

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

THAIS KROETZ

**COMPOSTOS FOTOATIVOS COM POTENCIAL USO COMO SONDAS
FLUORESCENTES DE MEMBRANA**

Porto Alegre, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

THAIS KROETZ

**COMPOSTOS FOTOATIVOS COM POTENCIAL USO COMO SONDAS
FLUORESCENTES DE MEMBRANA**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química

Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch
Orientador

Porto Alegre, 2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me abençoar, me proteger, me acompanhar na minha trajetória e me dar forças para superar as dificuldades diárias.

Aos meus pais e irmãos pela compreensão e auxílio sempre que necessário.

Ao meu noivo pelo incentivo e apoio em minhas decisões, pelo companheirismo e por partilhar comigo momentos bons e ruins. Aos meus sogros pelo acolhimento e ajuda durante os primeiros anos de graduação.

À professora Leandra Campo, por ter me auxiliado sempre que precisei, desde o momento em que ingressei na UFRGS.

Ao meu orientador Fabiano Rodembusch, pelos ensinamentos, conselhos e principalmente pela paciência.

Aos meus colegas do Grupo de Pesquisa em Fotoquímica Orgânica Aplicada, por toda ajuda que me deram ao longo destes dois anos de convívio, pelo conhecimento compartilhado e pela amizade. Por fim, agradeço ao colega de laboratório Fabiano Santos, por todo auxílio durante o período de elaboração deste trabalho.

RESUMO

Membranas são essenciais à vida da célula, portanto o estudo das mesmas torna-se extremamente importante, onde para o monitoramento de diferentes regiões da sua bicamada lipídica, são utilizadas geralmente sondas fluorescentes. Neste contexto, fluoróforos lipofílicos derivados das 2-(2'-hidroxifenil)benzazolas possuem boa intensidade de luminescência e grande deslocamento de Stokes resultante de um mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado eletrônico excitado (ESIPT), fazendo com que estas moléculas apresentem potencial aplicação como sondas na investigação de membranas biológicas.

Assim, este trabalho propõe a síntese de derivados benzazólicos formilados para posterior reação com amina alifática de cadeia longa para obtenção de novas iminas fluorescentes. Foi realizado também a redução das mesmas resultando na formação das respectivas aminas anfílicas de cadeia longa, com maior estabilidade química que as moléculas anteriores. Todos os compostos obtidos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas clássicas. Além disso, foi realizado o estudo fotofísico dos compostos obtidos através de medidas de absorção na região do UV-Vis e de emissão de fluorescência em solução.

Palavras-chave: membranas biológicas, sondas fluorescentes, ESIPT, deslocamento de Stokes, heterociclos benzazólicos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura dos heterociclos 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, onde X=O, S ou NH	2
Figura 2. Exemplos de sondas fluorescentes descritas na literatura.....	4
Figura 3. Sondas de membrana não análogas a lipídeos.....	5
Figura 4. Sondas de membrana análogas a ácidos graxos e fosfolipídios.....	6
Figura 5. Compostos heterocíclicos benzazólicos.....	6
Figura 6. Heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis.....	7
Figura 7. Representação do deslocamento de Stokes.....	8
Figura 8. Mecanismo de ESIPT para heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, onde X=O, S ou NH.....	9
Figura 9. Formas tautoméricas enol-cis (E _I), enol-trans (E _{III}), enol-cis solvatado (E _{II}), enol-trans solvatado (E _{IV}), com X= O, S ou NH.....	10
Figura 10. Possíveis transições eletrônicas em compostos orgânicos.....	11
Figura 11. Diagrama de Jablonski.....	13
Figura 12. Produtos obtidos a partir da formilação de Duff.....	14
Figura 13. Espectro de RMN de ¹ H do composto 13 (300 MHz, CDCl ₃)	16
Figura 14. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H do composto 13 (300 MHz, CDCl ₃).....	16
Figura 15. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H do composto 14 (300 MHz, CDCl ₃).....	17
Figura 16. Espectro de FTIR do MeHBT em KBr.....	18
Figura 17. Sobreposição dos espectros de FTIR em KBr dos compostos 13 e 15	20
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H do composto 15 (300 MHz, CDCl ₃).....	21
Figura 19. Espectro de FTIR da imina 21 , em pastilha de KBr.....	25
Figura 20. Espectro de RMN de ¹ H do composto 19 (300 MHz, acetona deuterada)...	26
Figura 21. Espectro de ¹ H-RMN do composto 21 (300 MHz, CDCl ₃).....	27
Figura 22. Influência dos efeitos eletrônicos no carbono imínico.....	28
Figura 23. Sobreposição dos espectros de FTIR em KBr dos compostos 21 e 24	31
Figura 24. Espectro de RMN de ¹ H do composto 24 (300 MHz, CDCl ₃)	32
Figura 25. Espectro de APT do composto 23 (75,4 MHz, CDCl ₃)	33

Figura 26. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto 19	35
Figura 27. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto 20	36
Figura 28. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto 21	37
Figura 29. Espectro de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizado (direita) do composto 22	39
Figura 30. Espectro de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizado (direita) do composto 23	40
Figura 31. Espectro de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizado (direita) do composto 24	40

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Metodologia sintética de obtenção dos derivados benzazólicos 13-14	15
Esquema 2. Metodologia sintética de obtenção dos derivados formilados 15-16	19
Esquema 3. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados formilados 15-16	19
Esquema 4. Metodologia sintética de obtenção das iminas fluorescentes 20-21	23
Esquema 5. Proposta de mecanismo para formação de iminas (pH 4-6).....	23
Esquema 6. Metodologia sintética de obtenção da imina 19	26
Esquema 7. Mecanismo proposto para a redução das iminas por transferência de hidreto.....	30
Esquema 8. Metodologia sintética de obtenção da amina 22	31
Esquema 9. Metodologia sintética de obtenção das aminas 23-24	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Testes empregados para a otimização da síntese das iminas fluorescentes.....	25
Tabela 2. Dados do estudo fotofísico dos compostos 19-21	35
Tabela 3. Dados do estudo fotofísico dos compostos 22-24	39

ABREVIATURAS

RMN de ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono
RMN de ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
A	absorbância
APF	ácido polifosfórico
APT	<i>attached proton test</i>
b	caminho óptico
c	concentração molar do soluto
C	tautômero ceto no estado fundamental
C*	tautômero ceto no estado excitado
cm	centímetro
d	dubleto
DNA	ácido desoxirribonucleico
DPH	1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno
E _I	tautômero cis-enol no estado fundamental
E _I *	tautômero cis-enol no estado excitado
E _{II}	enol-cis solvatado
E _{III}	enol-trans
E _{IV}	enol-trans solvatado
ESIPT	Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado
FTIR	infravermelho por transformada de Fourier
h	hora
HBO	2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol
HBOCHO	2-(5'-formil-2'-hidroxifenil)benzoxazol
HBI	2-(2'-hidroxifenil)benzimidazol
HBT	2-(2'-hidroxifenil)benzotiazol
HMTA	hexametilenotetramina
HOMO	orbital molecular de mais alta energia ocupado
Hz	hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento

LUMO	orbital molecular de mais baixa energia desocupado
m	multiplete
n	orbital não-ligante
NBD	nitrobenzoxadiazol
nm	nanômetro
o	orto
p	para
ppm	parte por milhão
S ₀	estado fundamental singlete
S ₁	primeiro estado excitado singlete
S ₂	segundo estado excitado singlete
s	singlete
t	tripleto
T ₁	primeiro estado excitado tripleto
UV-Vis	ultravioleta-visível
$\Delta\lambda_{ST}$	deslocamento de Stokes
δ	deslocamento químico
ϵ	absortividade molar
λ_{abs}	comprimento de onda máximo de absorção
λ_{em}	comprimento de onda máximo de emissão
ν_{as}	estiramento assimétrico
ν_s	estiramento simétrico
π	orbital molecular pi ligante
π^*	orbital molecular pi anti-ligante
σ	orbital molecular sigma ligante
σ^*	orbital molecular sigma anti-ligante

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1 Sondas fluorescentes.....	4
3.1.1 Sondas fluorescentes de membranas.....	5
3.2 Heterociclos fluorescentes 2-(2'-hidroxifenil)benzazólicos.....	6
3.2.1 Mecanismo de ESIPT e deslocamento de Stokes.....	7
3.2.1.1 Efeito do solvente na ESIPT.....	9
3.3. Estudo fotofísico.....	10
3.3.1 Absorção de radiação na região do UV-Visível.....	10
3.3.2 Emissão de Fluorescência.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1 Síntese dos precursores benzazólicos.....	14
4.1.1 Síntese dos derivados 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (13) e 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (14).....	14
4.1.2 Síntese dos derivados 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (15) e 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (16).....	19
4.1.2.1 Caracterização dos compostos benzazólicos formilados.....	20
4.2 Síntese das bases de Schiff fluorescentes 19-21	22
4.2.1 Otimização das condições reacionais.....	24
4.2.2 Caracterização das iminas 19-21	26
4.3 Síntese das aminas 22-24	29
4.3.1 Redução da imina 19 via método sem solvente.....	30
4.3.2 Redução das iminas 19-21 via método com solvente.....	31
4.3.2.1 Caracterização das aminas 22-24	31
4.4 Estudo fotofísico dos compostos 19-24	34

4.4.1 Estudo Fotofísico das iminas 19-21	34
4.4.2 Estudo Fotofísico das aminas 22-24	38
5. CONCLUSÃO	43
6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	44
6.1 Materiais e métodos.....	44
6.2 Síntese dos precursores benzazólicos 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol - (13) e 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (14).....	45
6.3 Síntese dos derivados 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (15) e 2- (5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (16).....	46
6.4 Síntese da imina 19	47
6.5 Síntese das iminas fluorescentes 20-21	47
6.6 Redução da imina 19 via método sem solvente.....	49
6.7 Redução das iminas 19-21 via método com solvente.....	49
REFERÊNCIAS	51

1. INTRODUÇÃO

Membranas são imprescindíveis à vida celular, pois envolvem e delimitam a célula mantendo diferenças entre o citosol e o ambiente extracelular. São estruturas dinâmicas, fluidas, flexíveis e essenciais para a conservação da energia e sinalização celular (ALBERTS et al., 2010). Para que se possa compreender a função da membrana, deve-se estudar sua composição. Membranas biológicas são constituídas principalmente por lipídeos e proteínas mantidos juntos por interações não covalentes. A proporção relativa destes varia com o tipo de membrana, refletindo a diversidade dos papéis biológicos, como reconhecimento, sinalização e mobilidade celular, além da disponibilização de sítios de ligação (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

Métodos baseados em fluorescência desempenham um papel importante na análise biofísica e estrutural de membranas lipídicas uma vez que são sensíveis, versáteis e apropriados para monitorar a dinâmica de moléculas e sua organização (PAZIN, 2012). Para que estes parâmetros sejam obtidos, sondas fluorescentes, que apresentam diferenças estruturais e físico-químicas, podem ser utilizadas (DICK et al., 2014), permitindo que diferentes regiões da bicamada lipídica sejam monitoradas. Elas podem estar inseridas totalmente na região hidrofóbica ou ligadas covalentemente em posições específicas de lipídeos. Também podem apresentar uma cadeia de hidrocarbonetos ligada a um fluoróforo, localizando-se preferencialmente na região de interface.

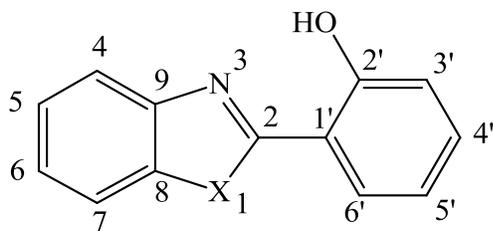
Sondas de membrana incluem análogos fluorescentes de lipídeos naturais, assim como corantes orgânicos lipofílicos que possuem semelhança estrutural com biomoléculas naturais. Devem possuir baixa toxicidade e retenção estável. Algumas sondas são úteis para rastreamento de células a longo prazo, enquanto que outras, menos lipofílicas são usadas como marcadores para processos de endocitose e exocitose (JOHNSON; SPENCE, 2010).

Corantes fluorescentes anfifílicos que apresentam boa intensidade de luminescência, um espectro de emissão livre de interferentes, com um grande deslocamento de Stokes e que apresentam um mecanismo do tipo ESIPT (*Excited State Intramolecular Proton Transfer*) podem ser considerados efetivos biologicamente, podendo ser utilizados na investigação de membranas biológicas (GUZOW et al., 2005), (RODEMBUSCH, 2005).

Corantes orgânicos lipofílicos derivados das moléculas 2-(2'-hidroxifenil)benzazolas (Figura 1) possuem as características acima descritas, além de apresentarem uma emissão de

fluorescência estável, estabilidade térmica e fotoquímica. Sendo assim, considera-se que podem ser utilizados como potenciais sondas de membranas (HOLLER, et al., 2002)

Figura 1. Estrutura dos heterociclos 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, onde X=O, S ou NH.



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar fotofisicamente aminas fluorescentes de cadeia longa, obtidas a partir de precursores heterocíclicos benzazólicos e que possuam potencial aplicação como sondas de membrana.

2.2 Objetivos específicos

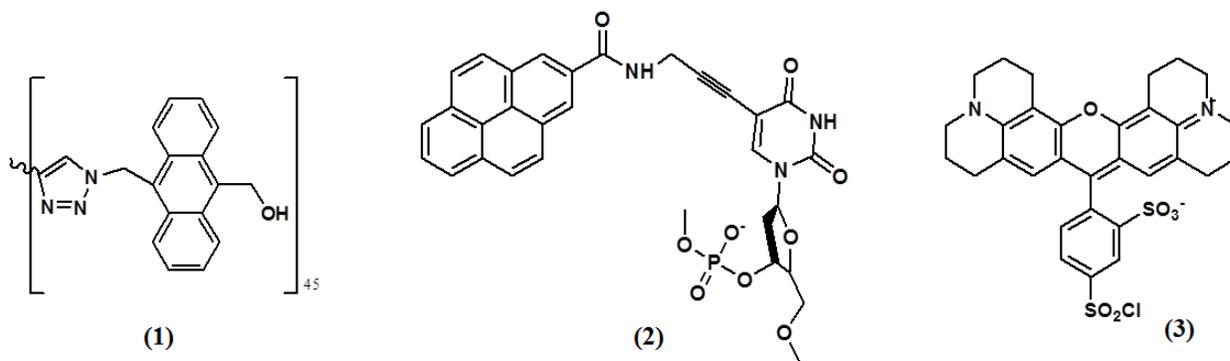
- Síntese dos derivados heterocíclicos 2-(3'-metil-2'-hidroxifenil)benzazóis;
- Formilação dos compostos benzazólicos através da síntese de Duff;
- Derivatização dos compostos formilados para obtenção de iminas de cadeia longa;
- Síntese de uma imina de cadeia longa, obtida a partir de reagentes comerciais;
- Redução das iminas, para obtenção de aminas fluorescentes de cadeia longa, com potencial aplicação como sondas de membrana;
- Caracterização das moléculas sintetizadas pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e de ^{13}C e FTIR, bem como ponto de fusão;
- Estudo fotofísico dos compostos obtidos através de medidas de absorção na região do UV-Vis e emissão de fluorescência em solução.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Sondas fluorescentes

Sondas fluorescentes são moléculas utilizadas para detectar uma região específica ou produzir uma resposta observável a partir de estímulos de determinados componentes em complexos biomoleculares, como no caso de células vivas, com alta seletividade (JOHNSON; SPENCE, 2010). A interação de uma sonda fluorescente com uma biomolécula promove um aumento na emissão de fluorescência e uma alta sensibilidade, mesmo em baixas concentrações do corante (HOLLER, et al., 2002). São consideradas ferramentas importantes em técnicas analíticas, em ensaios imunofluorimétricos e de imunofluorescência, estudos de conformação de proteínas, na determinação de sequência de nucleotídeos de DNA e em eletroforese capilar (RODEMBUSCH, 2005). Derivados de antraceno (1), pireno (2), isotiocianato fluoresceína e rodamina (3), são alguns exemplos de marcadores fluorescentes descritos na literatura (Figura 2) (DEMCHENKO, 2010).

Figura 2. Exemplos de sondas fluorescentes descritas na literatura.

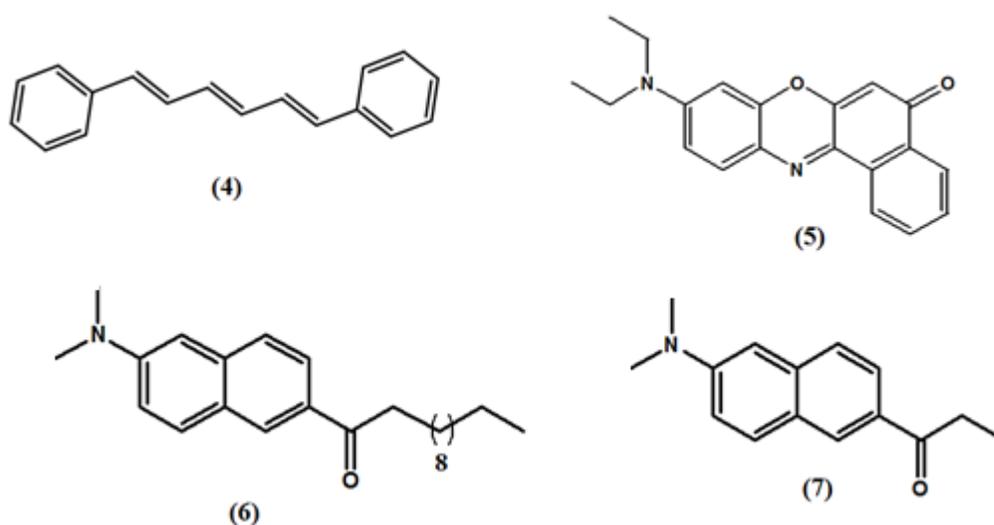


A seguir, são listados alguns critérios que devem ser seguidos no desenvolvimento de sondas fluorescentes aplicadas em sistemas vivos (JOHNSON, 1998): (i) deve ser introduzida de forma que seja mantida a integridade estrutural e fisiológica da célula; (ii) deve interagir seletivamente com o alvo, sendo ele um íon, molécula, organela ou outra estrutura; (iii) a fluorescência da sonda deve ser suficiente para permitir a detecção do alvo sem interferência da emissão intrínseca do meio e (iv) a interação com o alvo deve ser detectada pela visualização da emissão de fluorescência na região do visível ou por uma resposta espectroscópica, como por exemplo, uma alteração na intensidade de fluorescência ou um deslocamento da banda do espectro de absorção.

3.1.1 Sondas fluorescentes de membranas

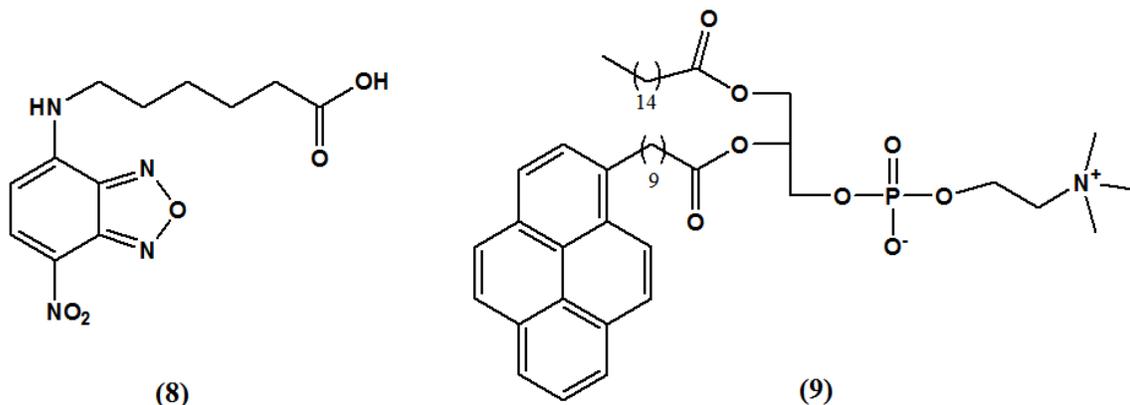
Avanços recentes, nos estudos envolvendo a estrutura e dinâmica de membranas celulares, mostram que sondas fluorescentes tem se tornado ferramentas indispensáveis nesta área de pesquisa (MASON, 1999). Na caracterização das propriedades biofísicas das membranas, são utilizadas sondas que não necessariamente são análogas a qualquer classe de lipídeos, porém estas devem possuir uma estrutura que apresente afinidade com lipídeos (MASON, 1999). Tais sondas são incorporadas no núcleo hidrofóbico, em lipossomas ou na interface aquosa das membranas. Como exemplos, destacam-se as sondas 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH) (4) e seus derivados, Nile red (5), Laurdan (6) e Prodan (7) (JOHNSON; SPENCE, 2010) (Figura 3).

Figura 3. Sondas de membrana não análogas a lipídeos.



Para estudos de processos intracelulares e metabolismo, sondas fluorescentes semelhantes a lipídeos são utilizadas (MASON, 1999). Marcadores fluorescentes podem ser incorporados em análogos de cinco classes de lipídeos de ocorrência natural: fosfolipídeos, esfingolipídeos, ácidos graxos, triacilgliceróis e esteroides. Desta forma, a sonda é monitorada sem que ocorra perturbação da integridade celular. Como exemplos, destacam-se ácidos graxos marcados com NBD (nitrobenzoxadiazol) (8) e fosfolipídeos marcados com pireno (9) (JOHNSON; SPENCE, 2010).

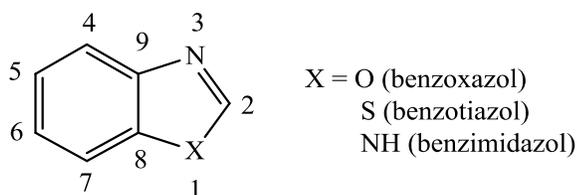
Figura 4. Sondas de membrana análogas a ácidos graxos e fosfolipídios.



3.2 Heterociclos fluorescentes 2-(2'-hidroxifenil)benzazólicos

Heterociclos benzazólicos tem sido objeto de uma série de estudos devido a suas propriedades intrínsecas (RZESKA et al., 2001). Estes compostos apresentam em sua estrutura um anel azólico condensado a um anel benzênico. O anel azólico possui dois heteroátomos, sendo um deles o nitrogênio na posição 3. O heteroátomo da posição 1 (X = O, S, NH) produz diferentes derivados, sendo eles benzoxazóis (HBO), benzotiazóis (HBT) e benzimidazóis (HBI), respectivamente (Figura 5).

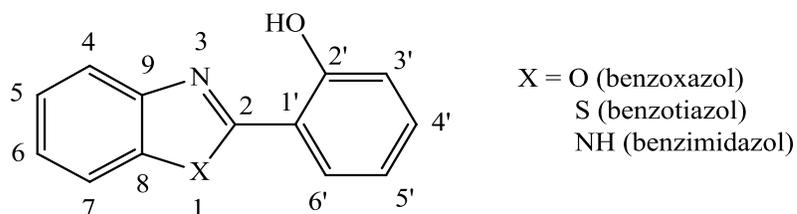
Figura 5. Compostos heterocíclicos benzazólicos.



Heterociclos benzazólicos são altamente versáteis e proporcionam atividade biológica (NEYTS et al., 2009), propriedades farmacocinéticas (PELLETIER et al., 2009) e terapêuticas (GUMUS et al., 2009), atuam como semicondutores (YUAN et al., 2009) e corantes (SON et al., 2009). A introdução de um grupo 2-hidroxifenil na posição 2 do anel azólico proporciona a formação dos compostos 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis (Figura 6). Estes apresentam importantes propriedades fotofísicas, como fotoestabilidade e intensa emissão de fluorescência com grande deslocamento de Stokes devido a um mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado eletrônico excitado (ESIPT), o que confere características físicas e químicas importantes a

estas moléculas, que possuem aplicações como corantes para lasers (ACUNA et al., 1991), na marcação de proteínas (RODEMBUSCH et al., 2005), materiais para óptica não-linear (RODEMBUSCH et al., 2004), e matrizes poliméricas fluorescentes (TANG et al., 1996).

Figura 6. Heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis.

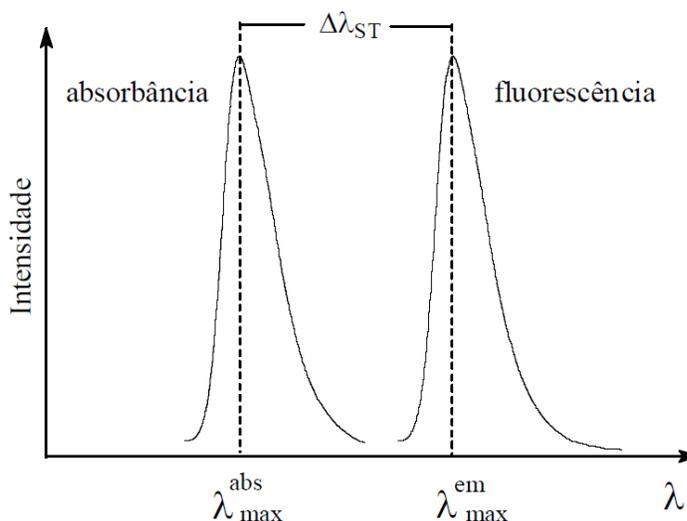


Alguns derivados de heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis são biologicamente ativos e podem ser usados como sondas fluorescentes na determinação espectrofluorimétrica de enzimas e aminoácidos contidos em amostras biológicas (GUZOW et al., 2005). A introdução de um grupo formil nestes compostos produz os derivados 2-(5'-formil-2'-hidroxifenil)benzazóis que possuem grande versatilidade sintética, permitindo assim, a reação com aminas alifáticas de cadeia longa com formação de iminas fotoativas, que podem ser reduzidas a compostos fluorescentes contendo o grupamento amino e que apresentam potencial aplicação como sondas de membrana, devido características estruturais e fotofísicas.

3.2.1 Mecanismo de ESIPT e deslocamento de Stokes

O mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT) tem atraído atenção em materiais luminescentes (PARK et al., 2009) e em sondas moleculares (WU et al., 2011). A propriedade fotofísica mais marcante de compostos que apresentam ESIPT é o grande deslocamento de Stokes que é uma característica desejável para fluoróforos, por causa da diminuição da auto-absorção e, por consequência, melhora nas medidas de fluorescência (ZHAO et al., 2012). Moléculas orgânicas que apresentam mecanismo de ESIPT são capazes de absorver na região ultravioleta e emitir na região do visível devido ao aparecimento de uma larga separação entre as bandas de emissão e de fluorescência. Esta separação é medida em termos do deslocamento de Stokes, que é definido como a diferença entre os comprimentos de onda dos máximos de absorção e emissão da molécula (RODEMBUSCH, 2005) (Figura 7).

Figura 7. Representação do deslocamento de Stokes.

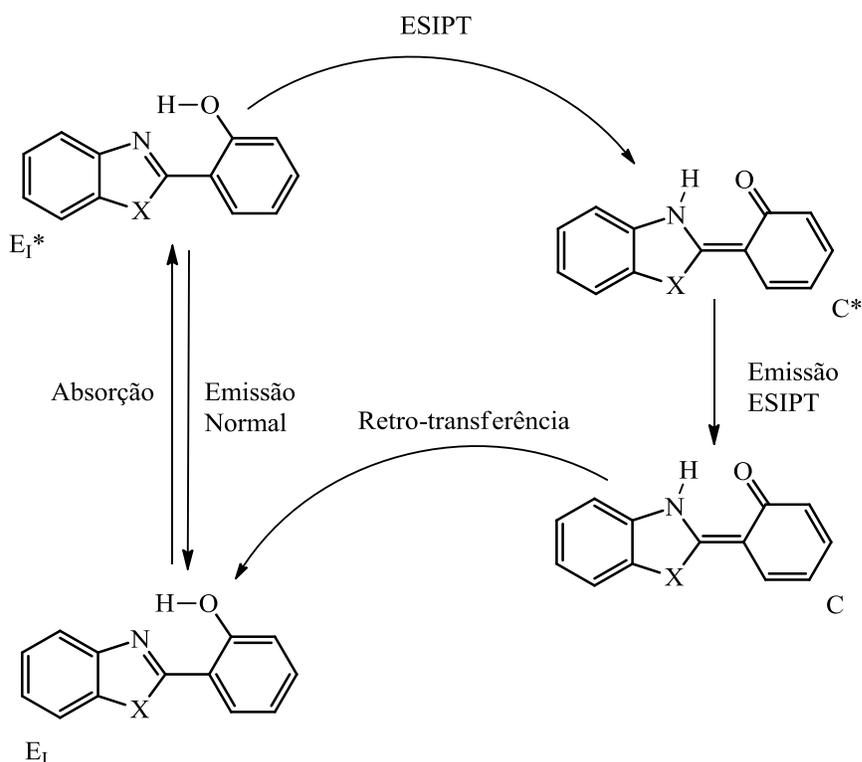


Para moléculas fluorescentes que não apresentam o mecanismo de ESIPT, o deslocamento de Stokes se encontra entre 10 e 70 nm. Por outro lado, moléculas que apresentam este fototautomerismo possuem maior deslocamento de Stokes, usualmente entre 100 e 250 nm (RODEMBUSCH, 2005). Como pré-requisito, estas devem possuir grupos ácidos doadores e básicos aceptores vizinhos, associados por ligação hidrogênio intramolecular (ABELLA, 2003).

Para compostos 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, o equilíbrio tautomérico e conformacional, em vários solventes e no estado fundamental e excitado, tem sido estudado por meio da absorção e espectroscopia de fluorescência. O mecanismo de transferência protônica inicia com a absorção da radiação por moléculas, no estado fundamental, que existem na forma de um confômero cis-enol (E_I), produzindo o enol-cis excitado (E_I^*). A mudança na distribuição eletrônica ocasionada pela absorção de luz aumenta a acidez da hidroxila ao mesmo tempo em que o nitrogênio azólico torna-se mais básico. Sendo assim, a transferência do hidrogênio é facilitada pelo maior caráter ácido-base no estado excitado do que no estado fundamental e, conseqüentemente, um próton é transferido do grupo doador de prótons (hidroxila fenólica) para o grupo aceptor de prótons (nitrogênio do anel azólico), gerando o correspondente tautômero-ceto (C^*), através de transferência protônica intramolecular extremamente rápida. A configuração formada é mais estável, sendo alcançado um estado de menor energia eletrônica, pois o tautômero ceto é estabilizado por uma ligação de hidrogênio intramolecular entre N-H e CO. O tautômero ceto na

forma excitada (C^*) decai para o confômero ceto no estado fundamental (C) emitindo fluorescência com grande deslocamento de Stokes, pois, a tautomerização ocorre com perda de energia conformacional, e, conseqüentemente, a emissão é deslocada para menores energias, ou seja, para maiores comprimentos de onda. O confômero cis-enol inicial (E_I) é regenerado após tautomerismo sem alteração fotoquímica (Figura 8). O mecanismo de ESIPT depende da conformação da molécula, da temperatura, do pH do meio e da natureza do solvente, principalmente com respeito à capacidade de formar ligação de hidrogênio.

Figura 8. Mecanismo de ESIPT para heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, onde $X=O, S$ ou NH .

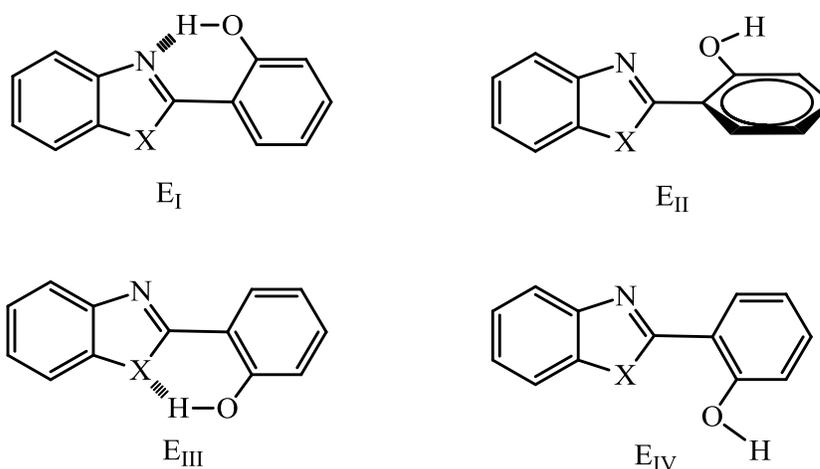


3.2.1.1 Efeito do solvente na ESIPT

Moléculas que apresentam ESIPT geralmente exibem duas bandas de emissão. Uma delas em menores comprimentos de onda devido à emissão de fluorescência que ocorre sem a transferência protônica no estado excitado e a outra que apresenta grande deslocamento de Stokes proveniente do mecanismo de ESIPT. Compostos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis apresentam dois isômeros no estado fundamental, o cis-enol (E_I) e o trans-enol (E_{III}) (Figura 9), que são

responsáveis pelas duas bandas de emissão. Excitação do cis-enol produz o tautômero ceto no estado excitado devido transferência protônica e como consequência um grande deslocamento de Stokes, enquanto que a excitação do trans-enol gera emissão de fluorescência normal. Estas bandas de emissão são extremamente dependentes da polaridade do solvente. Em solventes próticos e polares há uma competição entre as ligações de hidrogênio intra e intermoleculares com as moléculas de solvente, enfraquecendo a ligação de hidrogênio intramolecular (ROBERTS; DEY; WARNER, 1997). A ligação de hidrogênio intermolecular entre as moléculas de solvente e a hidroxila do confômero E_I inibe o processo de ESIPT e favorece a emissão normal.

Figura 9. Formas tautoméricas enol-cis (E_I), enol-trans (E_{III}), enol-cis solvatado (E_{II}), enol-trans solvatado (E_{IV}), com X= O, S ou NH.



3.3 Estudo fotofísico

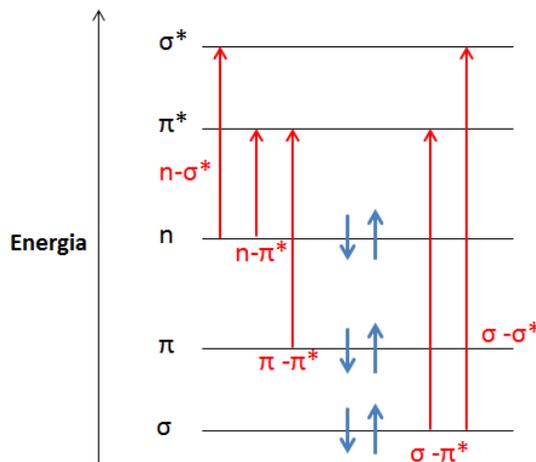
3.3.1 Absorção de radiação na região do UV-Visível

A luminescência envolve vários tipos de fenômenos ópticos. Os mais difundidos referem-se à fluorescência, à fosforescência e à quimiluminescência (SOTOMAYOR et al., 2008). Os métodos baseados em fluorescência são aqueles nos quais a excitação da molécula é conduzida pela absorção de fótons na região de comprimentos de onda entre 180 e 680 nm que compreende a parte do espectro correspondente à radiação ultravioleta e visível. A molécula absorve energia proveniente da luz ultravioleta ou visível e elétrons são promovidos de um estado de menor energia (estado fundamental) para um estado eletrônico de maior energia (estado excitado). O

processo de excitação de um elétron é quantizado, ou seja, a radiação eletromagnética absorvida possui energia correspondente à diferença de energia dos estados excitado e fundamental (PAVIA; LAMPAMN; KRIZ, 2001).

Diferentes transições eletrônicas podem ocorrer entre os orbitais σ , π e n (Figura 10). Dentre estas transições, aquelas que apresentam maior interesse para a fotoquímica molecular orgânica são $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (WARDLE, 2009). Em geral, a transição mais provável é aquela que ocorre do orbital ocupado de maior energia (HOMO) para o orbital desocupado de menor energia (LUMO).

Figura 10. Possíveis transições eletrônicas em compostos orgânicos.



A energia potencial total de uma molécula é representada pela soma das energias eletrônica, vibracional e rotacional (OWEN, 2000). As moléculas possuem muitos modos de excitação vibracional e rotacional em temperatura ambiente, e estes podem ser sobrepostos com níveis de energia eletrônicos, sendo assim, a absorção no ultravioleta ocorre em uma ampla faixa de comprimentos de onda e aparece como uma banda. A extensão da absorção de luz varia de forma considerável entre diferentes substâncias. A probabilidade de uma absorção ocorrer é indicada pela absorvidade molar (ϵ) que é característica para cada molécula. A absorbância (A) é a quantidade de luz que pode ser absorvida pela molécula. A absorbância e a absorvidade molar estão relacionadas pela Lei de Lambert-Beer:

$$A = \epsilon bc \quad (1)$$

De acordo com a Equação 1, a absorbância é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente c e ao caminho óptico b do meio absorvente (SKOOG; WEST; HOLLER, 2006). Para valores em que a absorvidade molar é maior que $10^3 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, considera-se que a absorção é de alta intensidade. Absorções de baixa intensidade possuem valor de ϵ abaixo de $10^2 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ e são consideradas transições proibidas. Neste caso, estão incluídas as transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$.

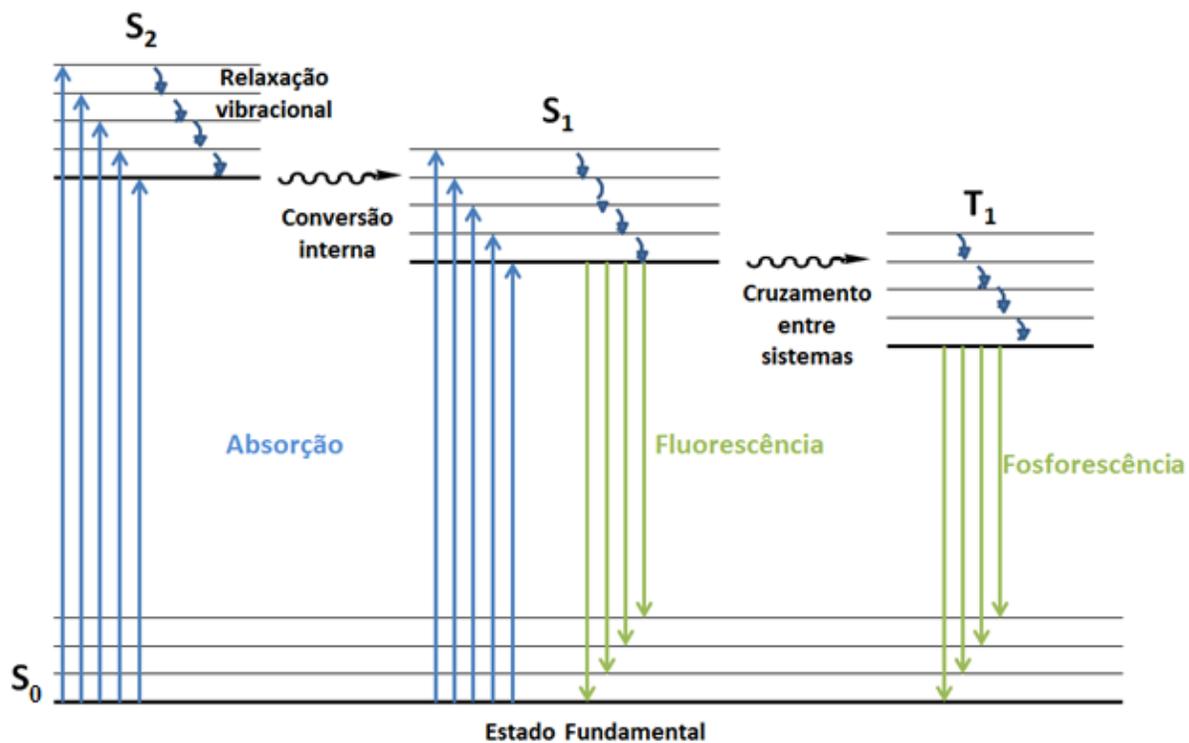
A posição (efeito hipsocrômico ou batocrômico) e/ou a intensidade (efeito hipercrômico ou hipocrômico) da banda de um espectro de absorção pode ser afetada por vários fatores, entre eles podem ser destacados o aumento ou diminuição da conjugação eletrônica e utilização de diferentes solventes. Efeito batocrômico, também conhecido como deslocamento para o vermelho, é um deslocamento para energias mais baixas. Efeito hipsocrômico, também conhecido como deslocamento para o azul, é um deslocamento para energias mais altas. No efeito hipercrômico, ocorre um aumento na intensidade da absorção, enquanto que, no efeito hipocrômico, ocorre uma diminuição na intensidade da absorção.

3.3.2 Emissão de Fluorescência

Após absorção da energia e alcance do nível vibracional mais alto do estado excitado, a molécula pode retornar ao estado fundamental através de processos radiativos (fluorescência e fosforescência) ou não-radiativos e/ou fotoquímicos. Os processos que ocorrem entre a absorção e emissão de luz são ilustrados pelo diagrama de Jablonski (Figura 11). O excesso de energia é perdido rapidamente por processos não-radiativos até o mais baixo nível de energia do estado excitado. Deste nível, a molécula pode retornar para o estado fundamental pela emissão da energia na forma de fluorescência (SHARMA; SCHULMAN, 1999). Este processo de desativação da energia envolve transições de estados de mesma multiplicidade, e a velocidade da emissão de fluorescência é de aproximadamente 10^{-8} segundos. As bandas de fluorescência apresentam menor energia e, conseqüentemente, maior comprimento de onda que na absorção, pois a transição radiativa ocorre após parte da energia ter sido dispersa por formas não-radiativas. Moléculas no primeiro estado excitado S_1 também podem ser submetidas a um cruzamento entre sistemas (transição não-radiativa) entre estados de diferentes multiplicidades ($S_1 \rightarrow T_1$), sendo

assim, uma transição proibida por spin. Emissão a partir de T_1 é denominada de fosforescência e a velocidade é menor do que para a fluorescência.

Figura 11. Diagrama de Jablonski.



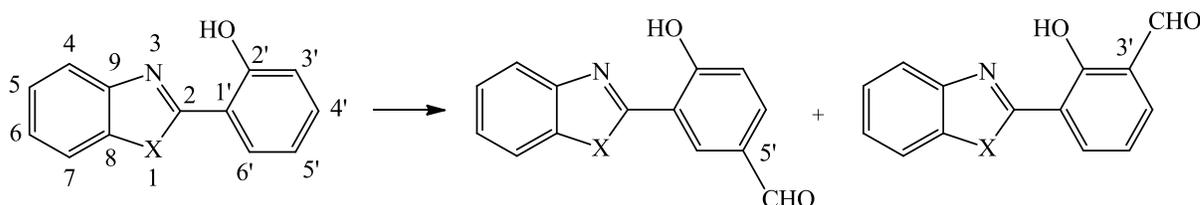
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos precursores benzazólicos

4.1.1 Síntese dos derivados 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**13**) e 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**14**)

Com o intuito de obter derivados benzazólicos fluorescentes de cadeia alifática longa como possíveis sondas de membrana, partiu-se de precursores heterocíclicos contendo o grupamento aldeído para posterior reação com aminas alifáticas gerando uma imina fotoativa. Poucos compostos benzazólicos contendo o grupo aldeído são descritos na literatura (AFFELDT, et al., 2014). A formilação do composto 2-(2'-hidroxifenil)benzoxazol (HBO) foi descrita por Affeldt (2011) através da síntese de Duff que envolve reagentes estáveis e de baixo custo (DUFF; BILLS, 1932). Porém, como pode ser visto na Figura 12, em todas as reações, foi obtida uma mistura dos produtos 3' e 5'-HBOCHO.

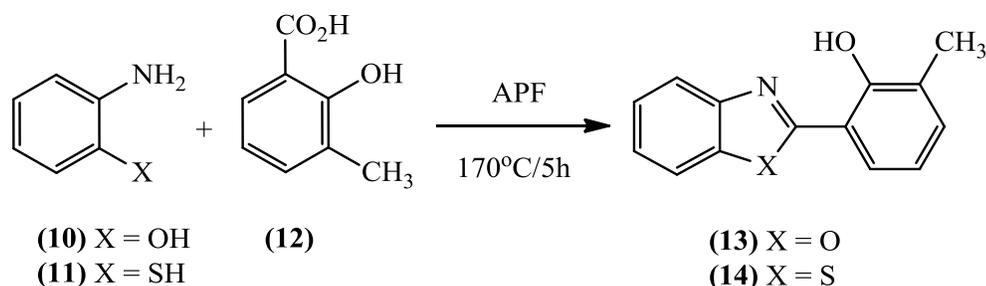
Figura 12. Produtos obtidos a partir da formilação de Duff.



Para contornar o problema relatado anteriormente, foram sintetizados derivados heterocíclicos 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis contendo um substituinte metila na posição 3' do anel aromático. Considerando que a presença de substituintes no anel fenólico pode modificar o comportamento fotofísico destas espécies, Santos et al. (2013) realizou estudos com o intuito de investigar a influência destes nos espectros de absorção e emissão de fluorescência, verificando que não ocorreram alterações significativas nas características fotoativas destes compostos.

Neste contexto, a primeira etapa deste trabalho, consistiu na síntese dos precursores heterocíclicos 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**13**) e 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**14**), os quais foram obtidos através da reação de condensação do ácido 3-metil-salicílico (**12**) com aminas aromáticas substituídas na posição orto (**10-11**) em ácido polifosfórico (APF) que atua como solvente e catalisador ácido da reação (Esquema 1).

Esquema 1. Metodologia sintética de obtenção dos derivados benzazólicos **13-14**.



Apesar do grande número de publicações utilizando o ácido polifosfórico como reagente, a investigação do mecanismo de reação no qual o mesmo atua, se torna extremamente difícil por causa de sua alta viscosidade e composição complexa (SO; HEESCHEN, 1997). A Figura 13 apresenta o espectro de RMN de ^1H do composto **13**, em CDCl_3 . Observa-se um singlete em 2,34 ppm referente aos hidrogênios do grupo metila. O singlete em 11,65 ppm corresponde ao hidrogênio da hidroxila do fenol. A região em que este sinal se encontra depende da concentração, do solvente e da temperatura, estando geralmente entre 7,5 e 4 ppm, verifica-se que o sinal se encontra deslocado para uma região de maior frequência, possivelmente devido à formação de ligação de hidrogênio intramolecular (SILVERSTEIN, 1994). A ampliação da região aromática é mostrada na Figura 14. Os hidrogênios H_4 e H_7 são mais desblindados que os hidrogênios H_5 e H_6 por se encontrarem próximos do nitrogênio e oxigênio, respectivamente. Ambos são encontrados na forma de multipletes devido ao acoplamento em orto e meta com os hidrogênios H_5 e H_6 . Verifica-se também que os sinais correspondentes aos hidrogênios H_5 e H_6 , se sobrepõem no espectro na forma de um único multiplete, além disso, cada um deles acopla com dois hidrogênios em orto e um em meta. O duplo dubleto em 7,85 ppm é referente ao hidrogênio H_6 , sendo este o mais desblindado da região aromática, ele acopla com H_5 em orto ($J=7,3$ Hz) e H_4 em meta. O duplo dubleto em 7,27 ppm é referente ao hidrogênio H_4 , que acopla com H_5 em orto ($J=7,3$ Hz) e H_6 em meta. O hidrogênio mais blindado da região aromática é o H_5 , pois se encontra para em relação à hidroxila, que por ser doadora de elétrons, faz com que os hidrogênios das posições orto e para permaneçam com uma densidade eletrônica maior e conseqüentemente sejam mais blindados. A Figura 15 mostra a expansão da região aromática do composto **14**.

Figura 13. Espectro de RMN de ^1H do composto **13** (300 MHz, CDCl_3).

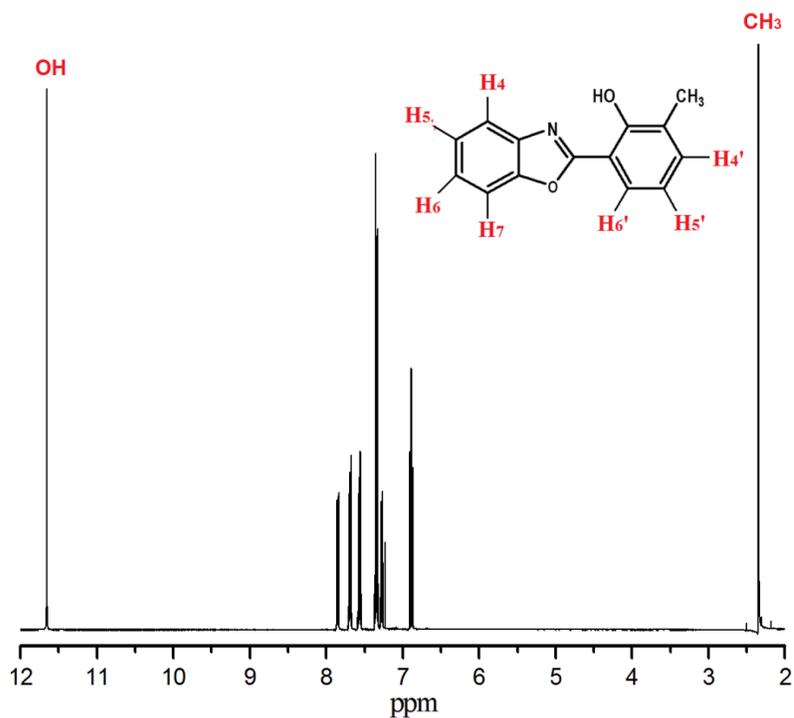


Figura 14. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **13** (300 MHz, CDCl_3).

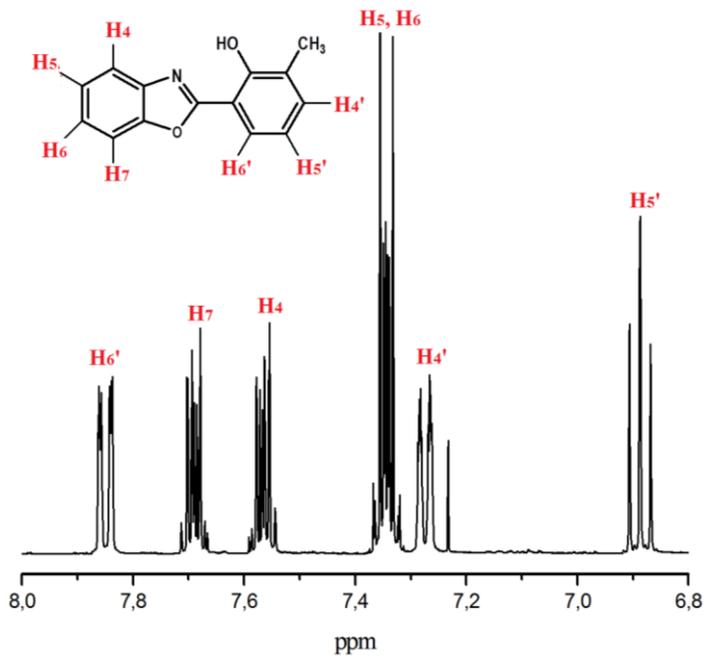
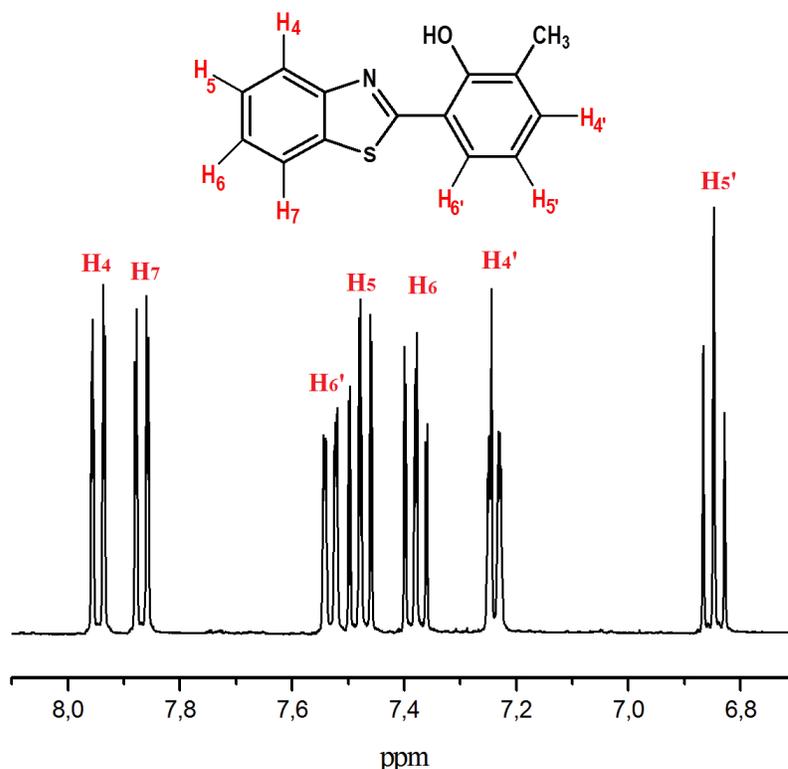


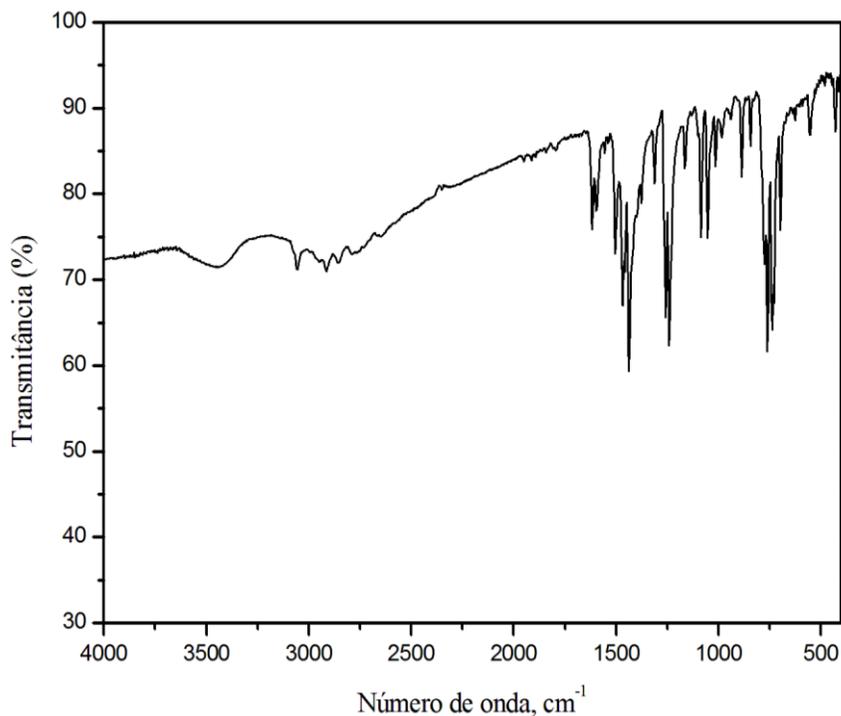
Figura 15. Ampliação da região aromática do espectro de RMN de ^1H do composto **14** (300 MHz, CDCl_3).



Comparando-se os dois espectros, são observadas pequenas diferenças na região aromática. O hidrogênio H_4 aparece como o mais desblindado para a região aromática, enquanto que o hidrogênio H_6 torna-se mais blindado. Além disso, os sinais dos hidrogênios H_5 e H_6 não aparecem sobrepostos.

A Figura 16 apresenta o espectro de FTIR do **14**, em KBr. A presença da hidroxila fenólica é comprovada por uma banda alargada em 3428 cm^{-1} referente ao estiramento O-H. Em 3055 cm^{-1} é observada uma banda de fraca intensidade que corresponde ao estiramento C-H de aromático. Em 2918 e 2847 cm^{-1} são observadas duas bandas de fraca intensidade referentes ao estiramento assimétrico e simétrico de C-H alifático. A ausência de uma banda de forte intensidade em aproximadamente 1720 cm^{-1} , do estiramento C=O do ácido carboxílico, comprova que o precursor ácido 3-metil-salicílico (**12**) foi totalmente consumido. A banda intensa em 1247 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-O do fenol. A banda de fraca intensidade em 696 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-S do anel azólico.

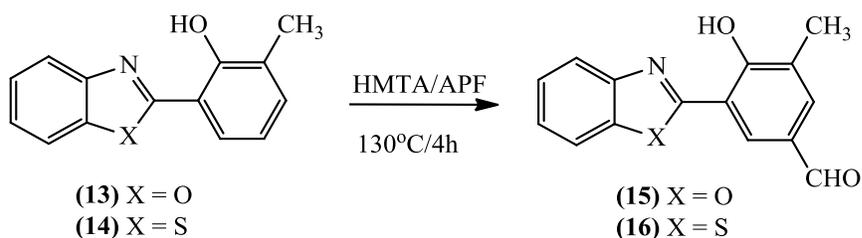
Figura 16. Espectro de FTIR do **14** em KBr.



4.1.2 Síntese dos derivados 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**15**) e 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**16**)

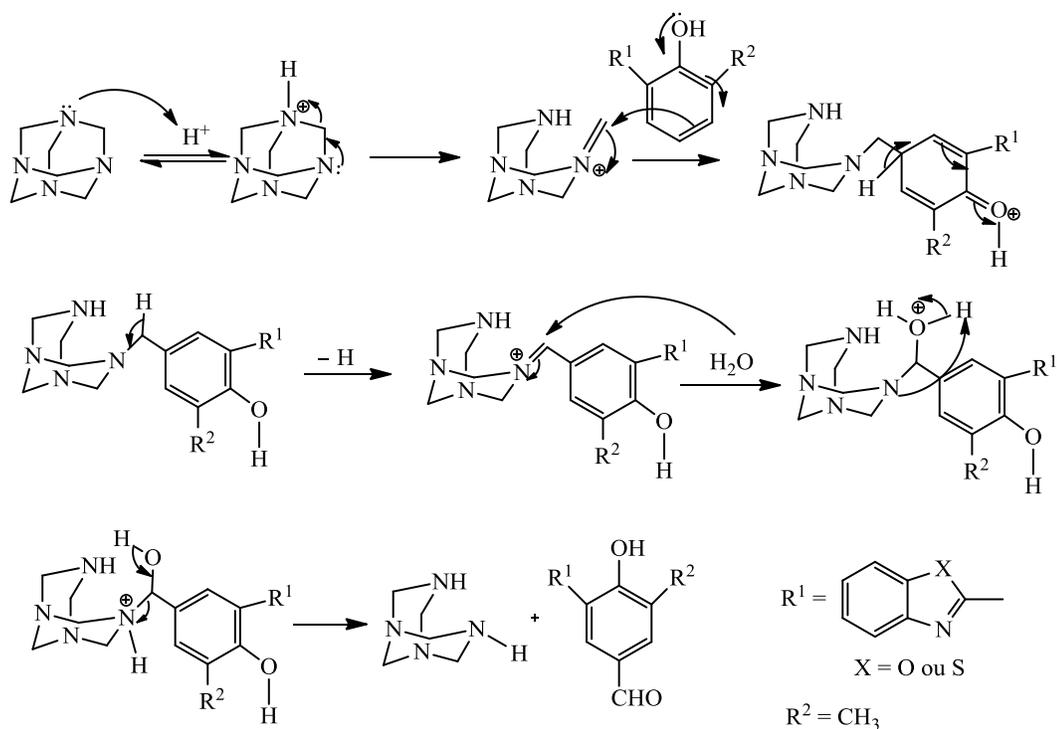
A segunda etapa deste trabalho consiste na obtenção dos compostos heterocíclicos benzazólicos formilados 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**15**) e 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**16**) através da síntese de Duff. Os compostos **13-14** reagem com a hexametenotetramina (HMTA) em ácido polifosfórico (APF) a 130°C durante 4 horas (Esquema 2). Ao longo deste período é observado o escurecimento da mistura reacional devido carbonização ocorrida por causa das condições drásticas empregadas. A mistura reacional é vertida em gelo para que ocorra a hidrólise do APF. O precipitado formado é neutralizado com bicarbonato de sódio, filtrado e seco em dessecador gerando um produto bruto de coloração marrom escura. A presença de grande quantidade de material carbonizado faz com que seja necessária uma pré-purificação por extração sólido-líquido, via Soxhlet, sob refluxo de acetona. A purificação é feita por cromatografia em coluna utilizando hexano e acetato de etila como eluentes.

Esquema 2. Metodologia sintética de obtenção dos derivados formilados **15-16**.



Na síntese de Duff, a formilação ocorre no anel benzênico que contém um grupo doador de elétrons, sendo este uma hidroxila fenólica ou uma amina. Estes grupos são orto-para dirigentes, porém, a substituição em orto geralmente é observada e os rendimentos são baixos (SMITH; MARCH, 2007). Considerando os compostos 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**13**) e 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**14**), a formilação ocorre necessariamente na posição para devido à presença de substituintes na posição orto à hidroxila. O mecanismo proposto para a reação de formilação, encontra-se no Esquema 3. Em meio ácido, ocorre protonação do HMTA, o qual sofre ataque do anel benzênico. Posteriormente, há uma desidrogenação seguida de uma hidrólise que gera o respectivo aldeído (MUNDY; ELLER; FAVALORO, 2005).

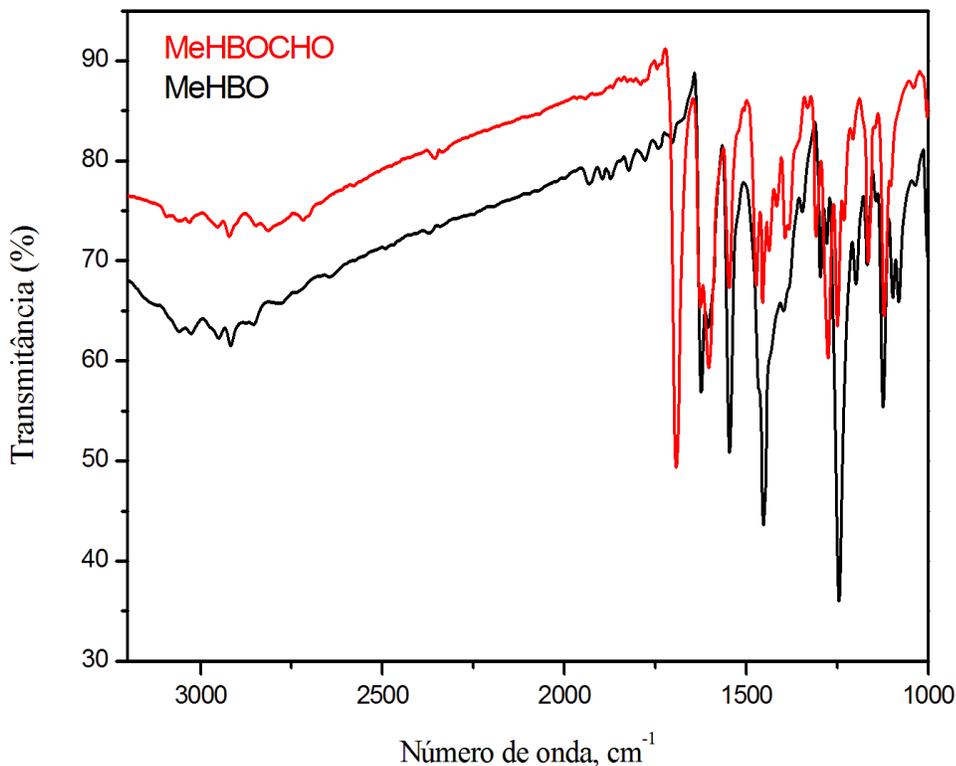
Esquema 3. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados formilados **15-16**.



4.1.2.1 Caracterização dos compostos benzazólicos formilados

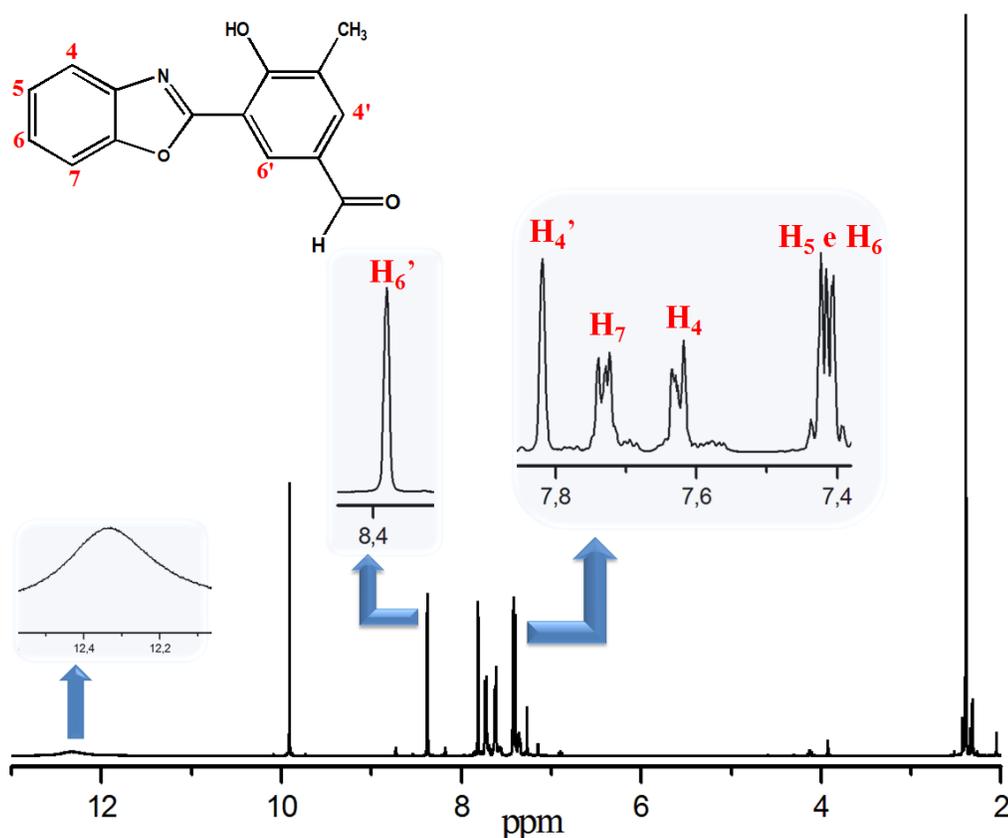
A caracterização dos compostos **15** e **16** é feita através das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho FTIR e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H). Na Figura 17 são observados os espectros de FTIR de **13** e **15** sobrepostos. Comparando-se os dois espectros, verifica-se um par de bandas fracas em 2815 e 2713 cm^{-1} no espectro do **15**, que correspondem ao estiramento C-H do aldeído. Estas podem estar encobertas pelas bandas C-H da cadeia alquílica, por isso, sua identificação é feita com dificuldade. A presença de uma banda de intensidade forte em 1693 cm^{-1} correspondente ao estiramento C=O do aldeído no espectro do composto **15** evidencia a formação do produto formilado. A banda referente ao estiramento C=O de aldeído é geralmente observada na faixa entre 1740 e 1725 cm^{-1} , porém, é deslocada para frequências mais baixas quando há conjugação com a fenila (PAVIA; LAMPAMN; KRIZ, 2001). O espectro de FTIR em KBr, para o **16** encontra-se no apêndice (Figura A2).

Figura 17. Sobreposição dos espectros de FTIR em KBr dos compostos **13** e **15**.



A Figura 18 apresenta o espectro de RMN de ^1H do composto **15**, em CDCl_3 . O singlete alargado em 12,35 ppm corresponde ao hidrogênio da hidroxila fenólica. O hidrogênio do aldeído aparece como um singlete em 9,91 ppm. A presença do aldeído (retirador de elétrons) no anel aromático causa uma maior desblindagem nos hidrogênios H_6' e H_4' . Sendo assim, o singlete em 8,39 ppm é referente ao hidrogênio H_6' e o singlete em 7,82 ppm corresponde ao hidrogênio H_4' . Os demais hidrogênios da região aromática H_4 - H_7 apresentam a mesma característica observada na molécula de **13**. O espectro de RMN de ^1H em CDCl_3 , para o **16** encontra-se no apêndice (Figura A1).

Figura 18. Espectro de RMN de ^1H do composto **15** (300 MHz, CDCl_3).

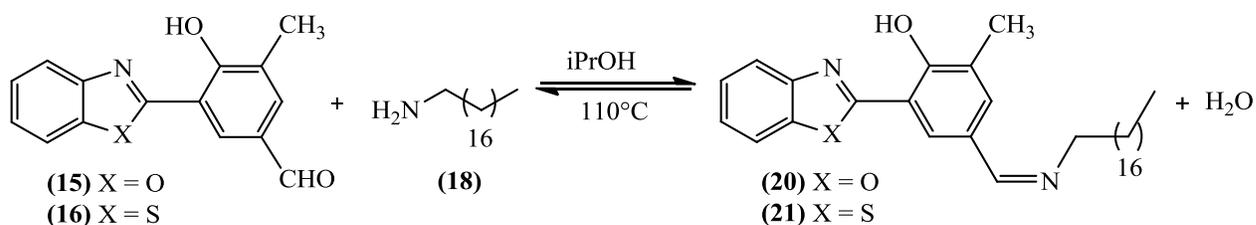


4.2 Síntese das bases de Schiff fluorescentes **19-21**

Bases de Schiff são iminas caracterizadas pela ligação $-\text{CH}=\text{N}-$ entre um grupo aromático em uma das extremidades e um grupo arila ou alquila na outra extremidade. São amplamente estudadas devido a similaridades estruturais com compostos biológicos naturais e apresentam

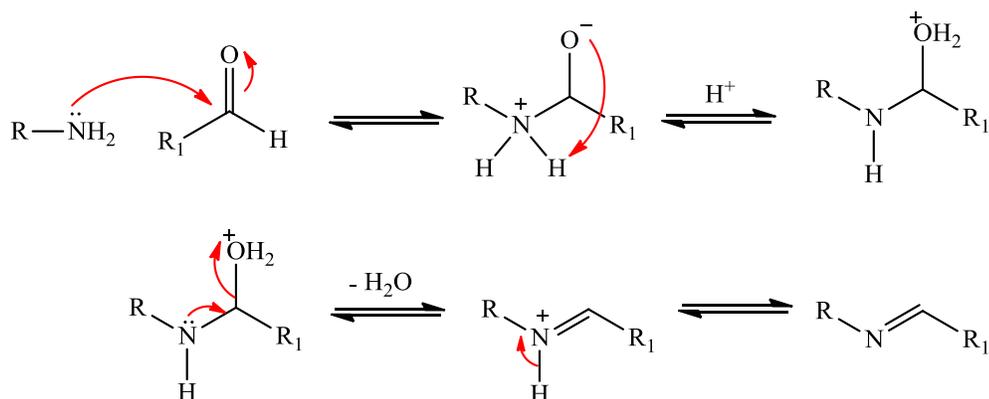
uma vasta gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antifúngicas, antibacterianas, antiproliferativas, antivirais e anti-inflamatórias (ZOUBI, 2013). Considerando que os compostos **15** e **16** apresentam intensa emissão de fluorescência e possuem um grupamento aldeído altamente reativo, procede-se à reação destes com uma amina alifática de cadeia longa, para obter uma imina fotoativa com características estruturais anfifílicas, que possua potencial aplicação como sonda de membrana. A partir da reação dos derivados benzazólicos formilados **15** e **16**, com a amina alifática **18**, foi possível a síntese das iminas **20** e **21**, conforme Esquema 4. As reações foram realizadas utilizando isopropanol como solvente e o pH ajustado adicionando-se ácido acético ao solvente. A temperatura foi mantida entre 110-120°C por um período de 5 horas, para garantir conversão completa da imina e remoção total da água formada no meio reacional. A comprovação de pureza e a caracterização foi feita por ponto de fusão e métodos espectroscópicos usuais (FTIR e RMN de ^1H).

Esquema 4. Metodologia sintética de obtenção das iminas fluorescentes **20-21**.



O mecanismo de formação das iminas ocorre através de catálise ácida (CAREY, 2004). As reações ocorrem de forma rápida entre pH 4-6 (Esquema 5). Em um pH abaixo de 4 a amina se encontra protonada e sua nucleofilicidade é diminuída. Sendo assim, a primeira etapa, correspondente ao ataque da amina na carbonila do aldeído, é lenta. Por outro lado, em um pH acima de 6, dificilmente ocorre protonação da hidroxila e, conseqüentemente, a saída da água é dificultada.

Esquema 5. Proposta de mecanismo para formação de iminas (pH 4-6).



4.2.1 Otimização das condições reacionais

Para a otimização da síntese das iminas fluorescentes contendo derivados benzazólicos, foram empregadas diferentes condições reacionais com relação à variação do solvente, tempo de reação e proporção dos reagentes. Inicialmente, verificou-se que a utilização de sistema em refluxo, utilizando como solvente o isopropanol, não era eficiente, pois a imina formada era convertida novamente nos reagentes de partida, a partir da hidrólise dos produtos ocasionada pela água formada durante a reação. Normalmente, na síntese de iminas, são empregados aparatos específicos como, por exemplo, Dean Stark, para refluxo com remoção da água formada. Porém, na falta deste, procedeu-se a síntese de maneira diferente. Foi utilizado um sistema aberto, com um balão de boca larga contendo os reagentes, sob agitação e aquecimento. O solvente, contendo 3 gotas de ácido acético glacial, é adicionado em pequenas porções de maneira contínua para que o equilíbrio da reação seja deslocado para a formação preferencial dos produtos, ou seja, à medida que o solvente evapora, ele arrasta consigo a água formada durante a reação, gerando a imina correspondente. Os solventes utilizados foram isopropanol e etanol, pois formam um azeótropo com a água, facilitando a remoção da mesma. Foi observado que o isopropanol foi o mais efetivo. Com relação à quantidade dos reagentes empregados, foram testadas duas reações. Na primeira, foi utilizado um excesso da amina alifática, porém, neste caso, o produto final, além de conter a imina formada, também continha o excesso da amina que permaneceu sem reagir. No segundo teste, foram utilizadas quantidades equimolares dos dois reagentes, verificando-se a formação da imina como produto principal, não sendo mais observada presença dos reagentes. O tempo reacional é outro fator de extrema importância. As reações realizadas com tempo inferior a

três horas, ainda apresentavam a presença dos reagentes de partida. Determinou-se que o tempo ideal para a formação da imina é de aproximadamente 5 horas.

Um inconveniente apresentado na formação das iminas foi a dificuldade de detecção do fim da reação, pois verificou-se que as iminas formadas se degradam em sílica, o que torna inutilizável o uso de cromatografia em camada delgada. Na Tabela 1, são apresentados os 4 testes empregados para a otimização das condições reacionais para a síntese das iminas fluorescentes.

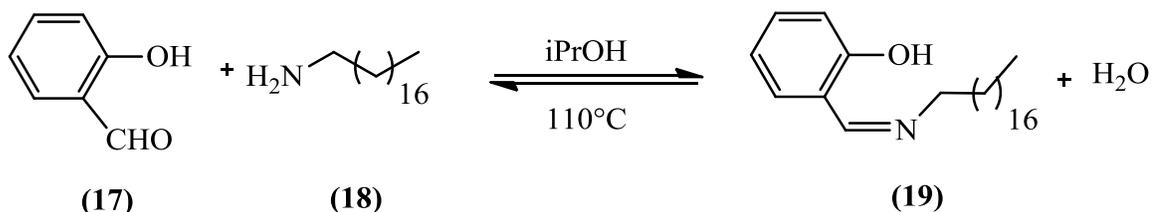
Tabela 1. Testes empregados para a otimização da síntese das iminas fluorescentes.

Teste	Tipo de sistema	Solvente	Proporção dos reagentes (amina:aldeído)	Tempo de reação (horas)	Rendimento
# 1	Refluxo	Isopropanol	1:1	2	Sem reação
#2	Sistema aberto	Etanol	2:1	1	Sem reação
#3	Sistema aberto	Isopropanol	2:1	2	Mistura complexa de produtos
#4	Sistema aberto	Isopropanol	1:1	5	98 %

Para a purificação das iminas formadas, inicialmente foi testada recristalização com acetona. Porém, foi verificado através da mudança de coloração do composto (coloração laranja tornou-se levemente esbranquiçada), que parte do produto sofreu hidrólise neste solvente. O mesmo ocorreu para o teste de lavagem com acetato de etila. Justamente pelo fato das iminas se degradarem em sílica, não foi utilizada cromatografia em coluna como forma de purificação das mesmas. Devido ao fato de que a formação resulta em baixos rendimentos e que a quantidade de produto formado é baixa, optou-se por sintetizar uma imina, partindo-se de reagentes comerciais disponíveis no laboratório, para realizar os testes de purificação. Para esta reação, foram utilizados o salicilaldeído (**17**) e a amina alifática octadecilamina (**18**), em quantidades equimolares (Esquema 6). As condições reacionais empregadas, foram as mesmas determinadas na otimização, com exceção do tempo reacional, que foi superior. O sistema foi mantido sob agitação e aquecimento durante a noite, resultando em um líquido viscoso de coloração amarelada. O fim da reação foi determinado através de cromatografia em camada delgada, pois a imina **19** não se decompõe em sílica. Cessado o aquecimento, foi observada a formação de um

sólido amarelado. Para a purificação do composto **19** foram testados lavagem com isopropanol seco com peneira molecular (para evitar a hidrólise da imina) e recristalização com isopropanol. Os dois métodos se mostraram satisfatórios, resultando na imina **19** pura, porém, foi constatado que a lavagem com isopropanol foi mais eficiente apresentando um rendimento de 80%, enquanto que a recristalização resultou em rendimento em torno de 55%.

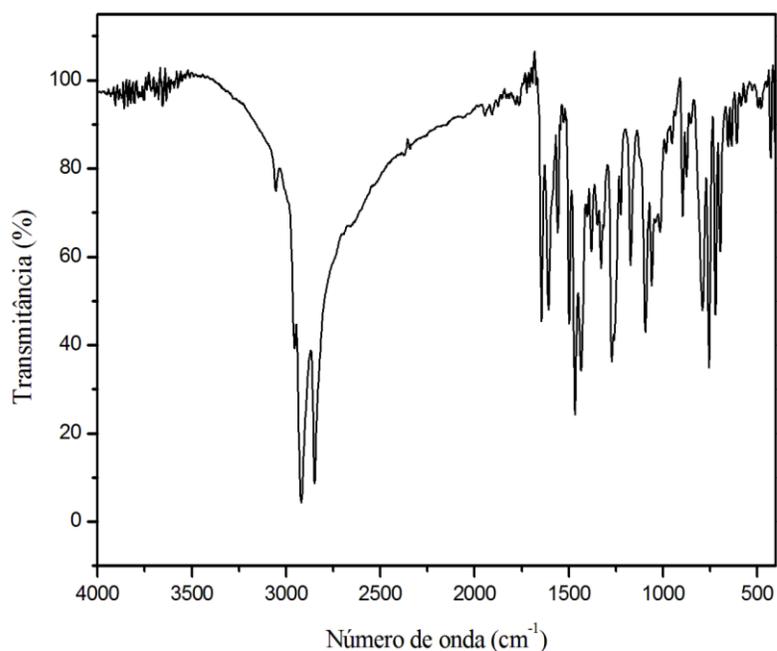
Esquema 6. Metodologia sintética de obtenção da imina **19**.



4.2.2 Caracterização das iminas **19-21**

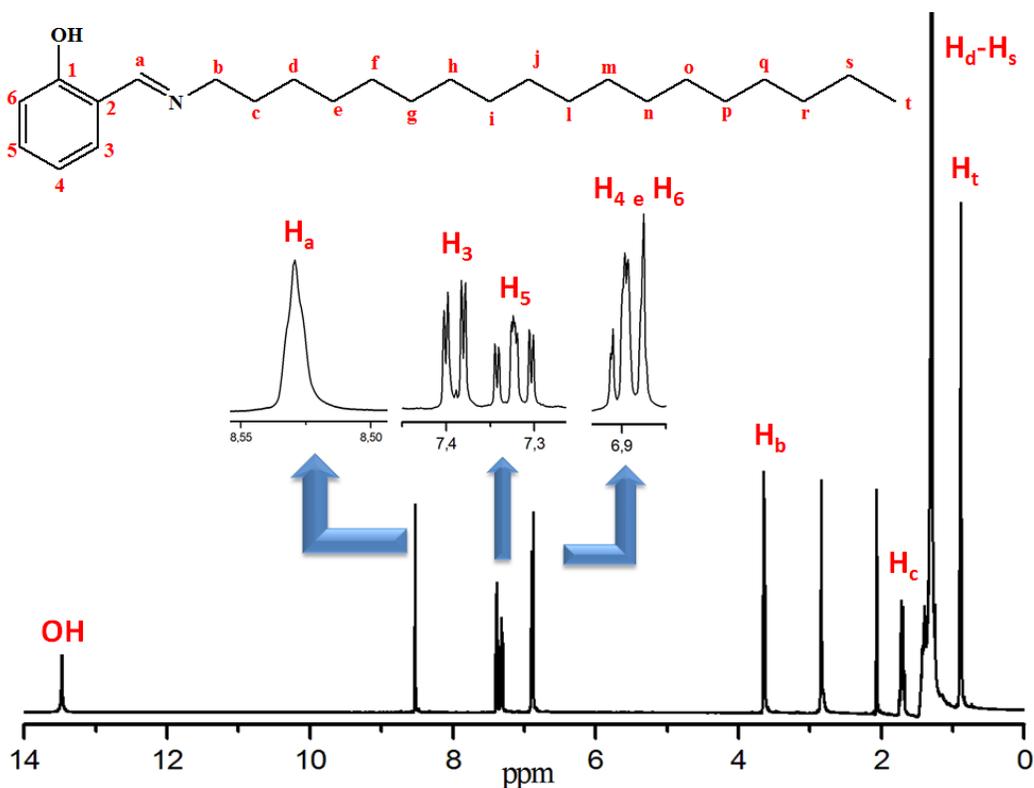
A caracterização dos compostos **19-21** é feita através das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho FTIR e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H). Na Figura 19 é observado o espectro de FTIR em KBr para o composto **21**.

Figura 19. Espectro de FTIR da imina **21** em pastilha de KBr.



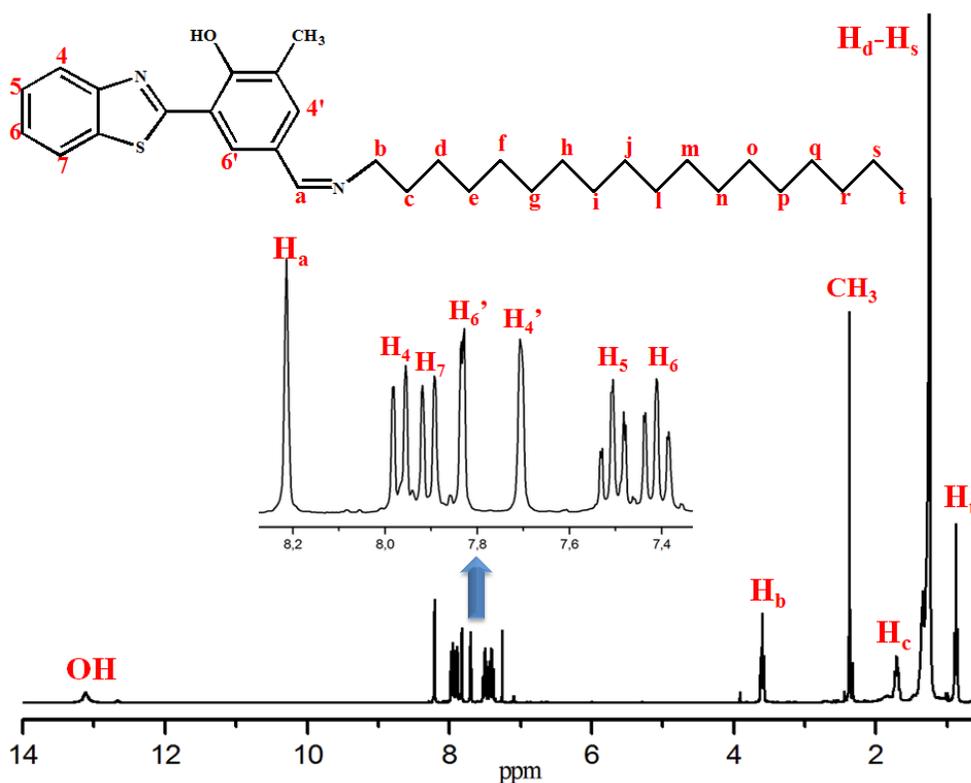
A banda de pequena intensidade em 3055 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-H de aromático. A formação da imina de cadeia alifática longa é comprovada tanto pela presença de duas bandas muito intensas correspondentes ao estiramento assimétrico e simétrico de C-H alifático em 2918 e 2852 cm^{-1} , quanto pela existência de uma banda de média intensidade em 1647 cm^{-1} referente ao estiramento C=N da imina. Os espectros de FTIR em KBr, para os compostos **19** e **20** são similares ao do composto **21** e encontram-se no apêndice (Figura A3 e A5, respectivamente). A Figura 20 apresenta o espectro de RMN de ^1H do composto **19**, em acetona deuterada. O pico residual do solvente encontra-se em $2,05\text{ ppm}$. Em $2,84\text{ ppm}$ é observado um singlete correspondente à água contida na acetona deuterada. O singlete em $13,48\text{ ppm}$ corresponde ao hidrogênio da hidroxila fenólica. O hidrogênio da imina aparece como um singlete em $8,53\text{ ppm}$.

Figura 20. Espectro de RMN de ^1H do composto **19** (300 MHz, acetona deuterada).



Os hidrogênios da região aromática se situam na faixa entre 7,4 e 6,86 ppm. A presença da hidroxila do fenol causa uma maior blindagem nos hidrogênios substituídos em orto e para (H_6 e H_4) que se sobrepõem. O hidrogênio mais desblindado desta região é H_3 encontrado como um duplo dubleto. O hidrogênio H_5 é encontrado na forma de um multipletto. Os dois hidrogênios do carbono vizinho à imina são os mais desblindados da região alifática e se encontram em 3,65 ppm na forma de um multipletto (H_b). Os hidrogênios H_d-H_s são sobrepostos na forma de um singlete em 1,31 ppm. Os três hidrogênios correspondentes ao CH_3 da cadeia alifática são os mais blindados e se encontram sob forma de um tripletto em 0,89 ppm. A Figura 21 apresenta o espectro de RMN de 1H do composto **21**, em clorofórmio deuterado ($CDCl_3$).

Figura 21. Espectro de 1H -RMN do composto **21** (300 MHz, $CDCl_3$).



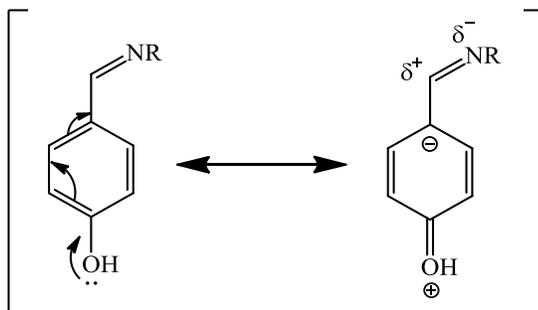
Verifica-se um sinal pequeno e alargado em 13,10 ppm correspondente ao hidrogênio da hidroxila fenólica. O hidrogênio da imina aparece como um singlete em 8,21 ppm. Os hidrogênios da região aromática se situam na faixa entre 7,97 e 7,38 ppm. O hidrogênio H_4 aparece na forma de um dubleto pelo acoplamento em orto com H_5 , enquanto que o hidrogênio

H₇ aparece como um dubleto pelo acoplamento em orto com H₆. H₅ aparece como um tripleto, pois acopla tanto com H₄ como com H₆. H₆ aparece como um tripleto, e acopla com H₅ e H₇. O hidrogênio H₆' aparece em 7,83 ppm e o hidrogênio H₄' aparece como singlete em 7,71 ppm. A região alifática é semelhante àquela apresentada pela imina **19**. O espectro de RMN de ¹H do composto **20** encontra-se no apêndice (Figura A4).

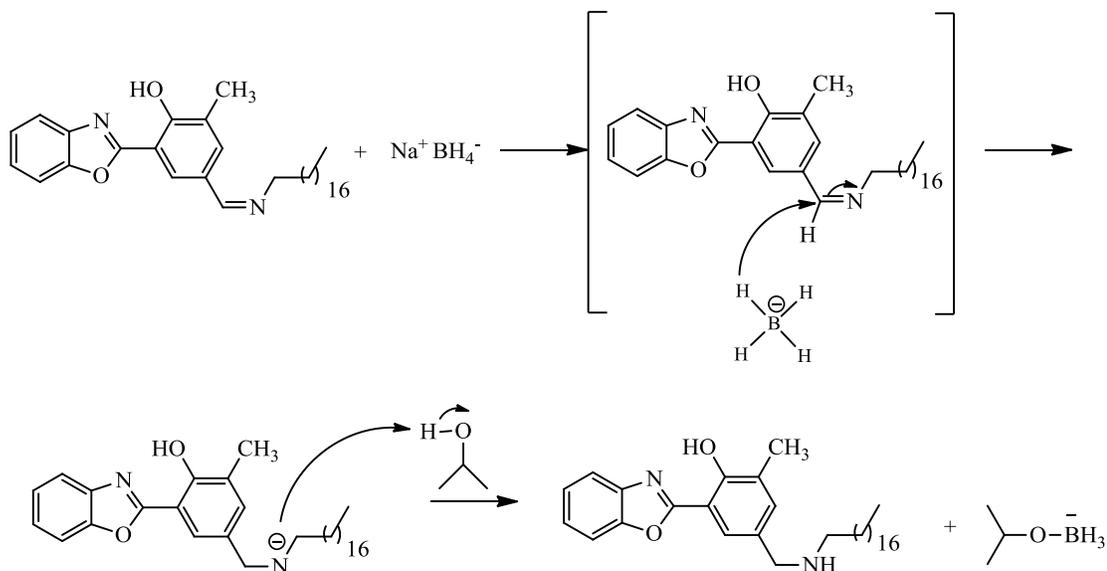
4.3 Síntese das aminas **22-24**

As iminas são espécies reativas susceptíveis à adição de reagentes nucleofílicos, podendo assim ser utilizadas como intermediários químicos (RUSSOWSKY, et al., 2000). Devido ao fato de que as iminas fluorescentes de cadeia longa sintetizadas são instáveis em solventes ácidos ou contendo traços de água, decidiu-se proceder a redução das mesmas gerando aminas, que são mais estáveis, principalmente na presença de água ou umidade. A reação de redução por transferência de hidreto ocorre de forma favorável devido a presença do grupo doador de elétrons (hidroxila), que permite ao carbono imínico um maior caráter eletrofílico. O efeito de ressonância concentra densidade eletrônica no carbono adjacente ao carbono imínico (Figura 22), estabilizando o deslocamento da densidade eletrônica da ligação C=N na direção do nitrogênio. Isso implica em uma maior reatividade da imina, e conseqüentemente, o rendimento da reação de redução tende a ser maior. Este resultado também está de acordo com o mecanismo da reação, pois a adição do hidreto é mais eficiente em centros eletrofílicos (SOUZA; ECHEVARRIA; SANT'ANNA, 2004) (Esquema 7).

Figura 22. Influência dos efeitos eletrônicos no carbono imínico.



Esquema 7. Mecanismo proposto para a redução das iminas por transferência de hidreto.



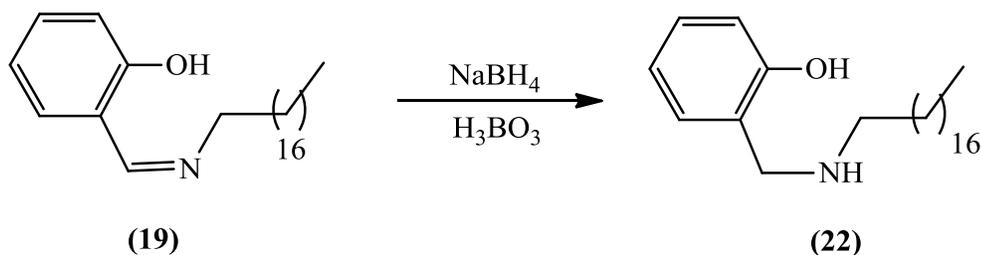
Utilizando a imina **19** como material de partida, foram testados dois métodos, sendo um deles com solvente e o outro sem o uso de solvente para que não houvesse o risco de uma possível hidrólise por traços de água contidos no respectivo solvente.

4.3.1 Redução da imina **19** via método sem solvente

A redução da dupla ligação da imina, para formar a amina secundária, é realizada empregando-se um redutor e um agente ativador, na proporção de 1:1:1. Como agente redutor é utilizado o borohidreto de sódio (NaBH₄) que é quimiosseletivo, de baixo custo e de fácil manuseio, reage em condições brandas e não gera subprodutos tóxicos. Na reação de redução de iminas, sem a utilização de solventes, sólidos ácidos como ácido bórico, ácido *p*-toluenosulfônico e ácido benzoico, são utilizados como ativadores para a formação de sais imínicos, que são facilmente e seletivamente reduzidos em aminas secundárias. A presença do ativador se torna necessária, neste caso, para aumentar o rendimento da conversão e a velocidade da reação (CHO; KANG, 2005). Uma mistura contendo a imina (**19**), o redutor borohidreto de sódio e ativador ácido bórico, foi macerada com almofariz e pistilo à temperatura ambiente, durante 1 hora (Esquema 8). O sólido amarelo pálido formado foi dissolvido em solução de bicarbonato de sódio

e extraído com diclorometano. Verificou-se, através de RMN de ^1H que o sólido formado estava impuro. O rendimento do produto bruto foi de 64%.

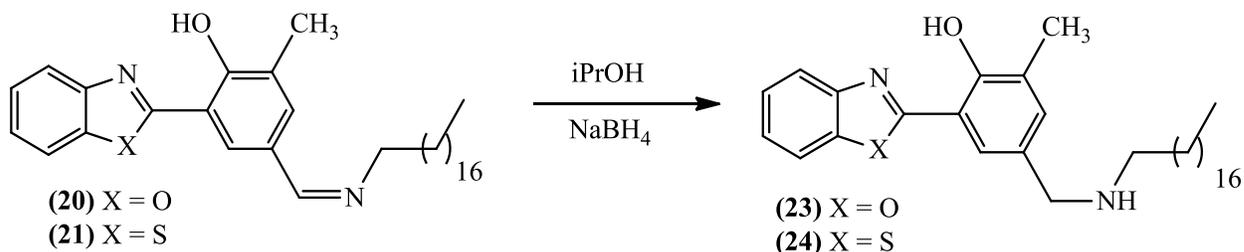
Esquema 8. Metodologia sintética de obtenção da amina **22**.



4.3.2 Redução das iminas **19-21** via método com solvente

A imina e o borohidreto de sódio foram adicionados em um balão em proporção de 1:2. Utilizou-se como solvente da reação, isopropanol seco, para que a imina não sofresse hidrólise devido à presença de traços de água contidos no solvente. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 2 horas à temperatura ambiente, verificando-se alteração na consistência da mesma com formação de uma pasta de coloração amarelada. Após o final da reação, o solvente foi removido e o sólido resultante foi dissolvido em clorofórmio, lavado com solução de bicarbonato de sódio e seco com sulfato de sódio anidro. A formação da amina via método com solvente demonstrou ser mais eficaz, pois produziu um produto puro, com alto rendimento, em torno de 78%. Sendo assim, as iminas **20** e **21** foram reduzidas pelo mesmo método (Esquema 9).

Esquema 9. Metodologia sintética de obtenção das aminas **23-24**.

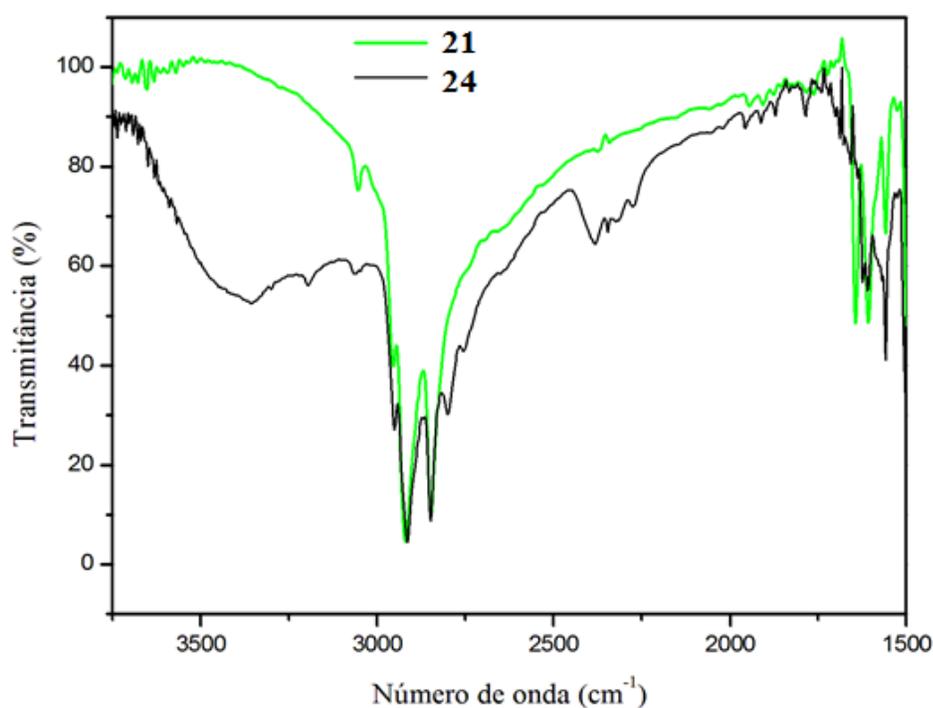


4.3.2.1 Caracterização das aminas **22-24**

A caracterização dos compostos **22-24** foi feita através das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho FTIR, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono. Na

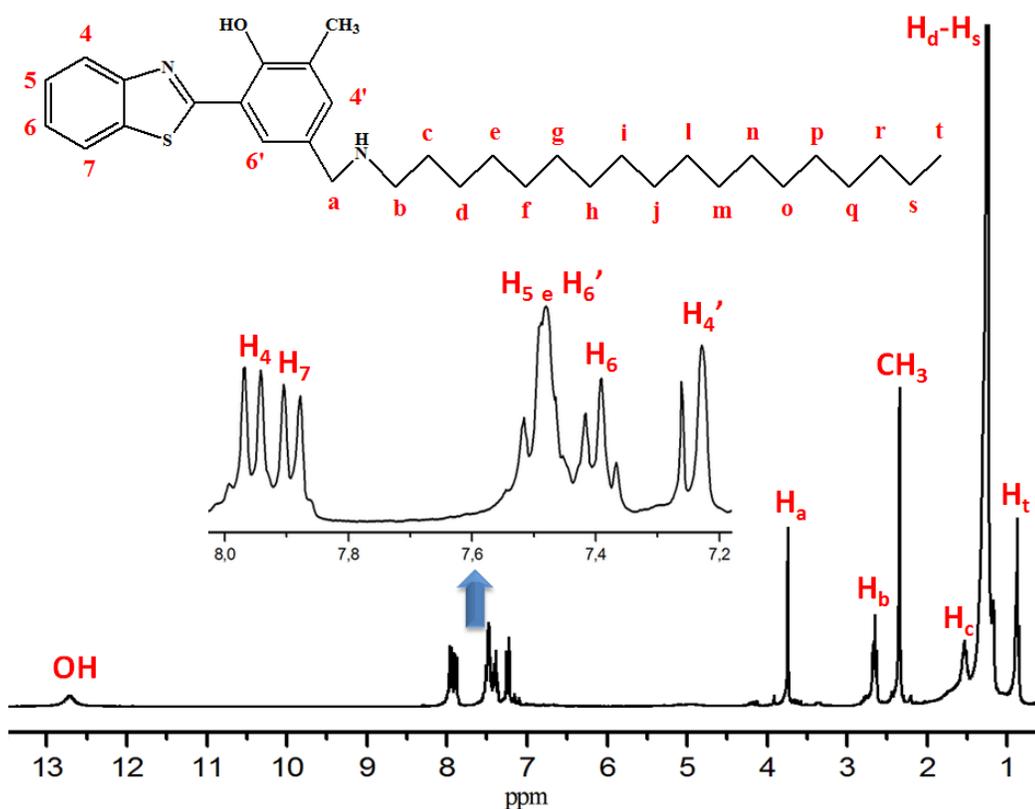
Figura 23 são observados os espectros de FTIR dos compostos **21** e **24** sobrepostos. Comparando-se os dois espectros, verifica-se claramente que a conversão da imina em amina ocorreu. Há o surgimento de uma banda larga em 3353 cm^{-1} característica do estiramento N-H da amina. Além disso, verifica-se o desaparecimento da banda referente ao estiramento C=N da imina e o surgimento da banda correspondente ao dobramento N-H em 1557 cm^{-1} . Os espectros de FTIR em KBr, para os compostos **22** e **23** encontram-se no apêndice (Figuras A7 e A10, respectivamente).

Figura 23. Sobreposição dos espectros de FTIR em KBr dos compostos **21** e **24**.



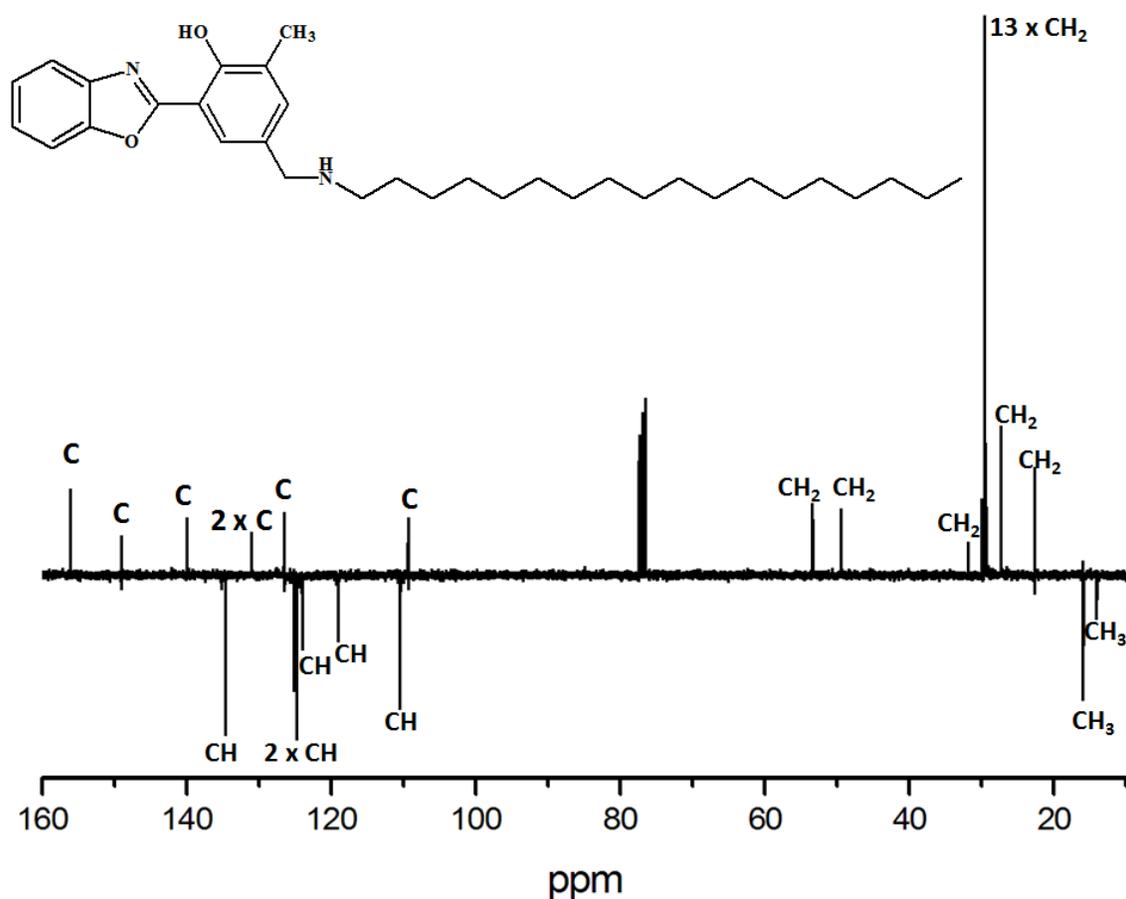
Na Figura 24, é observado o espectro de RMN de ^1H do composto **24**, em CDCl_3 . Comparando-se os espectros de RMN de ^1H dos compostos **24** e **21**, verifica-se que a presença da amina que é um grupo doador de elétrons causa uma maior blindagem dos hidrogênios H_6' e H_4' , que encontram-se em frequências menores. Os hidrogênios correspondentes ao CH_2 formado na redução (H_a) são deslocados para menores frequências e o singlete se encontra em 3,74 ppm. Os espectros de RMN de ^1H em CDCl_3 , para os compostos **22** e **23** encontram-se no apêndice (Figuras A6 e A9, respectivamente).

Figura 24. Espectro de RMN de ^1H do composto **24** (300 MHz, CDCl_3).



A obtenção das aminas **22-24** também foi confirmada pelo espectro de APT. Na Figura 25 verifica-se o espectro de APT do composto **23**. Os carbonos aromáticos aparecem na região de 156 a 109 ppm, enquanto que os carbonos alifáticos aparecem entre 53 e 14 ppm. Os espectros de RMN de ^{13}C em CDCl_3 , para os compostos **22** e **24** encontram-se no apêndice (Figuras A8 e A11, respectivamente).

Figura 25. Espectro de APT do composto **23** (75,4 MHz, CDCl₃).



4.4 Estudo fotofísico dos compostos **19-24**

4.4.1 Estudo Fotofísico das iminas **19-21**

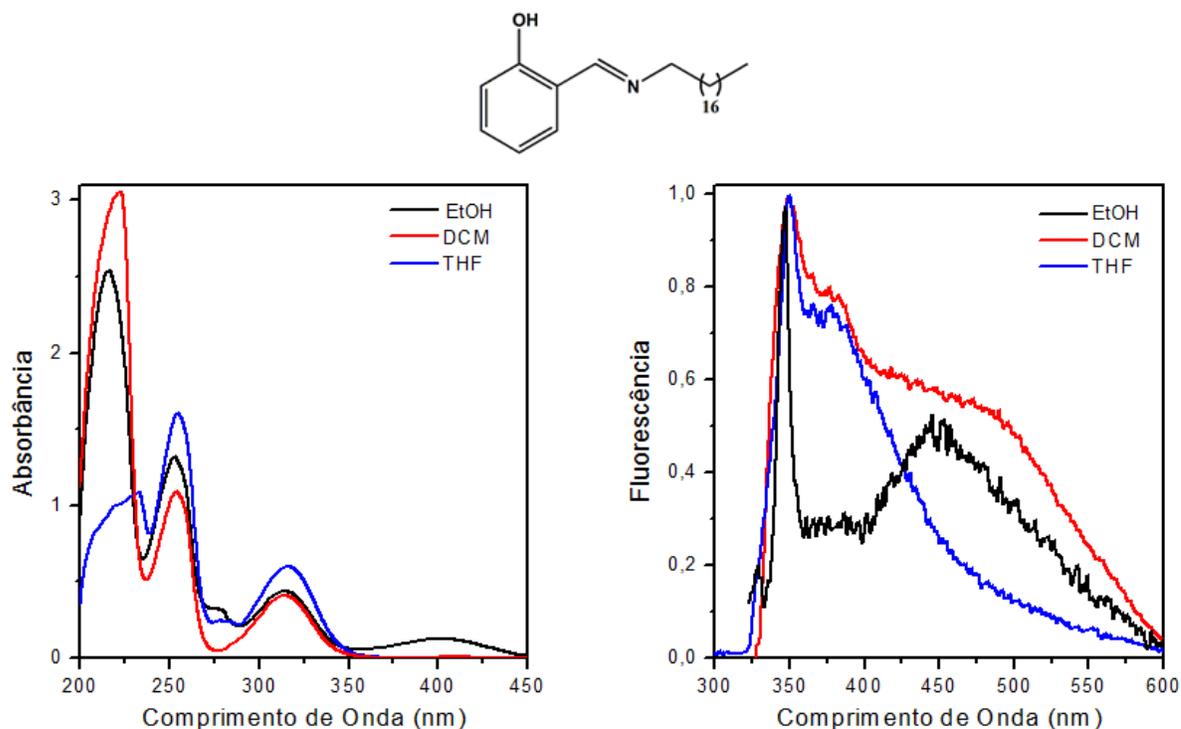
As Figuras 26-28 apresentam o estudo fotofísico das iminas **19-21** em três solventes orgânicos em ordem crescente de constante dielétrica, sendo eles: tetrahydrofurano (THF), diclorometano (DCM) e etanol absoluto (EtOH). Os experimentos foram realizados à temperatura ambiente (25°C), em uma concentração variando entre 10⁻⁴-10⁻⁵ M. Na Tabela 2 estão apresentados os dados relativos a estas medidas.

Tabela 2. Dados do estudo fotofísico dos compostos **19-21**.

Composto	Solvente	λ_{abs} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)	λ_{em} (nm)		$\Delta\lambda_{\text{ST}}$ (nm)	
				Enol	ESIPT	Enol	ESIPT
19	THF	316	4429	373	-	57	-
	DCM	314	3251	365	436	51	122
	EtOH	313	3204	375	450	75	137
20	THF	334	8165	-	516	-	182
	DCM	335	6651	-	507	-	172
	EtOH	331	3732	438	505	107	174
21	THF	350	12835	449	554	99	204
	DCM	349	8341	-	546	-	197
	EtOH	351	4172	463	537	112	186

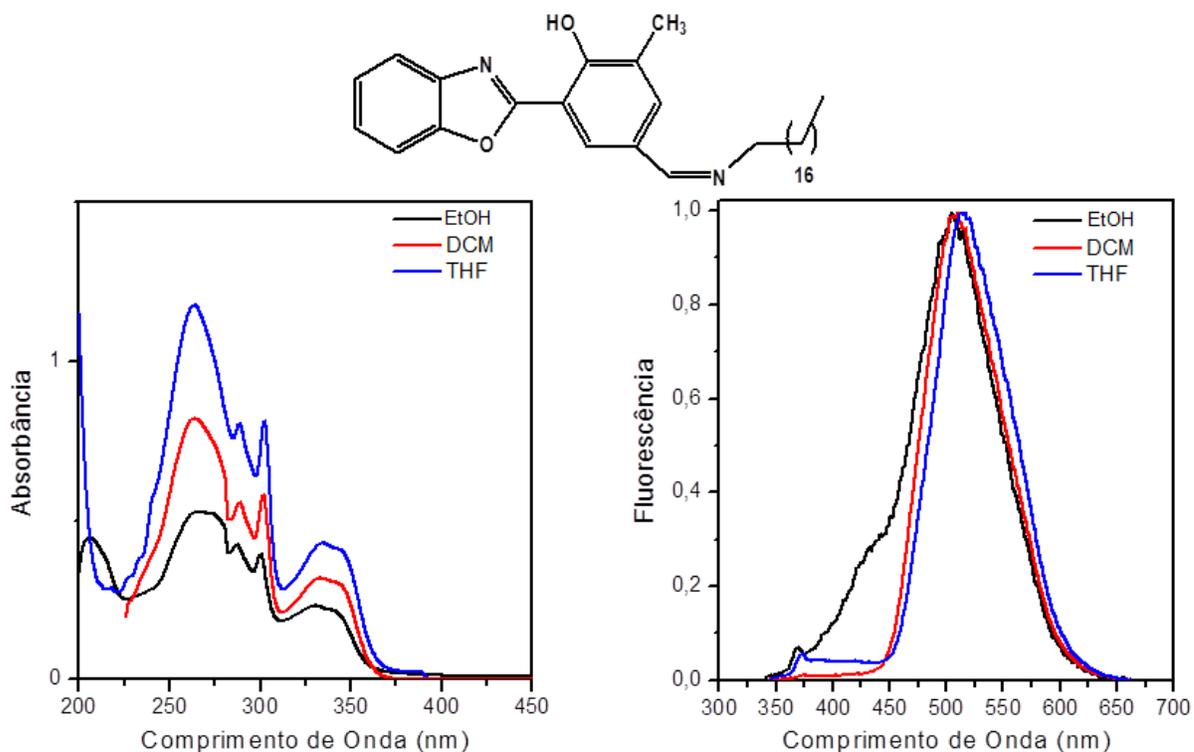
Considerando-se os espectros de absorção em solução na região do UV-Vis das moléculas **19-21**, verifica-se que não houve variação significativa na localização do máximo de absorção (λ_{abs}), com os diferentes solventes empregados nas medidas. Para o composto **20**, contendo o derivado benzoxazol, o λ_{abs} se encontra em torno de 335 nm. Por outro lado, o composto **21** contendo o derivado benzotiazol apresenta um máximo de absorção ~350 nm. Este deslocamento para maiores comprimentos de onda ocorre devido a uma maior deslocalização eletrônica ocasionada pelo enxofre, em comparação com o átomo de oxigênio. Por apresentar menor conjugação, se comparada com os derivados benzazólicos, a imina **19** possui λ_{abs} em comprimentos de onda menores (~315 nm), pois o aumento da extensão da conjugação causa um deslocamento batocrômico (PAVIA; LAMPAMN; KRIZ, 2001). Para as moléculas **19** e **21**, a absorção em um comprimento de onda em torno de 403 nm, considerando o solvente etanol, corresponde à absorção da molécula na forma ionizada (Figura 26 e 28). Os valores do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) se encontram na faixa entre 10^3 - $10^4 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, o que indica uma transição permitida, do tipo $\pi\pi^*$, esperada para este tipo de composto. Para as medidas de emissão de fluorescência, foi utilizado o comprimento de onda do máximo de absorção no UV-Vis como comprimento de onda de excitação. Na Figura 26 são apresentados os espectros de absorção no UV-Vis e de emissão de fluorescência normalizado para a imina **19**.

Figura 26. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto **19**.



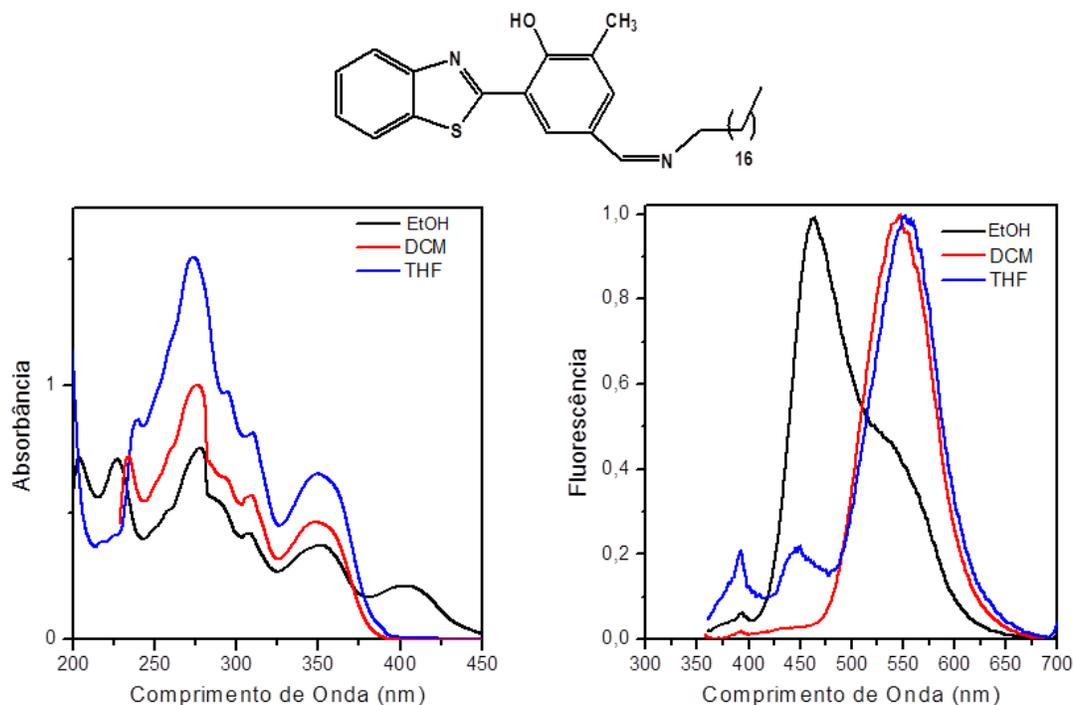
No espectro de emissão de fluorescência, a banda estreita em aproximadamente 350 nm corresponde a uma banda Raman e se encontra sobreposta às bandas de emissão de fluorescência do composto nos solventes diclorometano e tetrahydrofurano. Para o DCM é observada uma dupla emissão de fluorescência, sendo que a banda localizada em maior comprimento de onda (436 nm) causa um deslocamento de Stokes de 122 nm, enquanto que a banda em menor comprimento de onda (365 nm) apresenta menor deslocamento de Stokes (51 nm). A molécula em THF apresenta somente uma banda de emissão em menor comprimento de onda (373 nm), com pequeno deslocamento de Stokes (57 nm). Considerando o solvente EtOH, é observada uma dupla emissão de fluorescência, sendo que a banda de maior intensidade possui maior deslocamento de Stokes.

Figura 27. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto **20**.



Na Figura 27 são apresentados os espectros de absorção no UV-Vis e de emissão de fluorescência normalizado para a imina **20**. No espectro de emissão de fluorescência, verifica-se que as bandas correspondentes aos três solventes apresentam um deslocamento batocrômico e se encontram localizadas em aproximadamente 510 nm. No estado excitado, a molécula passa pelo mecanismo de ESIPT e conseqüentemente apresenta grande deslocamento de Stokes (~180 nm). Nos três solventes o composto emite na região verde do espectro eletromagnético. Na Figura 28 são apresentados os espectros de absorção no UV-Vis e de emissão de fluorescência normalizado para a imina **21**.

Figura 28. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto **21**.



Considerando a emissão no solvente THF é observada uma dupla emissão de fluorescência, com uma banda em menor comprimento de onda (449 nm) e outra deslocada para o vermelho (554 nm) que é referente ao tautômero ceto formado no estado excitado via mecanismo de ESIPT e apresenta um grande deslocamento de Stokes (204 nm). A molécula em DCM apresenta somente uma banda de emissão com deslocamento batocrômico (546 nm), sendo assim, o confômero passa pelo mecanismo de ESIPT. Em EtOH verifica-se uma banda de emissão em menor comprimento de onda (463 nm) referente a emissão normal, e outra em maior comprimento de onda (537 nm) referente ao confômero que apresenta ESIPT.

4.4.2 Estudo Fotofísico das aminas **22-24**

As Figuras 29-31 apresentam o estudo fotofísico das aminas **22-24** em três solventes orgânicos em ordem crescente de constante dielétrica, sendo eles: tetrahydrofurano (THF), diclorometano (DCM) e etanol absoluto (EtOH). Os experimentos foram realizados à temperatura

ambiente (25°C), em uma concentração variando entre 10^{-4} - 10^{-5} M. Na Tabela 3, são apresentados os dados relativos a estas medidas.

Tabela 3. Dados do estudo fotofísico dos compostos **22-24**.

Composto	Solvente	λ_{abs} (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	λ_{em} (nm)		$\Delta\lambda_{\text{ST}}$ (nm)	
				Enol	ESIPT	Enol	ESIPT
22	THF	276	2059	307	-	31	-
	DCM	275	1955	300	-	25	-
	EtOH	275	2264	302	-	27	-
23	THF	329	14172	390	509	61	180
	DCM	330	17315	382	510	52	180
	EtOH	324	5546	439	494	115	170
24	THF	346	10770	446	546	100	200
	DCM	344	10531	434	537	90	193
	EtOH	343	8726	465	-	122	-

A partir dos espectros de absorção na região do UV-Vis das moléculas **22-24** em solução, verifica-se uma pequena variação na localização do máximo de absorção (λ_{abs}), com um deslocamento hipsocrômico com o aumento da polaridade do solvente. Comparando-se os espectros de absorção das iminas com as correspondentes aminas, observa-se uma pequena diminuição do λ_{abs} para os compostos reduzidos, por causa da perda da conjugação, com exceção dos compostos **19** e **22** onde a diferença é mais considerável. Os valores do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) se encontram na faixa entre 10^3 - 10^4 $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, o que indica uma transição permitida, do tipo $\pi\pi^*$, esperada para este tipo de composto. Na Figura 29 são apresentados os espectros de absorção no UV-Vis e de emissão de fluorescência normalizado para a amina **22**. No espectro de emissão de fluorescência, verifica-se que as bandas correspondentes aos três solventes se encontram localizadas em aproximadamente 300 nm, sendo que o deslocamento de Stokes para esta molécula é muito pequeno (~30 nm) com emissão normal.

Figura 30. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto **23**.

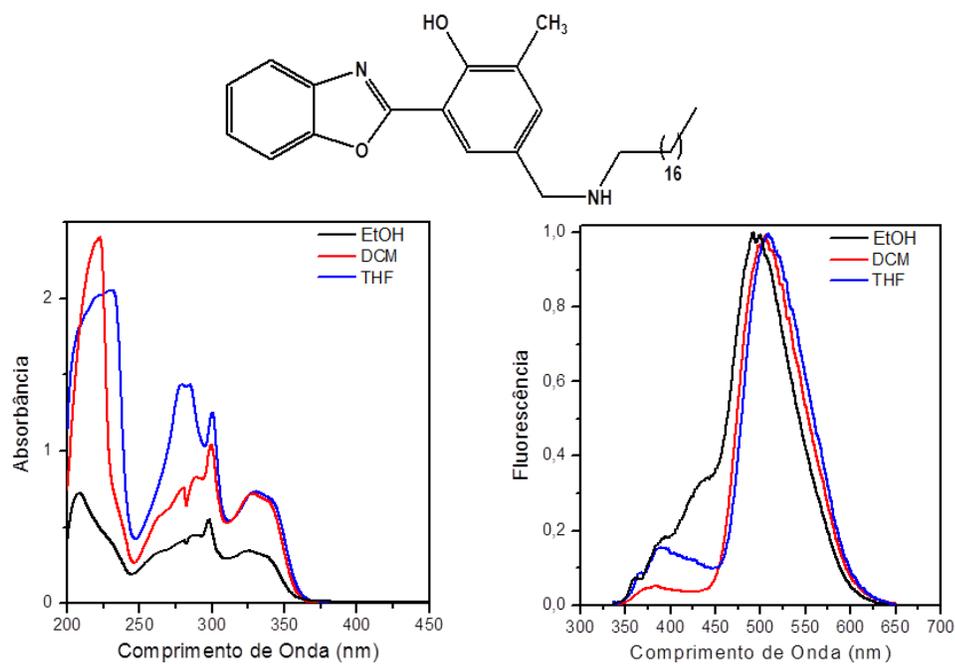
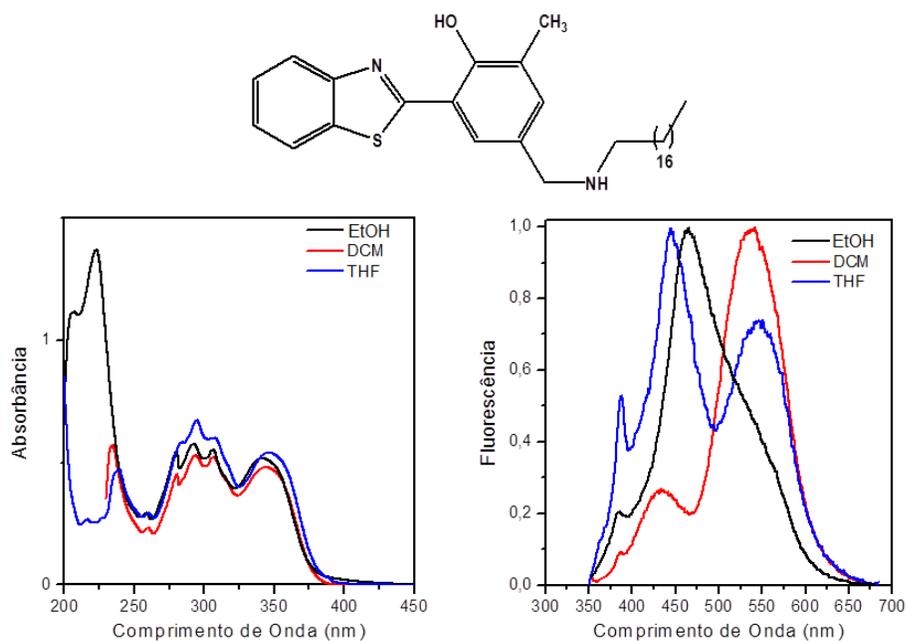


Figura 31. Espectros de absorção no UV-Vis (esquerda) e de emissão de fluorescência normalizados (direita) do composto **24**.



Comparando-se os espectros de emissão dos compostos **21** e **24**, observa-se que para o solvente etanol, não houve variação significativa. Porém, para os solventes pouco polares e apróticos DCM e THF verifica-se dupla emissão de fluorescência, uma banda em menor comprimento de onda correspondente ao confômero que não passa pelo processo de ESIPT e a outra, deslocada para o vermelho, referente ao tautômero ceto formado no estado excitado via mecanismo de ESIPT. No caso do solvente THF, há um aumento na intensidade da banda de emissão normal em comparação com a de ESIPT, enquanto que para o DCM ocorre o contrário.

5. CONCLUSÃO

Foi realizada a síntese de dois derivados benzazólicos fluorescentes contendo o grupamento formil, os quais foram obtidos com baixos rendimentos (25-30%). Partindo-se da reação destes compostos reativos com a amina alifática de cadeia longa octadecilamina (**18**), utilizando isopropanol como solvente, em meio ácido, foram sintetizadas duas iminas fluorescentes (**20-21**) com altos rendimentos (>80%). Além disso, foi sintetizada uma imina já descrita na literatura (**19**), a partir dos reagentes comerciais octadecilamina (**18**) e salicilaldeído (**17**). Foi constatado que as iminas sintetizadas são instáveis em solventes ácidos ou contendo traços de água, sendo assim, procedeu-se a redução das mesmas utilizando NaBH_4 como agente redutor, gerando aminas (**22-24**), que são mais estáveis, principalmente na presença de água ou umidade. Foram testadas duas formas de redução, sendo que a mais eficiente foi aquela em que se utilizou isopropanol como solvente, sob agitação, por um período de 2 horas. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por FTIR, RMN de ^1H e ponto de fusão, o que confirmou a obtenção dos mesmos. Para as aminas **22-24**, também foi empregada a caracterização espectroscópica por RMN de ^{13}C .

Foi realizado o estudo fotofísico das iminas **19-21** e das aminas **22-24**. Todas as moléculas apresentaram valores de ϵ entre 10^3 e $10^4 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, característica de transições permitidas do tipo $\pi\pi^*$. Não foi verificada variação significativa do comprimento de onda máximo de absorção com a utilização de solventes com diferentes constantes dielétricas. Comparando-se os derivados contendo os grupos benzoxazol e benzotiazol, verificou-se que a presença do átomo de enxofre causa maior deslocalização de elétrons que o átomo de oxigênio e portanto, há um deslocamento maior no comprimento de onda máximo de absorção e no máximo de emissão da molécula.

Verificou-se que tanto as iminas quanto as aminas, com exceção do composto **22**, podem apresentar o mecanismo de ESIPT no estado excitado, causando um grande deslocamento de Stokes, o que confere a estas moléculas uma das características desejáveis para a utilização destas em sondas de membrana. Sendo assim, tem-se como perspectiva do trabalho, a aplicação das aminas **23-24** em testes como sondas de membrana.

6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

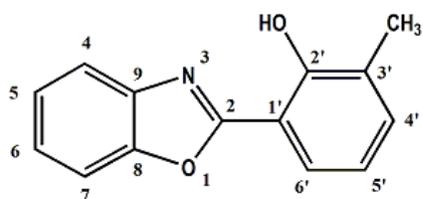
6.1 Materiais e métodos

Para a realização do trabalho proposto foram utilizados os seguintes reagentes que apresentam pureza adequada: ácido 2-hidroxi-3-metil benzoico (Merck), orto-aminofenol (Aldrich), orto-aminotiofenol (Merck), ácido polifosfórico (Sigma-Aldrich), bicarbonato de sódio (Química Moderna), hexametilenotetramina (Merck), salicilaldeído (Aldrich), ácido bórico (Sigma-Aldrich), borohidreto de sódio (Acros Organics), sulfato de sódio anidro (Química Moderna) e octadecilamina (Aldrich). Os solventes utilizados foram: diclorometano (Synth), acetato de etila (Química Moderna), hexano (Anidrol), ácido acético glacial (Química Moderna), álcool isopropílico (Vetec), clorofórmio (Vetec). Peneira molecular 4Å (Sigma-Aldrich) foi utilizada para secagem parcial do solvente. Sílicagel 60 (Merck) foi utilizada como fase estacionária para cromatografia em coluna.

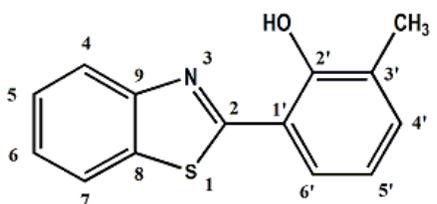
A parte experimental do trabalho foi realizada no Grupo de Pesquisa em Fotoquímica Orgânica Aplicada. As análises foram feitas no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As medidas de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C foram realizadas nos espectrômetros Varian Inova, Varian VNMRs e Bruker. Os espectros de hidrogênio foram obtidos a 300 MHz e os de carbono a 75,4 MHz em tubos de 5 mm de diâmetro. Os solventes utilizados para as análises foram clorofórmio deuterado (CDCl_3) (Sigma-Aldrich) e acetona deuterada. As medidas de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR) foram feitas em um espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-21, com resolução de 4 cm^{-1} e 60 varreduras em pastilha de KBr de 400 a 4000 cm^{-1} . Os pontos de fusão das moléculas foram obtidos com auxílio de um equipamento de ponto de fusão a seco Q340S-Quimis. As medidas de Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível foram feitas em solução, à temperatura ambiente, em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2450. As medidas de Espectroscopia de Emissão de Fluorescência foram feitas em solução em um espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301 PC. Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos utilizando os máximos de absorção como comprimento de onda de excitação. Para o estudo fotofísico, foram utilizados os solventes: diclorometano (Synth), tetrahidrofurano (THF) e etanol absoluto (Emsure).

6.2 Síntese dos precursores benzazólicos 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**13**) e 2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**14**)

Em um balão monotubulado de 100 mL foram adicionados o ácido 3-metil-salicílico (**12**) (5,5 mmol) e a amina aromática orto substituída (**10-11**) (5 mmol). Ácido polifosfórico (12 mL) foi adicionado ao sistema a 60°C até completa homogeneização. A reação foi mantida a 120°C, por 2 horas, e 170°C por 3 horas, sob agitação constante, sendo o fim da reação comprovado por cromatografia em camada delgada. A mistura reacional foi arrefecida até temperatura ambiente e vertida em gelo, observando-se formação de precipitado. A solução foi neutralizada com bicarbonato de sódio, e o sólido formado foi filtrado e seco. A pré-purificação foi realizada por extração Soxhlet utilizando acetona como solvente. **13** e **14** foram purificados por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando hexano e acetato de etila como eluentes em proporção de 9:1.



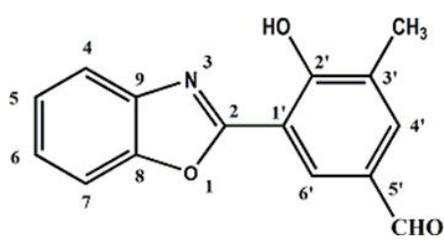
O produto **13** foi obtido como um sólido de coloração branca. Rendimento: 58%. Ponto alifático de fusão: 123-125°C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3046 (ν CH de aromático), 2948 (ν_{as} CH alifático), 2909 (ν_{s} CH), 1619 (ν C=C do anel aromático), 1272 (ν de C-O), 740 (intensa, benzeno o-substituído). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 11,65 (s, 1H, OH), 7,85 (dd, $J=7,3$ Hz, 1H), 7,72-7,66 (m, 1H), 7,58-7,54 (m, 1H), 7,37-7,31 (m, 2H), 7,27 (dd, $J=7.3$ Hz, 1H), 6,88 (t, $J=7,55$, 1H), 2,34 (s, 3H, CH_3).



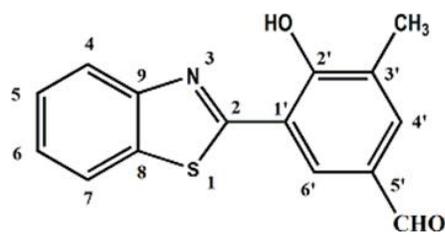
O produto **14** foi obtido como um sólido de coloração branca. Rendimento: 62%. Ponto de fusão: 134-136°C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3428 (ν OH de fenol), 3055 (ν CH de aromático), 2918 (ν_{as} CH alifático), 2847 (ν_{s} CH alifático), 1621 (ν C=C do anel aromático), 1247 (ν C-O), 763 (benzeno o-substituído), 696 (ν C-S). ^1H -RMN, (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 12,77 (s, 1H), 7,95 (d, $J=8.05$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J=7.97$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J=7.88$ Hz, 1H), 7,48 (dt, $J=1.2$, $J=7.2$ Hz, 1H), 7,38 (dt, $J=1.1$, $J=7.2$ Hz, 1H), 7,26-7,22 (m, 1H), 6,85 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 2,35 (s, 3H, CH_3).

6.3 Síntese dos derivados 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzoxazol (**15**) e 2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzotiazol (**16**)

Em um balão monotubulado de 100 mL foram adicionados os precursores benzazólicos (**13-14**) (10 mmol), hexametilenotetramina (20 mmol) e ácido polifosfórico (24 mL) o qual foi adicionado lentamente. A mistura viscosa resultante foi mantida a 130°C durante 4 horas, sob agitação. Ao final da reação, o aquecimento foi cessado e a mistura reacional foi vertida sob gelo, deixando-se o precipitado formado decantar durante a noite. A solução foi neutralizada com bicarbonato de sódio com agitação constante. O sólido formado foi filtrado em funil de Büchner e seco em dessecador. A pré-purificação foi realizada por extração Soxhlet utilizando acetona como solvente. A purificação dos heterociclos benzazólicos formilados **15** e **16** foi feita por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando hexano e acetato de etila como eluentes em proporção de 9:1.



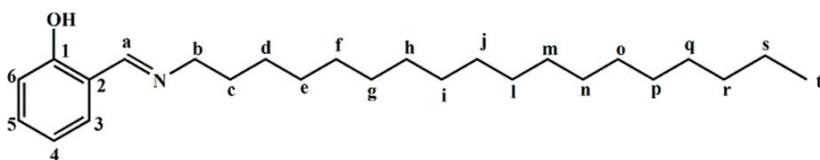
O produto **15** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 30%. Ponto de fusão: 162-166°C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3069 (ν CH de aromático), 2922 (ν_{as} CH alifático), 2816 (ν_{s} CH alifático), 1691 (ν C=O do aldeído), 1603 (ν C=C do anel aromático), 1278 (ν C-O), 737 (benzeno o-substituído). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 12,35 (s, 1H, OH), 9,91 (s, 1H, CHO aldeído), 8,39 (s, 1H, H_6'), 7,82 (s, 1H, H_4'), 7,75-7,71 (m, 1H, H_7), 7,65-7,60 (m, 1H, H_4), 7,43-7,39 (m, 2H, H_5 e H_6), 2,39 (s, 3H, CH_3).



O produto **16** foi obtido como um sólido amarelo esbranquiçado que apresenta rendimento em torno de 25%. Ponto de fusão: 180-186 °C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3055 (ν CH de aromático), 2918 (ν_{as} CH alifático), 2802 e 2714 (ν C-H do aldeído), 1687 (ν C=O do aldeído), 1607 (ν C=C do anel aromático), 1274 (ν C-O), 754 (benzeno o-substituído), 723 (ν de C-S). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13,61 (s, 1H, OH), 9,91 (s, 1H, CHO aldeído), 8,08 (d, 1H, H_6'), 8,04-7,98 (m, 1H, H_4), 7,98-7,92 (m, 1H, H_7), 7,81-7,77 (m, 1H, H_4'), 7,60-7,51 (m, 1H, H_5), 7,51-7,43 (m, 1H, H_6), 2,42 (s, 3H, CH_3).

6.4 Síntese da imina **19**

Em um balão monotubulado de 100 mL foram adicionados salicilaldeído (**17**) (26,80 mmol) e a amina alifática octadecilamina (**18**) (26,80 mmol), em quantidades equimolares. Ao solvente isopropanol foram adicionadas 3 gotas de ácido acético para ajuste do pH. A mistura reacional foi mantida sob agitação, em sistema aberto, a uma temperatura de 110 °C. Conforme evaporação do solvente e da água formada durante a reação, verificou-se a formação de um líquido viscoso de coloração amarelada. Adicionou-se novamente isopropanol em quantidade suficiente para homogeneizar a solução. Esta operação foi repetida por um período de 3 horas. O sistema foi mantido sob agitação e aquecimento durante a noite. O fim da reação foi determinado através de cromatografia em camada delgada. Cessado o aquecimento, observou-se a formação de um sólido amarelo, o qual foi purificado por lavagem com isopropanol seco e recristalização com isopropanol.



O produto **19** foi obtido apresentou rendimento de 80%.

Ponto de fusão: 40-42 °C.

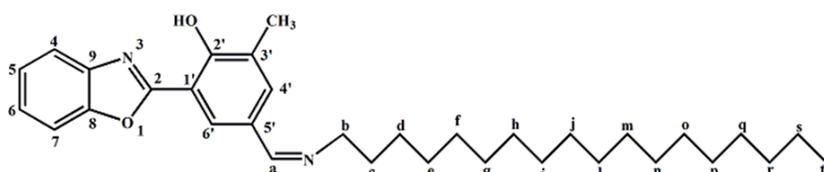
FTIR (KBr, cm^{-1}): 3050 (v CH

de aromático), 2918 (ν_{as} CH alifático), 2842 (ν_{s} CH alifático), 1628 (v C=N imina), 1280 (v C-O), 750 (intensa, benzeno o-substituído). RMN de ^1H (300 MHz, acetona deuterada), δ (ppm): 13,48 (s, 1H, OH), 8,53 (s, 1H, H_a imina), 7,41-7,37 (dd, 1H, H_3), 7,35-7,29 (m, 1H, H_5), 6,92-6,86 (m, 2H, H_4 e H_6), 3,67-3,62 (m, 2H, H_b), 1,76-1,67 (m, 2H, H_c), 1,31 (s, 30H, H_d - H_s), 0,89 (t, 3H, H_t)

6.5 Síntese das iminas fluorescentes **20-21**

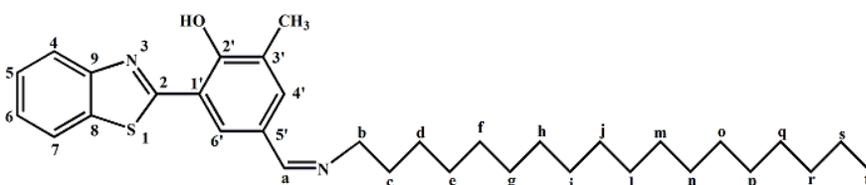
Em um balão monotubulado de 50 mL foram adicionados os compostos benzazólicos formilados (**15-16**) (1 mmol) e a amina alifática octadecilamina (**18**) (1 mmol), em quantidades equimolares. Isopropanol foi utilizado como solvente sendo o pH ajustado em torno de 4,5 com a adição de 3 gotas de ácido acético. A mistura reacional foi mantida sob agitação, em sistema aberto, a uma temperatura de 110°C. Conforme evaporação do solvente e da água formada durante a reação verificou-se a formação de um líquido viscoso de coloração amarelada. Adicionou-se novamente isopropanol em quantidade suficiente para homogeneizar a solução. Esta operação foi repetida por um período de 3 horas, até ser observada mudança na coloração da

mistura reacional que tornou-se laranja para o caso da utilização do precursor formilado **15** e laranja-avermelhado para o caso da utilização do precursor formilado **16**. Manteve-se o sistema sob agitação e aquecimento por mais 2 horas para garantir completa remoção da água formada durante a reação. Cessado o aquecimento, observou-se a formação de um sólido laranja (**20**) e laranja-avermelhado (**21**). O produto **20** foi purificado por lavagem com isopropanol seco. Conforme caracterização via ponto de fusão, infravermelho e RMN de ^1H , conclui-se que é desnecessária purificação posterior do produto **21**.



O produto **20** foi obtido como um sólido laranja apresentando rendimento de 98%. Ponto de fusão: 80-84°C.

FTIR (KBr, cm^{-1}): 3104 (ν CH de aromático), 2920 (ν_{as} CH alifático), 2850 (ν_{s} CH alifático), 1645 (ν C=N imina), 1614 (ν C=C do anel aromático), 1272 (ν C-O), 777 (intensa, benzeno o-substituído). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 11,88 (largo, s, 1H, OH), 8,24 (s, 1H, H_a imina), 8,18 (d, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,76 (s, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7,75-7,70 (m, 1H, H_7), 7,62-7,58 (m, 1H, H_4), 7,42-7,35 (m, 1H, H_5 e H_6), 3,61 (t, 2H, H_b), 2,38 (s, 3H, Ar- CH_3), 1,72 (t, 2H, H_c), 1,26 (s, 30H, H_d - H_s), 0,88 (t, 3H, H_t).



O produto **21** foi obtido como um sólido laranja escuro com rendimento de 81%. Ponto de fusão: 90-

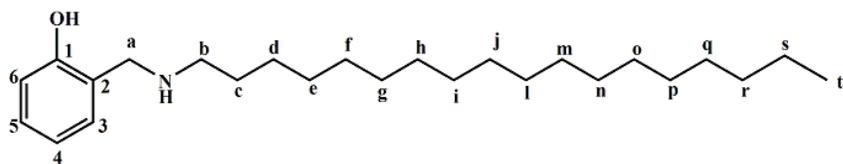
94°C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3055 (ν CH de aromático), 2918 (ν_{as} CH alifático), 2852 (ν_{s} CH alifático), 1647 (ν C=N imina), 1602 (ν C=C do anel aromático), 1260 (ν C-O), 754 (intensa, benzeno o-substituído), 715 (ν C-S). ^1H -RMN, (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13,10 (largo, s, 1H, OH), 8,21 (s, 1H, H_a imina), 7,97 (d, 1H, H_4), 7,91 (d, 1H, H_7), 7,83 (d, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,71 (s, 1H, $\text{H}_{4'}$), 7,54-7,47 (m, 1H, H_5), 7,44-7,38 (m, 1H, H_6), 3,60 (t, 2H, H_b), 2,38 (s, 3H, Ar- CH_3), 1,71 (m, 2H, H_c), 1,26 (s, 30H, H_d - H_s), 0,87 (t, 3H, H_t).

6.6 Redução da imina **19** via método sem solvente

Uma mistura contendo a imina (**19**) (0,67 mmol), borohidreto de sódio (0,67 mmol) e ácido bórico (0,67 mmol), foi moída com almofariz e pistilo à temperatura ambiente, durante 1 hora. A completa conversão da imina (**19**) em amina (**22**) foi comprovada através de cromatografia em camada delgada. Após o final da reação, o sólido amarelo pálido formado é dissolvido em solução de bicarbonato de sódio (10 mL), extraído com diclorometano (3 x 10 mL) o qual é seco com sulfato de sódio anidro. O solvente é removido em evaporador rotatório e o produto resultante é seco em dessecador. Foi formado um sólido de coloração amarelo pálido com rendimento de 64 %. Ponto de fusão: 80-84°C

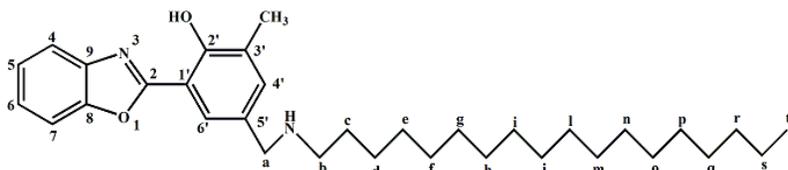
6.7 Redução das iminas **19-21** via método com solvente

Em um balão monotubulado de 50 mL foram adicionados a imina (**19-21**) (0,67 mmol), borohidreto de sódio (1,34 mmol) e isopropanol seco (5 mL). A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 2 horas à temperatura ambiente, sendo a conversão da imina (**19-21**) em amina (**22-24**) comprovada através de cromatografia em camada delgada. Após o final da reação, o solvente foi removido em evaporador rotatório. O sólido resultante foi dissolvido em clorofórmio (30 mL), lavado com solução de bicarbonato de sódio (20 mL) e seco com sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido em evaporador rotatório e o produto resultante (**22-24**) foi seco em dessecador.



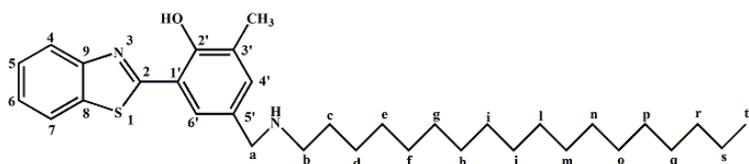
O produto **22** de coloração branca apresentou 78 % de rendimento. Ponto de fusão:

67-69 °C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3282 (ν N-H), 3058 (ν CH de aromático), 2918 (ν_{as} CH alifático), 2850 (ν_{s} CH alifático), 1603 (ν C=C do anel aromático), 1265 (ν C-O), 750 (intensa, benzeno o-substituído). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7,23-7,10 (m, 1H, H_5), 7,04-6,92 (d, 1H, H_3), 6,87-6,73 (m, 1H, H_6 e H_4), 3,99 (s, 2H, H_a amina), 2,67 (t, 2H, H_b), 1,63-1,44 (m, 2H, H_c), 1,26 (s, 30H, H_d - H_s), 0,89 (t, 3H, H_t). ^{13}C -RMN, (75,4 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 158,3; 122,6; 128,6; 128,1; 118,9; 116,3; 52,7; 48,8; 31,9; 29,7; 29,68; 29,67; 29,62; 29,5; 29,4; 29,3; 27,1; 22,7; 14,1.



O produto **23** de coloração amarelo pálido, apresentou 80% de rendimento. Ponto de fusão:

85-88 °C. FTIR (KBr, cm^{-1}): 3321 (ν N-H), 3094 (ν CH de aromático), 2912 (ν_{as} CH alifático), 2851 (ν_{s} CH alifático), 1624 (ν C=C do anel aromático), 1242 (ν C-O), 758 (intensa, benzeno o-substituído). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7,82 (d, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,74-7,69 (m, 1H, H_7), 7,61-7,57 (m, 1H, H_4), 7,39-7,34 (m, 1H, H_5 e H_6), 7,28 (s, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3,76 (s, 2H, H_a amina), 2,65 (t, 2H, H_b), 2,34 (s, 3H, Ar- CH_3), 1,56-1,50 (m, 2H, H_c), 1,24 (s, 30H, H_d - H_s), 0,88 (t, 3H, H_t). RMN de ^{13}C , (75,4 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 156,1; 149,1; 140,0; 135,2; 134,7; 131,0; 126,5; 125,1; 124,8; 124,0; 119,1; 110,5; 109,4; 53,4; 49,5; 31,9; 30,0; 29,7; 29,6; 29,5; 29,3; 27,4; 22,6; 16,0; 14,1.



O produto **24** de coloração amarela, apresentou 84% de rendimento. Ponto de fusão: 70-74°C. FTIR (KBr,

cm^{-1}): 3353 (ν N-H), 3066 (ν CH de aromático), 2913 (ν_{as} CH alifático), 2851 (ν_{s} CH alifático), 1606 (ν C=C do anel aromático), 1260 (ν C-O), 754 (benzeno o-substituído), 718 (ν C-S). RMN de ^1H , (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 12,71 (largo, s, 1H, OH), 7,96 (d, 1H, H_4), 7,89 (d, 1H, H_7), 7,56-7,44 (m, 2H, H_5 e H_6), 7,44-7,35 (m, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,23 (s, 1H, $\text{H}_{4'}$), 3,74 (s, 2H, H_a amina), 2,66 (t, 2H, H_b), 2,35 (s, 3H, Ar- CH_3), 1,59-1,49 (m, 2H, H_c), 1,24 (s, 30H, H_d - H_s), 0,88 (t, 3H, H_t). RMN de ^{13}C , (75,4 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 169,8; 155,3; 151,7; 134,45; 134,40; 133,9; 132,7; 131,0; 128,0; 126,9; 126,5; 125,4; 125,3; 122,0; 121,4; 115,6; 53,4; 49,5; 31,9; 30,0; 29,7; 29,67; 29,61; 29,3; 27,4; 22,7; 16,0; 14,1.

REFERÊNCIAS

ABELLA, C. A. M. **Síntese de Novas Bases de Tröger Fluorescentes via Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado (ESIPT)**. 2003. 110f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

ACUNA, A. U. et al. Proton-transfer lasing from solid organic matrices. **Chemical Physics Letters**. v.187, p.98-102, 1991.

AFFELDT, R. F. **Síntese e estudo fotofísico de novos heterociclos nitrogenados contendo fluoróforos benzazólicos**. 2011. 123 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

AFFELDT, R. F. et al. Synthesis and fluorescence properties of benzoxazole-1,4-dihydropyridine dyads achieved by a multicomponent reaction. **New Journal of Chemistry**. v.38, p.4607-4614, 2014.

ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da célula**, 5.ed., Porto Alegre: Artmed, 2010. 1396 p.

CAREY, F. A. **Organic Chemistry**. 5.ed. McGraw-Hill, 2004, 1199 p.

CHO, T. B.; KANG, S. K. Direct and indirect amination of aldehydes and ketones with solid acid-activated sodium borohydride under solvent-free conditions. **Tetrahedron**. v.61, p.5725-5734, 2005

DEMCHENKO, A. P.; **Advanced Fluorescence Reporters in Chemistry and Biology I: Fundamentals and Molecular Design**, 2010.

DICK, P. F. et al. Amphiphilic ESIPT benzoxazole derivatives as prospective fluorescent membrane probes. **Tetrahedron Letters**, Porto Alegre, v.55, p. 3024-3029, 2014.

DUFF, J. C.; BILLS, E. J. Reactions between hexamethylenetetramine and phenolic compounds. Part I. A new method for the preparation of 3- and 5- aldehydosalicylic acids. **Journal of the Chemical Society**. p.1987-1988, 1932.

GUMUS, F. et al. Synthesis, cytotoxicity, and DNA interactions of new cisplatin analogues containing substituted benzimidazole ligands. **Journal of Medical Chemistry**. v.52, p.1345-1357, 2009

GUZOW, K. et al. Influence of substituents in the phenyl ring on photophysical properties of 3-[2-(phenyl)benzoxazol-5-yl]alanine derivatives. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. v.175, p.57-68, 2005

HOLLER, M. G. et al. Synthesis and spectroscopic characterization of 2-(2'-hydroxyphenyl)benzazole isothiocyanates as new fluorescent probes for proteins. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. Porto Alegre, v.149, p.217-225, 2002

JOHNSON, I. Fluorescent probes for living cells. **Histochemical Journal**.v.30, p.123-140, 1998.

JOHNSON, L.; SPENCE, M. T. Z. **The Molecular Probes Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies**, 11.ed., 2010.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 4.ed., São Paulo: Sarvier, 2006. 1202 p.

MASON, W. T.; **Fluorescent and Luminescent Probes for Biological Activity: A Practical Guide to Technology for Quantitative Real-Time Analysis**, 2.ed., 1999, 647 p.

MUNDY, B. P.; ELLERD, M. G.; FAVALORO, F. G. **Name Reactions and Reagents in Organic Synthesis**. 2.ed. John Wiley & Sons, 2005, 900 p.

NEYTS, J. et al. Structure-activity relationship of new anti-hepatitis C virus agents: heterobicyclic-coumarin conjugates. **Journal of Medical Chemistry**. v.52, p.1486-1490, 2009

OWEN, T. **Fundamentals of Modern UV-visible spectroscopy**. 1ed., 2000. 136 p.

PARK S. et al. A White-Light-Emitting Molecule: Frustrated Energy Transfer between Constituent Emitting Centers. **Journal of the American Chemical Society**. v.131, p.14043-14049, 2009

PAVIA, D. L.; LAMPAMN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy: A Guide For Students Of Organic Chemistry**. 3rd. ed. USA: Thomson, 2001. 579 p.

PAZIN, W. M. **Anisotropia de fluorescência: aplicações em membranas modelo**. 2012. 137 f. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PELLETIER, J. C. et al. Discovery of 6-({4-[2-(4-tert-butylphenyl)-1H-benzimidazol-4-yl]piperazin-1-yl}methyl)quinoxaline: an orally active antagonist of the gonadotropin releasing hormone receptor. **Journal of Medical Chemistry**. v.52, p.2148-2152, 2009

ROBERTS, E. L.; DEY, J.; WARNER, I. M. Excited-State Intramolecular Proton Transfer of 2-(2'-Hydroxyphenyl)benzimidazole in Cyclodextrins and Binary Solvent Mixtures. **The Journal of Physical Chemistry A**. v.101, p.5296-5301, 1997

RODEMBUSCH, F. S. **Síntese, caracterização e estudo fotofísico de heterociclos fluorescentes por ESIPT e suas aplicações na preparação de novos materiais**. 2005. 132f. Dissertação (Tese de Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

RODEMBUSCH, F. S. et al. First hyperpolarizability in a new benzimidazole derivative. **Chemical Physics**. v.305, p.115-121, 2004.

RODEMBUSCH, F. S. et al. Synthesis and spectroscopic characterization of new ESIPT fluorescent protein probes. **Photochemical & Photobiological Sciences**. v.4, p.254-259, 2005.

RUSSOWSKY, D. et al. Addition of silylated carbon nucleophiles to iminium and cyclic N-acyliminium ions promoted by InCl₃. **Tetrahedron Letters**. v.41, p.9939-9942, 2000

RZESKA, A. et al. New highly fluorescent amino-acid derivatives: Substituted 3-[2-(phenyl)benzoxazol-5-yl]-alanines: synthesis and photophysical properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. v.146, p.9-18, 2001.

SANTOS F. S., et al. LATIN AMERICAN CONFERENCE ON PHYSICAL ORGANIC CHEMISTRY, 12.; 2013, Foz do Iguaçu. **Photophysical investigation of 2-(2'-hydroxy-3'-methylphenyl)benzazoles, fluorescent by excited state intramolecular proton transfer mechanism:** livro de resumos.

SHARMA, A.; SCHULMAN, S. T.; **Introduction to Fluorescence Spectroscopy.** 1999. 192 p.

SILVERSTEIN, R. M. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994, 387 p.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentos de Química Analítica.** 8.ed., USA: Thomson, 2006. 1026 p.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure.** 6.ed. John Wiley & Sons, 2007, 2374 p.

SO, Y. H.; HEESCHEN, J. P. Mechanism of Polyphosphoric Acid and Phosphorus Pentoxide-Methanesulfonic Acid as Synthetic Reagents for Benzoxazole Formation. **Journal of Organic Chemistry.** v.62, n.11, p.3552-3561, 1997.

SON, Y. A. et al. Characterization of new benz-x-azole dye derivatives and metal complexes. **Molecular Crystals and Liquid Crystals.** v.498, p.158-164, 2009

SOTOMAYOR, M. D. P. T. et al. Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas. **Química Nova.** v.31, n.7, p.1755-1774, 2008

SOUZA, A. E.; ECHEVARRIA, A.; SANT'ANNA, C. M. R. Estudo Experimental e Teórico da Redução de Bases de Schiff Derivadas da 3,3-difenilpropilamina. **Química Nova.** v.27, n.1, p.72-75, 2004

TANG, G. Q. et al. Excited-state intramolecular proton transfer and spectroscopy of 2-(2'-hydroxyphenyl)benzoxazole in solid polymer matrixes. **Chemical Journal of Chinese Universities.** v.17, p.906-910, 1996.

YUAN, Z. et al. Efficient synthesis of regioisomerically pure bis(trifluoromethyl)-substituted 3,4,9,10-perylene tetracarboxylic bis(benzimidazole). **Organic Letters**. v.11, p.2808-2811, 2009

WARDLE, B. **Principles and Applications of Photochemistry**. 2009. 264 p.

WU, J. S. et al. New sensing mechanisms for design of fluorescent chemosensors emerging in recent years. **Chemical Society Reviews**. v.40, p.3483-3495, 2011

ZHAO, J. et al. Excited state intramolecular proton transfer (ESIPT): from principal photophysics to the development of new chromophores and applications in fluorescent molecular probes and luminescent materials. **Physical Chemistry Chemical Physics**. v.14, p.8803-8817, 2012

ZOUBI, W. A. Biological Activities of Schiff Bases and their Complexes: A review of Recent Works. **International Journal of Organic Chemistry**. v.3, p.73-95, 2013

APÊNDICE

Figura A1. Espectro de RMN de ^1H do composto **16** (300 MHz, CDCl_3).

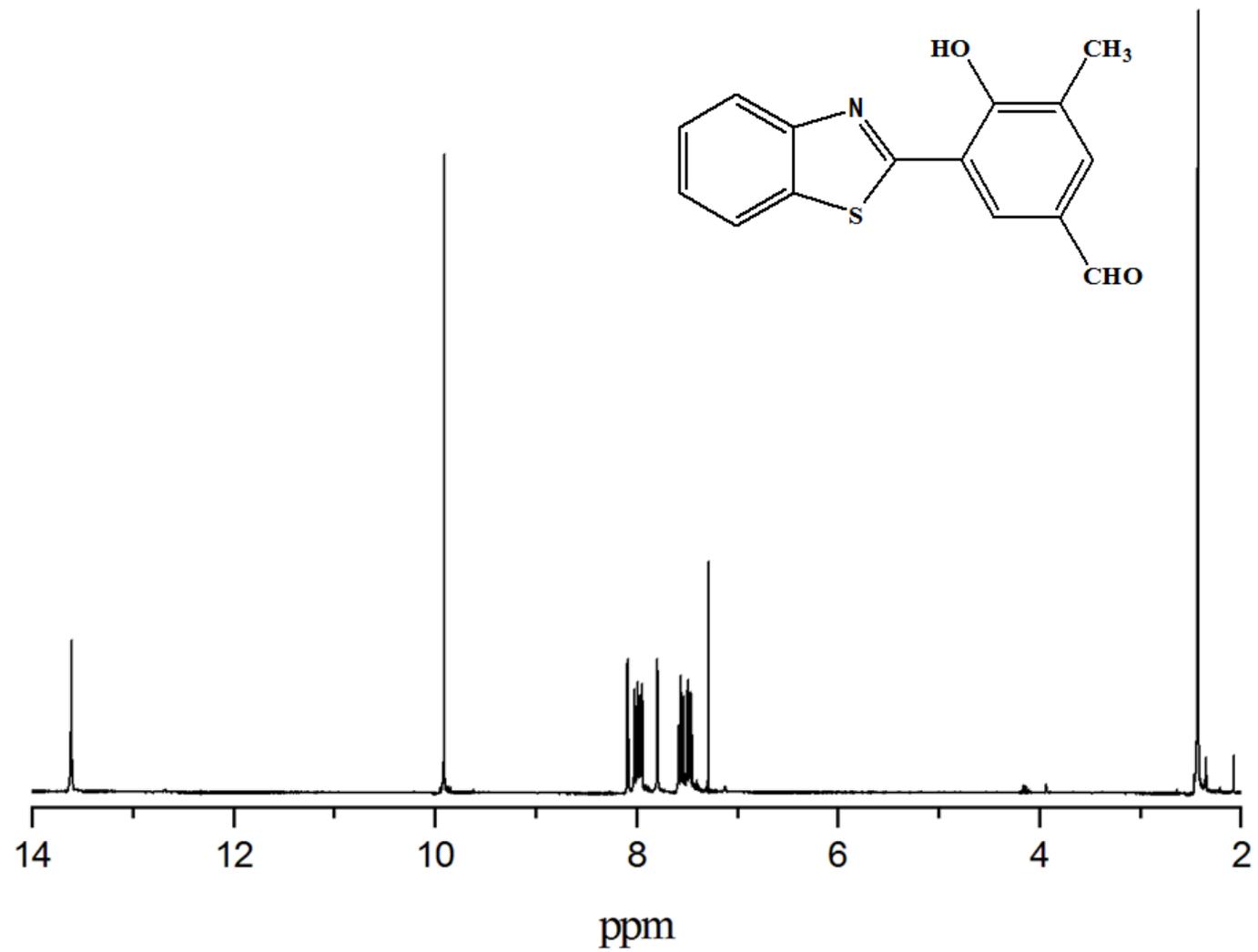


Figura A2. Espectro de FTIR do composto **16**, em KBr.

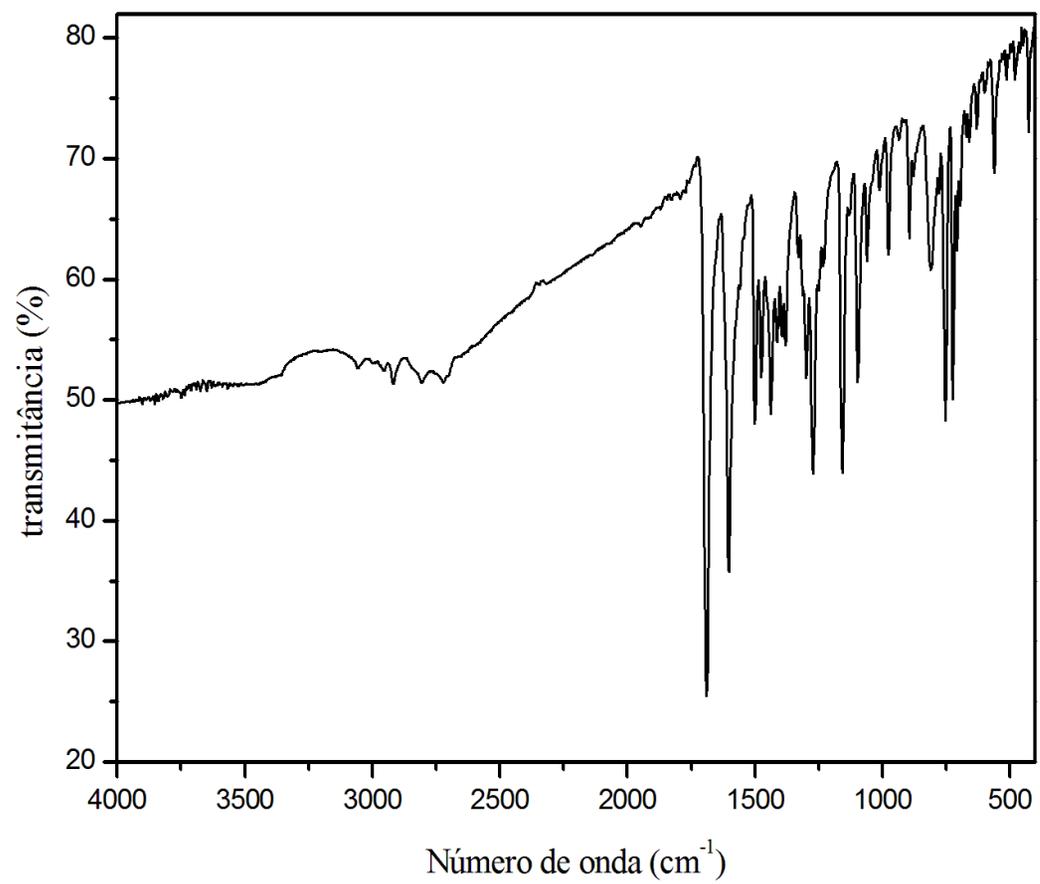


Figura A3. Espectro de FTIR do composto **19**, em KBr.

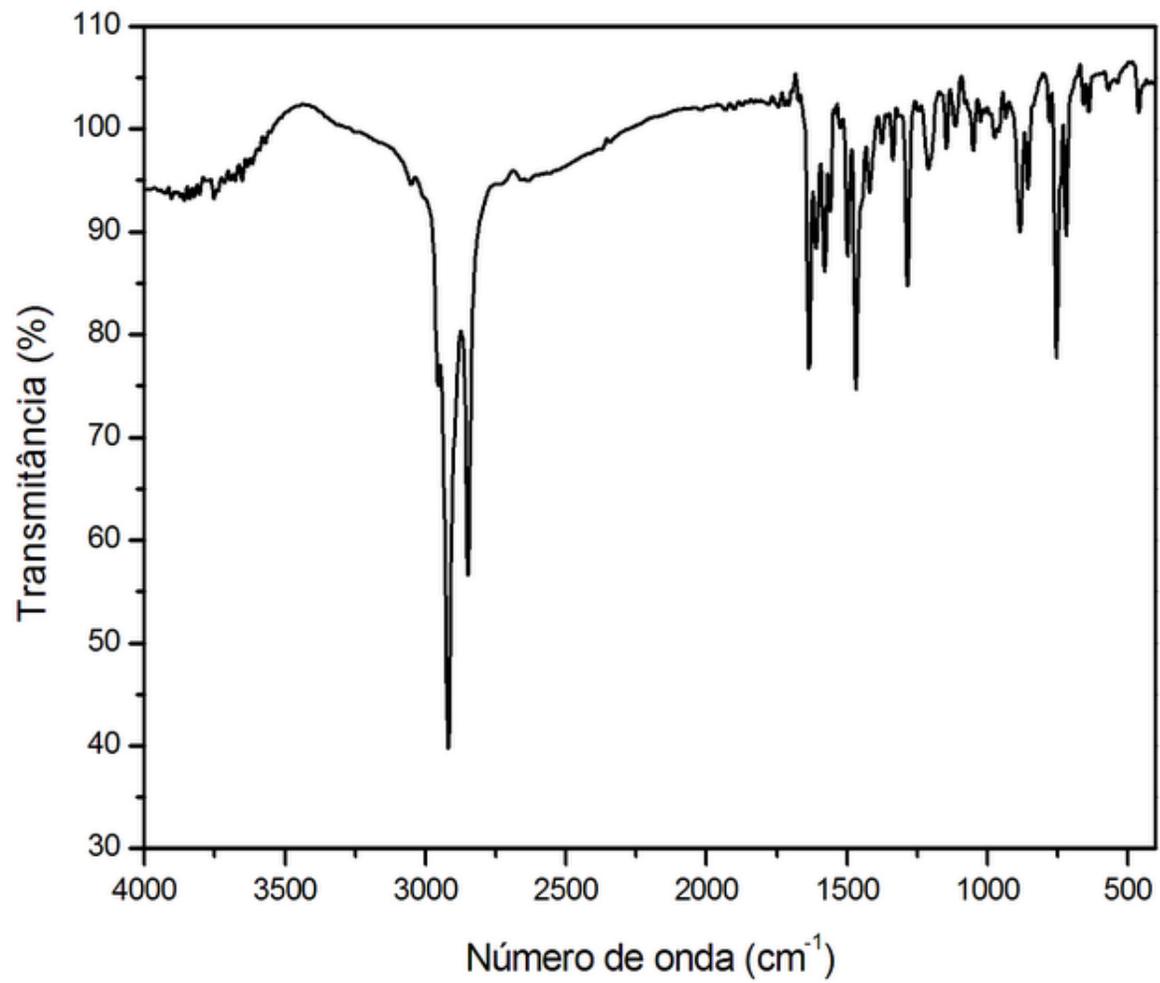


Figura A4. Espectro de RMN de ^1H do composto **20** (300 MHz, CDCl_3)

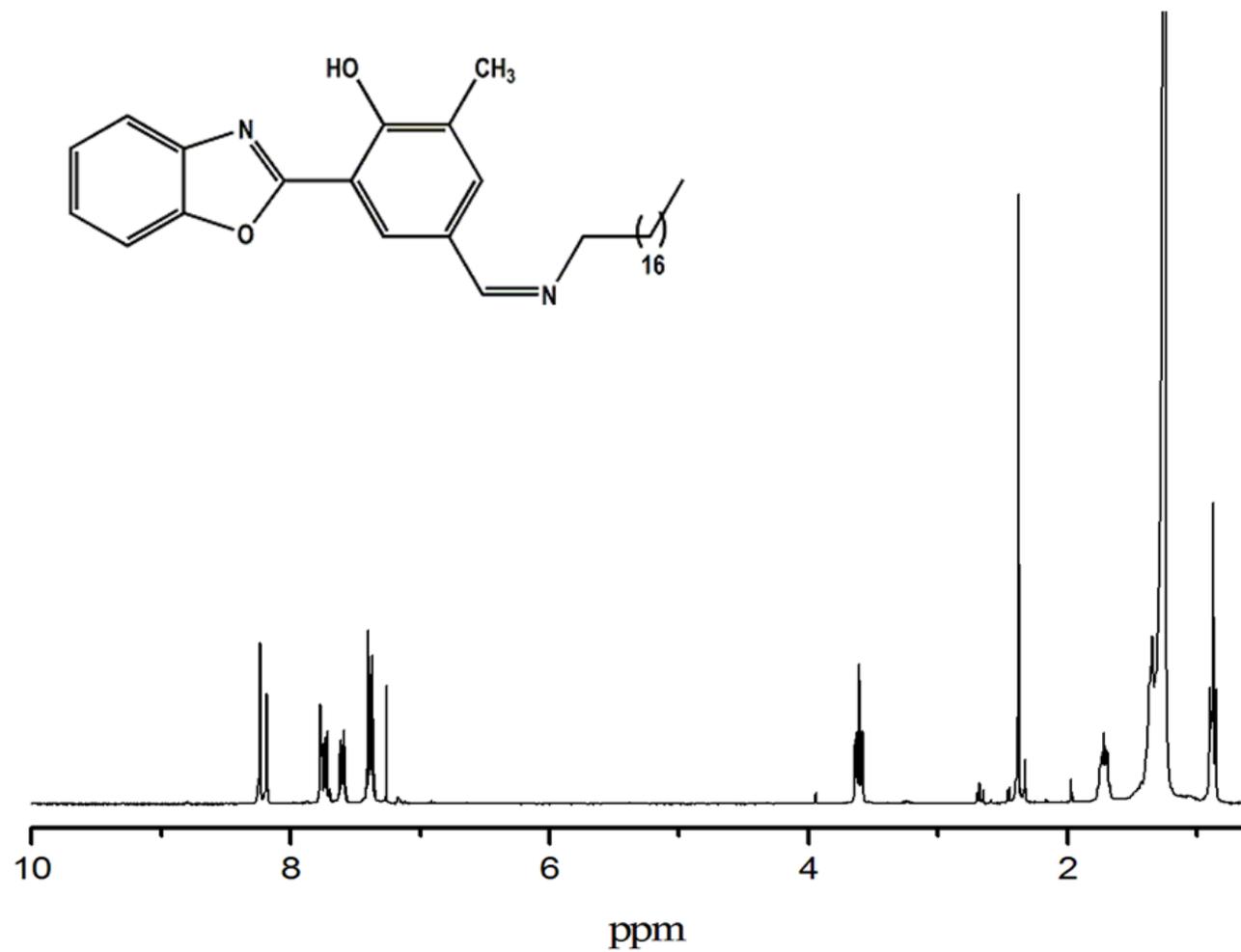


Figura A5. Espectro de FTIR do composto **20**, em KBr.

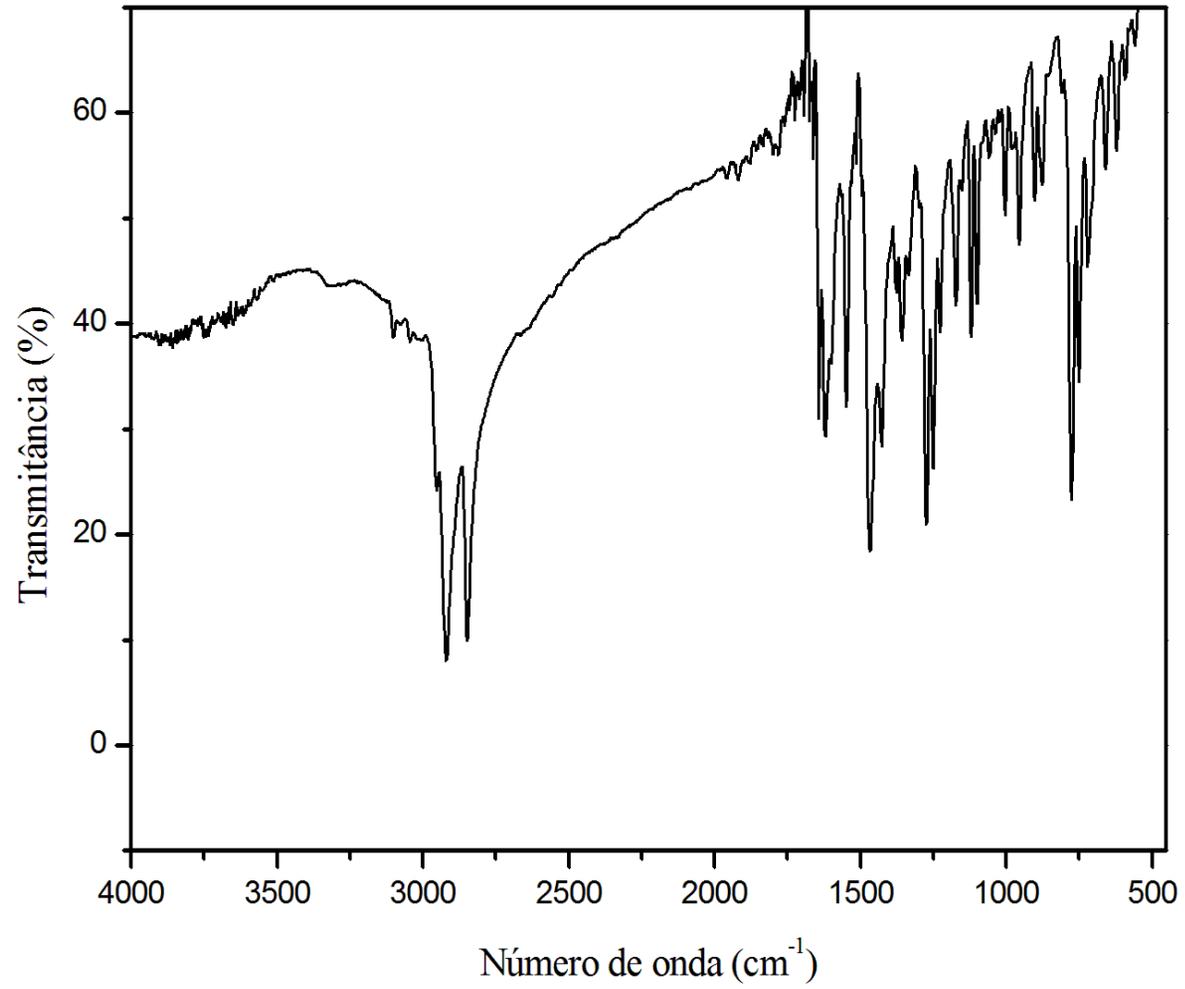


Figura A6. Espectro de RMN de ^1H do composto **22** (300 MHz, CDCl_3).

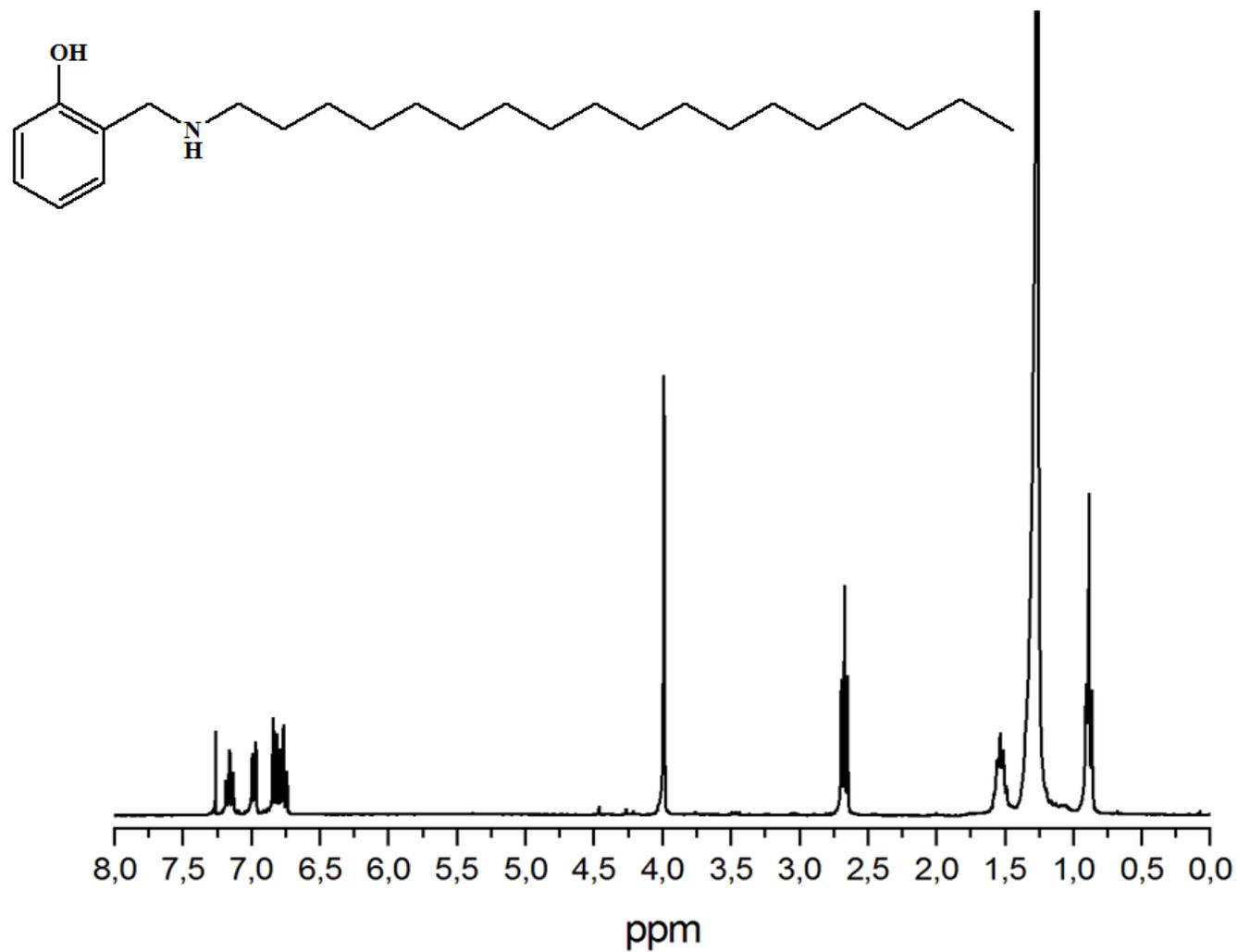


Figura A7. Espectro de FTIR do composto **22**, em KBr.

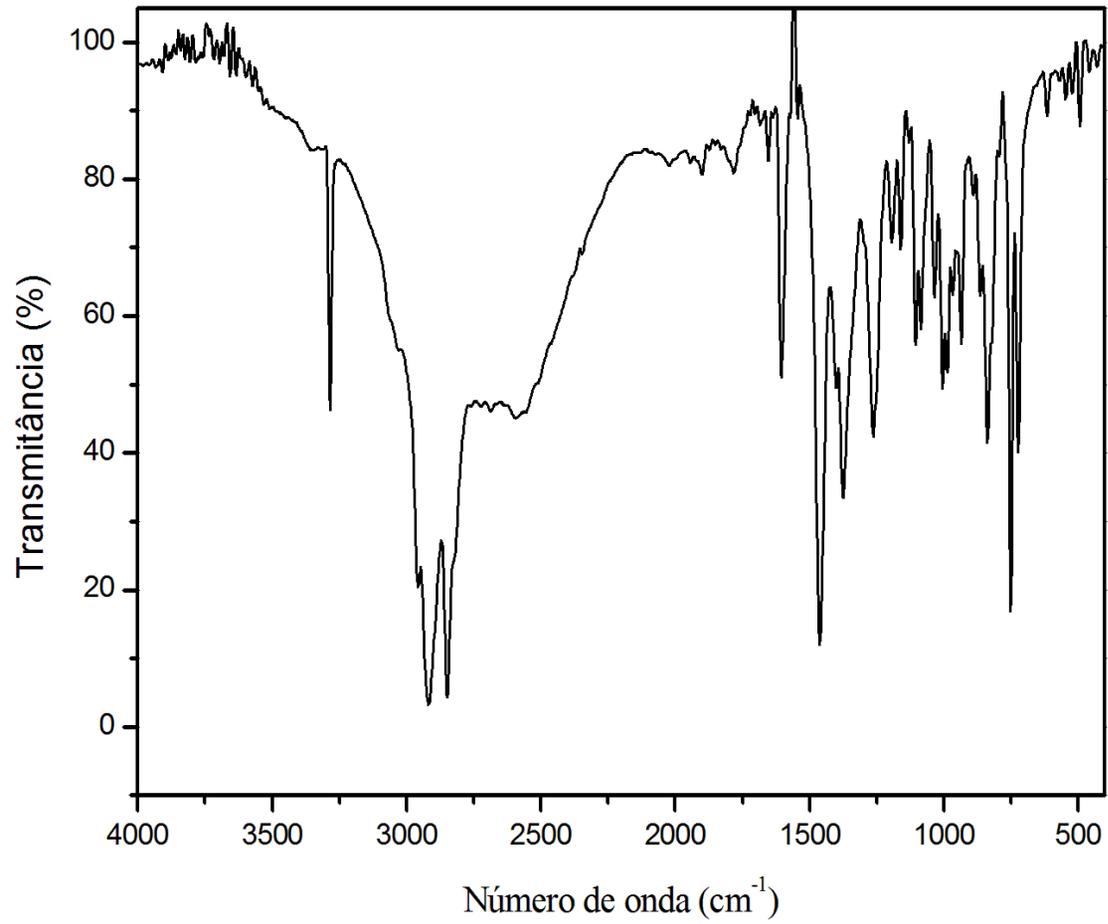


Figura A8. Espectro de RMN de ^{13}C (APT) do composto **22** (75,4 MHz, CDCl_3).

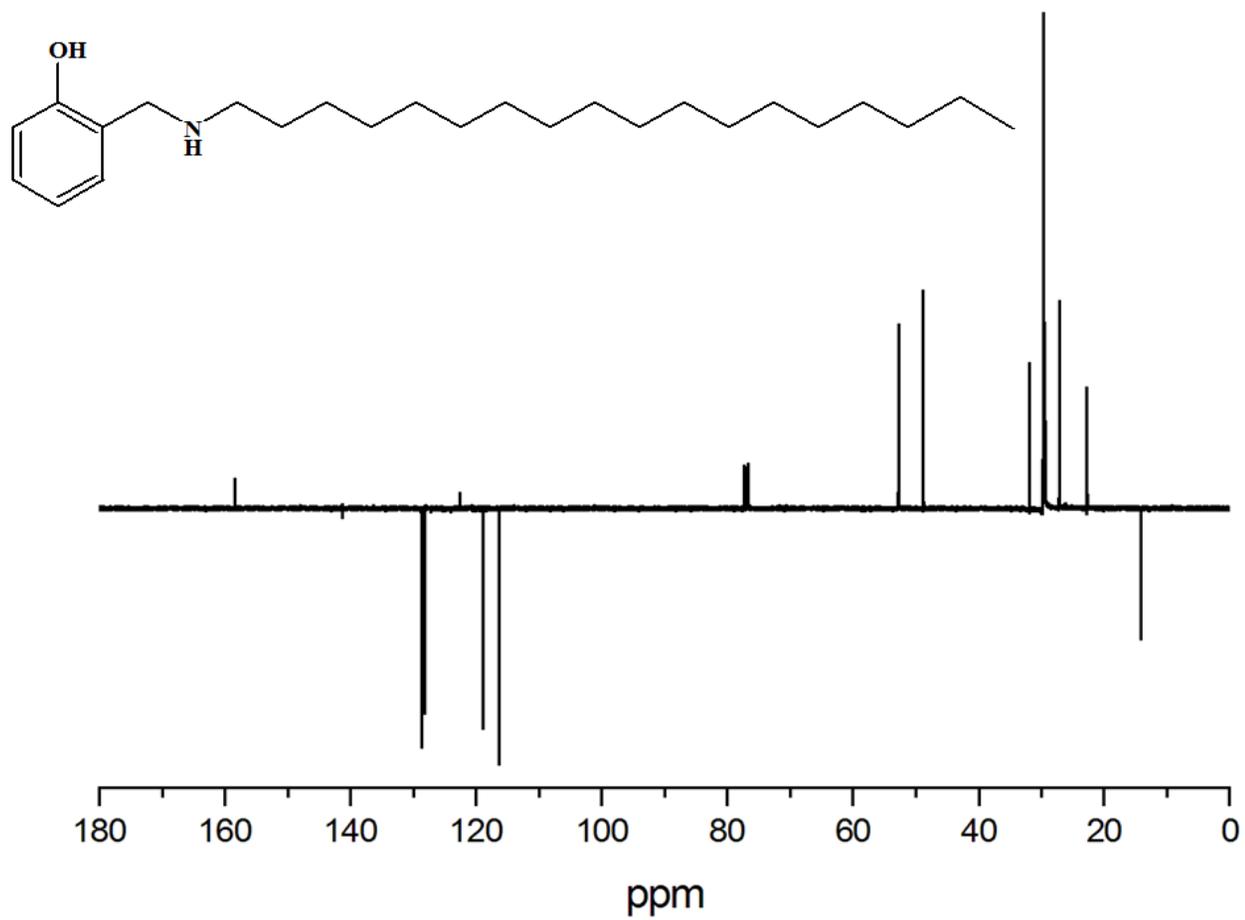


Figura A9. Espectro de RMN de ^1H do composto **23** (300 MHz, CDCl_3).

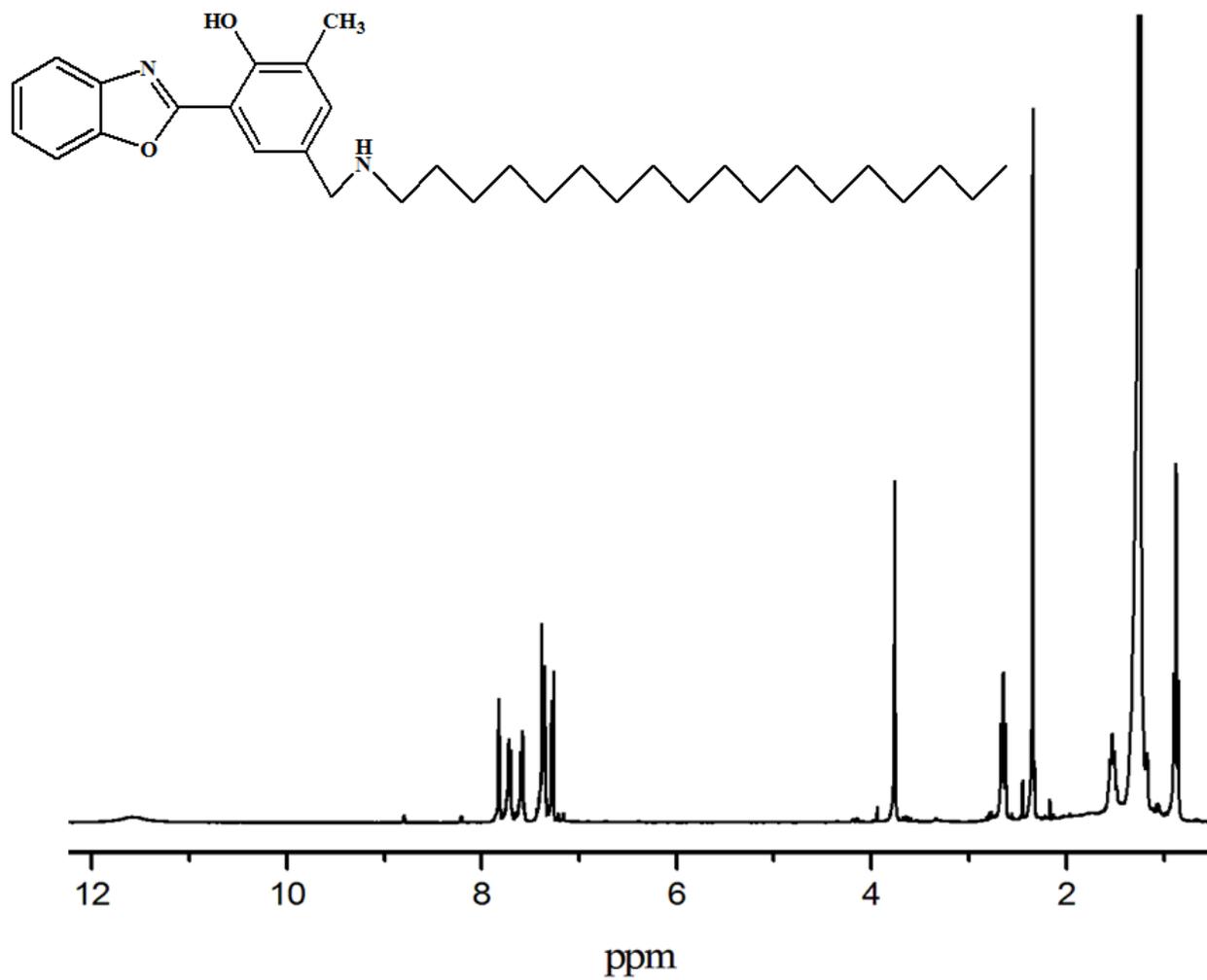


Figura A10. Espectro de FTIR do composto **23**, em KBr.

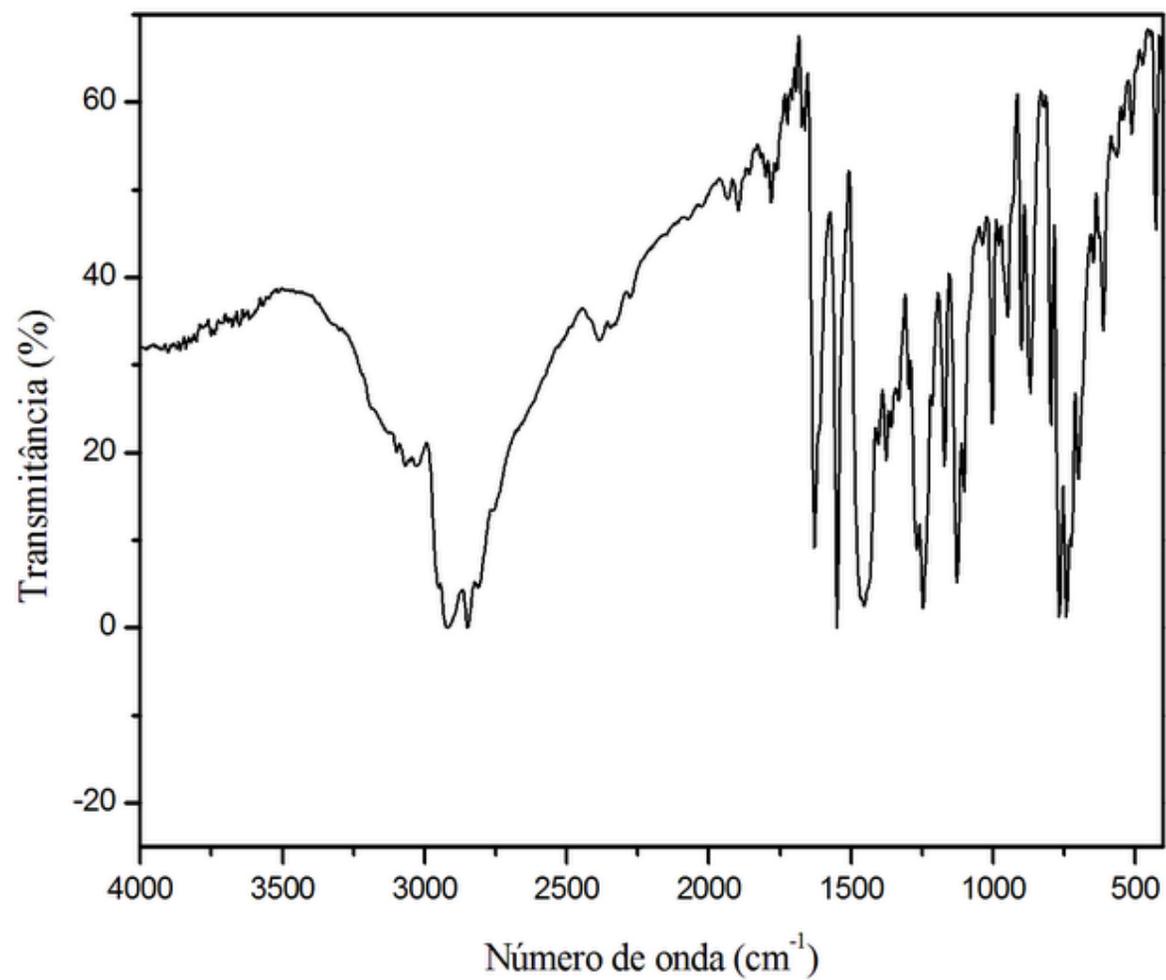


Figura A11. Espectro de RMN de ^{13}C (APT) do composto **24** (75,4 MHz, CDCl_3).

