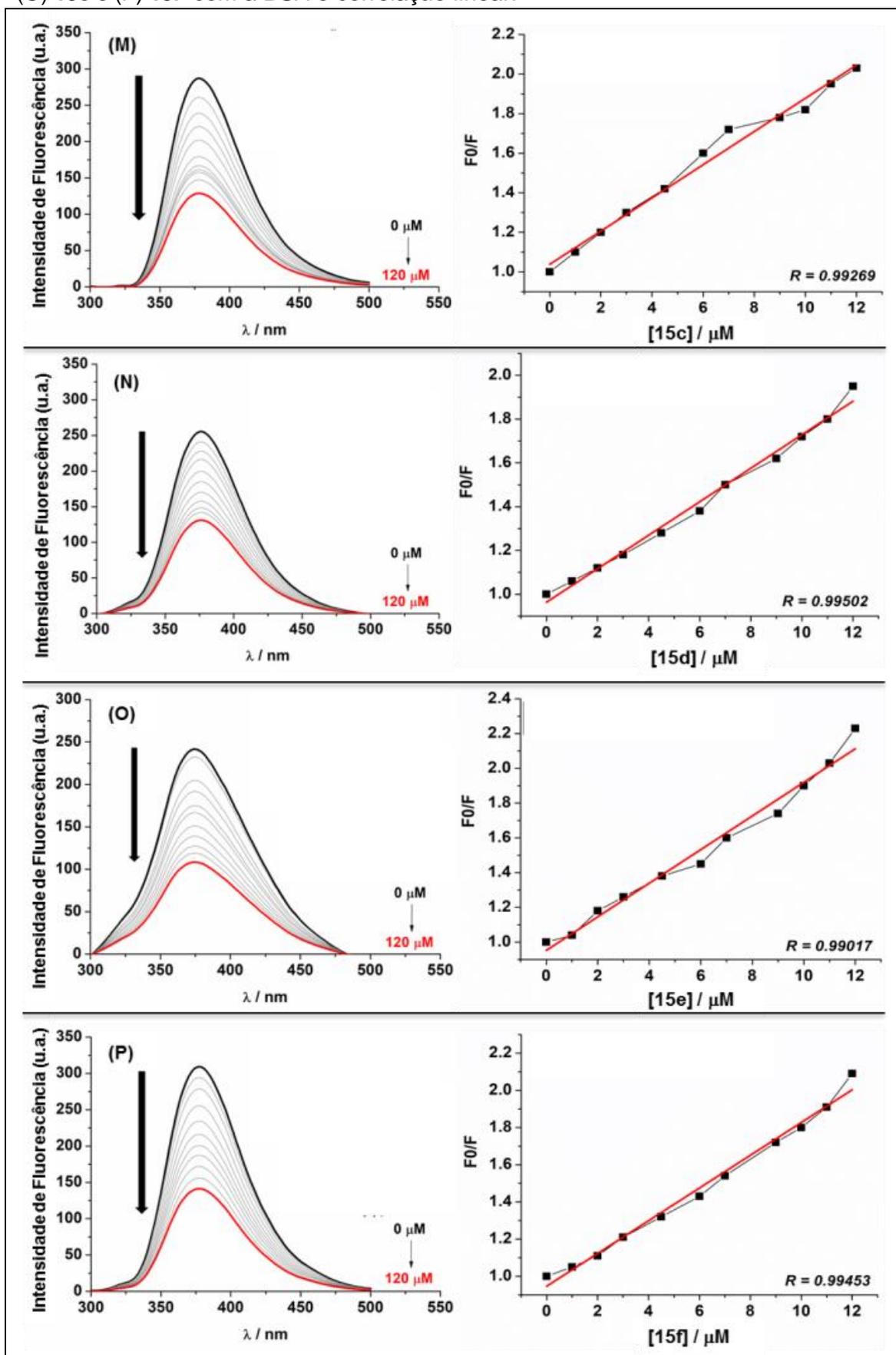
Espectros de emissão de fluorescência da interação dos compostos (E) **13e**, (F) **13f**, (G) **13g** e (H) **13h** com a BSA e correlação linear.



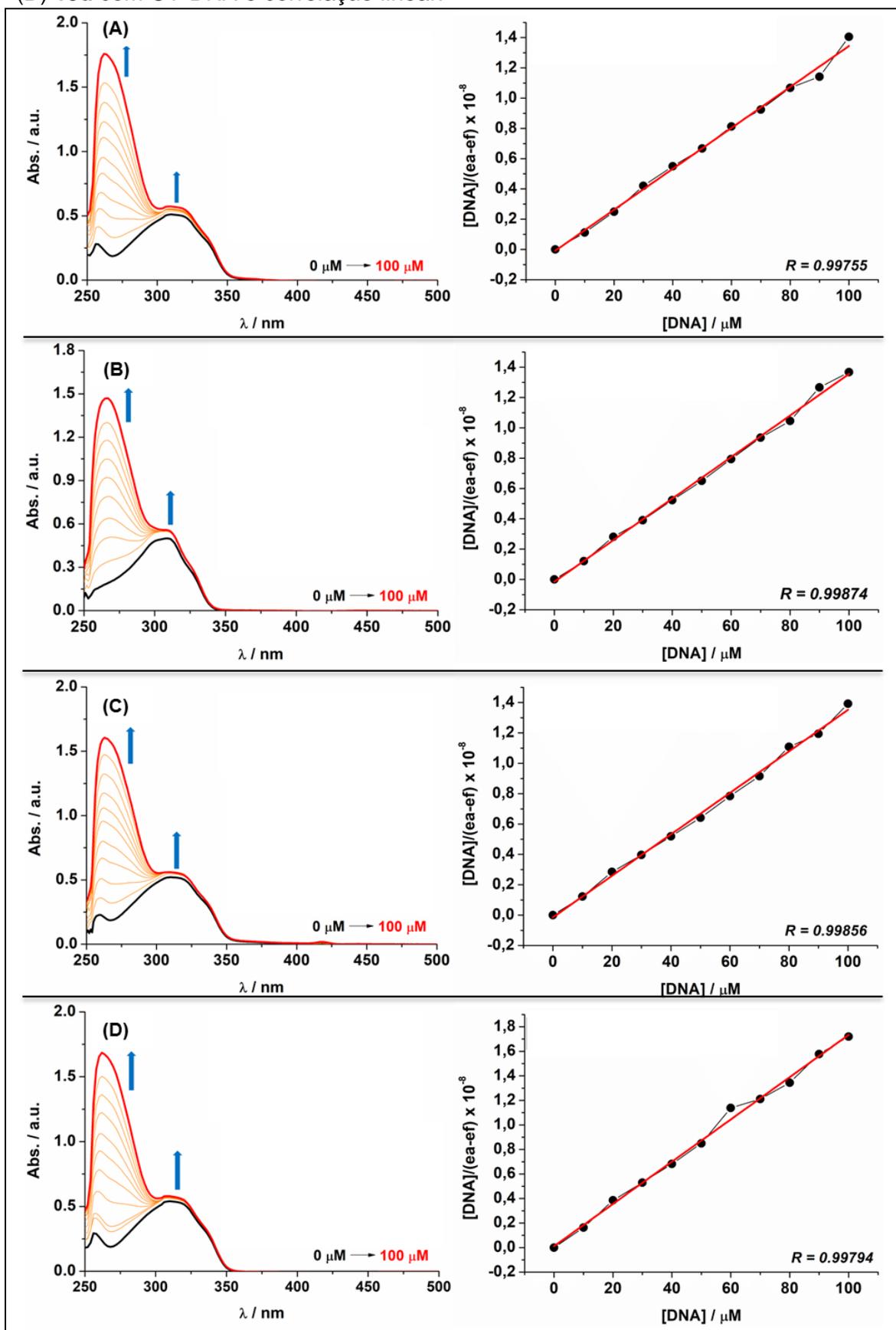
Espectros de emissão de fluorescência da interação dos compostos (I) **13i**, (J) **14**, (K) **15a**, (L) **15b** com a BSA e correlação linear.



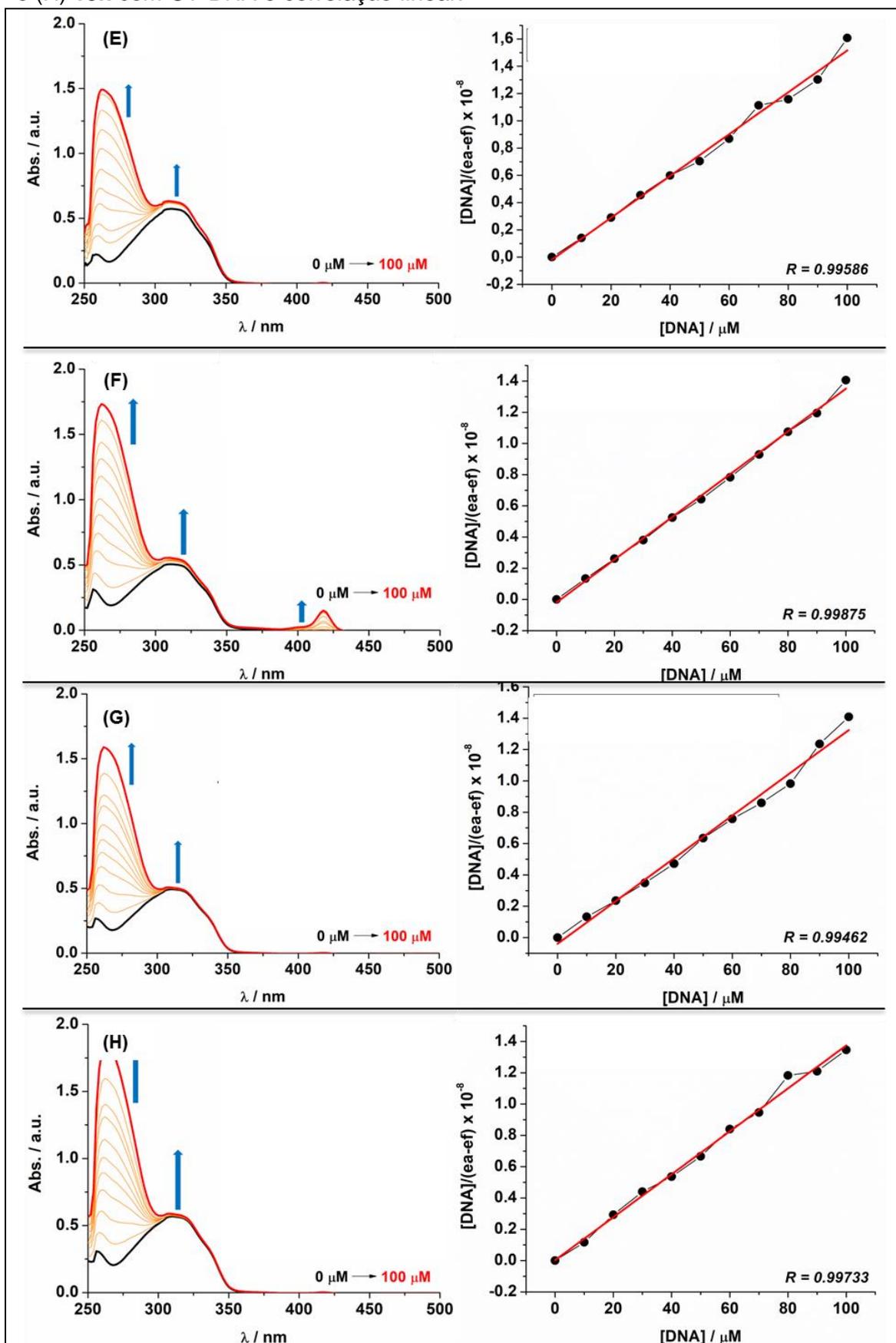
Espectros de emissão de fluorescência da interação dos compostos (M) **15c**, (N) **15d**, (O) **15e** e (P) **15f** com a BSA e correlação linear.



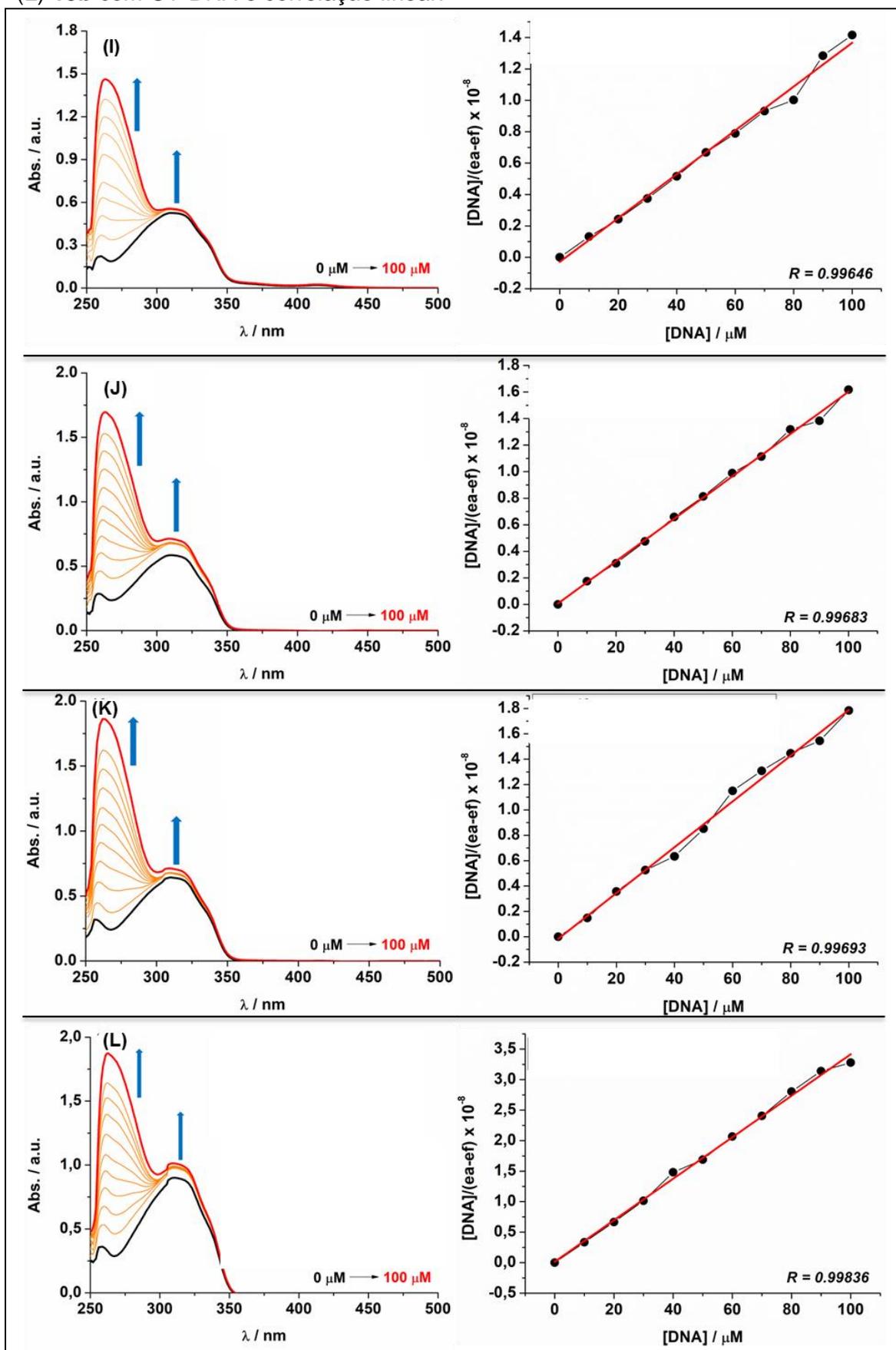
Espectros de absorção UV-Vis da interação dos compostos (A) **13a**, (B) **13b**, (C) **13c**, (D) **13d** com CT-DNA e correlação linear.



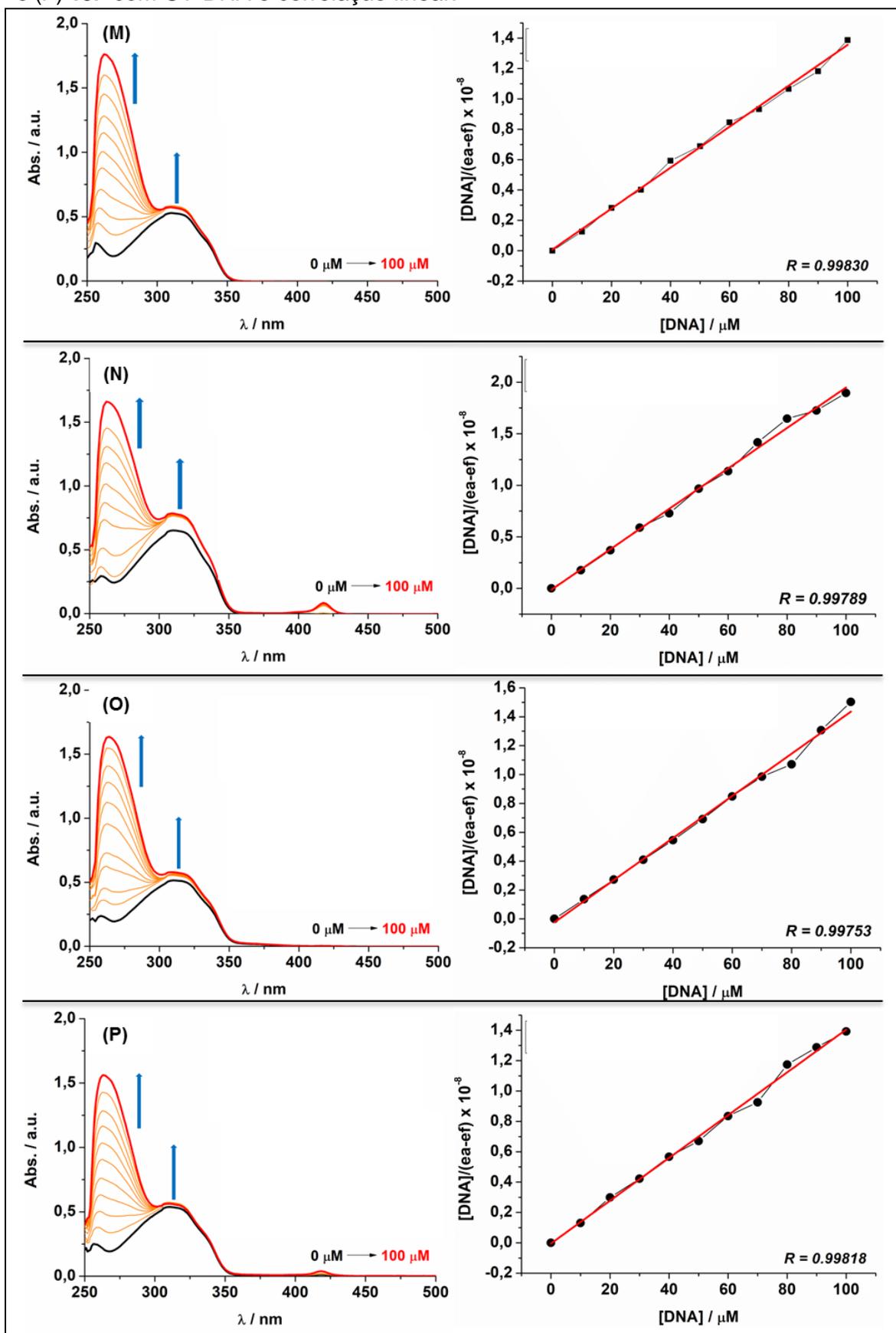
Espectros de absorção UV-Vis da interação dos compostos (E) **13e**, (F) **13f**, (G) **13g** e (H) **13h** com CT-DNA e correlação linear.



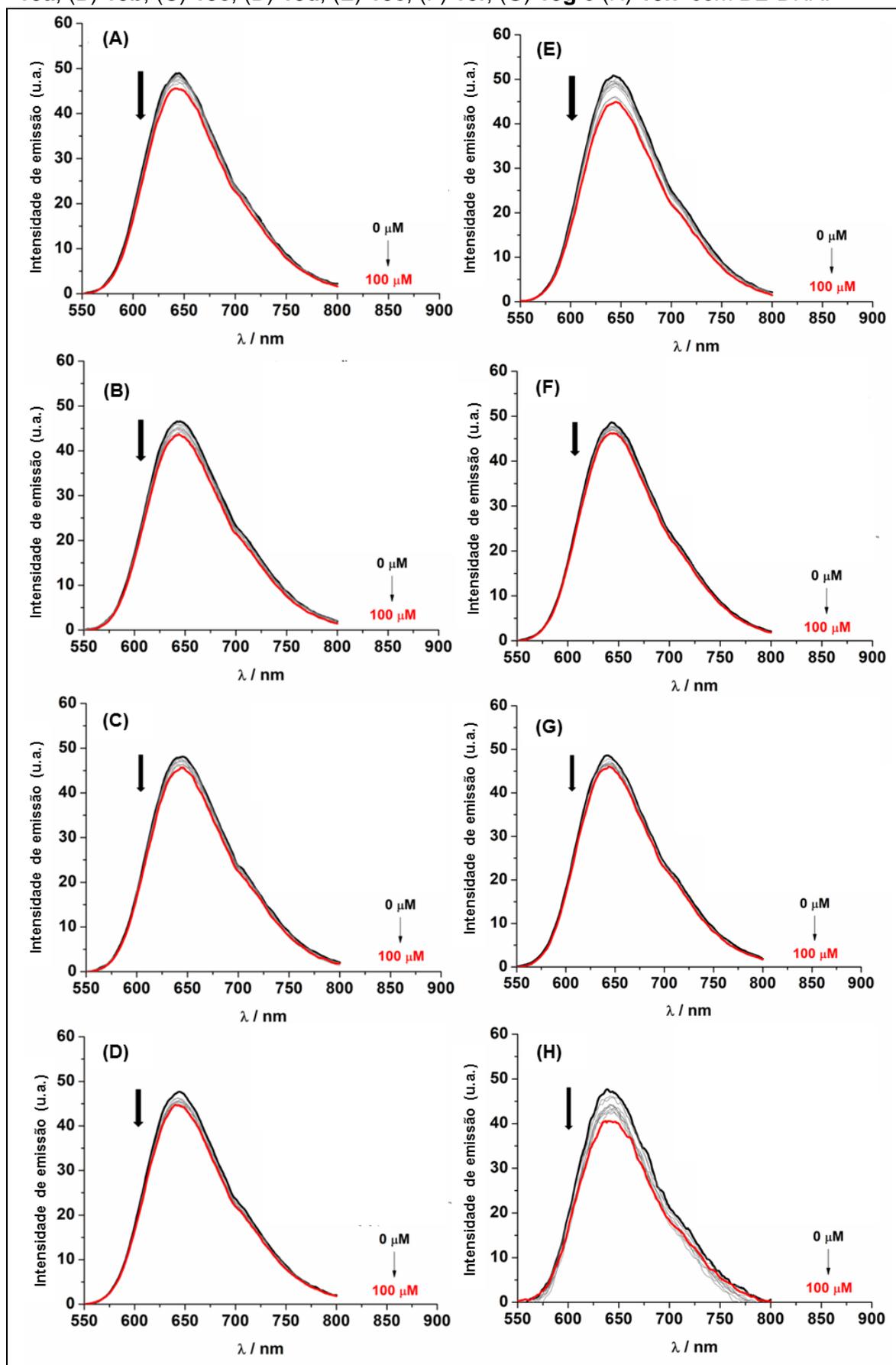
Espectros de absorção UV-Vis da interação dos compostos (I) **13i**, (J) **14**, (K) **15a**, (L) **15b** com CT-DNA e correlação linear.



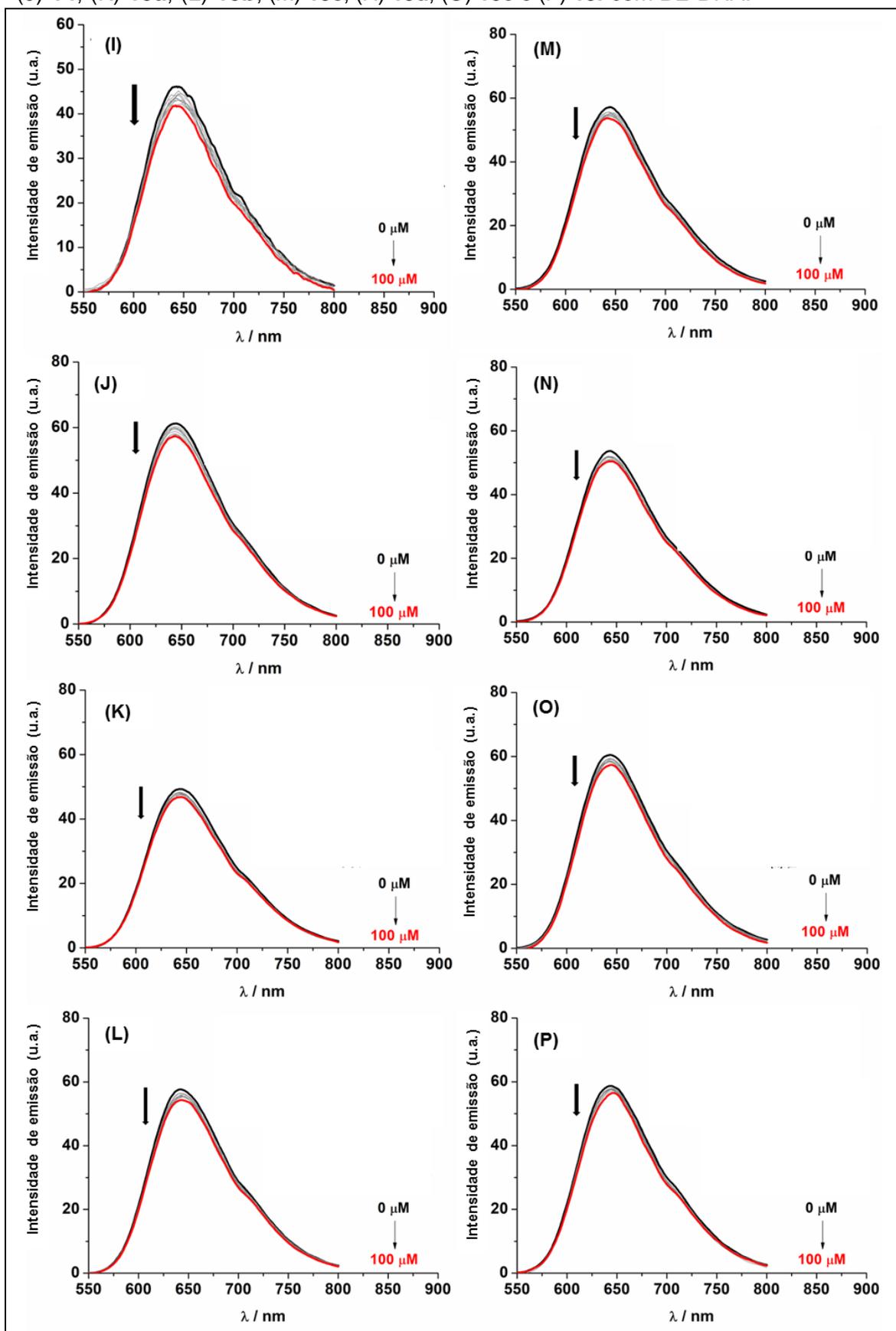
Espectros de absorção UV-Vis da interação dos compostos (M) **15c**, (N) **15d**, (O) **15e** e (P) **15f** com CT-DNA e correlação linear.



Espectros de emissão de fluorescência do estudo de competição dos compostos (A) 13a, (B) 13b, (C) 13c, (D) 13d, (E) 13e, (F) 13f, (G) 13g e (H) 13h com BE-DNA.

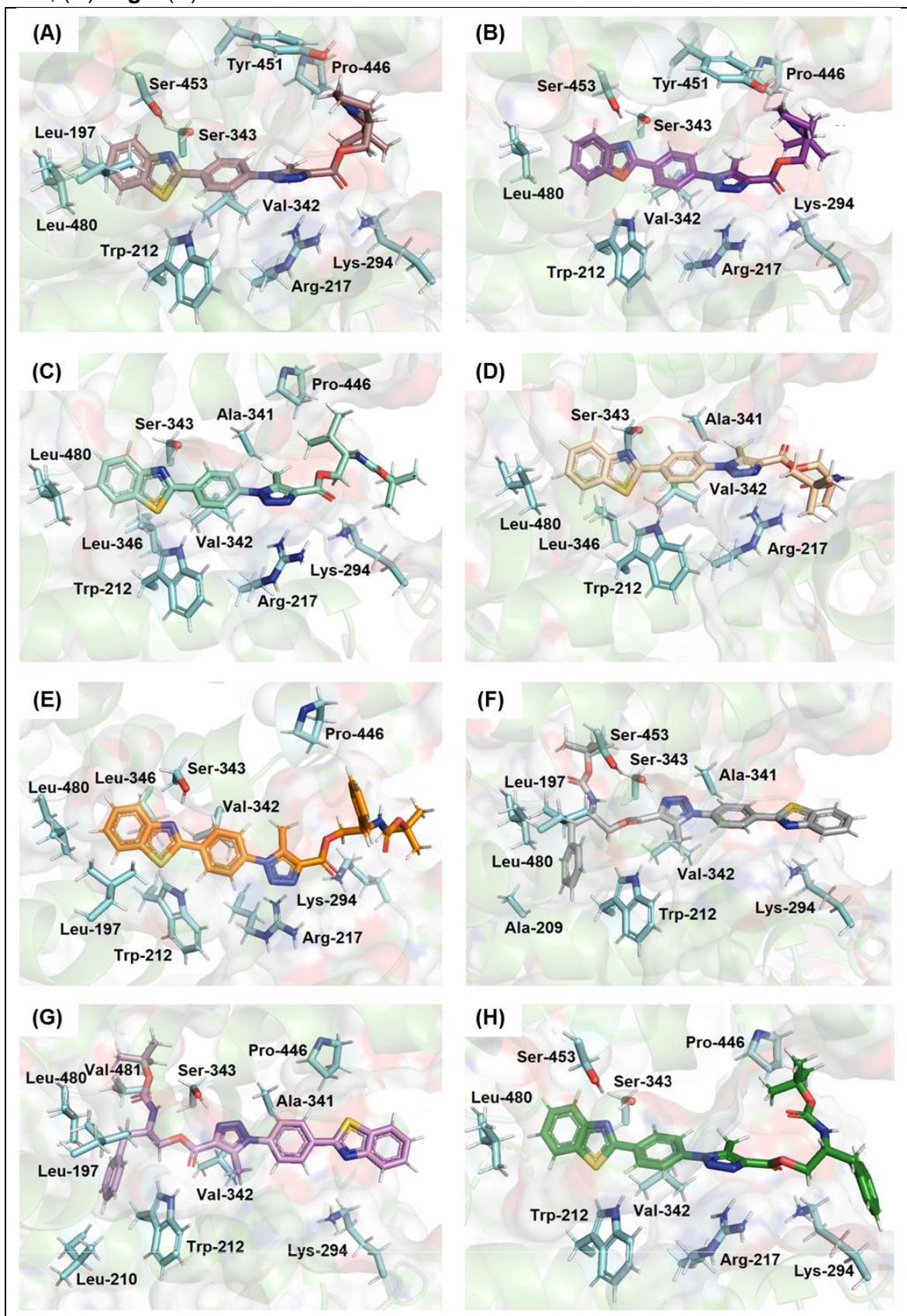


Espectros de emissão de fluorescência do estudo de competição dos compostos (I) **13i**, (J) **14**, (K) **15a**, (L) **15b**, (M) **15c**, (N) **15d**, (O) **15e** e (P) **15f** com BE-DNA.

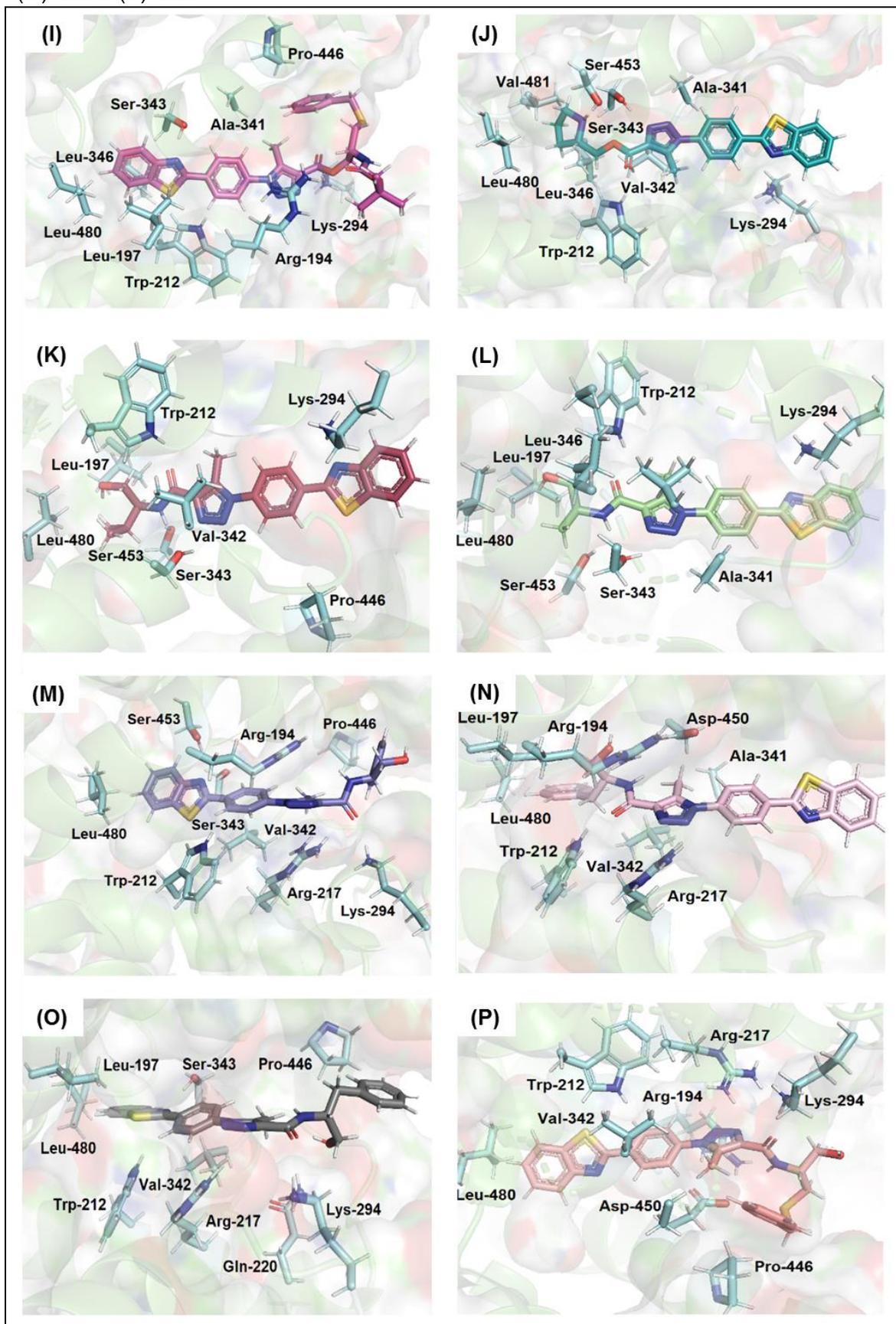


Docking molecular

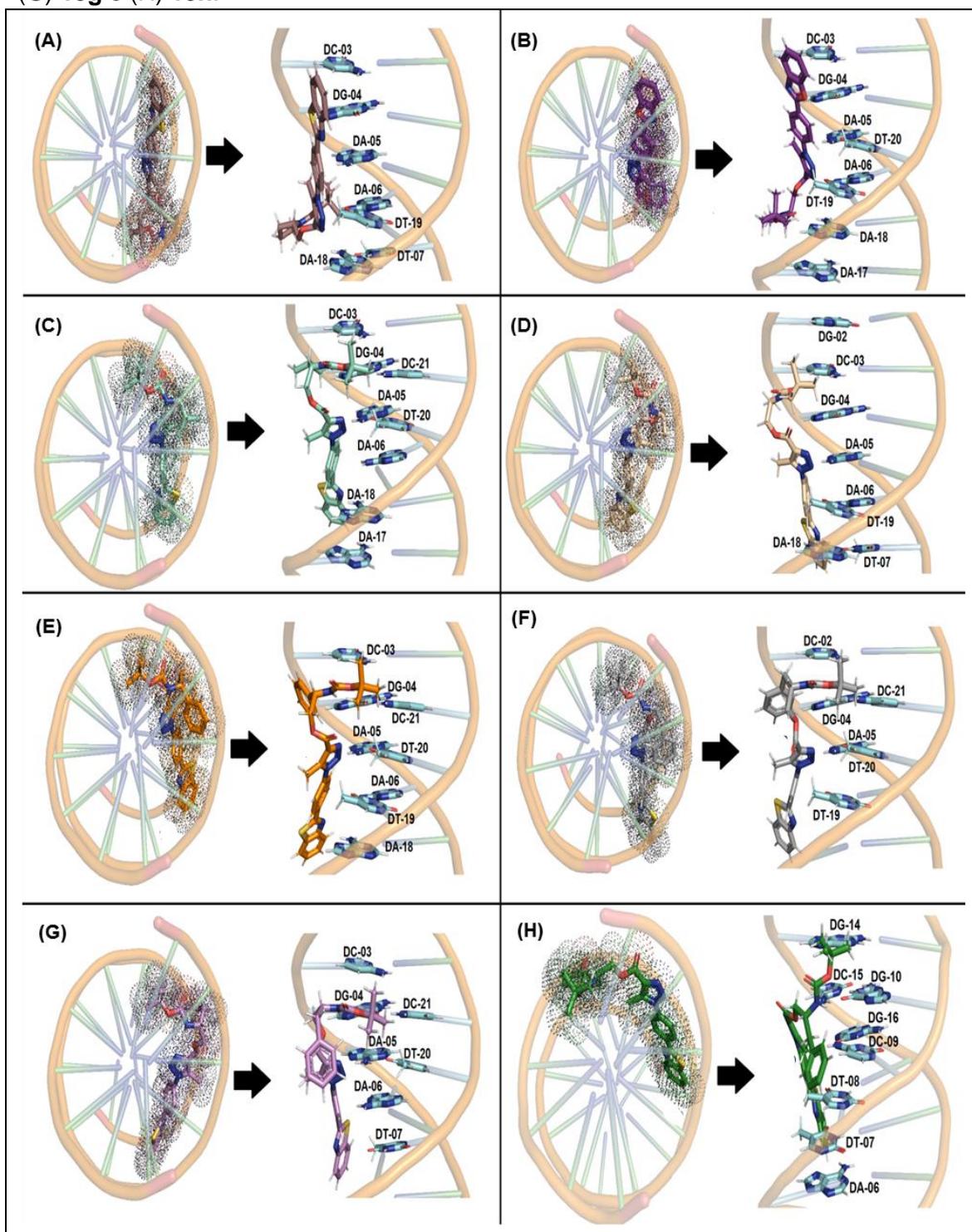
Interação dos compostos com a BSA: (A) 13a, (B) 13b, (C) 13c, (D) 13d, (E) 13e, (F) 13f, (G) 13g e (H) 13h.



Interação dos compostos com a BSA: (I) 13i, (J) 14, (K) 15a, (L) 15b, (M) 15c, (N) 15d, (O) 15e e (P) 15f.



Interação dos compostos com DNA: (A) **13a**, (B) **13b**, (C) **13c**, (D) **13d**, (E) **13e**, (F) **13f**, (G) **13g** e (H) **13h**.



Interação dos compostos com DNA: (I) **13l**, (J) **14**, (K) **15a**, (L) **15b**, (M) **15c**, (N) **15d**, (O) **15e** e (P) **15f**.

