

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

Tese de Doutorado

**AZIDAS AROMÁTICAS FOTOATIVAS:  
GLICOCONJUGAÇÃO E APLICAÇÃO COMO SENSORES ÓPTICOS EM  
SOLUÇÃO**

M.Sc. Claudia de Brito da Silva

Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch  
Orientador

Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtkke  
Co-Orientador

Porto Alegre, Dezembro de 2018

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

Tese de Doutorado

**AZIDAS AROMÁTICAS FOTOATIVAS:  
GLICOCONJUGAÇÃO E APLICAÇÃO COMO SENSORES ÓPTICOS EM  
SOLUÇÃO**

M.Sc. Cláudia de Brito da Silva

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química

Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch  
Orientador

Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtkke

Co-Orientador

Porto Alegre, Dezembro de 2018

A presente tese foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre agosto/2014 e dezembro/2018, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do Professor Doutor Fabiano Severo Rodembusch e Coorientação do Professor Doutor Diogo Seibert Lüdtkke.

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho a minha querida mãe, Eni, por todo amor, carinho e apoio incondicional que tem dedicado em todos os momentos a minha vida. Meu sincero reconhecimento e gratidão. Amo você.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, que somente Ele poderia ter me concedido. Agradeço a Deus, pois Ele tem sido meu auxílio e meu refúgio em todos os momentos da minha vida.

Á minha mãe, irmã e sobrinhos pelo carinho, apoio e compressão. Obrigada pelo apoio durante toda minha formação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch pela excelente orientação, pela paciência e por tudo que me ensinou. Por ter sido o melhor orientador que eu poderia ter. Sempre terá a minha gratidão e sincera admiração.

Ao Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtke pela co-orientação.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jéssie Sobieski pelos inúmeros ensinamentos. Por sempre estar disposta a me ajudar.

A doutoranda Luana Silva pela colaboração na síntese dos alcinos e também pelos conhecimentos compartilhados.

Aos meus colegas do laboratório: Daniela Fortes, Gabriela Gamino, Louise Reimann, Lilian Luz, Fabiano Santos, Rodrigo Duarte, Marcelo Eberhardt, Rodrigo Fuscaldo e Pedro Vontobel pelas inúmeras ajudas que me deram e pelo bom convívio diário.

As minhas queridas amigas: Maira, Marluza e Thaiz pela amizade sincera. Obrigada pela amizade dentro e fora do laboratório.

Ao meu grande amigo Marcus pelo carinho, apoio, e pelos momentos alegres.

Ao Programa de Pós Graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade concedida.

Aos técnicos do Instituto de Química.

A CAPES pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

## Sumário

Lista de Figuras.....	iii
Lista de Esquemas.....	xi
Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Abreviaturas.....	xiv
Resumo.....	xv
Abstract.....	xvi
<b>1. Introdução.....</b>	<b>2</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>6</b>
2.1. Objetivo Geral.....	7
2.2. Objetivos específicos.....	7
<b>3. Revisão da literatura.....</b>	<b>8</b>
3.1. Azidas Orgânicas.....	9
3.2. Reações das azidas orgânicas.....	12
3.3. Azidas como quimiossensores de sulfeto de hidrogênio.....	12
3.4. Mecanismo de redução de azidas.....	15
3.5. Carboidratos.....	17
3.6. Síntese de 1,2,3-triazóis via cicloadição 1,3-dipolarazida-acetileno.....	20
3.7. Propostas mecanísticas para a síntese de 1,2,3-triazóis.....	24
3.8. Quimiossensores fluorescente de cátions baseados em 1,2,3-Triazóis.....	28
3.9. Sondas para BSA baseados em 1,2,3-triazóis.....	30
3.10. Processos fotofísicos.....	32
3.10.1 Absorção na região do UV-Visível.....	32
3.10.2. Emissão de Fluorescência.....	34
3.10.3. Mecanismo de transferência protônica no estado excitado (ESIPT).....	36
3.10.4. Princípio das análises fluorimétricas.....	38
<b>4. Resultados e discussão.....</b>	<b>40</b>
4.1. Síntese dos precursores benzazólicos.....	41
4.2. Síntese das azidas aromáticas.....	42
4.3. Síntese dos alcinos derivados de carboidratos.....	44
4.4. Síntese dos glicoconjugados do tipo 1,2,3-triazóis.....	47
4.5. Caracterização Espectroscópica das azidas.....	49

4.6. Caracterização Espectroscópica dos alcinos.....	53
4.7. Caracterização Espectroscópica dos glicoconjugados.....	55
<b>5. Estudo fotofísico.....</b>	<b>64</b>
5.1. Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e de Emissão de fluorescência das azidas.....	64
5.2. Estudo de detecção de H <sub>2</sub> S em solução.....	72
5.3. Estudo de detecção de H <sub>2</sub> S em solução em função do tempo.....	77
5.4. Bioimageamento celular.....	80
5.5. Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e de emissão de fluorescência dos glicoconjugados.....	81
5.6. Estudo de interação com cátions.....	89
5.7. Estudo da interação do glicoconjugados com BSA.....	102
<b>6. Conclusões e Consiaerações Finais.....</b>	<b>115</b>
<b>7. Experimental.....</b>	<b>118</b>
7.1 Materiais e métodos.....	119
7.2 Compostos sintetizados.....	120
7.2.1 Síntese precursores benzazólicos fotoativos (28-29).....	120
7.2.2 Síntese precursores benzazólicos fotoativos (31-32).....	121
7.2.3 Síntese precursoresbenzazólicos fotoativos (34-35).....	122
7.2.4. Síntese das azidas (36-41).....	122
7.2.5 Síntese do acetonídeo (85).....	124
7.2.6 Síntese do bis-acetonídeo (86).....	125
7.2.7 Síntese do bis-acetonídeo (87).....	125
7.2.8 Síntese do alcino derivado da D-ribose (89).....	126
7.2.9 Síntese do alcino derivado da D-galactose (90).....	127
7.2.10 Síntese do alcino derivado da D-manose (91).....	127
7.2.11 Síntese do diol vicinal (92).....	128
7.2.12 Síntese do aldeído (93).....	129
7.2.13 Síntese do álcool (94).....	129
7.2.14 Síntese do alcino derivado da D-manose (95).....	130
7.2.15 Síntese dos glicoconjugados (96-107).....	131
<b>8. Referências.....</b>	<b>136</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Estrutura química de 1,2,3-triazóis utilizados para a detecção de cátions.....	3
<b>Figura 2.</b> Compostos 1,2,3-triazóis utilizados como sondas de fluorescente de BSA.....	4
<b>Figura 3.</b> Estrutura química do 3'-azido-3'-deoxitimidina ( <b>1</b> ) (AZT). <sup>54</sup> .....	9
<b>Figura 4.</b> Estruturas cíclica (a) e linear (b) para o grupo azida na azidobenzeno ( <b>2</b> ).....	9
<b>Figura 5.</b> Estruturas de azidas utilizadas como sondas fluorescentes de H <sub>2</sub> S através da redução quimiosseletiva de azidas para aminas. <sup>73,74</sup> .....	13
<b>Figura 6.</b> Estruturas das sondas fluorescentes utilizadas para detecção de H <sub>2</sub> S.....	15
<b>Figura 7.</b> Efeito anomérico em carboidratos.....	18
<b>Figura 8.</b> Moléculas contendo carboidratos em sua estrutura.....	19
<b>Figura 9.</b> Estrutura da vancomicina ( <b>49</b> ).....	19
<b>Figura 10.</b> Estruturas de diferentes carboidratos funcionalizados.....	20
<b>Figura 11.</b> Moléculas que apresentam atividade farmacológica contendo a porção triazólica. <sup>101</sup> .....	21
<b>Figura 12.</b> Diferentes estruturas químicas para compostos do tipo 1,2,3-triazóis, onde a ordem de prioridade: R <sub>2</sub> >R <sub>1</sub> .....	21
<b>Figura 13.</b> Substâncias derivadas de carboidratos e sintetizadas através da CuAAC....	24
<b>Figura 14.</b> Derivados 1,2,3-triazóis utilizados como quimiossensores. <sup>94,141</sup> .....	29
<b>Figura 15.</b> Estrutura do composto bis-1,2,3-triazol ( <b>81</b> ) utilizado como quimiossensor de Cu <sup>+2</sup> .....	30
<b>Figura 16.</b> Estrutura da BSA. <sup>206</sup> .....	31
<b>Figura 17.</b> Possíveis transições eletrônicas em um composto orgânico.....	33
<b>Figura 18.</b> Variações que podem ocorrer em um espectro de UV-Vis e/ou emissão de fluorescência, onde ①: efeito hipercrômico, ②: efeito hipocrômico, ③: efeito hipsocrômico e ④: efeito batocrômico.....	34
<b>Figura 19.</b> Diagrama de Jablonski.....	35
<b>Figura 20.</b> Mecanismo de ESIPT para 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, onde X=O, S ou NH.....	37
<b>Figura 21.</b> Representação do deslocamento de Stokes ( $\Delta\lambda_{ST}$ ) para emissão normal, da forma enol (esquerda) e emissão por ESIPT, da forma ceto (direita). (Adaptado de Nunes <i>et al.</i> <sup>183</sup> ).....	39
<b>Figura 22.</b> Estruturas dos carboidratos utilizados neste trabalho.....	45

<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) da azida <b>37</b> em $\text{CDCl}_3$ com ampliação da região aromática.....	49
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (APT) (100 MHz) da azida <b>37</b> em $\text{CDCl}_3$ .....	50
<b>Figura 25.</b> Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida <b>37</b> .....	51
<b>Figura 26.</b> Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) da azida <b>37</b> entre 7,0 e 8,0 ppm.....	52
<b>Figura 27.</b> Ampliação do espectro de RMN 2D HSQC da azida <b>37</b> entre 6,8-8,1 ppm ( $^1\text{H}$ ) e 114-134 ppm ( $^{13}\text{C}$ ).....	53
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) do alcino <b>89</b> em $\text{CDCl}_3$ com ampliação.....	54
<b>Figura 29.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) do alcino <b>91</b> em $\text{CDCl}_3$ com ampliação.....	55
<b>Figura 30.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) do glicoconjugado <b>96</b> em $\text{CDCl}_3$ com ampliação.....	56
<b>Figura 31.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (APT) (100 MHz) do glicoconjugado <b>96</b> em $\text{CDCl}_3$ .....	57
<b>Figura 32.</b> Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado <b>96</b> .....	58
<b>Figura 33.</b> Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado <b>96</b> entre 3,1-5,2 ppm.....	59
<b>Figura 34.</b> Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado <b>96</b> com ampliação na região entre 1,2-5,0 ppm ( $^1\text{H}$ ) e 10-110 ppm ( $^{13}\text{C}$ ).....	60
<b>Figura 35.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) do glicoconjugado <b>101</b> em $\text{CDCl}_3$ com ampliação.....	61
<b>Figura 36.</b> Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado <b>101</b> entre 1,2-5,6 ppm.....	62
<b>Figura 37.</b> Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado <b>101</b> com ampliação entre 7,2-8,5 ppm.....	62
<b>Figura 38.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz) do glicoconjugado <b>104</b> em $\text{CDCl}_3$ com ampliação.....	63
<b>Figura 39.</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (APT) (100 MHz) do glicoconjugado <b>104</b> em $\text{CDCl}_3$ .....	64
<b>Figura 40.</b> Espectro de absorção na região do UV-Vis das azidas <b>36</b> (a) e <b>37</b> (b).....	64

<b>Figura 41.</b> Espectro de absorção na região do UV-Vis das azidas <b>38</b> (c) e <b>39</b> (d).....	65
<b>Figura 42.</b> Espectro de absorção na região do UV-Vis das azidas <b>40</b> (c) e <b>41</b> (d).....	65
<b>Figura 43.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução ( $10^{-5}$ M) das azidas <b>36</b> (acima) e <b>37</b> (abaixo) e seus respectivos precursores (Exc./Em. slits 5.0 nm/3.0 nm)...	68
<b>Figura 44.</b> Espectro de emissão de fluorescência das azidas <b>36-39</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de (a) diclorometano, (b) etanol e (c) acetonitrila (Exc./Em. slits 5.0 nm/3.0 nm).....	69
<b>Figura 45.</b> Espectro de emissão de fluorescência das azidas <b>40</b> e <b>41</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de (a) diclorometano, (b) etanol e (c) acetonitrila (Exc./Em. slits 5.0 nm/3.0 nm)...	71
<b>Figura 46.</b> Espectro de UV-Vis das azidas (a) <b>36</b> ( $2.88 \times 10^{-5}$ M), (b) <b>37</b> ( $2.98 \times 10^{-5}$ M), (c) <b>38</b> ( $1.98 \times 10^{-5}$ M) e (d) <b>39</b> ( $1.86 \times 10^{-5}$ M) após adição de diferentes alíquotas (10-100 $\mu$ L) de NaHS ( $1.0 \times 10^{-3}$ M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7.4). A linha pontilhada representa a respectiva azida na ausência de NaHS, A inserção apresenta a respectiva correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS nos máximos de absorção do composto reduzido.....	73
<b>Figura 47.</b> Espectro de UV-Vis das azidas (a) <b>40</b> ( $1,34 \times 10^{-5}$ M) e (b) <b>41</b> ( $1,56 \times 10^{-5}$ M), após adição de diferentes alíquotas (10-100 $\mu$ L de NaHS ( $1,0 \times 10^{-3}$ M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4).....	74
<b>Figura 48.</b> Espectros de emissão de fluorescência (a) <b>36</b> ( $2,88 \times 10^{-5}$ M), (b) <b>37</b> ( $2,98 \times 10^{-5}$ M), (c) <b>38</b> ( $1,98 \times 10^{-5}$ M) e (d) <b>39</b> ( $1,86 \times 10^{-5}$ M) após diferentes alíquotas de NaHS (10-100 $\mu$ L) ( $1,0 \times 10^{-3}$ M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4) e slits Exc/Em 3,0. A linha pontilhada representa a respectiva azida na ausência NaHS. A inserção apresenta a respectiva correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS nos máximos do composto reduzido.....	75
<b>Figura 49.</b> Espectro de emissão de fluorescência das azidas <b>40</b> e <b>41</b> presença de diferentes alíquotas de NaHS.....	76
<b>Figura 50.</b> Soluções de azidas <b>36-39</b> em solução tampão etanol/PBS (50/50 v/v, pH=7,4) sob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de NaHS.....	76
<b>Figura 51.</b> Espectros de absorção na região do UV-vis em função do tempo das azidas (a) <b>36</b> ( $2,88 \times 10^{-5}$ M), (b) <b>37</b> ( $2,98 \times 10^{-5}$ M), (c) <b>38</b> ( $1,98 \times 10^{-5}$ M) e (d) <b>39</b> ( $1,86 \times 10^{-5}$ M) após adição de NaHS ( $1,0 \times 10^{-3}$ M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4). A linha preto representa a respectiva azida sem a adição de NaHS. A inserção apresenta a correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS.....	78

<b>Figura 52.</b> Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo das azidas (a) <b>36</b> ( $2,88 \times 10^{-5}$ M), (b) <b>37</b> ( $2,98 \times 10^{-5}$ M), (c) <b>38</b> ( $1,98 \times 10^{-5}$ M) e (d) <b>39</b> ( $1,86 \times 10^{-5}$ M) após adição de NaHS ( $1,0 \times 10^{-3}$ M) em etanol/solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4). A linha preta representa a respectiva azida sem a adição de NaHS. A inserção apresenta a correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS.....	79
<b>Figura 53.</b> Imagens de microscopia de fluorescência da azidas (a) <b>36</b> , (b) <b>37</b> , (c) <b>38</b> e (d) <b>39</b> em cultura de células T98G fixado em paraformaldeído (3,7%), lavado com PBS, permeabilizado em Triton X-100 (0,01%) e incubado com cisteína (100 $\mu$ M, 30 min, 37°C). A primeira coluna mostra a fluorescência das células incubadas com o corante nuclear 7-AAD, a coluna central mostra os compostos azidas e a terceira coluna a sobreposição das imagens.....	80
<b>Figura 54.</b> Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diclorometano dos glicoconjugados <b>96-107</b> .....	82
<b>Figura 55.</b> Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de etanol dos glicoconjugados <b>96-107</b> .....	83
<b>Figura 56.</b> Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de acetonitrila dos glicoconjugados <b>96-107</b> .....	84
<b>Figura 57.</b> Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados <b>96-103</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de diclorometano (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm)....	86
<b>Figura 58.</b> Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados <b>104-107</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de diclorometano (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm)....	86
<b>Figura 59.</b> Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados <b>96-103</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de etanol (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).....	87
<b>Figura 60.</b> Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados <b>104-107</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de etanol (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).....	88
<b>Figura 61.</b> Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados <b>96-103</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de acetonitrila (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).....	88
<b>Figura 62.</b> Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados <b>104-107</b> em solução ( $10^{-5}$ M) de acetonitrila (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).....	89
<b>Figura 63.</b> Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de $\text{NO}_3^-$ (20 equiv.) dos compostos <b>96</b> e <b>97</b> .....	90
<b>Figura 64.</b> Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de $\text{NO}_3^-$ (20 equiv.) dos compostos <b>100</b> e <b>103</b> .....	90

<b>Figura 65.</b> Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de $\text{NO}_3^-$ (20 equiv.) dos compostos <b>105</b> e <b>107</b> .....	91
<b>Figura 66.</b> Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de $\text{NO}_3^-$ (20 equiv.) dos compostos <b>98</b> e <b>99</b> .....	92
<b>Figura 67.</b> Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de $\text{NO}_3^-$ (20 equiv.) dos compostos <b>101</b> e <b>102</b> .....	92
<b>Figura 68.</b> Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de $\text{NO}_3^-$ (20 equiv.) dos compostos <b>104</b> e <b>106</b> .....	93
<b>Figura 69.</b> Gligoconjugados em acetonitrilasob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ .....	94
<b>Figura 70.</b> Gligoconjugados em acetonitrilasob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ .....	94
<b>Figura 71.</b> Gligoconjugados em acetonitrilasob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ .....	95
<b>Figura 72.</b> Gligoconjugados em acetonitrilasob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ .....	95
<b>Figura 73.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto <b>96</b> ( $1,43 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Ni}^{+2}$ (direita).....	96
<b>Figura 74.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto <b>103</b> ( $1,36 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Ni}^{+2}$ (direita).....	96
<b>Figura 75.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto <b>107</b> ( $1,46 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Ni}^{+2}$ (direita).....	97
<b>Figura 76.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-14 equiv.) do composto <b>97</b> ( $1,41 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Ni}^{+2}$ (direita).....	97
<b>Figura 77.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto <b>100</b> ( $1,28 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Ni}^{+2}$ (direita).....	98
<b>Figura 78.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto <b>105</b> ( $1,35 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Ni}^{+2}$ (direita).....	99

<b>Figura 79.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-14 equiv.) do composto <b>97</b> ( $1,41 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Cu}^{+2}$ (direita).....	100
<b>Figura 80.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-16 equiv.) do composto <b>100</b> ( $1,28 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Cu}^{+2}$ (direita).....	100
<b>Figura 81.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-10 equiv.) do composto <b>103</b> ( $1,36 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Cu}^{+2}$ (direita).....	101
<b>Figura 82.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre -(0,02-20 equiv.) do composto <b>101</b> ( $1,38 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Cu}^{+2}$ (direita).....	101
<b>Figura 83.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-22 equiv.) do composto <b>104</b> ( $1,40 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Cu}^{+2}$ (direita).....	102
<b>Figura 84.</b> Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-20 equiv.) do composto <b>105</b> ( $1,35 \times 10^{-5}$ M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de $\text{Cu}^{+2}$ (direita).....	102
<b>Figura 85.</b> Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados <b>96</b> (a) e <b>97</b> (b) (10-100 $\mu\text{M}$ ).....	103
<b>Figura 86.</b> Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados <b>98</b> (a) e <b>99</b> (b) (10-100 $\mu\text{M}$ ).....	103
<b>Figura 87.</b> Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados <b>100</b> (a) e <b>101</b> (b) (10-100 $\mu\text{M}$ ).....	104
<b>Figura 88.</b> Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados <b>102</b> (a) e <b>103</b> (b) (10-100 $\mu\text{M}$ ).....	104
<b>Figura 89.</b> Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados <b>104</b> (a) e <b>105</b> (b) (10-100 $\mu\text{M}$ ).....	105
<b>Figura 90.</b> Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados <b>106</b> (a) e <b>107</b> (b) (10-100 $\mu\text{M}$ ).....	105
<b>Figura 91.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>96</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	106

<b>Figura 92.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>97</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	106
<b>Figura 93.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>98</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	107
<b>Figura 94.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>99</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	107
<b>Figura 95.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>100</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	108
<b>Figura 96.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>101</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	108
<b>Figura 97.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>102</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	109
<b>Figura 98.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>103</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	109
<b>Figura 99.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>104</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	110
<b>Figura 100.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>105</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	110
<b>Figura 101.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>106</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	111
<b>Figura 102.</b> (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado <b>107</b> . (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.....	111

**Figura 103.** Curvas de Stern-Volmer aplicadas ao máximo de emissão da BSA em 342 nm na presença dos glicoconjugados.....113

**Figura 104.** Curvas de  $\log [S] \times \log (F_0-F/F)$  utilizadas para o cálculo da constante de ligação ( $K_A$ ) e número de sítios de ligação dos gliococonjugados com a BSA.....114

## Lista de Esquemas

<b>Esquema 1.</b> Metodologias para a obtenção de azidas orgânicas. <sup>60</sup> .....	10
<b>Esquema2.</b> Mecanismo de conversão de íon diazônio em azida. <sup>60</sup> .....	11
<b>Esquema 3.</b> Síntese da azidotolidomida (15).....	11
<b>Esquema4.</b> Estruturas de ressonância do grupo azida (-N <sub>3</sub> ).....	12
<b>Esquema 5.</b> Modificações químicas para detecção de H <sub>2</sub> S.....	14
<b>Esquema 6.</b> Mecanismos propostos para a redução da azida por HS <sup>-</sup> .....	15
<b>Esquema 7.</b> Mecanismo proposto para a redução de aminas.....	16
<b>Esquema 8.</b> Glicosilação genérica na obtenção de glicoconjugados.....	18
<b>Esquema 9.</b> Reação genérica de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgencom mistura de regioisômeros (Método a), catalisada por cobre com formação de produto 1,4-dissubstituído (Método b) e catalisada por rutênio, com formação de produto 1,5-dissubstituído (Método c), onde diferentes grupos orgânicos são apresentados em azul e verde. <sup>113</sup> .....	23
<b>Esquema 10.</b> Primeira proposta de mecanismo para a reação de cicloadição catalisada por cobre.....	25
<b>Esquema 11.</b> Proposta de mecanismo para a reação CuAAC envolvendo dois centros metálicos no estado de transição.....	26
<b>Esquema 12.</b> Ciclocatalítico proposto por Folkin e Finn para a reação CuAAC.....	27
<b>Esquema 13.</b> Mecanismo da cicloadição de azidas e alcinos catalisada por cobre (I) deduzido do isolamento de intermediários de reação. <sup>127</sup> .....	28
<b>Esquema 14.</b> Esquema sintético para obtenção dos derivados benzazólicos desejados.....	41
<b>Esquema 15.</b> Proposta mecanística de formação do fenilbenzoxazol. <sup>88</sup> .....	42
<b>Esquema 16.</b> Esquema sintético para obtenção das azidas <b>36-41</b> .....	43
<b>Esquema 17.</b> Mecanismo para a formação do sal de diazônio.....	44
<b>Esquema 18.</b> Mecanismo para a formação da azida a partir do sal de diazônio.....	44
<b>Esquema 19.</b> Esquema sintético para obtenção dos alcinos de carboidratos <b>89-91</b> .....	46
<b>Esquema 20.</b> Síntese do alcino <b>95</b> derivado da D-manose ( <b>84</b> ).....	47
<b>Esquema 21.</b> Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados <b>96-99</b> .....	48

<b>Esquema 22.</b> Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados <b>100-102</b> .....	48
<b>Esquema 23.</b> Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados <b>103-105</b> .....	48
<b>Esquema 24.</b> Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados <b>106-107</b> .....	48

## Lista de Tabelas

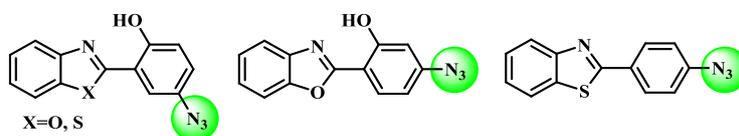
<b>Tabela 1.</b> Valores das constantes dielétricas dos solventes utilizados nos estudos fotofísicos.....	65
<b>Tabela 2.</b> Dados obtidos a partir da espectroscopia de absorção na região do UV-Vis para as azidas <b>36-41</b> , onde $\lambda_{\text{abs}}$ (nm/cm <sup>-1</sup> ) é o máximo de absorção e $\epsilon$ é o coeficiente de absortividade molar.....	66
<b>Tabela 3.</b> Dados relevantes obtidos a partir da espectroscopia de emissão de fluorescência para as azidas <b>36-41</b> , onde $\lambda_{\text{em}}$ (nm/cm <sup>-1</sup> ) é o máximo de emissão e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (nm/cm <sup>-1</sup> ).....	72
<b>Tabela 4.</b> Dados relevantes obtidos a partir da espectroscopia de absorção na região do UV-Vis para os glicoconjugados <b>46-57</b> onde $\lambda_{\text{abs}}$ (nm) é o máximo de absorção e $\epsilon$ é o coeficiente de absortividade molar.....	81
<b>Tabela 5.</b> Dados relevantes obtidos a partir da espectroscopia de emissão de fluorescência para os glicoconjugados <b>96-107</b> , onde $\lambda_{\text{em}}$ (nm) é o máximo de emissão e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ (nm) é o deslocamento de Stokes.....	85
<b>Tabela 6.</b> Porcentagem de supressão da banda de emissão da BSA pela interação com os glicoconjugados <b>96-107</b> .....	112
<b>Tabela 7.</b> Resultados obtidos a partir da equação de Stern-Volmer, à 25°C.....	113
<b>Tabela 8.</b> Constante de ligação com BSA e número de sítios de ligação para os glicoconjugados <b>96-107</b> , à 25°C.....	114

## Lista de Abreviaturas

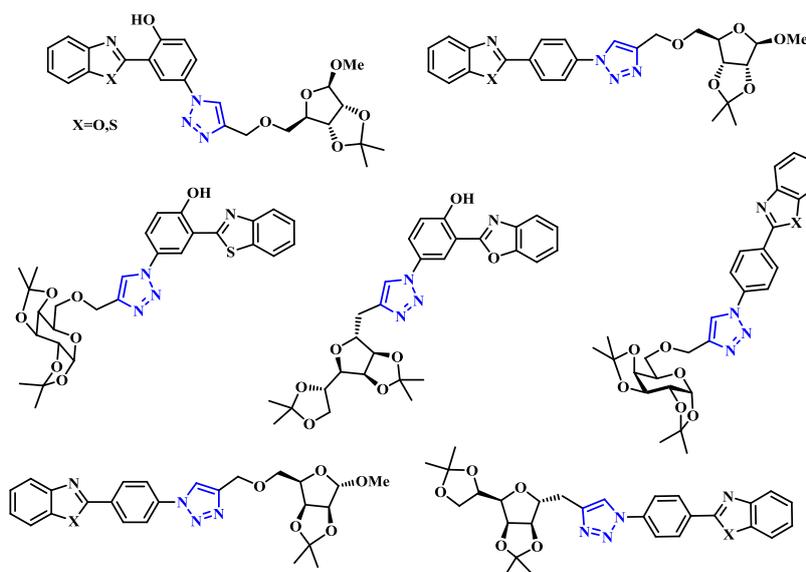
APF	Ácido polifosfórico
BSA	Albumina sérica bovina
COSY	Espectroscopia de correlação homonuclear
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
HSQC	Correlação heteronuclear de quantum simples
$J$	Constante de acoplamento
$J_m$	Constante de acoplamento em posição meta
$J_o$	Constante de acoplamento em posição orto
$\lambda_{\text{abs}}$	Comprimento de onda do máximo de absorção
$\lambda_{\text{em}}$	Comprimento de onda do máximo de emissão
$\delta$	Deslocamento químico
s	simpleto
d	dubleto
t	tripleto
m	multipleto
$\nu_{\text{as}}$	Estiramento assimétrico
$\nu_{\text{s}}$	Estiramento simétrico
MHz	$10^6$ Hz
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN de $^1\text{H}$	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de $^{13}\text{C}$	Ressonância magnética nuclear de carbono
FTIR	Espectroscopia de absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier
ESIPT	Transferência protônica intramolecular no estado excitado
PET	Transferência eletrônica fotoinduzida
EET	Transferência eletrônica de energia
NIR	Infravermelho próximo
FRET	Transferência de energia por fluorescência ressonante

## Resumo

A presente tese apresenta a síntese, caracterização e estudo fotofísico de azidas derivadas de compostos benzazólicos fotoativos. Para a síntese das azidas empregou-se a reação de formação de sais de diazônio *in situ* partindo das aminas aromáticas. As azidas sintetizadas apresentaram absorção na região do UV e emissão de fluorescência na região do visível, com grande deslocamento de Stokes devido a um fototautomerismo no estado excitado. O estudo fotofísico das azidas estudadas demonstrou que esses compostos podem ser utilizados como quimiossensores de H<sub>2</sub>S a partir da redução dos grupamentos azido para amino, resultando em um mecanismo de resposta fluorescente do tipo *off-on*.

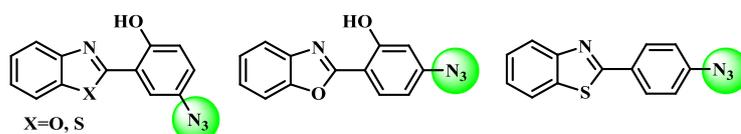


Em um segundo momento, é apresentada a síntese e estudo fotofísico de novos compostos do tipo 1,2,3-triazóis. A metodologia utilizada para a síntese foi a cicloadição de azidas e acetilenos catalisado por cobre (CuAAC). Para a obtenção desses compostos a cicloadição foi realizada entre azidas derivadas de compostos benzazólicos e alcinos derivados de carboidratos. Os glicoconjugados sintetizados foram investigados e apresentaram aplicação como quimiossensores de Ni<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> e Cu<sup>+2</sup> em solução. Também foram realizados testes de interação com a albumina sérica bovina (BSA), sendo possível observar forte interação através do mecanismo de supressão de fluorescência.

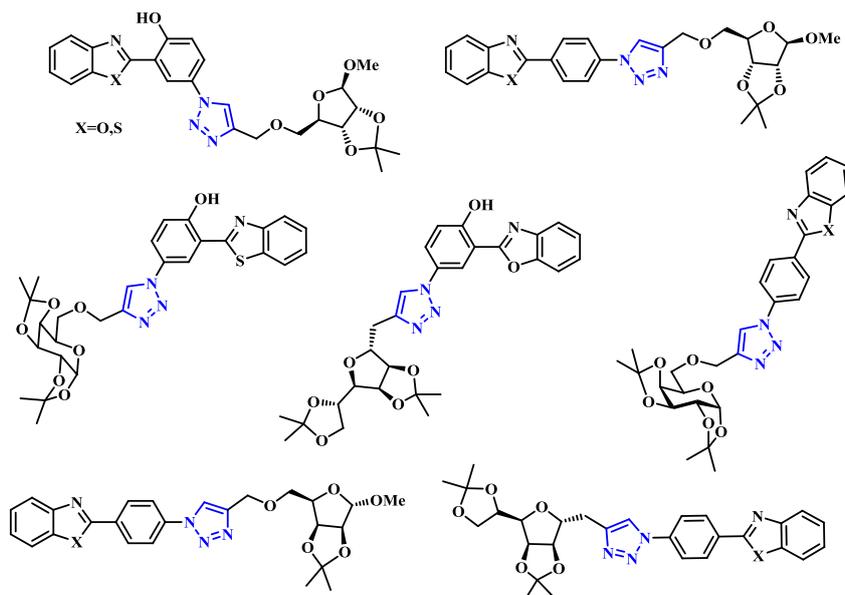


## Abstract

This work describes the synthesis, characterization and photophysical study of azides derived from photoactive benzazoles. For the synthesis of the azides derivatives the formation of diazonium salts *in situ* from the aromatic amines was used. The synthesized azides showed absorption in the UV region and fluorescence emission in the visible region with large Stokes shift due to an phototautomerism in the excited state (ESIPT). The photophysical study of the azides in the presence of NaHS has shown that these compounds can be used as chemosensors for H<sub>2</sub>S detection based on the azides reduction to amines resulting in an off-on fluorescent response mechanism.



In addition, the synthesis and photophysical study of new compounds 1,2,3-triazoles was also presented. The methodology used for the synthesis was the copper-catalyzed azides and acetylenes cycloaddition (CuAAC). To obtain these compounds the cycloaddition was performed between azides derived from benzazoles and alkynes derived from carbohydrates. The synthesized glycoconjugates were successfully investigated as solution cation chemisors and presented potential application for the detection of Ni<sup>+2</sup>, Zn<sup>+2</sup> and Cu<sup>+2</sup>. Interaction tests with bovine serum albumin (BSA) were also performed, and it was possible to observe strong interaction through the fluorescence suppression mechanism.



---

---

# *Introdução*

---

---

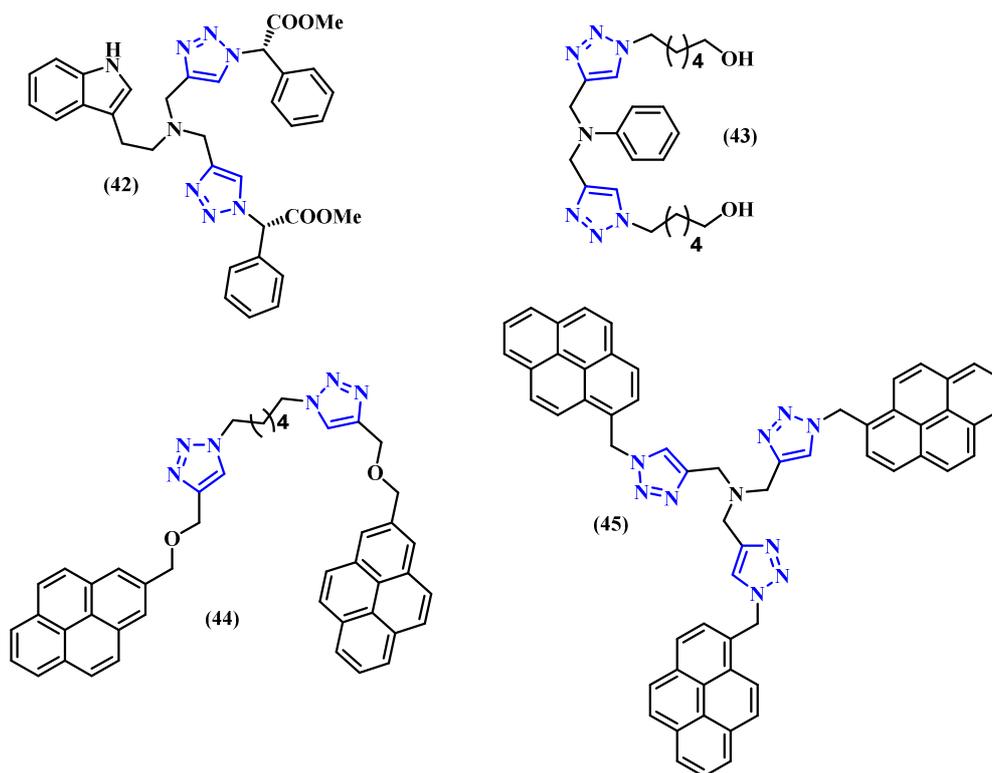
## 1. Introdução

Quimiossensores fluorescentes para íons e moléculas neutras têm sido amplamente aplicados em diversos campos como biologia, fisiologia, farmacologia e ciências ambientais.<sup>1</sup> O primeiro quimiossensor fluorescente foi relatado por Friedrich Goppelsröder em 1867 para a detecção de  $\text{Al}^{+3}$ . No início, o desenvolvimento de quimiossensores fluorescentes se concentrava principalmente na detecção de íons metálicos, devido à ligação seletiva destes em água ser significativamente mais fácil do que ânions ou moléculas neutras. Porém, desde a década de 80, pode-se observar um grande crescimento da aplicabilidade de diversos quimiossensores analíticos, em particular quimiossensores com importância biológica e ambiental para cátions, ânions e moléculas neutras.<sup>2</sup>

Existem vários cátions metálicos que desempenham um papel vital em nossa vida fisiológica diária. Entre esses incluem sódio ( $\text{Na}^+$ ) potássio ( $\text{K}^+$ ), cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), cobre ( $\text{Cu}^+$  e  $\text{Cu}^{+2}$ ) e zinco ( $\text{Zn}^{+2}$ ), entre outros. No entanto, alguns íons metálicos, como o chumbo ( $\text{Pb}^{+2}$ ), cádmio ( $\text{Cd}^{+2}$ ) e mercúrio ( $\text{Hg}^{+2}$ ) são tóxicos e causam sérios problemas de saúde e ambientais.<sup>2</sup>

O planejamento e síntese de novos quimiossensores fluorescentes que podem detectar seletivamente os íons metálicos têm despertado considerável atenção em vários campos da química.<sup>3</sup> Os cátions metálicos são de importância biológica e ecológica. O cobre, em particular, é o terceiro metal pesado mais abundante no corpo. Este metal tem uma concentração média de  $100\text{-}150 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  no sangue em condições normais e serve como co-fator para muitas proteínas e enzimas.<sup>4-6</sup> Como resultado, o cobre é essencial para processos importantes, como função cerebral adequada estabilização das fibrilas de colágeno<sup>7,8</sup> e aumento da elasticidade da elastina, a manutenção da homeostase natural<sup>9</sup> e intracelular de ferro, biossíntese de ATP<sup>10</sup> e a produção de melanina na pele.<sup>11,12</sup> Por outro lado, o zinco é o metal de transição mais abundante em mamíferos. Esse metal desempenha papéis vitais em vários processos biológicos, por exemplo, como cofactor em metaloproteínas, em neurotransmissão, na transdução de sinal e como regulador de expressão gênica e apoptose celular. O zinco é descrito como sendo responsável por distúrbios neurológicos, defeitos de desenvolvimento, e mau funcionamento. Dessa forma, a detecção de íons de zinco é de grande importância para o estudo de suas funções bioquímicas, controle de qualidade alimentos e nutrientes para suplementos de zinco, bem como avaliação de amostras ambientais.<sup>13-15</sup>

Entre as moléculas utilizadas para a detecção de cátions destaca-se os compostos 1,2,3-triazol. Esse composto é um ligante versátil devido à sua capacidade de coordenação através de átomos de nitrogênio com diferentes íons metálicos. É descrito na literatura que os compostos 1,2,3-triazóis se coordenam com vários íons metálicos como Cu, Al, Pd, Zn, Cd, Pt e Ni podendo ser utilizados como sensores para detecção de vários íons metálicos. Alguns dos derivados 1,2,3-triazóis descritos utilizados como quimiossensores são mostrados na **Figura 1**.<sup>16,17</sup>

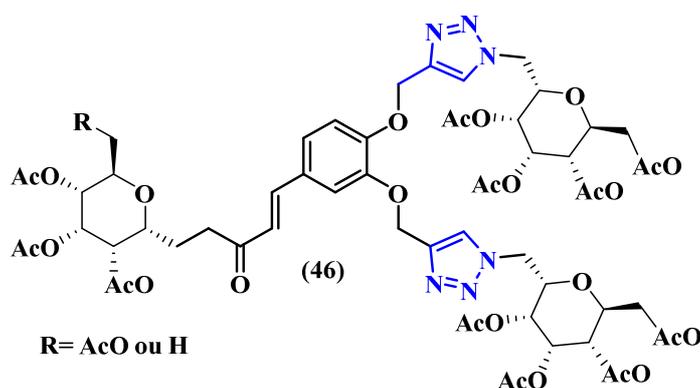


**Figura 1.** Estrutura química de 1,2,3-triazóis utilizados para a detecção de cátions.

Os cátions metálicos têm papel importante em muitos processos biológicos e ambientais e seu monitoramento se faz necessário se constituído uma área de pesquisa de grande importante na Química. Este monitoramento pode muitas vezes ser realizado por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, onde uma alteração de cor é observada numa solução do ligante, devido à presença de um íon metálico ou de emissão de fluorescência, levando em consideração processos de supressão ou aumento de intensidade.<sup>18-20</sup>

Os compostos 1,2,3-triazólicos também podem ser utilizados como sondas fluorescentes em sistemas biológicos, uma vez que o anel heterocíclico de cinco membros em sua estrutura os torna estáveis a degradação química e metabólica.<sup>21-23</sup>

Além disso, devido a sua alta constante dielétrica, eles são capazes de interagir com moléculas biológicas como a albumina sérica bovina (BSA), podendo agir como fármaco. É descrito na literatura que utilização de 1,2,3-triazol derivados de chalconas (**Figura 2**) mostraram significativa afinidade com a BSA, podendo, portanto, ser utilizado para o desenvolvimento de agentes terapêuticos que pode ligar-se à proteína em locais específicos.<sup>24,25</sup>



**Figura 2.** Compostos 1,2,3-triazóis utilizados como sondas de fluorescente de BSA.

Outra espécie que tem papel importante na nossa vida diária é o sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ). Este composto é bem conhecido por seu odor desagradável de ovo podre, é uma espécie gasosa produzida por bactérias e organismos eucarióticos superiores, incluindo os mamíferos.<sup>26,27</sup> Embora o  $H_2S$  seja conhecido como um gás tóxico, podendo em altas concentrações danificar o sistema nervoso e respiratório,<sup>28</sup> em baixas concentrações é um regulador da pressão sanguínea, neuromodulador, está envolvido na produção de energia mitocondrial, além de apresentar ação anti-inflamatória,<sup>29</sup> sendo considerada uma molécula sinalizadora (gasotransmissor) com importância equivalente aos gasotransmissores óxido nítrico (NO) e monóxido de carbono (CO).<sup>30</sup> O  $H_2S$  é produzido principalmente pela decomposição de compostos orgânicos ou como subproduto do refino de petróleo, agricultura, mineração e fabricação de pesticidas organofosforados.<sup>31, 32</sup> Os efeitos tóxicos do sulfeto de hidrogênio foram documentados pela primeira vez cerca de 300 anos atrás, desde então, muitos estudos focado em seu potencial risco aos sistemas biológicos.<sup>33-36</sup>

Nos últimos anos, as sondas fluorescentes e colorimétricas têm recebido considerável atenção devido às suas vantagens, como baixo custo e detecção a olho nu.<sup>37,38</sup> O mecanismo utilizado para a detecção do H<sub>2</sub>S foi baseado na fluorescência *off-on* relacionada à redução de azidas a aminas, levando a um aumento na intensidade de fluorescência. No entanto, as sondas para detecção de H<sub>2</sub>S ainda possuem a desvantagem de ter janela única de detecção e comprimentos de onda de excitação curtos.<sup>39</sup> Assim, é necessário projetar sondas para detecção de H<sub>2</sub>S com dupla janela de detecção, emissão no vermelho ou NIR ou que apresentem grande deslocamento de Stokes.

Dessa forma, uma ampla variedade de sondas fluorescentes para essa detecção específica tem sido proposta na literatura.<sup>40-42</sup> Neste contexto, este trabalho apresenta a síntese, caracterização fotofísica e aplicação de corantes do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis contendo azida para detectar o H<sub>2</sub>S em solução. Estes, por sua vez, apresentam emissão de fluorescência com grande deslocamento de Stokes devido a um mecanismo de transferência protônica intramolecular no estado eletrônico excitado (ESIPT),<sup>43,44</sup> o que confere características importantes a estas moléculas como alta fotoestabilidade<sup>45</sup> e diminuição da auto-absorção.<sup>46-48</sup> As propriedades apresentadas por estes compostos permitem aplicações como sensores de pH,<sup>49</sup> sensores para cátions e ânions,<sup>50,51</sup> sondas fluorescentes entre outros.<sup>52</sup>

Dentro deste contexto, uma idéia a ser explorada nesse trabalho é a síntese de azidas aromáticas derivadas de compostos fotoativos benzazólicos e sua aplicação como sensores de H<sub>2</sub>S em solução e em sistemas biológicos. Além disso, também foram sintetizados compostos do tipo 1,2,3-triazóis, através da reação de cicloadição 1,3 dipolar entre azidas aromáticas derivadas de compostos benzazólicos e alcinos derivados de carboidratos. Esses glicoconjugados foram testados com sucesso como quimiossensores de cátions e albumina sérica bovina (BSA) em solução.

---

---

## *Objetivos*

---

---

## **2.Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

- Síntese de azidas aromáticas e sua derivatização partir da reação de cicloadição azida-acetileno com alcinos derivados de carboidratos para a obtenção de glicoconjugados fotoativos para testes como sensores de H<sub>2</sub>S, cátions e albimina sérica bovina (BSA) em solução.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Síntese de precursores fotoluminescentes da família dos benzazóis
- Síntese das respectivas azidas a partir dos precursores benzozólicos
- Síntese dos alcinos derivados de carboidratos
- Síntese dos glicoconjugados a partir da reação de cicloadição dos alcinos terminais derivados de carboidratos com as azidas aromáticas
- Caracterização fotofísica das azidas aromáticas e dos glicoconjugados através de medidas de absorção no UV-Vis e Emissão de Fluorescência em solução
- Teste das azidas como sensores de H<sub>2</sub>S
- Testar dos glicoaconjugados como quimiossensores de cátions e de albumina sérica bovina (BSA) em solução

---

---

## *Revisão da Literatura*

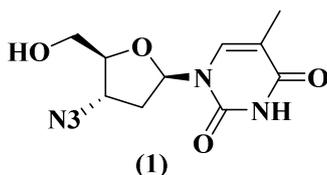
---

---

### 3. Revisão da literatura

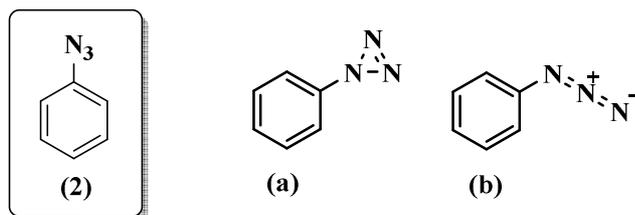
#### 3.1. Azidas Orgânicas

As azidas orgânicas são compostos extremamente versáteis em síntese para a preparação de uma grande variedade de compostos nitrogenados de elevado valor agregado tal como o fármaco AZT (3'-azido-3'-deoxitimidina (**1**), (**Figura 3**), que foi o primeiro fármaco utilizado para inibir o vírus da imunodeficiência humana (HIV) no tratamento da AIDS.<sup>53</sup>



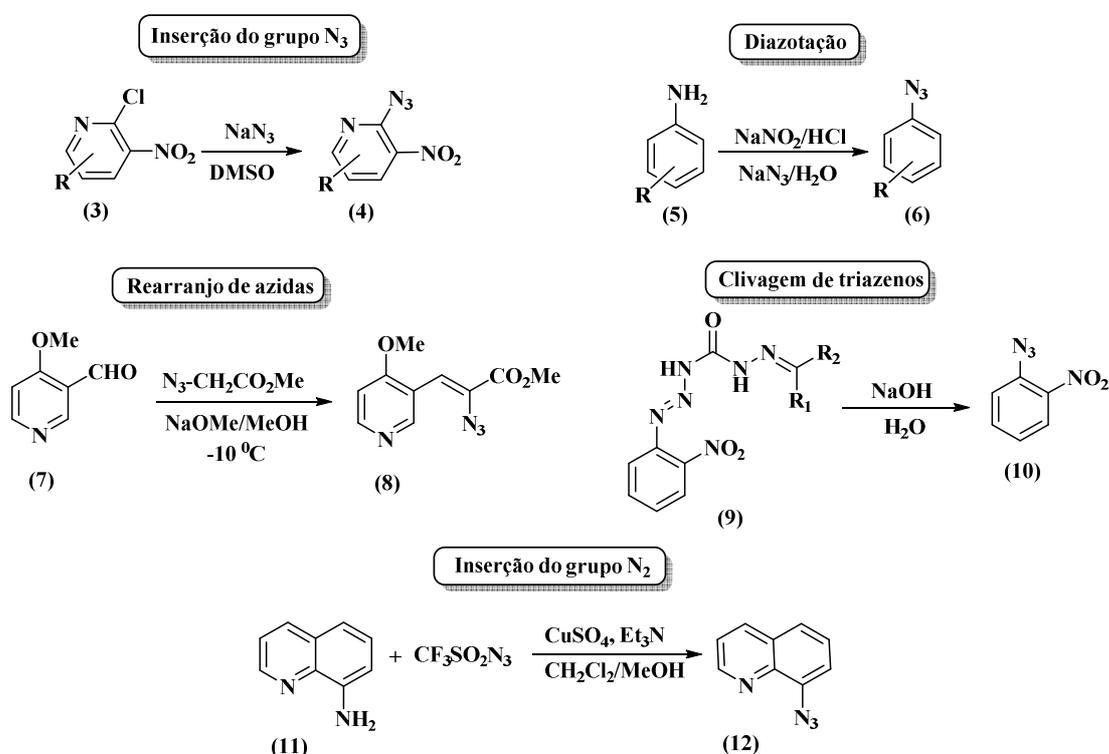
**Figura 3.** Estrutura química do 3'-azido-3'-deoxitimidina (**1**) (AZT).<sup>54</sup>

A aplicação das azidas orgânicas na indústria começou com o uso destas na síntese de triazóis e tetrazóis. Esses heterociclos são importantes núcleos presentes na estrutura de vários compostos de interesse medicinal.<sup>54</sup> A função azida ( $N_3$ ) é facilmente transformada em aminas, entre outros grupos funcionais, sendo dessa forma, reconhecida como um grupo funcional versátil em reações de cicloadição com alcenos.<sup>55</sup> Além do importante papel sintético das azidas, suas características energéticas devem ser levadas em consideração, visto que são compostos bastante energéticos e frequentemente exibem propriedades explosivas. No entanto, diferentemente das azidas alquílicas, as azidas aromáticas ( $ArN_3$ ) são bem mais estáveis devido ao sistema aromático por isso, seu uso não é restrito somente em síntese orgânica, mas também na área biológica e industrial.<sup>56,57</sup> A determinação estrutural da azidas foi inicialmente baseada no postulado de Curtius e Hantzsch. Conforme esse postulado, o grupo azida assumiria a estrutura cíclica do ciclo 1H-triazirina. No entanto, essa proposta foi rapidamente reformulada em favor da representação linear do grupo azida, conforma mostrado para a azidobenzeno (**2**) (**Figura 4**).<sup>58</sup>



**Figura 4.** Estruturas cíclica (a) e linear (b) para o grupo azida na azidobenzeno (**2**).

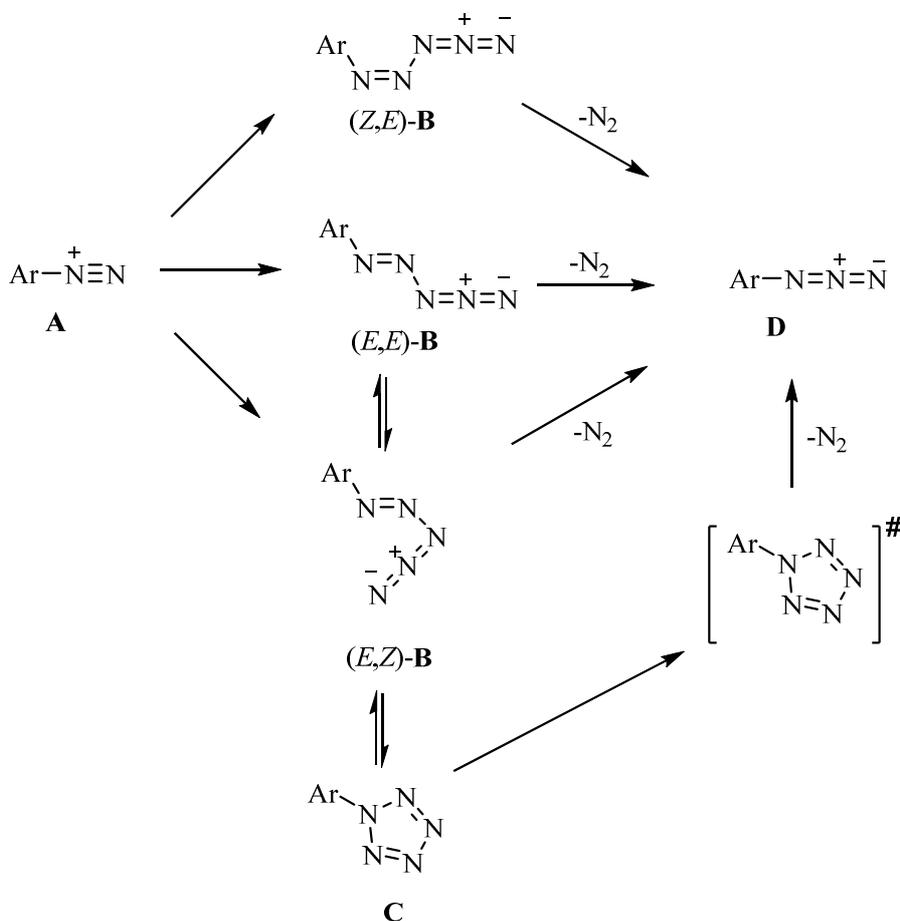
Conforme apresentado no **Esquema 1**, diversas metodologias têm sido descritas para a obtenção das azidas orgânicas. Entre elas destacam-se: inserção do grupo  $N_3$  (substituição nucleofílica aromática-SNAr), inserção de um grupo  $N_2$  (transferência de diazo), inserção de um átomo de nitrogênio (diazotação), clivagem de triazinas e rearranjo de azidas.<sup>59</sup> Entre essas metodologias, destaca-se a síntese de azidas orgânicas através de diazo compostos (diazotação). Nessa metodologia, sais de diazônio arílicos reagem diretamente com íons azido ( $N_3^-$ ) formando as arilazidas correspondentes sem a utilização de catalisador. Normalmente, são utilizados como fonte de azido, azidas inorgânicas ( $NaN_3$  e  $IN_3$ ) e orgânicas como a trimetilsililazida ( $TMSN_3$ ).<sup>60</sup>



**Esquema 1.** Metodologias para a obtenção de azidas orgânicas.<sup>60</sup>

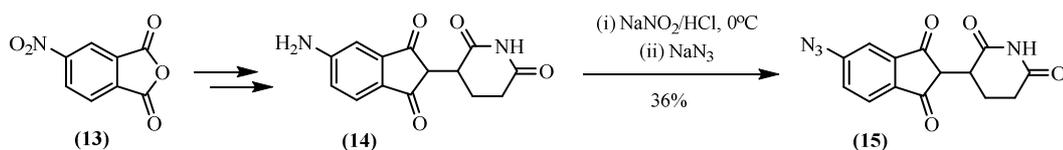
É descrito na literatura que a síntese da arilazida começa com o ataque do íon azida ao sal de diazônio formando arilpentazóis e seus subsequentes produtos. A adição da azida ao íon diazônio passa pelos intermediários pentazeno e pentazol seguido da perda de nitrogênio molecular (**Esquema 2**). Estudos de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{15}\text{N}$  mostraram que há a formação de três arilpentazenos isoméricos. Conforme esses estudos, enquanto o isômero (*E,Z*) **B** forma o arilpentazol **C**, o intermediário (*Z,E*) **B** forma a azida diretamente através da clivagem do pentazeno, evitando assim o rearranjo para a formação do pentazeno isomérico (*E,E*) **B**.<sup>60,61</sup> No entanto, após a formação do sal de

diazônio, a reação pode ser conduzida através do mecanismo de substituição nucleofílica de primeira ordem ( $S_N1$ ) descrito na parte dos resultados e discussão da presente tese.



**Esquema 2.** Mecanismo de conversão de íon diazônio em azida.<sup>60</sup>

Essa metodologia foi utilizada na síntese da azidotalidomida (**15**) (**Esquema 3**). Nessa reação o intermediário amino sofre diazotação por meio da reação e nitrito de sódio ( $NaNO_2$ ) em HCl aquoso e posterior reação com a azida de sódio formando a azidotalidomida.<sup>62</sup>



**Esquema 3.** Síntese da azidotalidomida (**15**).

### 3.2. Reações das azidas orgânicas

As azidas orgânicas podem reagir em diferentes condições experimentais e em diversos tipos de reações. Podendo reagir com eletrófilo no nitrogênio ou com nucleófilo no nitrogênio. Esses compostos, por sua vez, podem reagir com retenção ou aumento do número de nitrogênios da unidade azida ou com a clivagem da ligação N-N com a formação de nitrenos.<sup>63,64</sup>

A diversidade química das azidas é consequência das suas propriedades físico-químicas. Tais propriedades podem ser justificadas, em grande parte, pela análise das estruturas mesoméricas polares desse grupo funcional (**Esquema 4**). As estruturas de ressonância **C** e **D** explicam a fácil decomposição destes compostos em nitreno e nitrogênio molecular bem como a reatividade desse grupo como 1,3-dipolo. Através das estruturas polares de ressonância **B** e **C**, podemos compreender as fortes absorções na região do infravermelho (IV) de aproximadamente  $2114\text{ cm}^{-1}$ .<sup>60,65</sup>

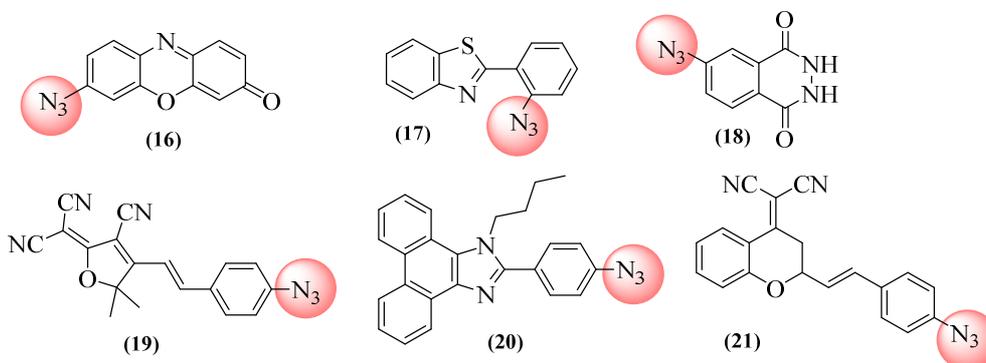


**Esquema4.** Estruturas de ressonância do grupo azida (-N<sub>3</sub>).

### 3.3. Azidas como quimiossensores de sulfeto de hidrogênio

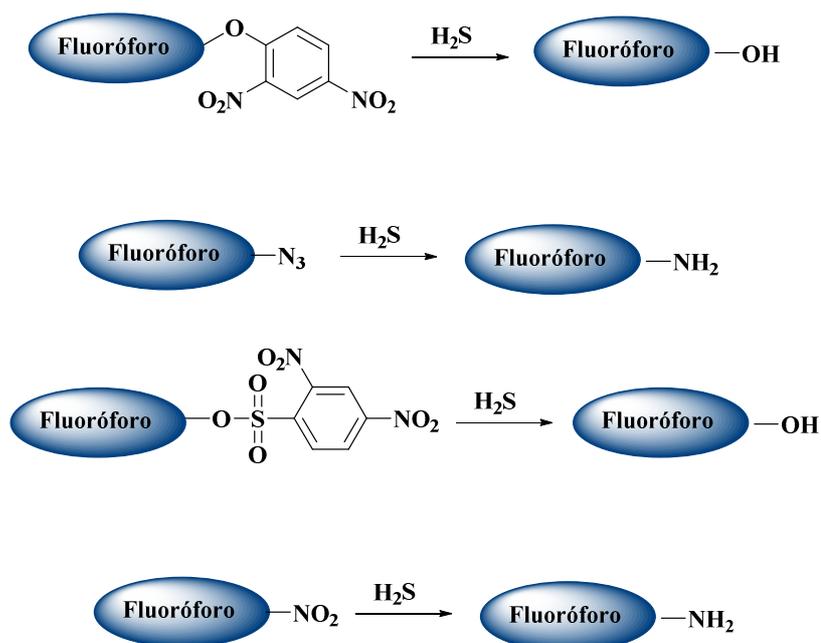
O sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) é um gasotransmissor importante na regulação cardiovascular, neural, funções imunológicas, endócrinas e gastrointestinais. O nível de H<sub>2</sub>S no sistema nervoso central está na faixa de 50-160 μM, enquanto a concentração de sulfeto no sangue está na faixa de 10-100 μM. Níveis anormais de H<sub>2</sub>S têm sido relacionados a várias doenças, como a doença de Alzheimer, diabetes e cirrose hepática.<sup>66-69</sup> O H<sub>2</sub>S existe em diferentes formas, como H<sub>2</sub>S gasoso, HS<sup>-</sup> e S<sub>2</sub><sup>-</sup>, sendo todas essas formas dependentes do pH. Devido ao fato do H<sub>2</sub>S ser considerado um ácido fraco cerca de 80% do H<sub>2</sub>S existe como a espécie aniônica HS<sup>-</sup> sob condições fisiológicas.<sup>70,71</sup> Embora a detecção de H<sub>2</sub>S seja de grande importância devido ao seu impacto biomédico e ambiental, a presença de múltiplos equilíbrios entre a suas espécies relacionadas ao pH, tem sido um grande desafio para sua detecção de forma satisfatória.<sup>72,73</sup> Desse modo, desenvolvimento de quimiossensores para detecção seletiva e sensível de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) em sistemas biológicos tem atraído bastante atenção nos últimos anos. Assim, uma grande variedade de sondas fluorescente

com o grupo azida utilizado em sistemas celulares, devido a sua compatibilidade com sistemas celulares vivos combinados com sua relativa facilidade sintética, conforme apresentado na **Figura 5**.<sup>73</sup>



**Figura 5.** Estruturas de azidas utilizadas como sondas fluorescentes de  $H_2S$  através da redução quimiosseletiva de azidas para aminas.<sup>73,74</sup>

Diversos métodos para detecção de  $H_2S$  têm sido desenvolvidos, incluindo cromatografia gasosa, métodos fluorescentes e colorimétricos e sensores de nanopartículas metálicas. Esses métodos são úteis para o monitoramento de sulfeto de hidrogênio em amostras de água, sedimentos e lamas.<sup>74</sup> Entre esses métodos de detecção, os métodos fluorescentes e colorimétricos tem se destacado, devido a sua rapidez e simplicidade. Além disso, quimiossensores fluorescentes além de apresentar alta sensibilidade e seletividade também apresenta alta relação sinal-ruído. Em todos os processos de reconhecimento molecular as reações são acompanhadas por mudança de cor e/ou de emissão de fluorescência. Esses mecanismos de reconhecimento são muito importantes no planejamento de sondas colorimétricas ou fluorimétricas altamente seletivas para detecção de  $H_2S$  em células vivas. Entre esses mecanismos pode-se citar (i) clivagem ligação R-O, (ii) clivagem da ligação S-O e (iii) redução do grupo nitro para amina e redução de azidas método utilizado nesse tese (**Esquema 5**).<sup>75</sup>

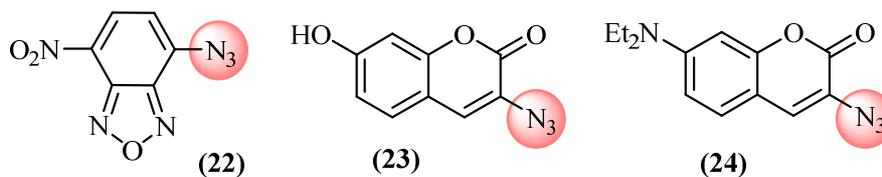


**Esquema 5.** Modificações químicas para detecção de H<sub>2</sub>S.

Os princípios de planejamento das sondas para detecção de H<sub>2</sub>S são claros, e os processos resultantes irão aumentar ou diminuir a intensidade de fluorescência dessas sondas. As sondas fluorescentes que utilizam mecanismo de transferência interna de carga (ICT) normalmente utilizam o sistema eletrônico *push-pull*, onde o grupo doador de elétrons e o grupo retirador de elétrons são conjugados ao fluoróforo.<sup>76</sup> Devido à capacidade do H<sub>2</sub>S de reduzir as azidas, é possível projetar e sintetizar sondas fluorescentes para meios biológicos baseados em diferentes mecanismos de emissão.<sup>77</sup>

Na **Figura 6** são apresentadas sondas fluorescentes utilizadas para a detecção de H<sub>2</sub>S. O composto **22** apresentou após a adição NaHS um deslocamento batocrômico (para maiores comprimentos de onda) para a localização do máximo de absorção, resultando em uma mudança colorimétrica de amarelo pálido para amarelo profundo. Essa molécula também apresentou baixa intensidade de fluorescência como resultado do efeito de extinção do grupo azida, devido a um mecanismo de transferência eletrônica fotoinduzida. No entanto, com a adição de NaHS, a intensidade de fluorescência aumentou até 16 vezes.<sup>78</sup> Da mesma forma, os compostos **23** e **24** apresentavam fraca intensidade de fluorescência antes da adição de NaHS. Entretanto, após a redução do grupo azido por H<sub>2</sub>S foi possível observar um aumento na intensidade de fluorescência para ambas as sondas. Cabe ressaltar que o composto **24** apresentou ainda uma maior intensidade devido ao fato de o grupo -NEt<sub>2</sub> ser mais eletrodoador do que o grupo OH,

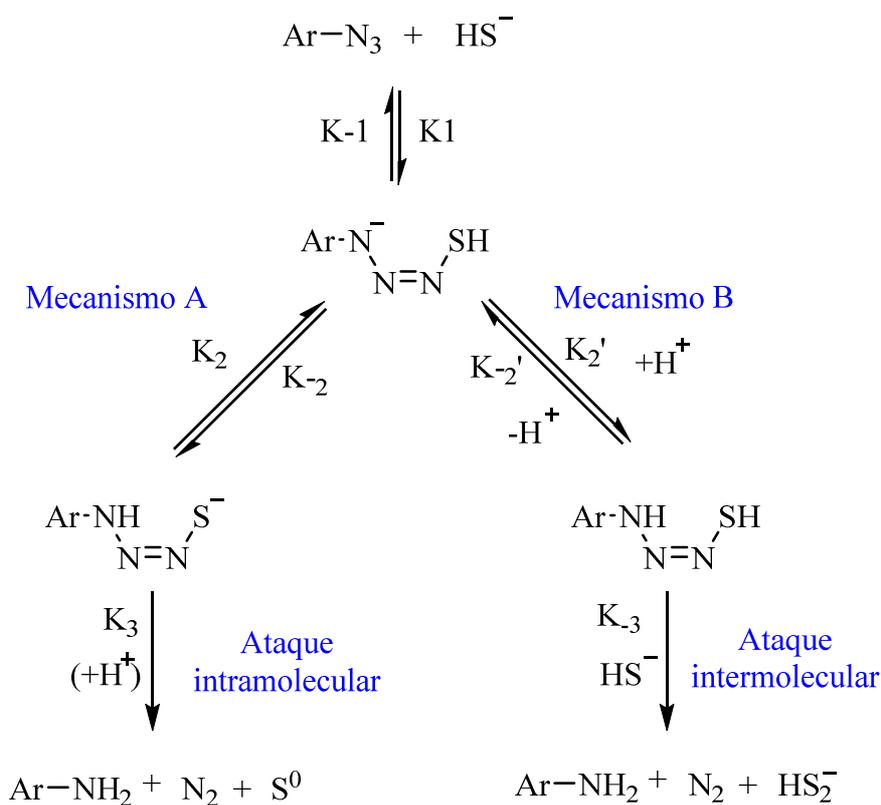
facilitando assim a emissão de fluorescência por um mecanismo de transferência de carga intramolecular.<sup>79</sup>



**Figura 6.** Estruturas das sondas fluorescentes utilizadas para detecção de H<sub>2</sub>S.

### 3.4. Mecanismo de redução de azidas

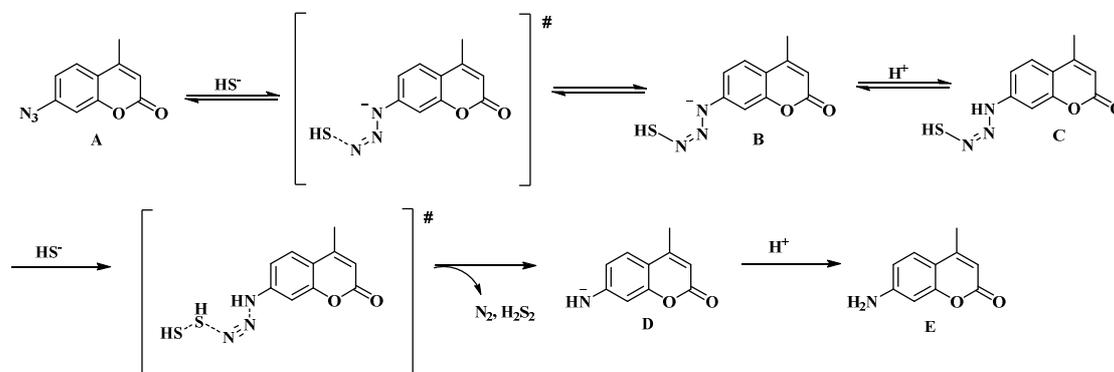
O processo de redução de azidas inicia-se com o ataque do nucleofílico HS<sup>-</sup> à azida eletrofílica. Após o ataque inicial para formar um intermediário azidotiol aniônico, dois mecanismos para a formação da amina são propostos (**Esquema 6**).<sup>80</sup>



**Esquema 6.** Mecanismos propostos para a redução da azida por HS<sup>-</sup>.

O primeiro mecanismo proposto inicia-se através da reação intramolecular onde ocorre a transferência de prótons gerando um tiolato terminal, que após ataca a azida através do triazatiociclobutil de quatro membros ou três membros, estado de transição diazatiociclopropil para liberar  $N_2$ ,  $S^0$  e o produto arilamina (Mecanismo A). Nesse cenário, o  $H_2S$  atuaria como um redutor de dois elétrons, e um grande valor negativo de entropia de ativação ( $\Delta S^\ddagger$ ) seria esperado. Em contraste com o primeiro mecanismo intramolecular, o intermediário azidotiol poderia ser atacado por um segundo equivalente de  $HS^-$ . Neste cenário, a protonação do azidotiolaniônico para gerar um intermediário azidotiol neutro poderia aumentar sua eletrofilicidade, resultando em ativação adicional para ataque pelo segundo equivalente do  $HS^-$  para liberar  $N_2$ ,  $HS_2^-$  e o produto arilamina (Mecanismo B). Estudos computacionais e observações experimentais indicaram que o segundo ataque do sulfeto é a etapa determinante da reação. Dessa forma o mecanismo mais aceito seria a Mecanismo B.<sup>81</sup>

Hillary e colaboradores utilizaram o Mecanismo B para comprovar através de dados computacionais a redução da azida (**Esquema 7**). O primeiro passo da reação inicia-se com o ataque nucleofílico reversível de  $HS^-$  ao nitrogênio terminal da azida terminal de C7-Az (1), que é o mais nitrogênio eletrofílico da azida. Este ataque nucleofílico inicial gera o intermediário aniônico **B** que embora pudesse ser atacado diretamente por  $HS^-$ , é mais plausível que **B** seja transitoriamente protonado para o composto neutro **C**, o que seria significativamente mais eletrofílico. O ataque subsequente em **C** por segundo equivalente de  $HS^-$  gera a amina desprotonada **D**,  $N_2$  e  $H_2S_2$ , que após a transferência de prótons, provavelmente mediada pela solvente, resulta na formação do composto reduzido de interesse **E**. Também foi observado que ânion **D** é uma base significativamente mais forte que o intermediário **B** ou  $HS_2^-$  devendo passar por transferência de prótons fácil para gerar **E**.<sup>82</sup>



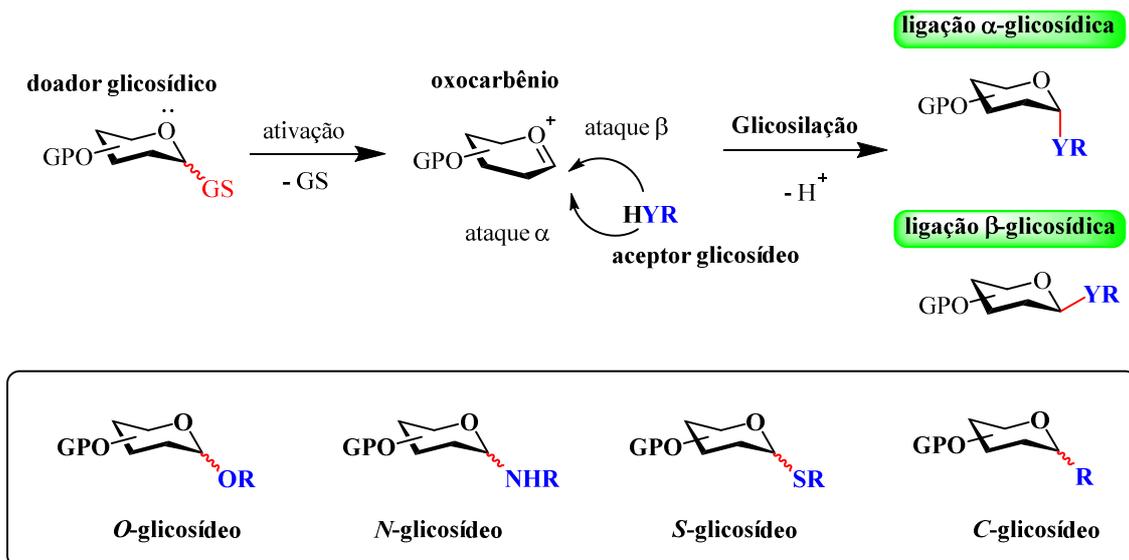
**Esquema 7.** Mecanismo proposto para a redução de aminas.

### 3.5. Carboidratos

Os carboidratos são moléculas naturalmente disponíveis, que constituem a maior parte da biomassa produzida por organismos vivos sendo, portanto, abundantes e baratos. Além disso, os carboidratos apresentam baixa toxicidade e são moléculas polifuncionais com estruturas variadas. Esta classe de compostos é altamente atrativa como matéria-prima na indústria química, pelo fato de serem substâncias enantiomericamente puras com configuração absoluta conhecida e de características funcionais, estereoquímicas e conformacionais peculiares. Além de serem oriundas de tecnologia renovável, por apresentarem cadeia poli-hidroxilada com vários centros quirais e pela possibilidade de manipulação seletiva das hidroxilas por métodos químicos.<sup>81</sup>

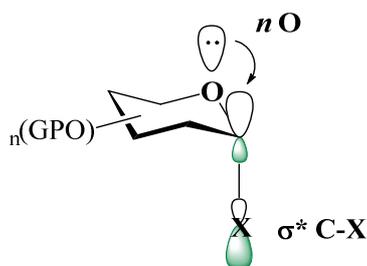
A química de carboidratos tem sido parte importante e vital da química orgânica desde as pioneiras descobertas de Emil Fischer, em 1895, com a síntese total da glicose. Devido a grande versatilidade dessas moléculas, a química dos carboidratos tem sido uma importante conexão entre a química orgânica, química medicinal e a biologia, tendo papel importante em processos fundamentais para vida, estando presentes na constituição de todos os organismos vivos e sendo sua principal fonte de energia.<sup>83-85</sup>

Quando um carboidrato (doador glicosídico) se liga a outra molécula (aceptor glicosídico) ocorre a reação de glicosilação. Essa reação ocorre com a formação de uma ligação glicosídica. Normalmente, o carboidrato contendo um grupo de saída na posição anomérica é ativado, formando um oxocarbênio eletrofílico que sofre adição nucleofílica do acceptor glicosídico. O ataque pode acontecer em ambas as faces do oxocarbênio, quando a nova ligação formada ocorre na posição anomérica, ela é classificada como  $\alpha$  (axial) ou  $\beta$  (equatorial) de acordo com a sua orientação (**Esquema 8**).<sup>86</sup> O produto de glicosilação é classificado de acordo com a estereoquímica da ligação formada e também de acordo com o átomo ligado diretamente ao anel do açúcar da nova ligação. Os mais frequentemente encontrados são: oxigênio, nitrogênio, enxofre e carbono. Dessa forma a ligação é classificada como: *O*-, *N*-, *S*-, *C*-glicosídica, respectivamente.<sup>87</sup>



**Esquema 8.** Glicosilação genérica na obtenção de glicoconjugados.

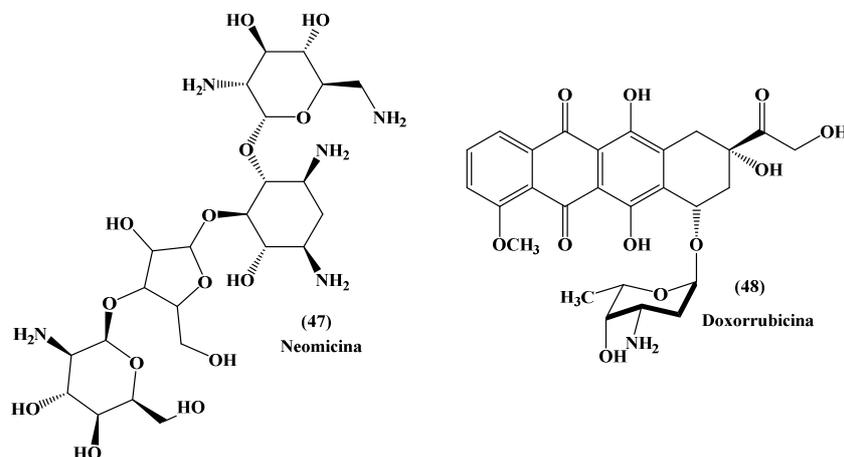
Quando há na posição anomérica do anel um grupo eletronegativo, como um grupo alcóxi ou haleto, no carbono  $C_1$ , o produto preferencial de glicosilação é o  $\alpha$ -glicosídeo, embora produto  $\beta$ -glicosídeo minimize repulsões estéricas nesta conformação. A preferência pela posição  $\alpha$ -glicosídica pode ser explicada pelo efeito anomérico que se baseia no efeito de hiperconjugação, pela interação do orbital  $n$  do oxigênio (HOMO) com o orbital antiligante  $\sigma^*_{C-X}$  (LUMO), favorecido na conformação axial (**Figura 7**).<sup>88</sup>



**Figura 7.** Efeito anomérico em carboidratos.

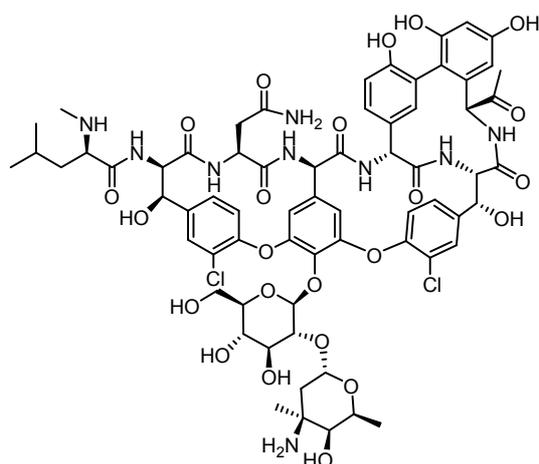
Os carboidratos têm desempenhado papel cada vez mais importante na indústria farmacêutica e medicina na área de glicobiologia, devido a propriedades como solubilidade em meio biológico e alta afinidade com o organismo. As porções de açúcar em muitos produtos naturais que possuem atividade biológica não só aumentam a solubilidade em água e a biodisponibilidade, bem como diminuem a toxicidade e podem ainda ser responsáveis pela atividade biológica, parcial ou total.<sup>89,90</sup>

Diversos fármacos têm sua atividade modificada na presença de carboidratos, por exemplo, cadeias de glicano podem controlar propriedades farmacocinéticas dos fármacos, tais como absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Além disso, produtos naturais glicosilados têm sido largamente usados como antimicrobianos e como fármacos anti-câncer (**Figura 8**).<sup>91</sup>



**Figura 8.** Moléculas contendo carboidratos em sua estrutura.

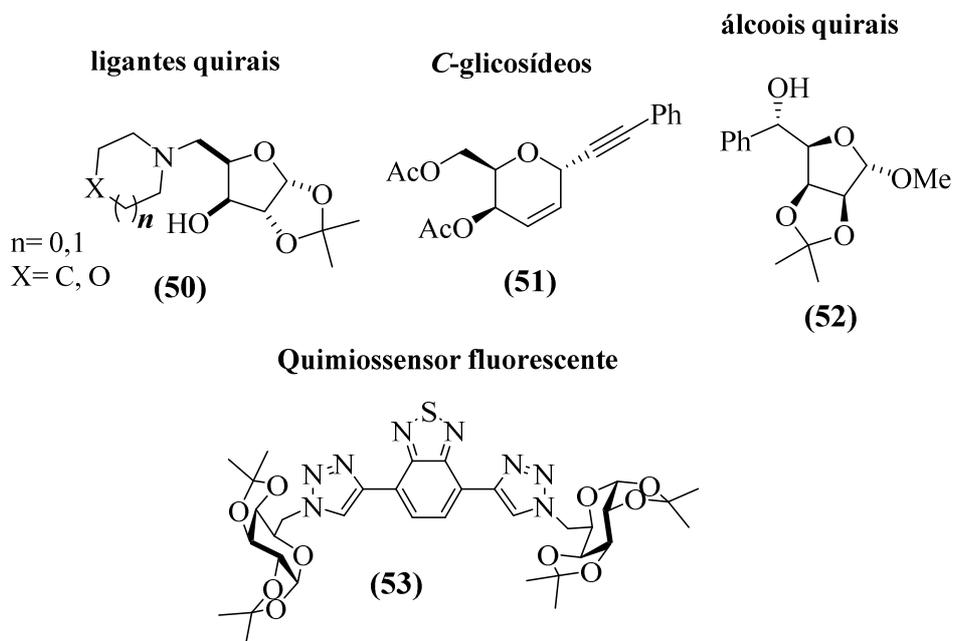
Outro exemplo de fármaco que apresenta carboidrato em sua estrutura é vancomicina (**49**) (**Figura 9**) que é um glicopeptídeo empregado no tratamento de infecções bacterianas, atuando na inibição da formação da parede celular de bactérias *Gram-positivas*.<sup>92</sup>



**Figura 9.** Estrutura da vancomicina (**49**).

Além das aplicações em química medicinal, carboidratos são extremamente úteis na síntese orgânica. Podem ser utilizados como material de partida para sínteses totais, na síntese de produtos naturais ou como blocos de construção molecular na síntese de

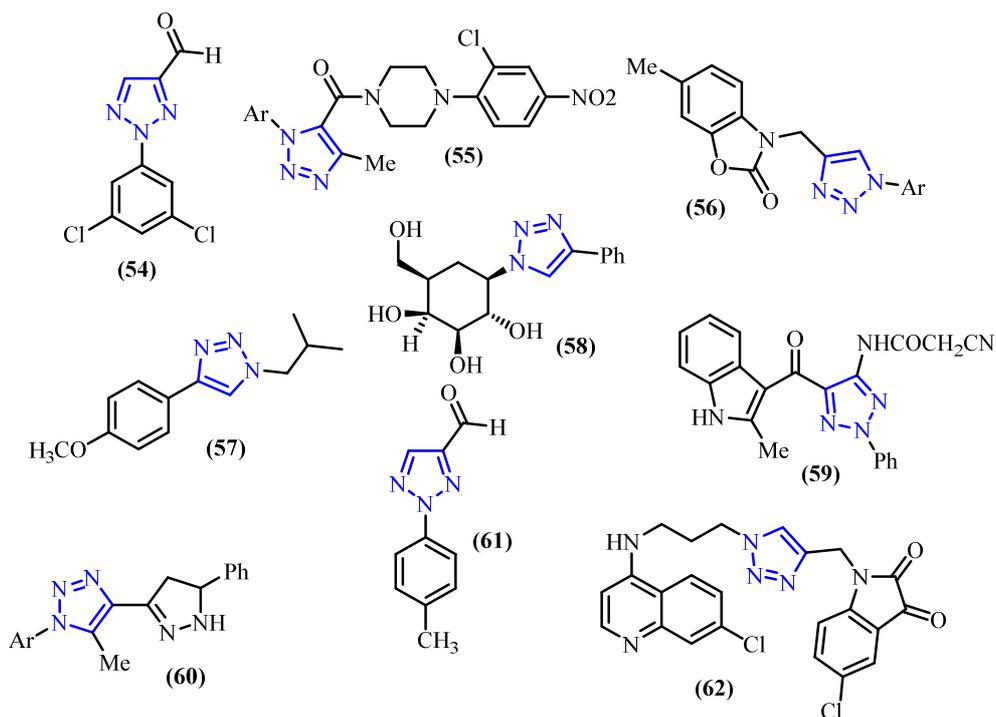
moléculas mais complexas.<sup>93</sup> Os carboidratos furanosídicos e piranosídicos têm tido sua aplicabilidade sintética explorada e seus derivados modificados em diversos tipos de reações, como substratos ou catalisadores quirais, C-glicosídeos, produtos naturais e quimiossensores fluorescentes seletivos (**Figura 10**).<sup>94-97</sup> Dessa forma, a química de carboidratos, desempenha um papel fundamental na química orgânica.



**Figura 10.** Estruturas de diferentes carboidratos funcionalizados.

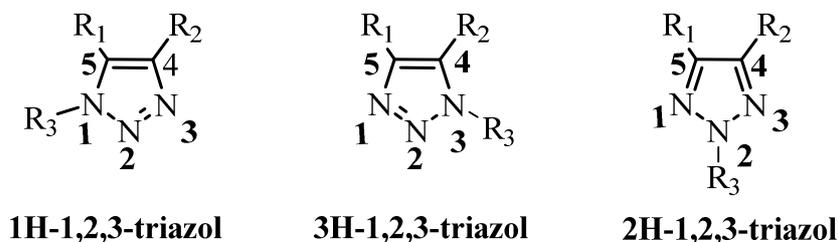
### 3.6. Síntese de 1,2,3-triazóis via cicloadição 1,3-dipolarazida-acetileno

Heterociclos contendo o átomo de nitrogênio são um dos compostos mais importantes encontrados em química orgânica, bem como na indústria farmacêutica. Entre estes, os 1,2,3-triazóis têm atraído considerável atenção na comunidade acadêmica. Estes triazóis são compostos heterocíclicos aromáticos de cinco membros contendo dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio vizinhos que apresentam seis elétrons  $\pi$ , podendo ou não serem substituídos em um dos átomos de nitrogênio.<sup>98, 99</sup> São compostos estáveis comparados com outras substâncias que contenham três átomos de nitrogênio adjacentes. Esses compostos apresentam um vasto campo de aplicação que vão desde fármacos às aplicações industriais, tais como lubrificantes, foto-estabilizadores e corantes (**Figura 11**).<sup>100-102</sup>



**Figura 11.** Moléculas que apresentam atividade farmacológica contendo a porção triazólica.<sup>101</sup>

Dependendo da posição do substituinte no átomo de nitrogênio, existem principalmente dois tipos de 1,2,3-triazóis, que são: (i) 1H ou 3H-1,2,3-triazol e (ii) 2H-1,2,3-triazol (**Figura 12**).<sup>103</sup>



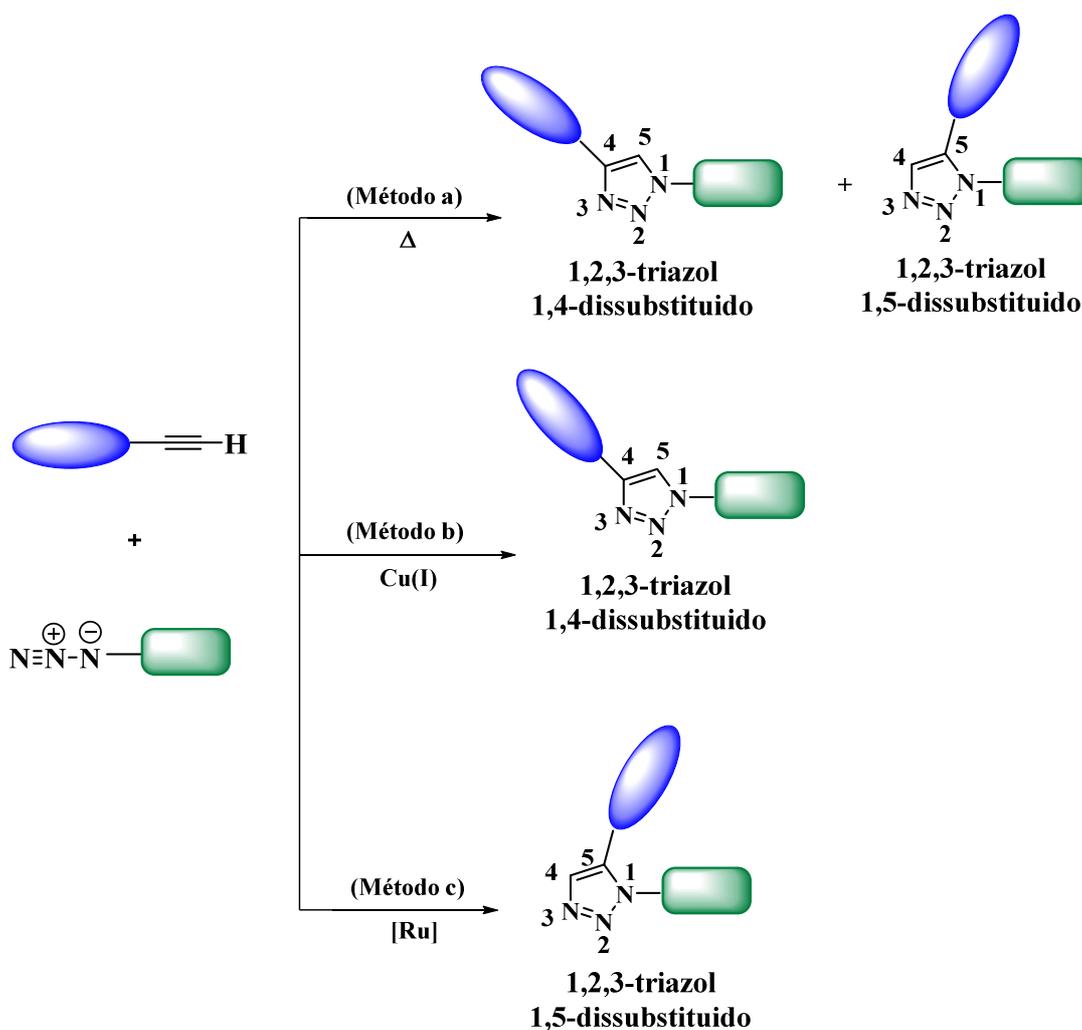
**Figura 12.** Diferentes estruturas químicas para compostos do tipo 1,2,3-triazóis, onde a ordem de prioridade:  $R_2 > R_1$ .

Existem muitas metodologias descritas na literatura para a síntese de 1,2,3-triazóis. Algumas dessas metodologias podem ser sumarizadas conforme as características dos substratos, intermediários e, principalmente, mediante semelhança dos mecanismos orgânicos envolvidos, como por exemplo, a classe dos compostos sintetizados via hidrazona, adições de enolatos em azidas, ciclização de triazinas e cicloadição 1,3-dipolar.<sup>104-106</sup> As reações de cicloadição 1,3 dipolar são conhecidas há

várias décadas. Na década de 60, Huisgen fez uma reação entre dois compostos insaturados formando um anel de cinco membros. No entanto, a reação entre uma azida e um alcino terminal formando anéis 1,2,3-triazólicos de Huisgen necessitava de altas temperaturas e longos tempos de reação formando uma mistura de regioisômeros 1,4 e 1,5-dissubstituídos (**Esquema 9**, Método a).<sup>107</sup>

Independentemente, Sharpless e Mendal utilizaram no ano de 2002, sais de cobre para catalisar a reação de cicloadição de Huisgen, gerando apenas um regioisômero, o 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído (**Esquema 9**, Método b). Dessa forma, a reação ficou conhecida como cicloadição 1,3 dipolar azida-acetileno catalisada por cobre (CuAAC).<sup>108,109</sup> Levando-se em consideração as otimizações realizadas a reação CuAAC pode ser incluída no conceito de “*click chemistry*” desenvolvido por Sharpless. A “*click chemistry*” é um conceito introduzido em 2001 por K. Barry Sharpless para descrever reações termodinamicamente favoráveis que, realizadas em laboratório, são capazes de conectar duas moléculas de forma muito simples e com altos rendimentos, sendo de grande aplicabilidade. Cabe ressaltar que a cicloadição de Huisgen não são específicas para formação de anéis triazólicos, podendo ser aplicada também, à formação de outros heterociclos conforme a utilização dos 1,3-dipolos.<sup>108,110</sup> A reação CuAAC ocorre entre um alcino terminal e uma azida, catalisada por cobre no estado de oxidação +1. Várias fontes de Cu (I) podem ser utilizadas. No entanto, como esta espécie é muito instável em solução aquosa, obtém-se a espécie ativa através da redução de sais de Cu (II) *in situ* por um agente redutor como o ascorbato de sódio. Tal metodologia não necessita de ligantes ou atmosfera inerte, normalmente não gera subprodutos e apresenta rendimentos elevados.<sup>111</sup>

Entre as características da reação CuAAC, destaca-se a grande versatilidade uma vez que não é afetada pelas propriedades estéricas e eletrônicas dos grupos presentes nas azidas e alcinos, e também pode ser realizada em solventes próticos e apróticos e em água. Normalmente apresentam altos rendimentos quando realizadas em água e um co-solvente.<sup>112</sup> Outra vantagem da reação CuAAC é formação de anéis triazólicos altamente estável, não sofrendo reações de hidrólise, oxidação e nem de redução.

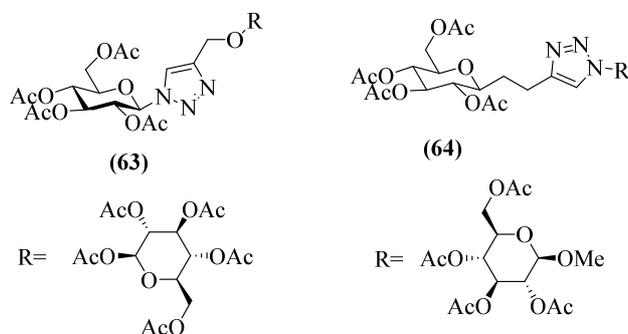


**Esquema 9.** Reação genérica de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen com mistura de regioisômeros (Método a), catalisada por cobre com formação de produto 1,4-dissubstituído (Método b) e catalisada por rutênio, com formação de produto 1,5-dissubstituído (Método c), onde diferentes grupos orgânicos são apresentados em azul e verde.<sup>113</sup>

Logo após a descoberta da reação catalisada por cobre, outra descoberta complementar foi obtida através de cicloadição catalisada por rutênio entre alcinos e azidas para formar exclusivamente 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos (**Esquema 14**, Método c). No entanto, essas reações exigiam altas temperaturas, apresentaram baixos rendimentos e, além disso, o uso de catalisadores de metais caros como o rutênio restringia o uso dessa reação.<sup>114,115</sup> No ano de 2005, Zhang e colaboradores relataram a cicloadição de azidas com alcinos utilizando catalisadores de rutênio para formação de triazóis isoméricos do tipo 1,5-disubstituídos. De forma similar, complexos de rutênio também catalisam este tipo de cicloadição, mas com regioseletividade oposta. Foram utilizados

vários tipos de complexos de rutênio, porém, os análogos do pentametilciclopentadienil (Cp\*) foram os que forneceram os melhores resultados, sendo o Cp\*<sub>2</sub>RuCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> empregado na maioria dos casos. A catálise utilizando o Cu(I) é limitada a reações com alcinos terminais e este catalisador de Ru(II) mostrou-se também ativo com alcinos internos.<sup>114</sup>

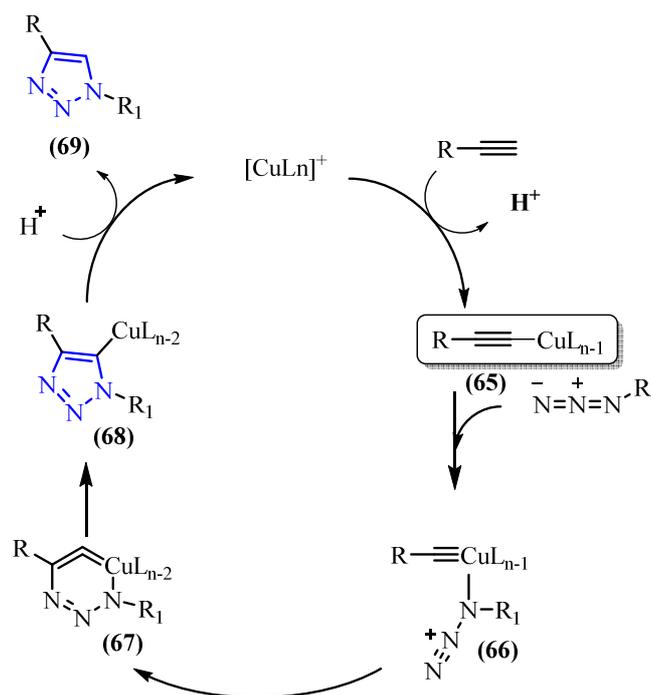
A reação CuAAC tem grande importância na obtenção de substâncias de interesse biológico. Na química de carboidratos, por exemplo, essa reação provou ser robusta no que concerne a grupos protetores e glicosilações diversas, sendo uma importante ferramenta para a obtenção de estruturas química diversificada. Na **Figura 13** são mostradas duas substâncias obtidas utilizando a CuAAC e técnicas da química de carboidratos.<sup>116</sup>



**Figura 13.** Substâncias derivadas de carboidratos e sintetizadas através da CuAAC.

### 3.7. Propostas mecanísticas para a síntese de 1,2,3-triazóis

Os mecanismos para a reação CuAAC foram propostos por Folkin e colaboradores, onde foi utilizado dados experimentais aliado a dados computacionais. A primeira proposta de mecanismo para essa reação era bem simplificada, no entanto, já apresentava alguns indícios do que seriam as propostas elaboradas posteriormente.<sup>117</sup> Esse mecanismo, apresentado no **Esquema 10**, inicia-se com a formação do acetileno de cobre **65** seguida da complexação da azida ao metal. Essa estrutura **66** favorece ao ataque do acetileno de cobre I **65** ao nitrogênio eletrofílico terminal da azida, formando o metalociclo estável **67**. Posteriormente ocorre a contração do anel levando a triazolíla de cobre **68** que ao sofrer protonólise regenera a espécie catalítica e libera o 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído **69** no meio reacional. Embora esse mecanismo tenha esclarecido algumas etapas dessa reação, vários estudos demonstraram que ela era mais complexa, envolvendo talvez, intermediários dinucleares.<sup>118,119</sup>

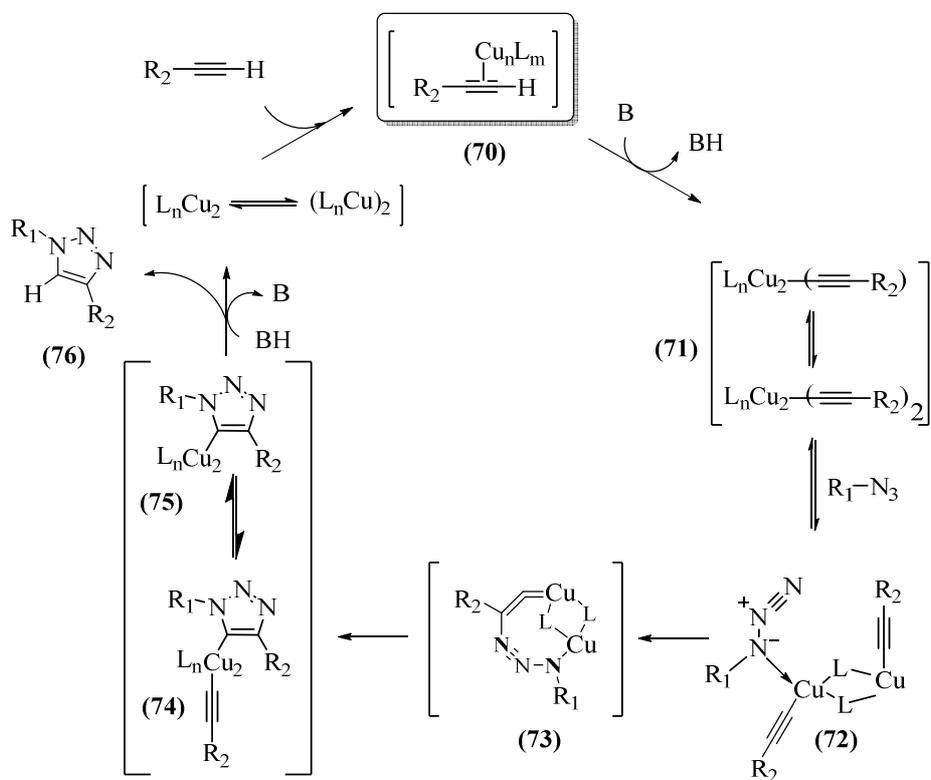


**Esquema 10.** Primeira proposta de mecanismo para a reação de cicloadição catalisada por cobre.

Posteriormente, uma proposta mais detalhada do mecanismo envolvendo cálculos teóricos sobre complexos de cobre dinucleares foram avaliadas. Estudos teóricos encontraram indícios de que a complexação  $\pi$  entre o Cu (I) e o alcino terminal provoca a redução do pKa do hidrogênio do alcino de 25 para 9,8, permitindo dessa forma, a desprotonação em meio aquoso sem a necessidade de utilização de base facilitando assim, formação do acetileto de cobre. Várias observações são feitas sobre a natureza dos intermediários dessa reação, sendo que algumas evidências levam a crer que podem estar envolvidos dois centros metálicos. Dessa forma, o alcinos e coordena a um dos centros de cobre, enquanto a azida ataca o segundo centro metálico.<sup>120</sup>

Conforme mostrado no **Esquema 11**, após a formação do complexo alcino cobre **70**, há a formação de um novo complexo azida-acetileto de cobre **71**, sendo que a proporção de 1:1 entre azida e alcino foi comprovada experimentalmente através do acompanhamento da reação por análise de infravermelho. No intermediário **72** o cobre atua como retirador de elétrons, tornando o nitrogênio vizinho ao metal mais eletrofílico e o carbono vinilidênico mais nucleofílico, favorecendo a formação do metalociclo**73**. Essa etapa é a que define a regioseletividade da reação, com energia de ativação de 15 kcal·mol<sup>-1</sup>. Após ocorre a contração do intermediário **73** fornecendo a triazóila de cobre

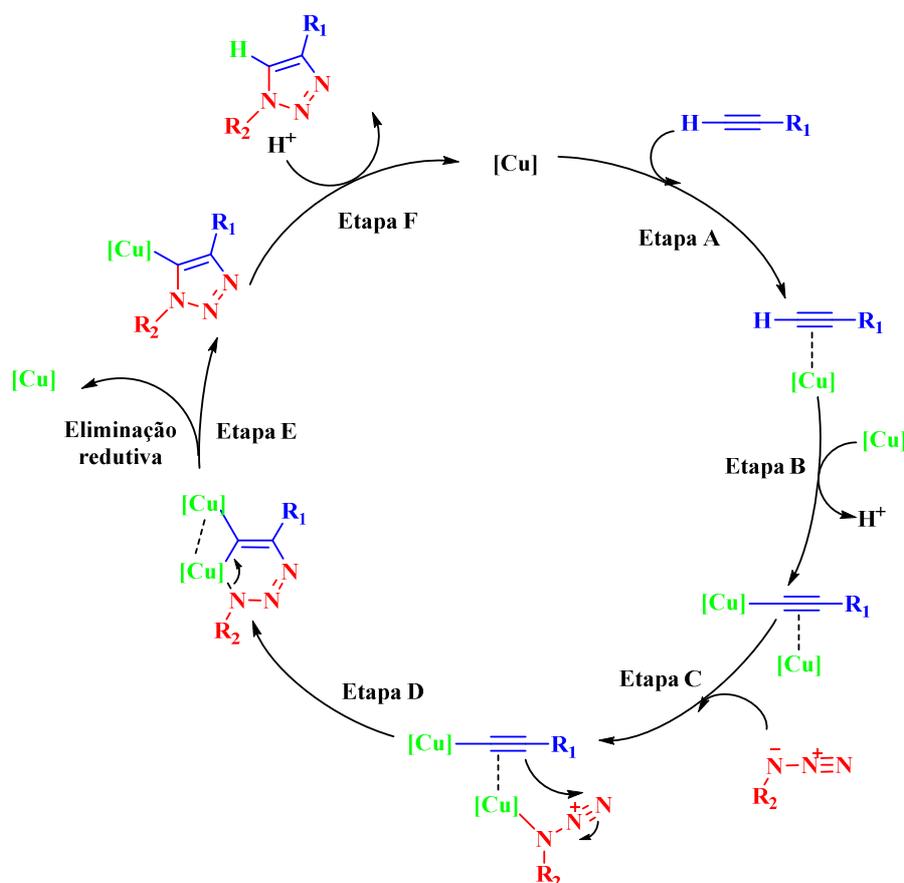
75. A formação do triazol **76** ocorre através da protonação do intermediário triazóila por uma base protonada ou pelo solvente.<sup>121</sup>



**Esquema 11.** Proposta de mecanismo para a reação CuAAC envolvendo dois centros metálicos no estado de transição.

Após análise do mecanismo descrito acima, outro mecanismo foi sugerido. Nesse mecanismo, a azida ataca o mesmo centro de cobre ligado ao alcino. O mecanismo mostrado no **Esquema 12**, inicia-se com a coordenação do primeiro íon de cobre (I) do ciclo (Etapa A) tornando o hidrogênio do alcino mais ácido e permitindo que um segundo íon de cobre forme o acetileto de cobre (Etapa B). Após, ocorre a coordenação da azida ao cobre que está  $\pi$ -coordenado ao alcino (Etapa C). A regioseletividade 1,4 é obtida devido à coordenação desse íon de cobre ao carbono  $\alpha$  do acetileto de cobre e ao nitrogênio substituído da azida, ambos por terem densidade eletrônica maior, isto é, carga parcial negativa. Este fato promove o acoplamento oxidativo e o ataque do carbono  $\beta$  do acetileto de cobre ao nitrogênio terminal da azida, formando um anel de seis membros com dois átomos de cobre (Etapa D). Os estados de oxidação do cobre no intermediário dessa etapa não são conhecidos ainda. A contração do anel com a saída do cobre (I) por eliminação redutiva gera o triazolo de cobre (I) (Etapa E), o qual sofre

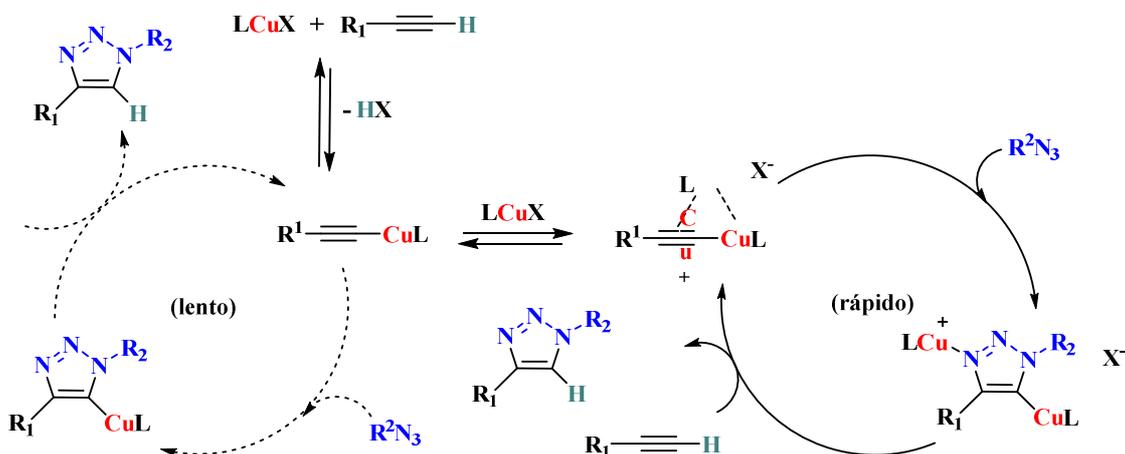
protonólise formando o respectivo 1,2,3-triazol e restaurando o íon cobre (I) (Etapa F).<sup>122</sup>



**Esquema12.** Ciclocatalítico proposto por Folkin e Finn para a reação CuAAC.

Em 2015 Makarem e colaboradores isolaram e caracterizaram um complexo hexaacetileto de octacobre (I), que pode ser o primeiro intermediário da reação. Em condições ácidas, este complexo produziu espécies de dicobre, as quais foram muito reativas para a formação de 1,2,3-triazóis.<sup>123</sup> Além desse estudo, o isolamento e caracterização de quatro intermediários desta cicloadição 1,3-dipolar com cobre permitiu a atualização do mecanismo da reação em condições estequiométricas (**Esquema 13**). Essa reação ocorre por duas vias, uma lenta e uma rápida, sendo ambas iniciando com a formação do acetileto de cobre isolado. Na via lenta o triazoleto de cobre demorou mais tempo para ser formado a partir do acetileto de cobre após a adição da azida e consequentemente o respectivo 1,2,3-triazol também demorou mais tempo para ser formado. Na via rápida a formação de um complexo alcino-dicobre a partir do acetileto de cobre ocorreu em minutos, gerando um triazoleto de cobre ligado ao segundo metal pelo nitrogênio 3 do anel. Tal intermediário forma o respectivo 1,2,3-

triazol após a adição de um alcino terminal restaurando o complexo bimetálico.<sup>124</sup> O intermediário alcino-dicobre é formado, provavelmente, por ambos os metais com estado de oxidação +1. Vale ressaltar que o contra-íon do sal de cobre também tem influência nessa reação, sendo que os ânions mais básicos favorecem a formação do acetileto de cobre e desfavorecem a etapa de coordenação do cobre.<sup>125,126</sup>



**Esquema 13.** Mecanismo da cicloadição de azidas e alcinos catalisada por cobre (I) deduzido do isolamento de intermediários de reação.<sup>127</sup>

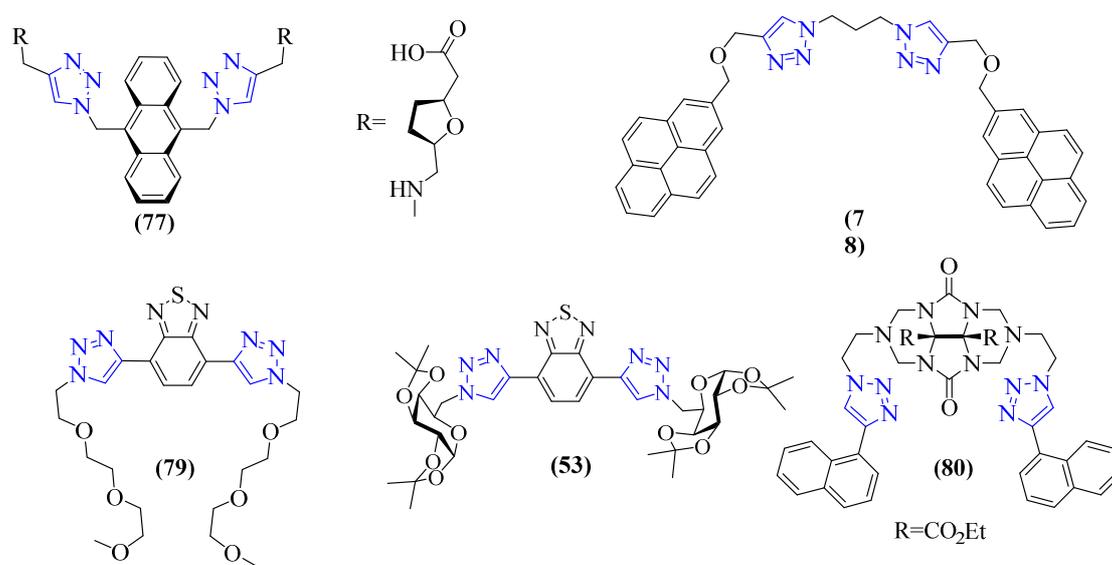
Outro fator importante para a velocidade desse tipo de reação são as características estruturais das azidas e dos alcinos. Na maioria das vezes, a etapa que determina a velocidade da reação é a formação do acetileto de cobre. No entanto, os alcinos muito ácidos são mais reativos podendo deslocar a etapa lenta para a coordenação da azida ao complexo de dicobre. Por outro lado, as azidas que apresentam substituintes quelantes são mais reativas porque esses grupos facilitam a coordenação do nitrogênio ao cobre.<sup>128-130</sup>

### 3.8. Quimiossensores fluorescente de cátions baseados em 1,2,3-Triazóis

Estruturalmente, a detecção de íons por esse tipo de quimiossensor pode ocorrer por meio de reações de deslocamento, promovidas por um metal, formação e clivagem de ligações e também por complexos quelantes de metais. Com os complexos quelantes de metal, existe a possibilidade de ajuste da seletividade e sensibilidade das sondas por dois motivos: (i) levando vantagem da afinidade por cátions para átomos específicos e (ii) no controle do tamanho do sítio de ligação através da colocação intencional dos sítios de coordenação nos sensores. Na maioria dos casos, um quelato surge de ligações covalentes ou coordenadas entre o metal e grupos funcionais doadores contendo

enxofre, nitrogênio e/ou átomos de oxigênio.<sup>131-134</sup> Neste contexto, muitos desafios ainda estão presentes no planejamento de quimiossensores de cátions eficazes. Como todos os metais, especialmente aqueles de importância biológica e ambiental, é importante desenvolver quimiossensores que sejam seletivos para um íon em particular. Além disso, cátion cobre com suas propriedades de supressão de fluorescência torna o planejamento de moléculas com respostas colorimétricas bastante atrativas.<sup>135,136</sup>

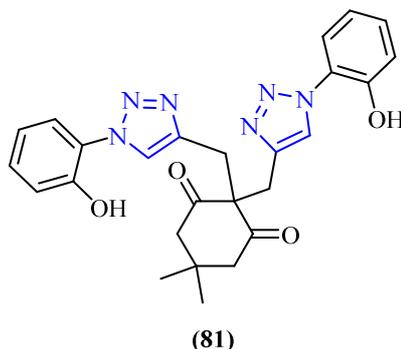
Os compostos 1,2,3-triazóis surgiram como quelantes promissores para metais, devido a sua capacidade de agir como doadores de nitrogênio.<sup>137, 138</sup> Em geral, compostos triazólicos usam seus nitrogênios para se ligar a cátions, e seu próton Csp<sup>2</sup>-H para se ligarem os ânions.<sup>139</sup> Sabe-se que os triazóis se coordenam com vários íons metálicos como Cu, Al, Pd, Zn, Cd, Pt, entre outros, podendo ser utilizados como quimiossensores metálicos para detecção de vários íons metálicos. Alguns dos derivados 1,2,3-triazóis utilizados como quimiossensores são mostrados na **Figura 14**.<sup>140</sup>



**Figura 14.** Derivados 1,2,3-triazóis utilizados como quimiossensores.<sup>94,141</sup>

Trabalhos anteriores com triazóis têm como alvo detecção de cátions particularmente os metais de transição. Diversos estudos têm empregado o método de detecção *turn-off*, aproveitando a propriedade de quenching de fluorescência de metais como Ni<sup>+2</sup>, Ag<sup>+1</sup>, Pb<sup>+2</sup>, Hg<sup>+2</sup> e Cu<sup>+2</sup>.<sup>142-144</sup> Com relação ao Cu<sup>+2</sup>, há menos relatos de sensores triazóis que fornecem um sinal colorimétrico. Além disso, em muitos casos, os sensores bis-triazóis não respondem exclusivamente ao Cu<sup>+2</sup>.<sup>145,146</sup> No entanto, Ghosh e

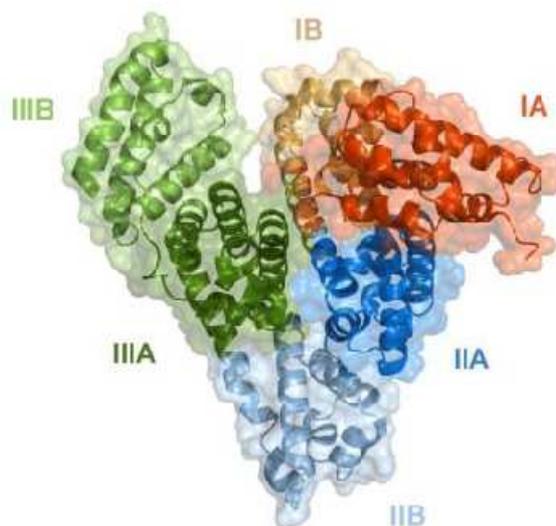
colaboradores sintetizaram um quimiossensor colorimétrico bis-triazol, que apresentou resposta altamente seletiva para  $\text{Cu}^{+2}$  entre uma série de íons metálicos (**Figura 15**).<sup>11</sup>



**Figura 15.** Estrutura do composto bis-1,2,3-triazol (**81**) utilizado como quimiossensor de  $\text{Cu}^{+2}$ .

### 3.9. Sondas para BSA baseados em 1,2,3-triazóis

Albuminas são as proteínas mais abundantes presentes no plasma sanguíneo e possuem alta capacidade de associação a ligantes, com significativa importância no transporte de drogas através da corrente sanguínea a partir de interações não covalentes. A albumina sérica bovina (BSA) é largamente empregada como proteína modelo para estudos, devido a sua semelhança estrutural com a albumina humana sérica (HSA), além do seu menor custo.<sup>147-149</sup> A BSA é uma proteína globular multifuncional, composta por 583 aminoácidos residuais e estudos indicam que seus principais sítios de ligação encontram-se nas cavidades hidrofóbicas dos subdomínios IIA e IIIA (**Figura 16**).<sup>150</sup> É caracterizada ainda pela presença de três diferentes domínios, cada um dividido em outros dois subdomínios (A e B).<sup>151,152</sup> A estrutura da BSA possui dois resíduos de triptofano (Trp), estando Trp-134 no primeiro domínio, localizado na superfície da molécula, e Trp-212 no subdomínio IIA, localizado na região hidrofóbica da proteína. Além destes, a BSA possui 20 resíduos de tirosina (Tyr) e 27 de fenilalanina (Phe).<sup>153</sup> A albumina sérica bovina (BSA) possui uma banda de absorção na região do ultravioleta com máximo localizado em 279 nm, além de emissão de fluorescência com máximo localizado em 340 nm, devido à presença de resíduos de triptofano.<sup>154</sup>



**Figura 16.** Estrutura da BSA.<sup>206</sup>

O estudo da interação da BSA com moléculas orgânicas pode ser importante para compreender a dinâmica de interação deste sistema macromolecular com estas estruturas.<sup>155</sup> Quando a BSA absorve e emite na mesma região que um composto orgânico, sua interação com estas estruturas pode ser avaliada pela diminuição da sua fluorescência intrínseca. A supressão de fluorescência pode ser causada por diversos processos, como rearranjos moleculares, transferência de energia, reações no estado excitado, formação de complexo no estado fundamental e colisões. Os mecanismos de supressão de fluorescência mais usuais são o estático e o dinâmico. No mecanismo estático, ocorre a formação de um complexo não-fluorescente entre o composto e o fluoróforo. Já no mecanismo dinâmico, o composto se liga ao fluoróforo no estado excitado, ocorrendo transferência de carga, e quando o fluoróforo retorna ao estado fundamental, não emite fóton. Os dois mecanismos podem ser diferenciados pela dependência da constante de supressão com a temperatura e pela magnitude desta constante. Se a constante de supressão aumenta com o aumento da temperatura, o mecanismo é dinâmico, pois temperaturas maiores levam a maiores coeficientes de difusão, sendo que o valor máximo que a constante de supressão pode assumir é  $2,0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . Se ocorrer o contrário, o mecanismo é estático, pois temperaturas maiores instabilizam complexos, causando sua dissociação, e a constante de supressão pode possuir valores maiores do que este citado.<sup>156</sup>

É relatado na literatura que compostos do tipo 1,2,3-triazóis apresentaram significativa afinidade com a BSA, podendo ser, portanto, utilizado para o desenvolvimento de agentes terapêuticos que pode ligar-se à proteína em locais

específicos. Recentemente, Bag e colaboradores relataram a síntese de compostos triazólicos que apresentam aminoácidos em sua estrutura que geram uma sonda fluorescente através da interação com a BSA.<sup>157,158</sup>

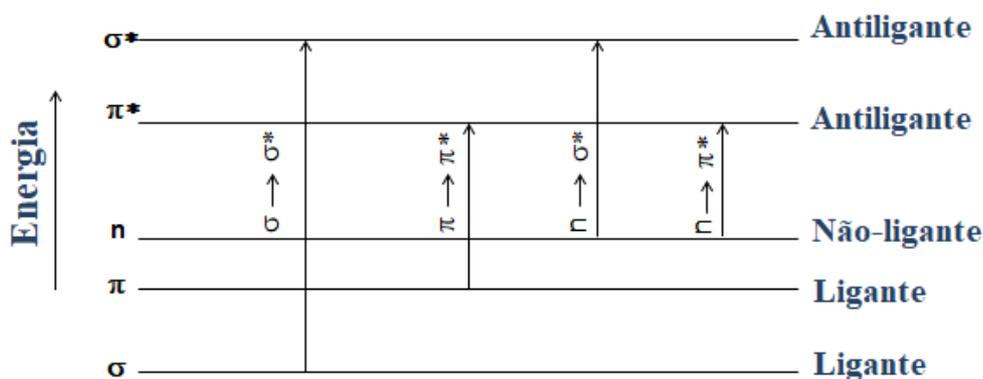
### 3.10. Processos fotofísicos

#### 3.10.1 Absorção na região do UV-Visível

A ocorrência de processos fotofísicos em moléculas orgânicas está intimamente relacionada ao fenômeno da absorção de radiação. A absorção é um dos diversos processos que podem ocorrer a partir da interação da radiação eletromagnética com a matéria e é responsável por promover transições eletrônicas entre diferentes estados.<sup>159</sup> Quando a molécula absorve radiação eletromagnética nas regiões do ultravioleta e do visível ocorrem transições entre o estado eletrônico fundamental e o estado eletrônico excitado. As transições na molécula podem passar de qualquer um dos subníveis, correspondentes aos vários estados vibracionais e rotacionais para qualquer outro subnível. Por esse motivo as bandas de absorção são largas. Os espectros de absorção descrevem além da energia absorvida pela molécula em um determinado comprimento de onda máximo ( $\lambda_{\text{abs}}$ ), a intensidade em função do número de espécies presentes, e a probabilidade de transição de um estado a outro, o qual é denominada-se coeficiente de absorvidade molar  $\epsilon$ .<sup>160,161</sup> A absorbância, que é a quantidade de luz absorvida pela molécula, esta relacionada com a absorvidade molar ( $\epsilon$ ) através da Lei de Lambert- Beer (**Equação 1**):

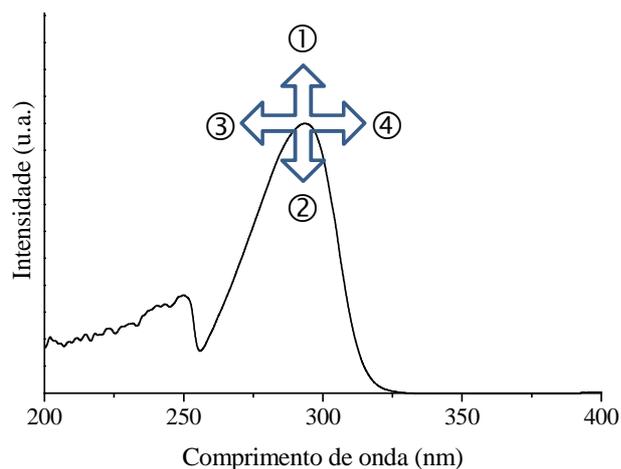
$$A = \epsilon bc, (1)$$

onde  $b$  é o caminho óptico percorrido e  $c$  é a concentração molar do soluto. As energias dos orbitais moleculares diferem de forma significativa, logo os tipos de transições eletrônicas dependerão das energias quantizadas que serão absorvidas, conforme apresentado na **Figura 17**.



**Figura 17.** Possíveis transições eletrônicas em um composto orgânico.

Transições do tipo  $\pi\text{-}\pi^*$  são permitidas por simetria e relacionadas com altas intensidades de absorção, possuindo valores de  $\epsilon$  entre  $10^3\text{-}10^5 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Por outro lado, transições do tipo  $n\text{-}\pi^*$ , que são proibidas por simetria e relacionadas com baixa intensidade de absorção, apresentam valores de  $\epsilon$  em torno de  $10^2 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Embora pouco intensas, as transições  $n\text{-}\pi^*$  são importantes dentro da química orgânica, estando presentes em composto carbonílicos como ésteres, cetonas, ácidos carboxílico e tioéster. Por outro lado, as transições  $\pi\text{-}\pi^*$  são observadas principalmente em compostos insaturados e anéis aromáticos. A conjugação destes sistemas absorventes diminui a energia necessária para que ocorra a transição eletrônica, deslocando conseqüentemente o máximo de absorção para maiores comprimentos de onda (deslocamento batocrômico). Assim, havendo um número considerável de insaturações conjugadas, a absorção irá deslocar-se para a região do espectro visível e o composto irá apresentar cor.<sup>162</sup> A porção responsável pela absorção eletrônica em uma molécula é chamado de cromóforo. O substituinte que modifica a intensidade e a posição da banda de absorção do cromóforo é chamado de auxocromo. O aumento da intensidade da banda de absorção é chamado de efeito hipercrômico (①, **Figura 18**) e a diminuição da intensidade é chamado de efeito hipocrômico (②, **Figura 18**). Já deslocamento da banda de absorção para maiores comprimentos de onda (para o vermelho) é chamado de batocrômico (④, **Figura 18**) e o deslocamento para menores comprimentos de onda (para o azul) é chamado de hipsocrômico (③, **Figura 18**).

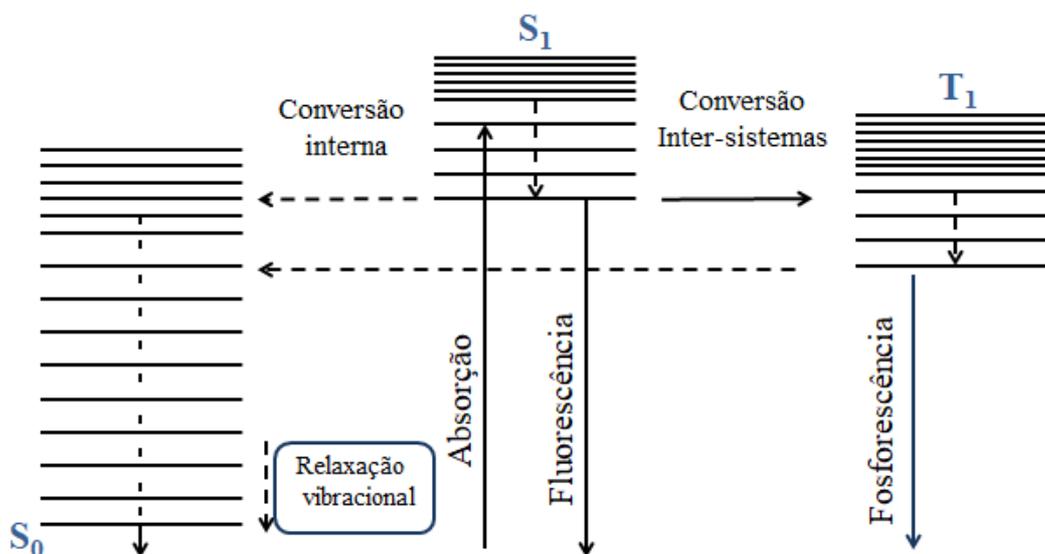


**Figura 18.** Variações que podem ocorrer em um espectro de UV-Vis e/ou emissão de fluorescência, onde ①: efeito hiperacrômico, ②: efeito hipocrômico, ③: efeito hipsocrômico e ④: efeito batocrômico.

A localização e intensidade de um espectro de absorção de um cromóforo são primeiramente determinadas por sua estrutura química. Porém, vários fatores relacionados ao meio produzem mudanças detectáveis na localização do máximo de absorção ( $\lambda_{\text{abs}}$ ) e na probabilidade da transição eletrônica. Os fatores relacionados ao meio consistem em mudanças no pH, que provocam mudanças na estrutura da molécula, na polaridade do solvente e na orientação relativa dos cromóforos vizinhos. A polaridade do solvente pode causar deslocamentos no comprimento de onda do máximo de absorção de uma molécula, dependendo da interação que este terá com a molécula no estado fundamental ou no estado excitado.<sup>162</sup>

### 3.10.2. Emissão de Fluorescência

Quando uma molécula é promovida para o estado excitado, ela experimenta diversos mecanismos de desativação até que retorne ao estado fundamental. Entre os possíveis processos de desativação podemos citar os processos radiativos e os não-radiativos. Esses processos são normalmente ilustrados através do diagrama de Jablonki (**Figura 19**). Dentre os processos radiativos cita-se a fluorescência e a fosforescência e como não-radiativos, relaxação vibracional, conversão interna e cruzamento intersistemas.<sup>163,164</sup>



**Figura 19.** Diagrama de Jablonski.

A fluorescência é uma transferência de energia entre estados de mesma multiplicidade de spin, ou seja, sem envolver variação de spin eletrônico, enquanto que na fosforescência ocorre entre estados de multiplicidades diferentes. Em consequência da retenção da orientação original, o retorno de uma população que se encontra no estado excitado singlete para o estado fundamental (que tem caráter singlete), é permitido e ocorre muito rapidamente ( $10^{-9}\text{s}^{-1}$ ). Dessa forma, a fluorescência é intrinsecamente um fenômeno luminescente mais comum que a fosforescência, competindo eficientemente com processos de desativação não-radiativos do estado excitado.<sup>54</sup> Durante o processo de fluorescência, a molécula pode manter parte da energia que ela recebeu na forma de energia vibracional do estado fundamental. Esse excesso de energia vibracional é dissipado através de processos não radiativos chamados de relaxação vibracional. Também é possível a emissão de fóton de baixa energia, o que um aumento da fluorescência em meio infravermelho.<sup>165</sup>

Através da análise do diagrama de Jablonski (**Figura 19**), observa-se que de acordo com a Lei de Stokes, o comprimento de onda do máximo de emissão possui geralmente energia menor que o comprimento de onda do máximo de absorção, ou seja, localiza-se em um comprimento de onda maior do que qualquer radiação incidente ou do comprimento de onda do máximo de excitação.<sup>166</sup>

Entre os fatores necessários para uma molécula apresentar fluorescência, pode-se citar a rigidez estrutural, a possibilidade de conjugação de elétrons  $\pi$ , a planaridade molecular, a presença de grupos substituintes adequados, etc.<sup>166</sup> Como exemplos

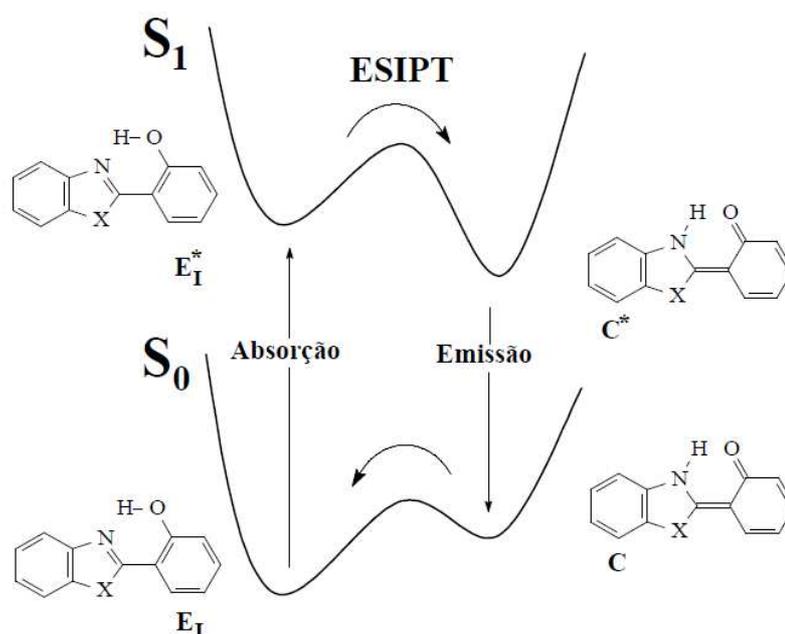
clássicos de moléculas que desativam radiativamente, estão os compostos aromáticos, pois devido a sua rigidez, planaridade e possibilidade de conjugação possuem desativações não-radiativas minimizadas.

Sendo a fluorescência normalmente resultante das transições entre um orbital  $\pi$  antiligante e um orbital  $\pi$  ligante, ou de uma transição entre um orbital  $\pi$  antiligante e um não-ligante, a presença de determinados substituintes influenciará o processo radiativo de emissão de fluorescência. Substituintes doadores de elétrons tais como, -OH, -OCH<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub> entre outros, favorecem o processo de fluorescência, enquanto que os substituintes retiradores de elétrons do tipo -CO, -COOH, -F, NO<sub>2</sub> entre outros dificultam o processo de fluorescência.<sup>167,168</sup> Além disso, moléculas que apresentam grupos ácidos ou básicos, principalmente naquelas que apresentam conjugação de elétrons  $\pi$ , a protonação ou desprotonação de determinados grupos causa significativa alterações na emissão de fluorescência, o que mostra a dependência da fluorescência em relação ao pH, principalmente em solventes próticos.<sup>169</sup> Outro fator importante que afeta a emissão de fluorescência é a concentração das espécies no sistema. Ao contrário do processo de absorção, onde um aumento de concentração ocasiona aumento de intensidade de absorção, na emissão de fluorescência, uma concentração muito elevada resulta em aumento de possibilidade de processos de supressão interna tais como conversão interna, auto-absorção entre outros, diminuindo a eficiência de emissão de fluorescência. Dessa forma, estudos de fluorescência, normalmente são utilizados sistemas diluídos, minimizando os efeitos de supressão interna e aumentando a eficiência quântica de fluorescência.<sup>170,171</sup>

### 3.10.3. Mecanismo de transferência protônica no estado excitado (ESIPT)

O mecanismo de ESIPT consiste num fotautomerismo no estado excitado, onde um próton é transferido de um grupo doador para um grupo aceptor.<sup>172</sup> Uma molécula contendo uma hidroxila fenólica ou um grupamento amina como um grupo doador de próton, um nitrogênio azólico ou uma carbonila como grupo aceptor de próton, em uma geometria adequada e uma distância separando estes centros reativos menor do que 2Å, faz com que a mesma tenha a probabilidade de sofrer uma reação de transferência protônica no estado excitado (ESIPT) aumentada. Neste mecanismo, o hidrogênio é transferido do grupo ácido (doador) para o básico (receptor).<sup>173</sup> Na **Figura 20** é apresentado o mecanismo de ESIPT onde em solventes apróticos e não polares, o

confômero enol-*cis* ( $E_I$ ), onde os termos *cis* e *trans* usados nos compostos benzazólicos referem-se às posições relativas entre os átomos de nitrogênio do anel azólico e o oxigênio do grupo fenólico, representa a espécie predominante no estado fundamental ( $S_0$ ) com uma forte ligação intramolecular entre o hidrogênio fenólico e o átomo de nitrogênio.

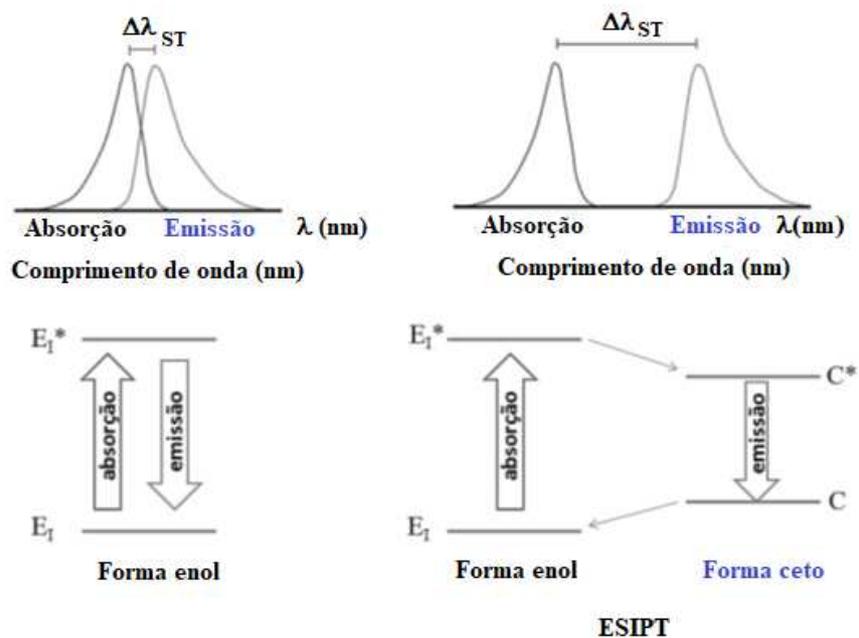


**Figura 20.** Mecanismo de ESIPT para 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis, onde  $X=O, S$  ou  $NH$ .

A excitação dessa molécula gera uma espécie excitada, a qual é convertida no respectivo tautômero cetona excitada ( $C^*$ ), através da transferência intramolecular do hidrogênio fenólico para o átomo de nitrogênio. Essa conversão ocorre porque no estado excitado o hidrogênio fenólico se torna mais ácido e o nitrogênio azólico mais básico. Este comportamento, juntamente com exigências de distância e ângulo entre estes grupamentos, permite uma transferência de prótons mais rápida para produzir um fototautômero ( $C^*$ ), que decai emitindo fluorescência com grande deslocamento de Stokes.<sup>174 - 176</sup> A forma cetona relaxa ao estado fundamental C, com emissão de fluorescência e a forma enol é regenerada sem mudanças fotoquímicas. Esta emissão de fluorescência é denominada de emissão ESIPT.

### 3.10.4. Princípio das análises fluorimétricas

O planejamento de uma molécula que possa atuar como um quimiossensor leva-se em conta o estudo dos mecanismos envolvidos na detecção de analitos com base em diferentes processos fotofísicos e mecanismos de detecção usuais. Entre elas incluem-se a transferência de elétrons fotoinduzida (PET), a transferência intramolecular de carga (ICT), transferência de carga do tipo metal: ligante, transferência de carga intramolecular trançada, transferência eletrônica de energia, transferência de energia por fluorescência ressonante (FRET).<sup>177-179</sup> Os mecanismos de transferência eletrônica fotoinduzida (*photo-induced electron transfer*, PET) e transferência eletrônica de energia (*electronic energy transfer*, EET) são os mais comuns que ocorrem em moléculas que apresentam grupos cromóforos ou fluoróforos.<sup>180</sup> Através destes mecanismos é que ocorre o aumento ou a supressão da intensidade relativa de emissão do quimiossensor quando este está em contato com um analito de interesse. Dependendo da modulação do sinal óptico do quimiossensor, esse pode ser classificado em dois tipos principais que são: (i) tipo *turn-on*: em que a fluorescência dos grupos cromóforos/fluoróforos presentes na molécula do quimiossensor sofre um aumento de intensidade de emissão quando o quimiossensor está interagindo com o analito e (ii) tipo *turn-off*: em que ocorre uma supressão da intensidade relativa de emissão do quimiossensor quando este interage com o analito de interesse. A partir destes mecanismos, é possível atribuir o conceito básico de análise fluorimétrica com o uso de quimiossensores, em que por meio do aumento ou supressão de luminescência do receptor, se tem um sinal óptico mensurável de detecção da presença ou não do analito. Para a quantificação do analito, outros parâmetros devem ser levados em consideração como, por exemplo, o deslocamento de Stokes, descrito como a diferença entre os comprimentos de onda de absorção e de emissão, da mesma transição eletrônica.<sup>181</sup> Este parâmetro é importante para diferenciar os espectros de absorção e emissão para cada molécula estudada (analito ou quimiossensor). Vale ressaltar que compostos que apresentam o mecanismo de ESIPT possuem um grande deslocamento de Stokes (**Figura 21**). Para que uma molécula possa ser utilizada como um quimiossensor na detecção de íons, por exemplo, o deslocamento de Stokes ( $\Delta\lambda_{ST}$ ) deve ser grande o suficiente, pois um valor pequeno (até 40 nm) pode causar a auto supressão de fluorescência,<sup>182</sup> diminuindo a intensidade de emissão e conseqüentemente a sensibilidade desse quimiossensor.



**Figura 21.** Representação do deslocamento de Stokes ( $\Delta\lambda_{ST}$ ) para emissão normal, da forma enol (esquerda) e emissão por ESIPT, da forma ceto (direita). (Adaptado de Nunes *et al.*<sup>183</sup>)

---

---

## *Resultados e Discussão*

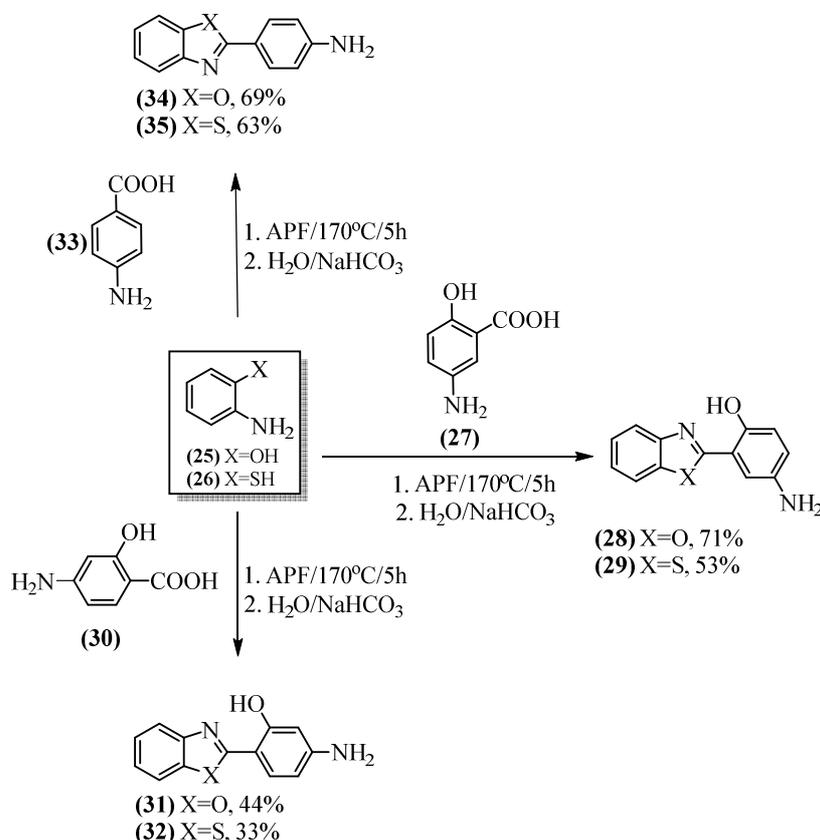
---

---

## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Síntese dos precursores benzazólicos

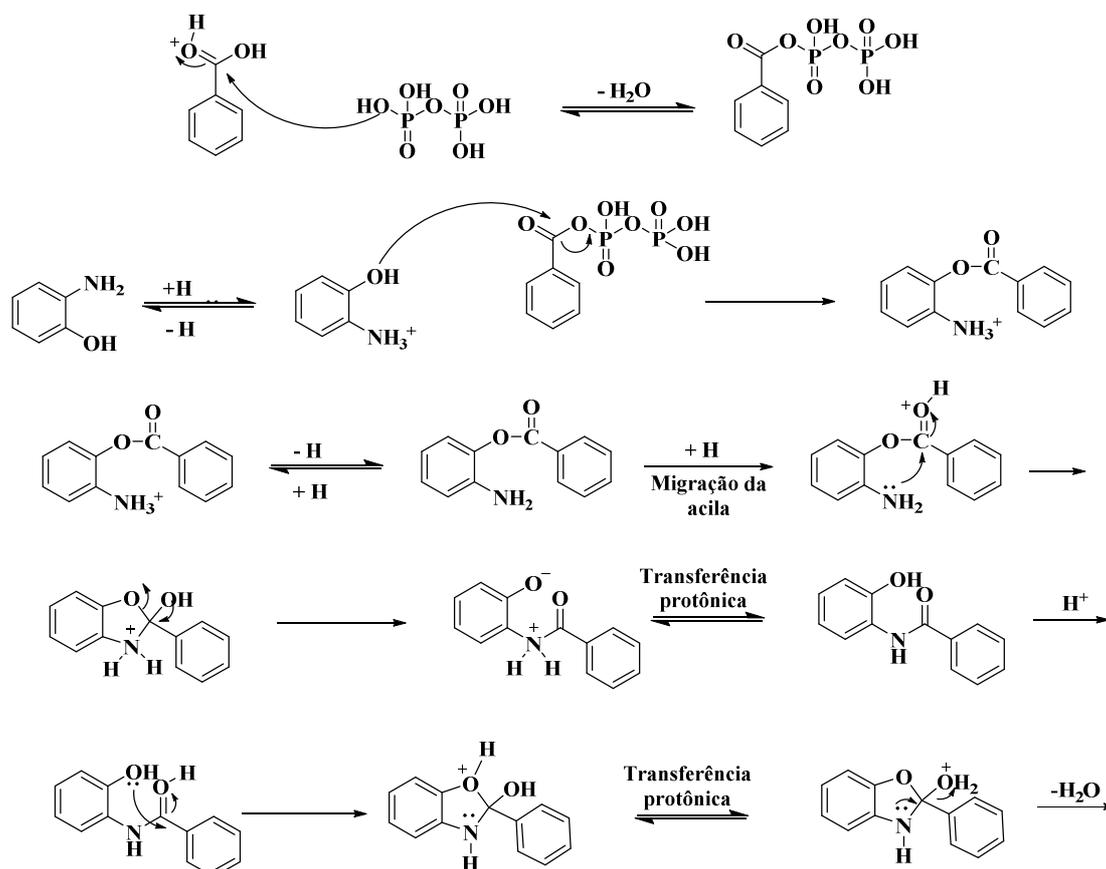
Em uma primeira etapa realizou-se a síntese dos precursores benzazólicos (**28**, **29**, **31**, **32**, **34** e **35**). A metodologia utilizada é a ciclo condensação de um derivado de ácido carboxílico (**27**, **30** ou **33**) com uma amina aromática orto substituída contendo OH (**25**) ou SH (**26**) conforme representado no **Esquema 14**. A síntese utiliza o ácido polifosfórico (APF), que serve como solvente e também como catalisador para promover a esterificação e eliminação da água.<sup>184, 185</sup> Os produtos foram obtidos em bons rendimentos após purificação por cromatografia em coluna utilizando diclorometano como eluente.



**Esquema 14.** Esquema sintético para obtenção dos derivados benzazólicos desejados.

A reação inicia-se com a ativação do respectivo ácido benzóico através da formação do ácido benzóico-anidrido fosfórico. Nesta proposta, o ácido benzóico e a mistura de anidrido e o ácido polifosfórico (APF) estão em equilíbrio dinâmico. Após ocorre a protonação do grupo amina do 2-aminofenol. Nesta etapa, acredita-se também que todos os derivados de 2-aminofenol e o ácido polifosfórico (APF) estão também em

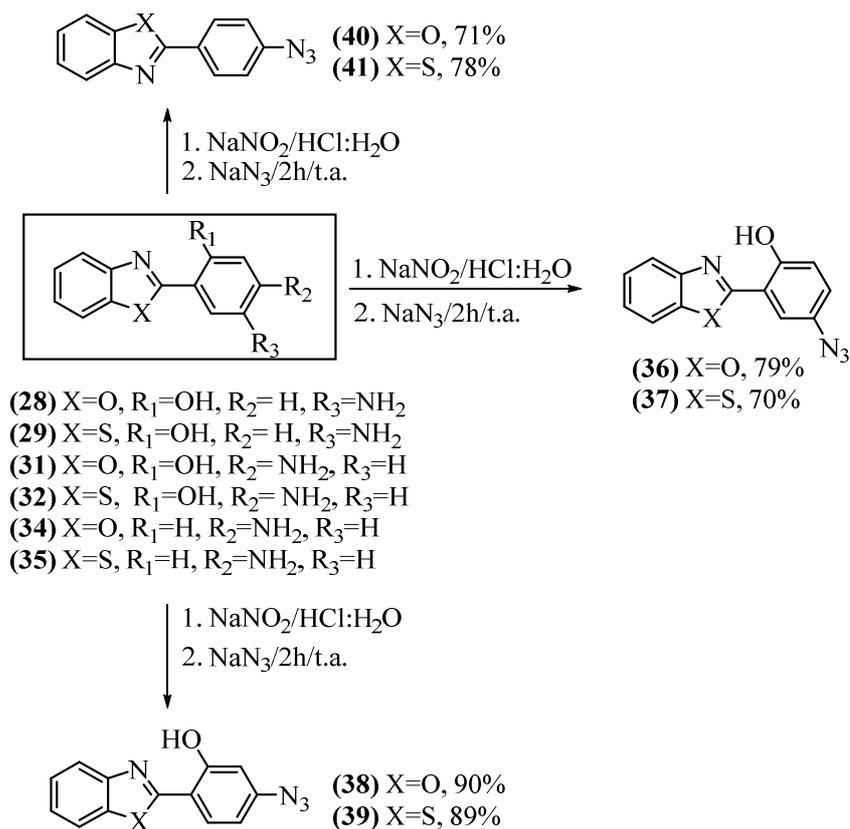
equilíbrio dinâmico. Assim, o benzoato de 2-aminofenil é proposto como primeiro intermediário de reação. Nesta proposta, um rápido equilíbrio é esperado entre a amina protonada e a amina livre com uma rápida migração da acila do éster gerando o composto 2-hidroxibenzanilida, que sofre o fechamento do anel por catálise ácida para fornecer o 2-fenilbenzoxazol (**Esquema 15**).<sup>186,187</sup>



**Esquema 15.** Proposta mecanística de formação do fenilbenzoxazol.<sup>88</sup>

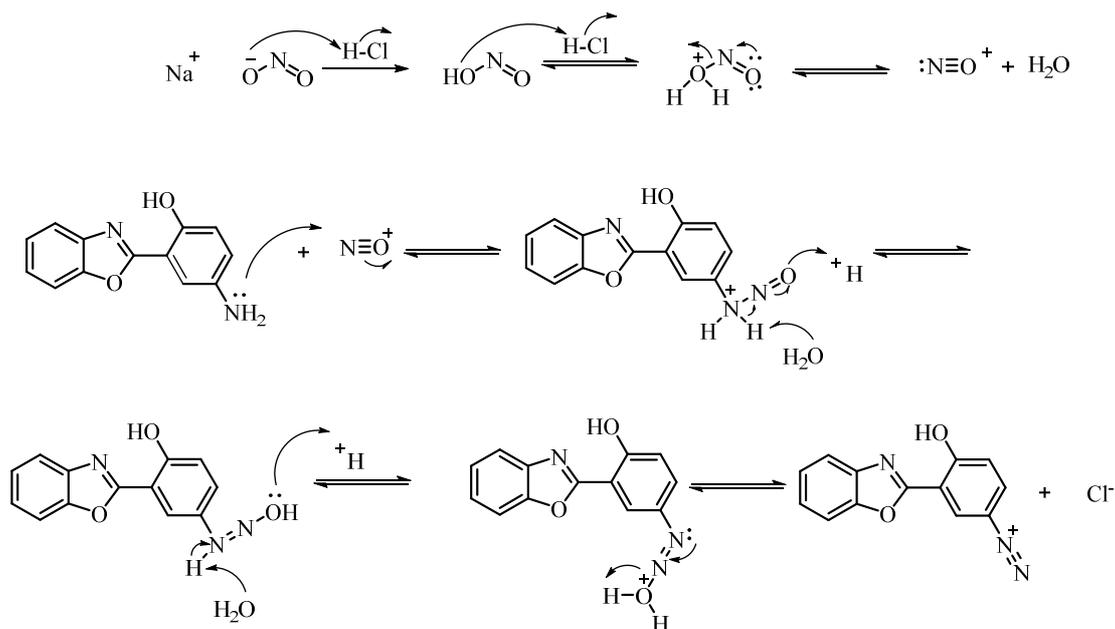
## 4.2. Síntese das azidas aromáticas

Após a síntese dos precursores benzazólicos, procedeu-se a síntese das azidas aromáticas como mostrado no **Esquema 16**. As azidas (**36-41**) foram obtidas em rendimento satisfatório sem necessidade de purificação.



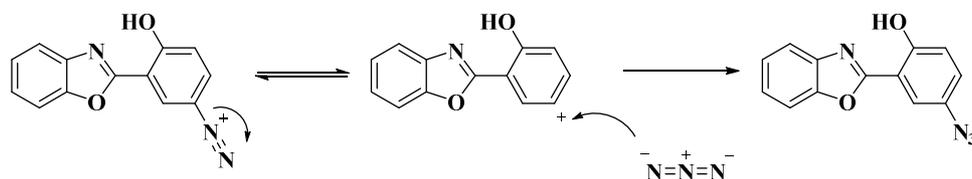
**Esquema 16.** Esquema sintético para obtenção das azidas **36-41**.

Para a síntese das azidas (**36-41**) empregou-se a reação de formação de sais de diazônio *in situ* partindo das aminas aromáticas precursoras. Essa reação inicia-se com a diazotação do grupo amino destes compostos por meio da reação com nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ) em  $\text{HCl}$  aquoso. Durante essa etapa a temperatura do meio reacional foi mantida a  $0^\circ\text{C}$  com o objetivo de tornar o sal de diazônio mais estável e conseqüentemente aumentar o rendimento da reação (**Esquema 17**).



**Esquema17.** Mecanismo para a formação do sal de diazônio.

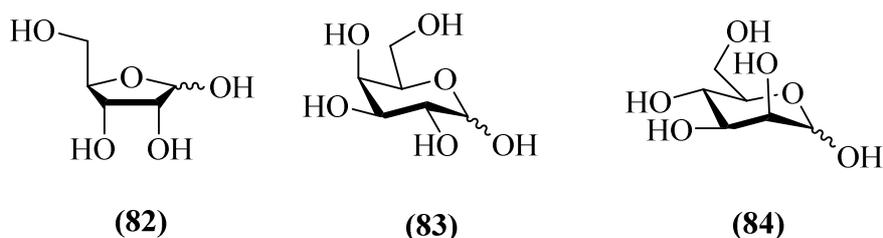
Após a formação do sal de diazônio ocorreu a reação destecomaazida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ) para forma a azida de interesse. O mecanismo mais utilizado para a formação da azida é a substituição nucleofílica aromática ( $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ ).<sup>188</sup> No entanto, devido ao fraco caráter retirador de elétrons do grupo benzoxazol acredita-se que o mecanismo ocorre via  $\text{S}_{\text{N}}1$  (**Esquema 18**).<sup>189</sup>



**Esquema 18.** Mecanismo para a formação da azida a partir do sal de diazônio.

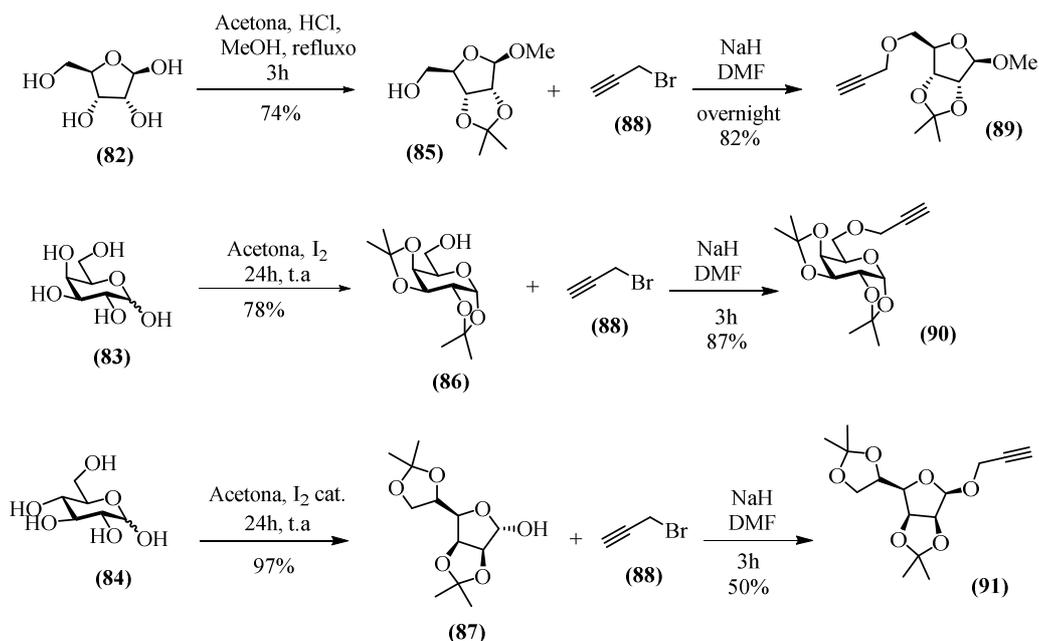
### 4.3. Síntese dos alcinos derivados de carboidratos

Os alcinos de carboidratos foram obtidos conforme mostrado no **Esquema 19**. Esses alcinos foram sintetizados pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Diogo S. Lüdtkke, co-orientador deste trabalho, a partir da D-Ribose (**82**), D-Galactose (**83**) e D-manose (**84**) (**Figura 22**) conforme metodologias descritas na literatura.<sup>190</sup>



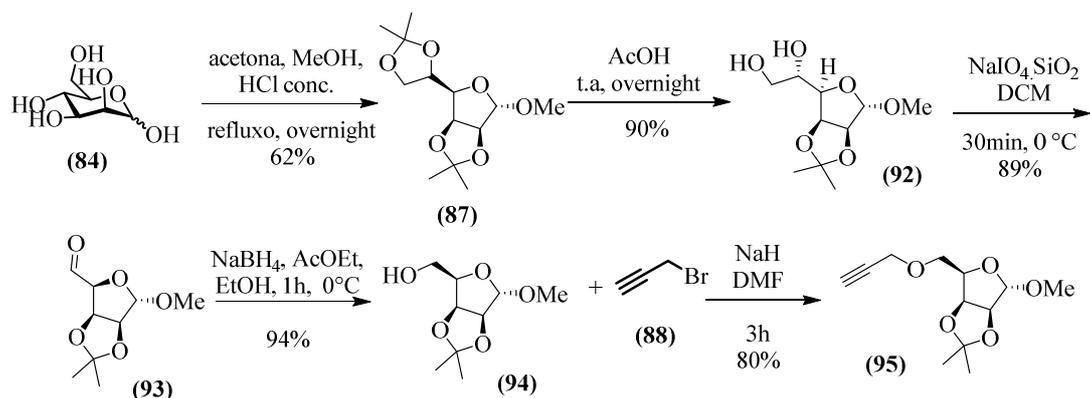
**Figura 22.** Estruturas dos carboidratos utilizados neste trabalho.

A primeira etapa para a síntese do alcino derivado da D-Ribose **82** consiste na proteção das hidroxilas cis do carboidratos com acetona na forma de acetonídeo. Ao mesmo tempo, a proteção da hidroxila anomérica ocorreu através da formação do íon oxônio, seguido da reação com metanol formando o composto **85**. Em uma segunda etapa ocorre uma reação de substituição nucleofílica de segunda ordem ( $S_N2$ ) utilizando brometo propargílico, hidreto de sódio e DMF formando o alcino **89** com rendimentos satisfatórios (**Esquema 19**). Para a síntese do alcino derivado a D-Galactose **83**, inicialmente as hidroxilas secundárias foram protegidas na forma de um bis acetinídeo **86** através da reação com acetona e iodo molecular como catalisador. Em seguida, a hidroxila livre foi funcionalizada através da reação ( $S_N2$ ) utilizando brometo propargílico, hidreto de sódio e DMF formando o alcino **90**.<sup>191-193</sup> A proteção das hidroxilas da D-Manose **84** também ocorreu através da reação com acetona e iodo, formando o bis-acetonídeo **87**, após contração do anel. Em um segundo momento, ocorre à reação de um hemiacetal com brometo propargílico formando o alcino **91** da mesma forma que os demais alcinos descritos.



**Esquema 19.** Esquema sintético para obtenção dos alcinos de carboidratos **89-91**.

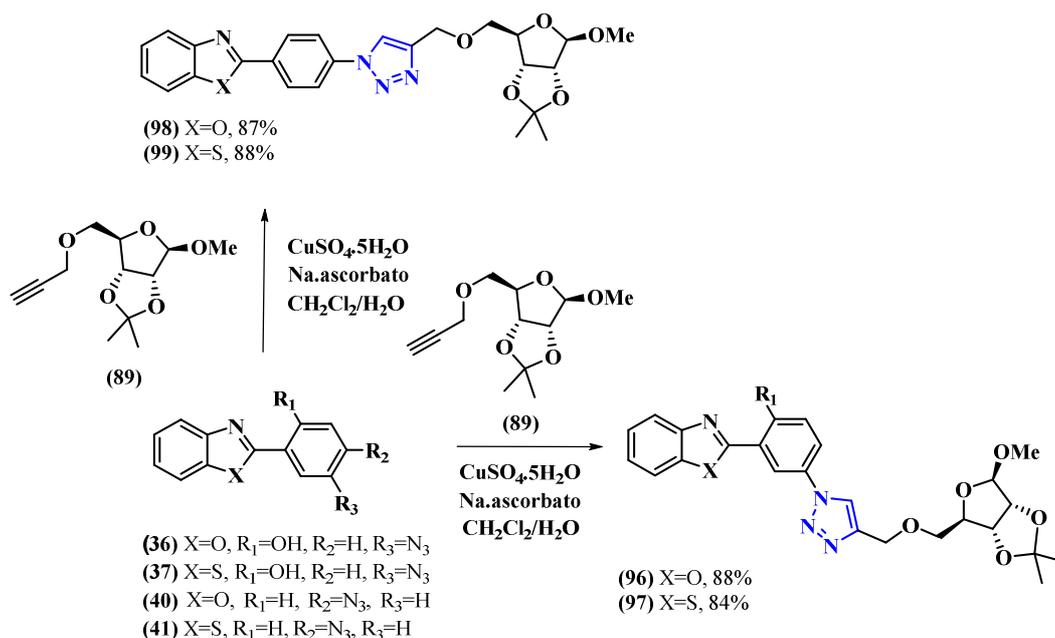
Também foi sintetizado um derivado com estereoquímica complementar a D-Ribose. A síntese do alcino derivado da D-manose foi realizada em cinco etapas conforme **Esquema 20**. Inicialmente foi realizada a proteção das hidroxilas com acetona e metanol em meio ácido, formando o bis-acetonídeo **87**.<sup>194</sup> Após foi realizada a desproteção seletiva do acetonídeoexocíclico com solução de ácido acético, levando a formação do diol vicinal **92**. Em seguida foi realizada a clivagem oxidativa de **92** com periodato de sódio levando a formação do aldeído **93**.<sup>193</sup> O aldeído **93** foi reduzido com boridreto de sódio em meio alcoólico ao respectivo álcool **94**. O álcool **94** foi submetido a uma reação  $\text{S}_{\text{N}}2$  através da reação com álcool propargílico resultando no alcino **95** em bom rendimento.



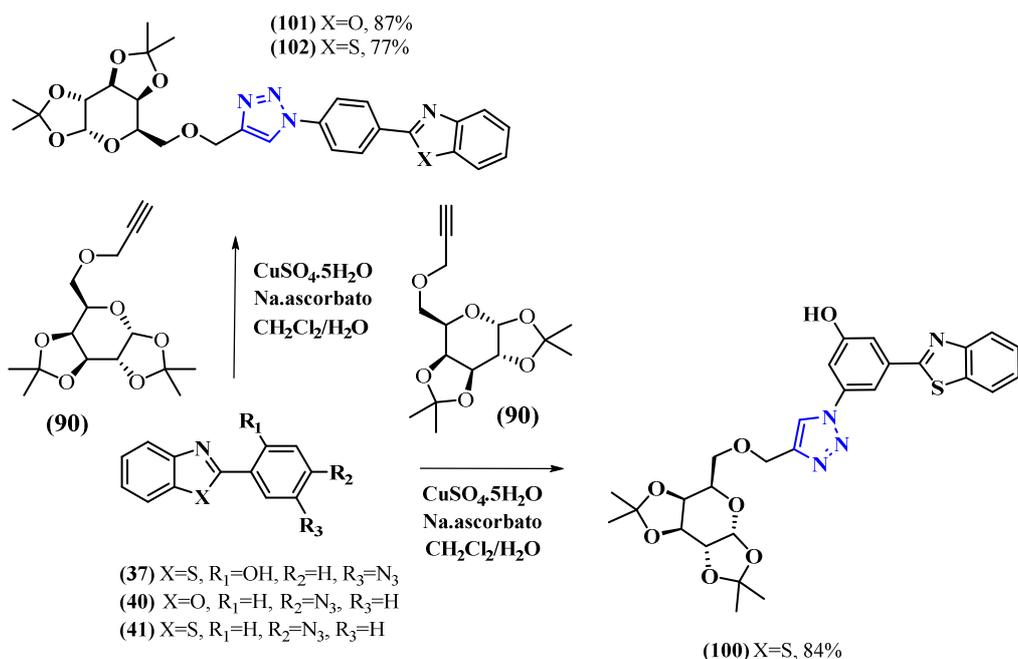
**Esquema 20.** Síntese do alcino **95** derivado da D-manose (**84**).

#### 4.4. Síntese dos glicoconjugados do tipo 1,2,3-triazóis

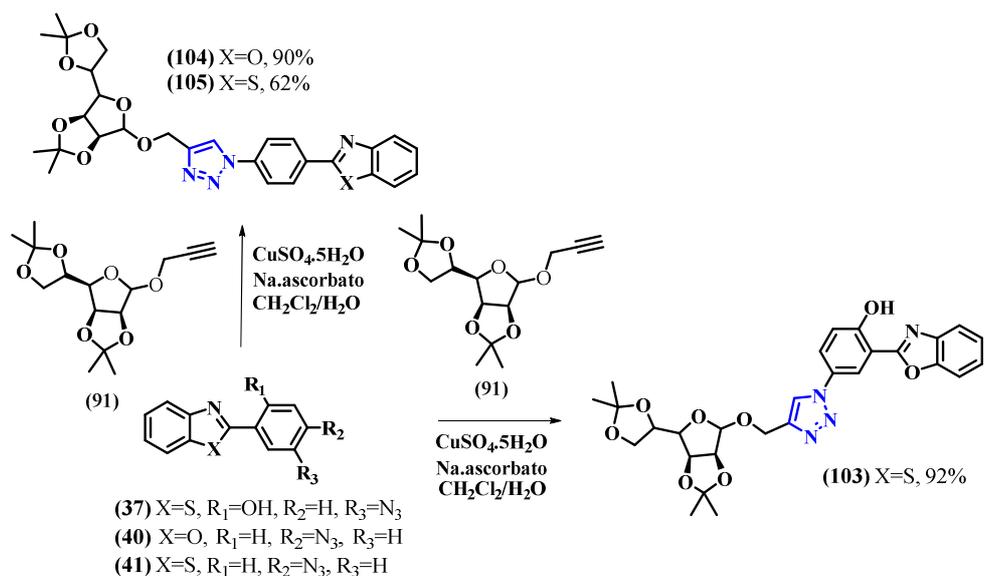
Após a síntese das azidas e dos alcinos realizou-se a síntese dos glicoconjugados desejados a partir dos alcinos de carboidratos como acetileno terminal e as azidas derivadas de benzoxazol como dipolarófilo. A metodologia utilizada para a síntese foi a cicloadição de azidas e acetilenos catalisado por cobre (CuAAC).<sup>94</sup> Os compostos triazólicos foram obtidos em bons rendimentos após purificação por cromatografia em coluna utilizando diclorometano e metanol como eluente (95:5). A seguir estão representados os esquemas reacionais para a síntese dos glicoconjugados desejados (**Esquema 21-24**), que foram separados de acordo com os diferentes alcinos de carboidratos utilizados.



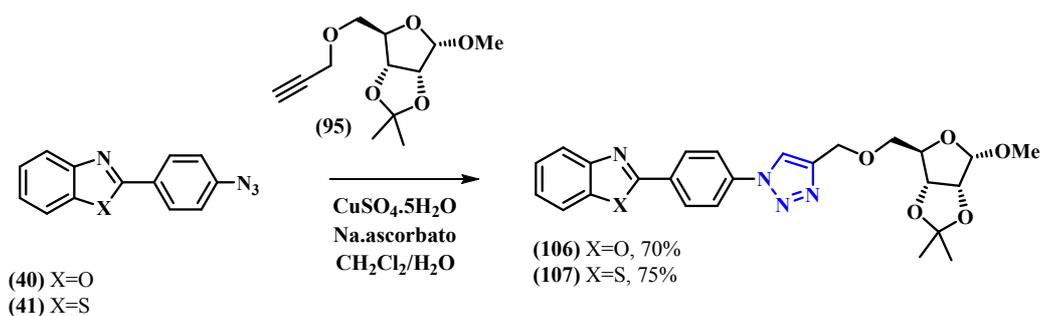
**Esquema 21.** Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados **96-99**.



**Esquema 22.** Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados **100-102**.



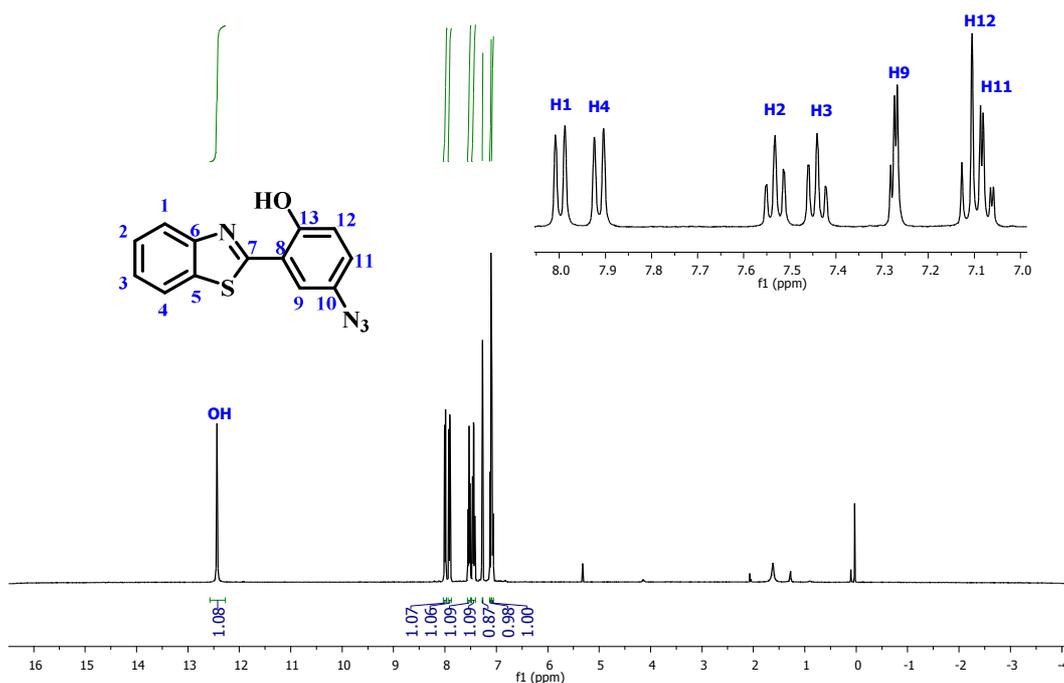
**Esquema 23.** Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados **103-105**.



**Esquema 24.** Esquema sintético para obtenção dos glicoconjugados **106-107**.

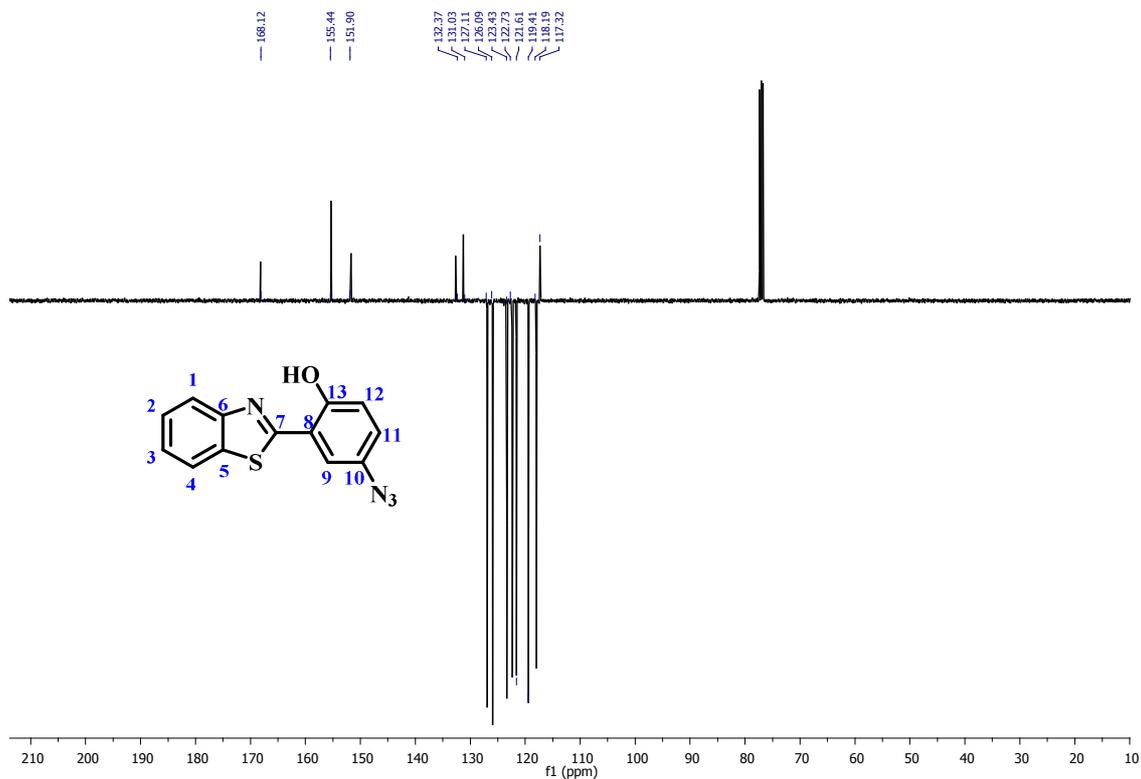
#### 4.5. Caracterização Espectroscópica das azidas

As estruturas das azidas foram confirmadas através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , onde foi observado, por exemplo, para o composto **37** (Figura 23) a ausência dos sinais dos hidrogênios do grupo amino, em aproximadamente 4,0 ppm, indicando que todo o material de partida foi consumido formando o produto de interesse. Além disso, foi possível observar em 12,44 ppm um singleto referente ao sinal do hidrogênio da hidroxila fenólica. Os hidrogênios aromáticos aparecem entre 7,05-8,00 ppm. Em 8,00 e 7,92 ppm observam-se dois dubletos com constantes de acoplamento ( $J$ ) de 8,1 Hz e 7,9 Hz, referentes aos hidrogênios H1 e H4. Na região de 7,55 ppm e 7,44 ppm aparecem dois multipletos referente aos hidrogênios H2 e H3. Em 7,28 ppm observa-se um dubleto referente ao hidrogênio H9 com  $J=2,8$  Hz. Além desses, observam-se também em 7,12 ppm e 7,08 ppm um dubleto com  $J=8,8$  Hz referente ao hidrogênio H12 e um duplo dubleto com  $J=8,8$  Hz e  $J=2,5$  HZ, referentes aohidrogênios H11.



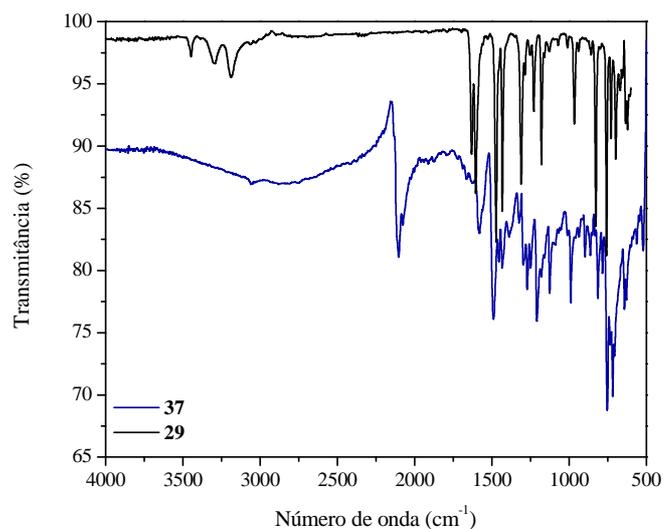
**Figura 23.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **37** em  $\text{CDCl}_3$  com ampliação da região aromática.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) de **37** (Figura 24) observam-se todos os sinais referentes a estrutura carbônica do composto desejado, a saber, 168,3 (C7); 155,3 (C13, C-O); 151,7 (C6, C-N); 132,6 (C10); 131,3 (C5); 126,9 (C11); 126,1(C2); 123,3 (C3); 122,7 (C1); 121,6 (C4); 119,4 (C11); 117,9 (C12); 117,3 (C8).



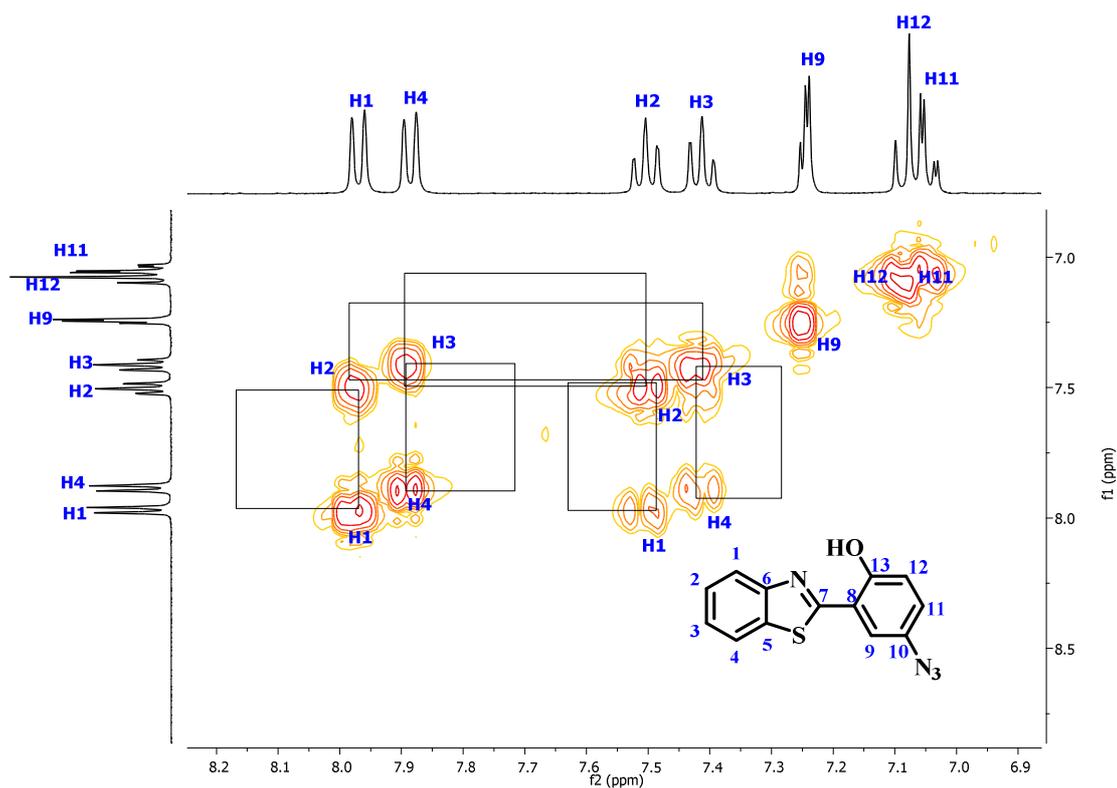
**Figura 24.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (100 MHz) da azida **37** em  $\text{CDCl}_3$ .

O espectro de absorção na região do infravermelho da azida **37** (**Figura 25**) apresenta diferenças importantes em relação ao precursor que evidencia a formação do produto de interesse. As bandas provenientes do estiramento assimétrico e simétrico do grupo  $\text{NH}_2$  não estão mais presentes. Além disso, observa-se em  $2106\text{ cm}^{-1}$  sinal referente do estiramento do grupo  $-\text{N}_3$ . As demais azidas obtidas foram caracterizadas de forma análoga e os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e FTIR encontram-se em anexo.



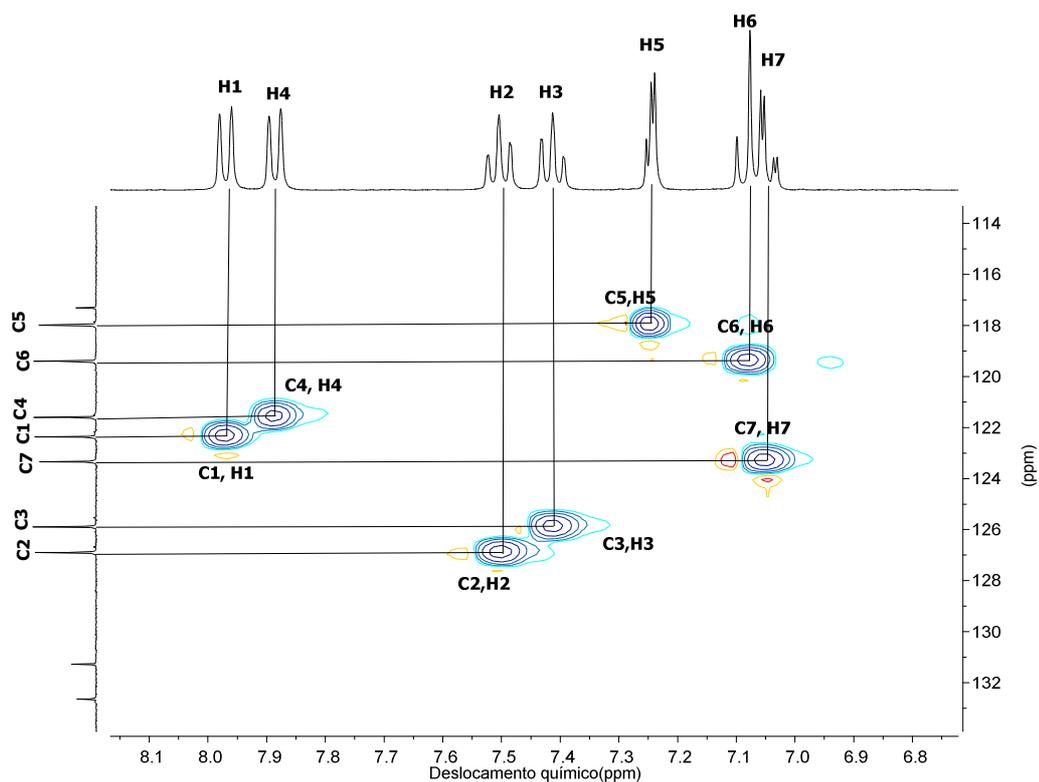
**Figura 25.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **37**.

Com o objetivo de confirmar a atribuição dos sinais dos hidrogênios da azida **37** foi realizada a técnica de RMN bidimensional (2D) COSY. Nessa técnica um espectro bidimensional é mostrado num plano junto com dois espectros de  $^1\text{H}$  iguais, um no eixo horizontal acima e outro no eixo vertical à esquerda. No espectro da **Figura 26** é possível observar sinais em 2D relativos aos acoplamentos homonucleares hidrogênio-hidrogênio a três ligações ( $\text{H-C-H}$ ,  $^3J$ ). Um conjunto de sinais 2D referente aos próprios picos 1D é observado formando uma diagonal, uma vez que o mesmo espectro é apresentado nos dois eixos, portanto há uma simetria tendo os mesmos sinais acima e abaixo desse conjunto. No espectro da **Figura 26** é possível confirmar as atribuições feitas para os hidrogênios, onde é possível observar as manchas referentes aos acoplamentos H2-H3, H2-H1, H3-H4, H3-H2, H1-H2, H4-H3. Além disso, é possível confirmar o acoplamento de H11-H12 e H9-H11.



**Figura 26.** Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) da azida **37** entre 7,0 e 8,0ppm.

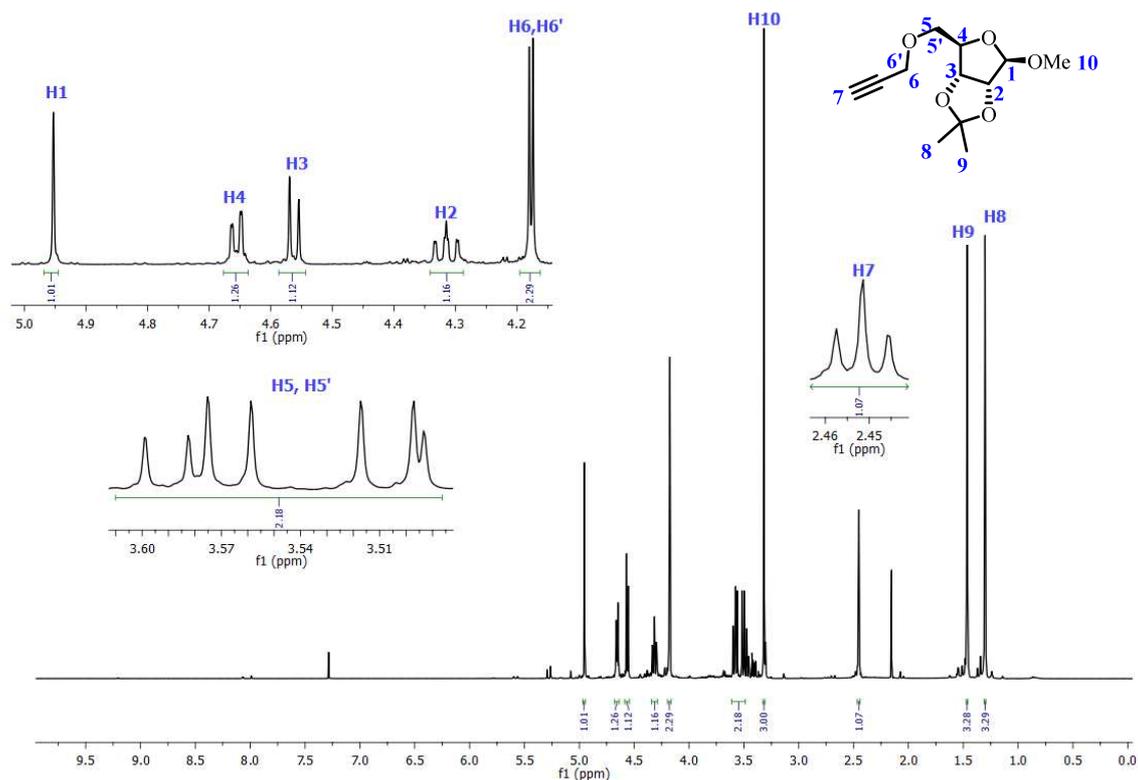
Utilizou-se também a técnica de RMN 2D HSQC com objetivo de atribuir os sinais dos carbonos, onde o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  é mostrado no eixo horizontal acima, e o espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no eixo vertical à esquerda. No espectro estão indicados no eixo horizontal os hidrogênios aos quais correspondem os sinais, no eixo vertical os carbonos e no plano os acoplamentos aos quais corresponde cada sinal (**Figuras 27**). Uma linha foi traçada para auxiliar visualmente os acoplamentos, que são todos do tipo heteronucleares carbono-hidrogênio ( $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ ,  $^1J$ ). Com base nos acoplamentos observados foi possível atribuir, de forma correta, os carbonos da azida: C1-H1, C2-H2, C3-H3, C4-H4, C5-H5, C6-H6 e C7-H7.



**Figura 27.** Ampliação do espectro de RMN 2D HSQC da azida **37** entre 6,8-8,1 ppm ( $^1\text{H}$ ) e 114-134 ppm ( $^{13}\text{C}$ ).

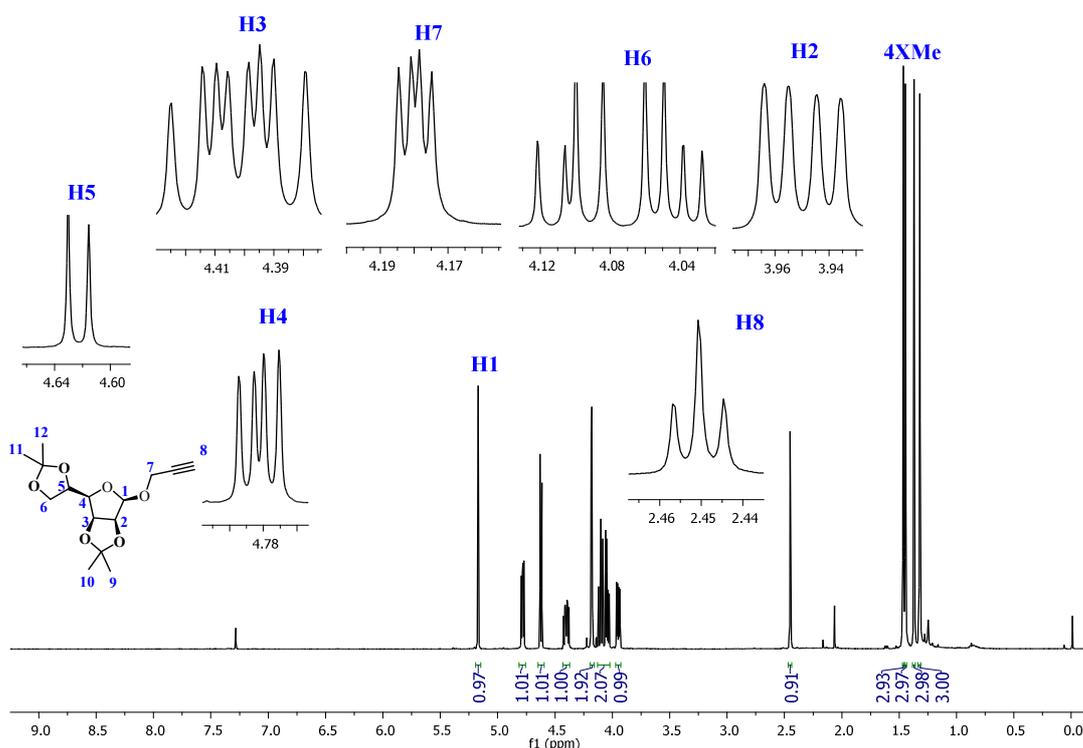
#### 4.6. Caracterização Espectroscópica dos alcinos

Na **Figura 28** é apresentado o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do alcino **89**, onde é possível observar sinais característicos para esse produto. Em 4,94 ppm observa-se um singlete referente ao hidrogênio anomérico (H1). Em 4,18 ppm observa-se um dubleto com constante de acoplamento ( $J=2,9$  Hz) referente aos hidrogênios H6 e H6' que acoplam com o hidrogênio do grupo alcino H7. O sinal em 3,60 e 3,52 ppm é referente aos hidrogênios H5 e H5' ligados ao mesmo carbono e aparecem como dois dubletos de dubleto que além de acoplar H4 também ocorre acoplamento geminal, mostrando assim seu caráter diastereotópico. Além disso, observa-se em 2,45 ppm um tripleto com  $J=2,4$  Hz referente ao hidrogênio do grupo alcino (H7) que acopla com os hidrogênios H6 e H6'. Os hidrogênios das metilas H8, H9 e H10 são observados em 3,16 ppm, 1,46 ppm e 1,30 ppm.



**Figura 28.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do alcino **89** em  $\text{CDCl}_3$  com ampliação.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do alcino **91** (**Figura 29**), é possível observar os sinais característicos da molécula. Em 2,45 ppm observa-se um triplete, com constante de acoplamento ( $J=2,4$  Hz) referente ao hidrogênio H8 que acopla com os hidrogênios H7. Na sequência, observa-se um duplo dubleto com constantes de acoplamento ( $J=7,8$  e  $3,6$  Hz), referente ao hidrogênio H2 devido ao acoplamento com H3 e H1. Entre 4,12 ppm e 4,02 ppm observa-se hidrogênio H6 e H6' ligados ao mesmo carbono que aparecem como dois duplo dubleto devido o acoplamento com H5 ( $^3J=6,2$  e  $4,3$  Hz) e acoplamento geminal  $^2J=8,7$  Hz. Os hidrogênios H2 e H4 aparecem como duplo dubleto com constantes de acoplamento  $J=7,8$  Hz e  $3,6$  Hz e  $J=5,9$  Hz e  $3,6$  Hz, respectivamente. O sinal com maior deslocamento químico, referente ao hidrogênio anomérico H1 aparece como um singlete em 5,17 ppm. Os hidrogênios das metilas H9, H10, H11 e H12, aparecem como três quatro singletos na região entre 1,26 ppm e 1,32 ppm.

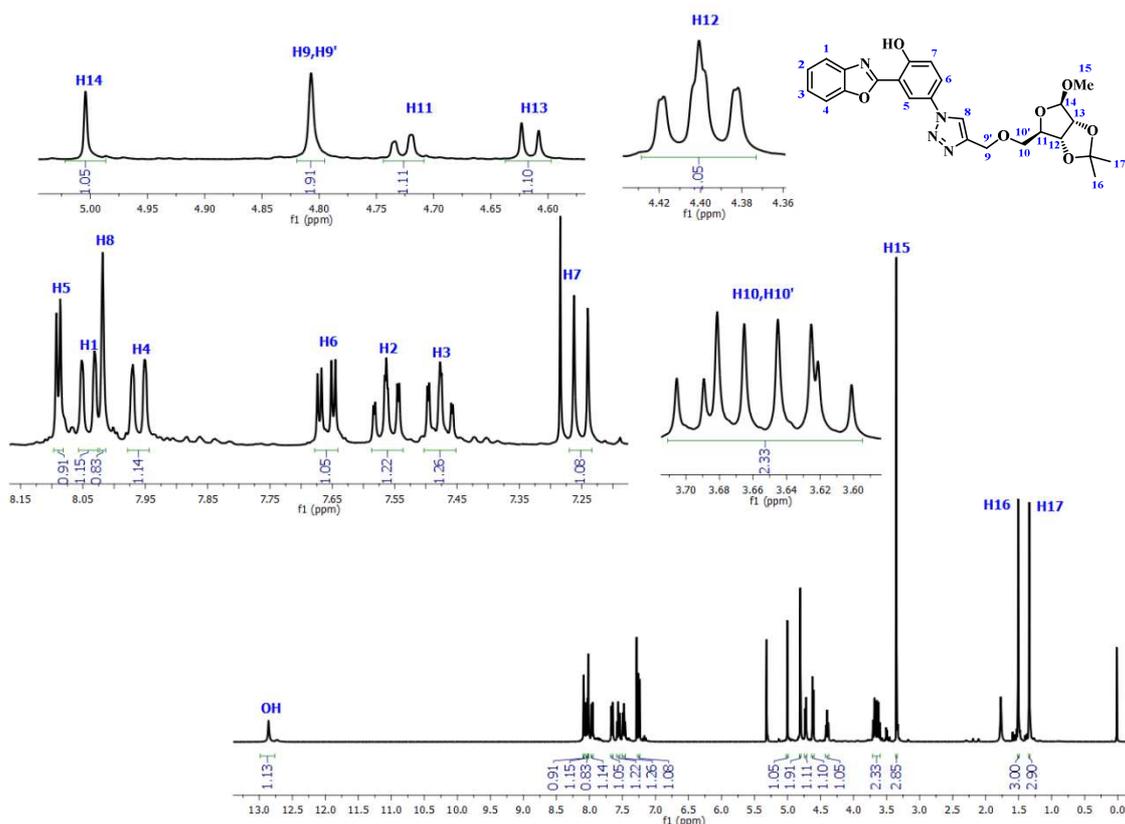


**Figura 29.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do alcino **91** em  $\text{CDCl}_3$  com ampliação.

#### 4.7. Caracterização Espectroscópica dos glicoconjugados

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do glicoconjugado **96** é apresentado na **Figura 30**. Em 12,86 ppm observa-se um sinpleto referente ao hidrogênio da hidroxila fenólica. O sinal em 8,02 ppm que aparece como um singleto é característico de hidrogênio do anel triazólico (H8) comprovando dessa forma, a formação do produto de interesse. Na região entre 8,09 ppm e 7,24 ppm é possível observar os hidrogênios aromáticos do precursor benzazólico (H1-7) que são um dubleto em 8,09 ppm referente ao hidrogênio H5 com constante de acoplamento de  $J = 2,5$  Hz, dois dubletos em 8,04 ppm e 9,97 ppm referente ao hidrogênios H1 e H4 com constante de acoplamento de  $J = 7,7$  Hz e 7,4 Hz. O hidrogênio H6 aparece como um duplo dubleto devido ao acoplamento com H5 e H7 com constante de acoplamento de 6, 3 e 2,5 Hz. Os hidrogênios H2 e H3 aparecem como duplo dubleto de dubletos com  $J = 8,3$  Hz, 7,3 Hz e 1,2 Hz. Em 7,25 ppm observa-se um dubleto que refere-se a H7 com  $J = 8,8$  Hz. Na região entre 5,00-1,34 ppm encontram-se os hidrogênios do núcleo do carboidrato. Em 5,00 ppm e 4,80 ppm observa-se dois singletos referente ao hidrogênio H14, H9 e H9'. Observa-se também em 4,72 ppm e 4,62 ppm dubletos referente aos hidrogênios H11 e H13 com  $J = 5,6$  Hz e

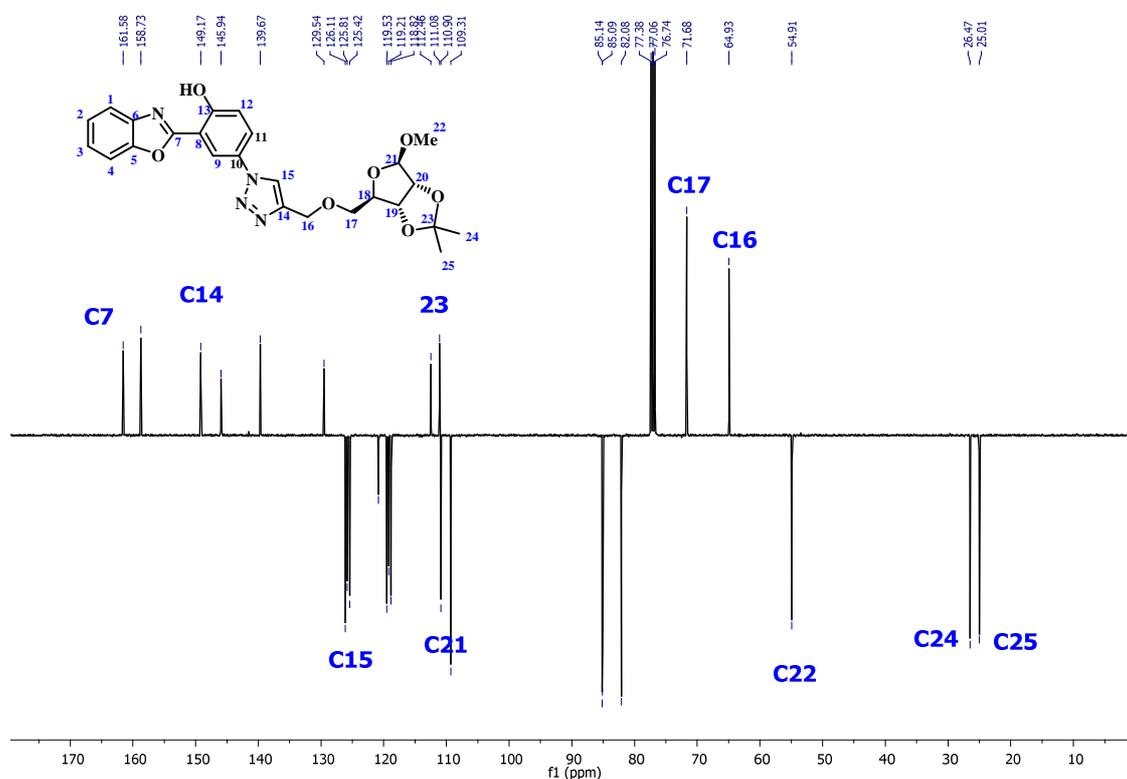
6,0 Hz respectivamente. O tripleto em 4,42 ppm é referente ao hidrogênio H12 que acopla com H11 e H13 com  $J=7,2$  Hz. Entre 3,70 ppm e 3,68 ppm observa-se dois dubletos de dubletos referentes aos hidrogênios H10 e H10' com acoplamento geminal  $^2J= 17,6$  Hz, mostrando seu caráter diastereotópico. Também se observa os das metilas em 3,35 ppm, 1,51 ppm e 1,34 ppm.



**Figura 30.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **96** em  $\text{CDCl}_3$  com ampliação.

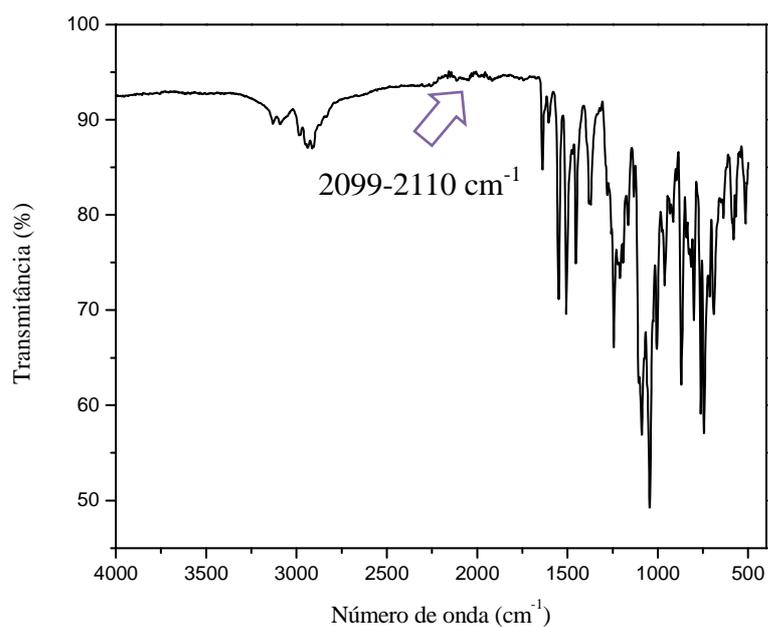
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) do glicoconjugado **96** (**Figura 31**) apresenta todos os 25 carbonos esperados para essa molécula. Nesse espectro os carbonos quaternários e  $\text{CH}_2$  estão em fase positiva e os carbonos  $\text{CH}$  e  $\text{CH}_3$  estão em fase negativa. Entre 162 ppm e 110 ppm observa-se os sinais dos carbonos do precursor benzazazólico, onde o carbono mais desblindado localizado em 161,6 ppm refere-se ao quaternário C7 ligado ao nitrogênio do anel azólico. Em 149,2 ppm e 126,1 ppm observa-se os carbonos C14 e C15 do anel triazólico. Em 112,4 ppm está localizado o carbono quaternário C23 referente ao acetal cíclico da molécula. O carbono anomérico C21 aparece em 110,9 ppm seguido pelos outros três carbonos do anel do núcleo do

carboidrato. Os carbonos C16 e C17, referente aos metilênicos CH<sub>2</sub>, aparecem na região entre 71,6 ppme 64,9 ppm. Por fim, os carbonos das três metilas, C22 ligada ao oxigênio e C24 e C25 ligadas ao carbono quartenário do acetal aparecem entre 54,9 ppme 25,0 ppm.



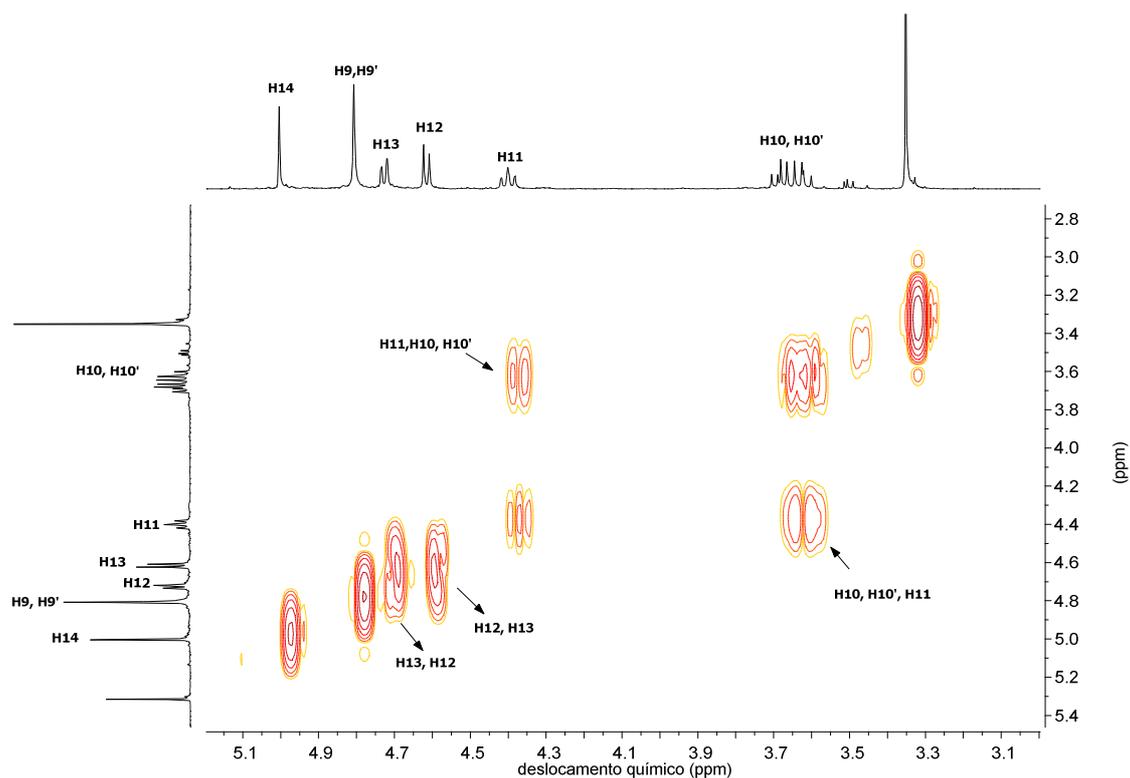
**Figura 31.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (APT) (100 MHz) do glicoconjugado **96** em CDCl<sub>3</sub>.

Na análise do espectro na região do Infravermelho do glicoconjugado **96** foi possível observar as bandas estiramentos CH aromático do núcleo benzoxazol em 3126 cm<sup>-1</sup>, CH alifático do núcleo carboidrato em 2899 cm<sup>-1</sup> e CH aromático, proveniente do anel triazólico, em 3073 cm<sup>-1</sup>. Além disso, observou-se o desaparecimento de uma banda intensa de absorção na região de entre 2099-2110 cm<sup>-1</sup>, referente ao estiramento da ligação N=N do grupo azida existente no precursor benzoxazol (**Figura 32**). Resultados semelhantes foram obtidos para os demais glicoconjugados sintetizados. (Anexo)



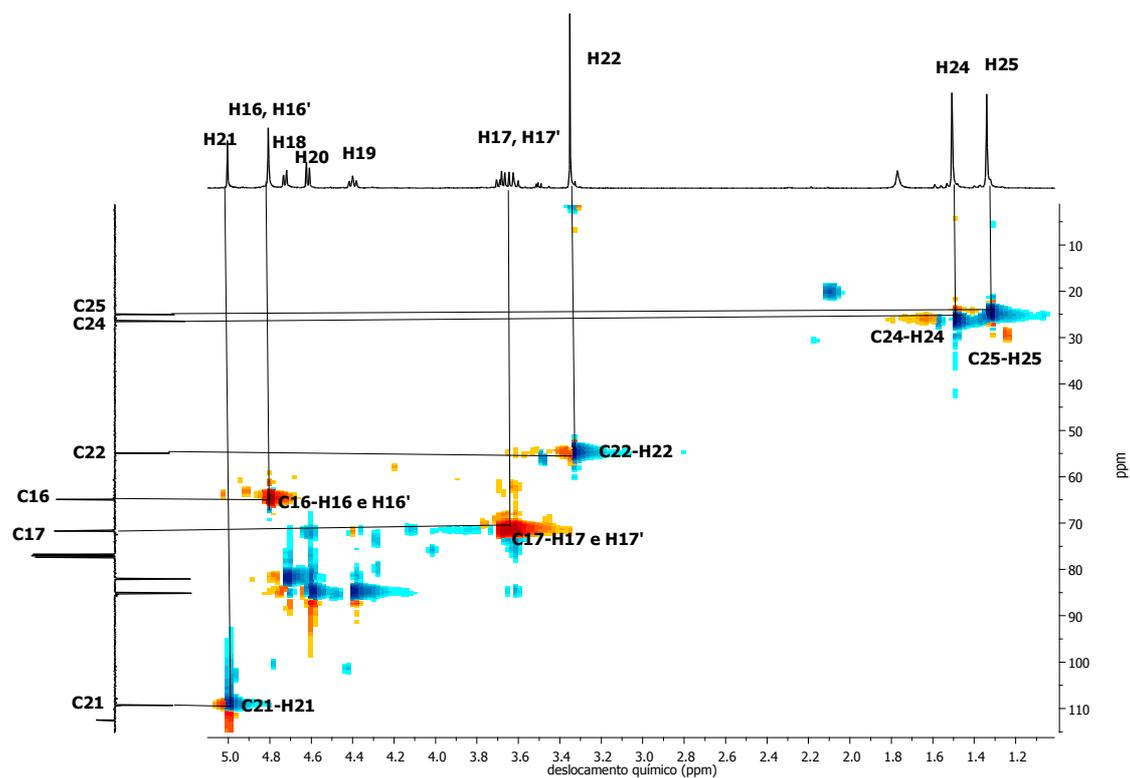
**Figura 32.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **96**.

Na **Figura 33** é apresentado o espectro de RMN bidimensional (2D) COSY do composto **96** com ampliado na região dos sinais do carboidrato. Nesse espectro é possível confirmar as atribuições realizadas para os hidrogênios da molécula, onde se observam as manchas referentes aos acoplamentos H11-H10, H11-H10', H10-H11, H10'-H11, H12-H13, H13-H12 e H12-H11.



**Figura 33.** Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **96** entre 3,1-5,2 ppm.

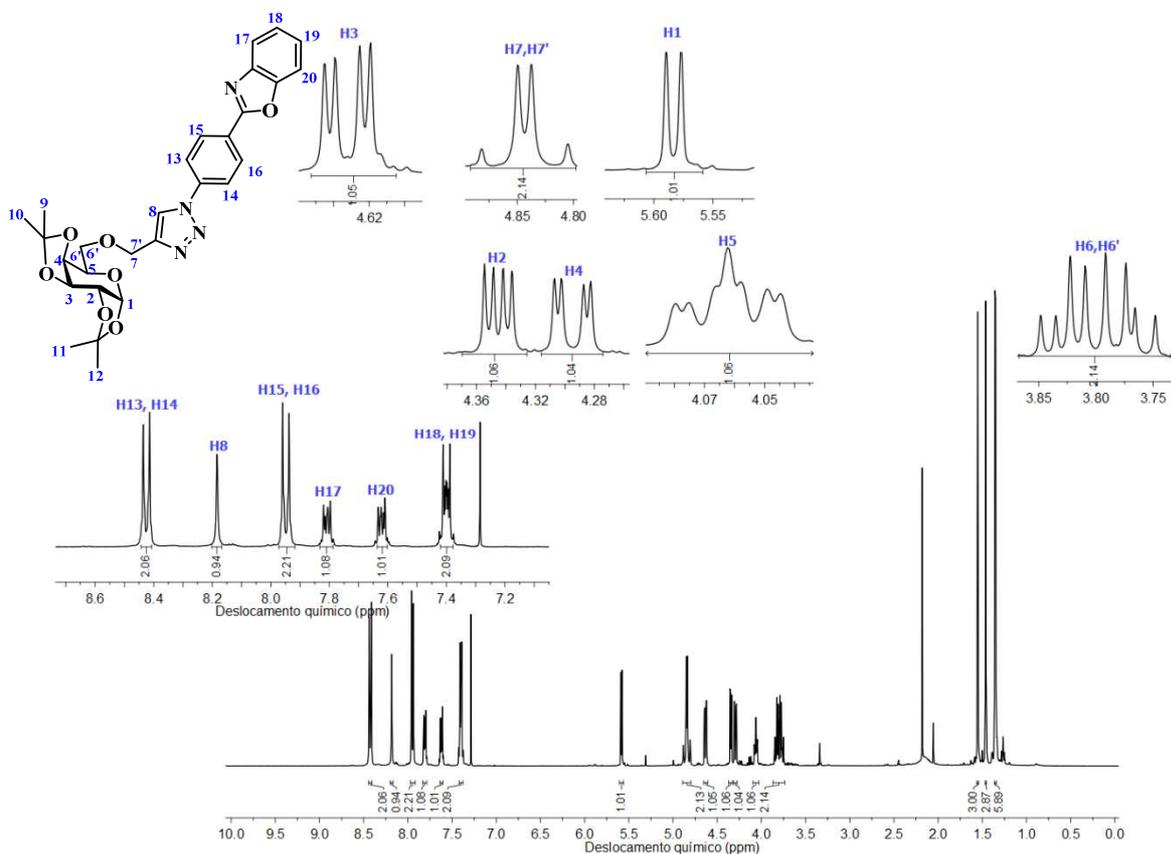
Na **Figura 34** é apresentado o espectro de RMN 2D HSQC do composto **96** com ampliação na região do núcleo do carboidrato. Uma linha foi traçada para auxiliar visualmente os acoplamentos, que são todos do tipo heteronucleares carbono-hidrogênio ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ,  $^1J$ ). Com base nos acoplamentos observados foi possível atribuir, de forma correta, os carbonos do composto **96** C16-H16, C16-H16', C17-H17, C17-H17', C18-H18, C19-H19, C20-H20, C22-H22, C24-H24 e C25-H25.



**Figura 34.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **96** com ampliação na região entre 1,2-5,0 ppm ( $^1\text{H}$ ) e 10-110 ppm ( $^{13}\text{C}$ ).

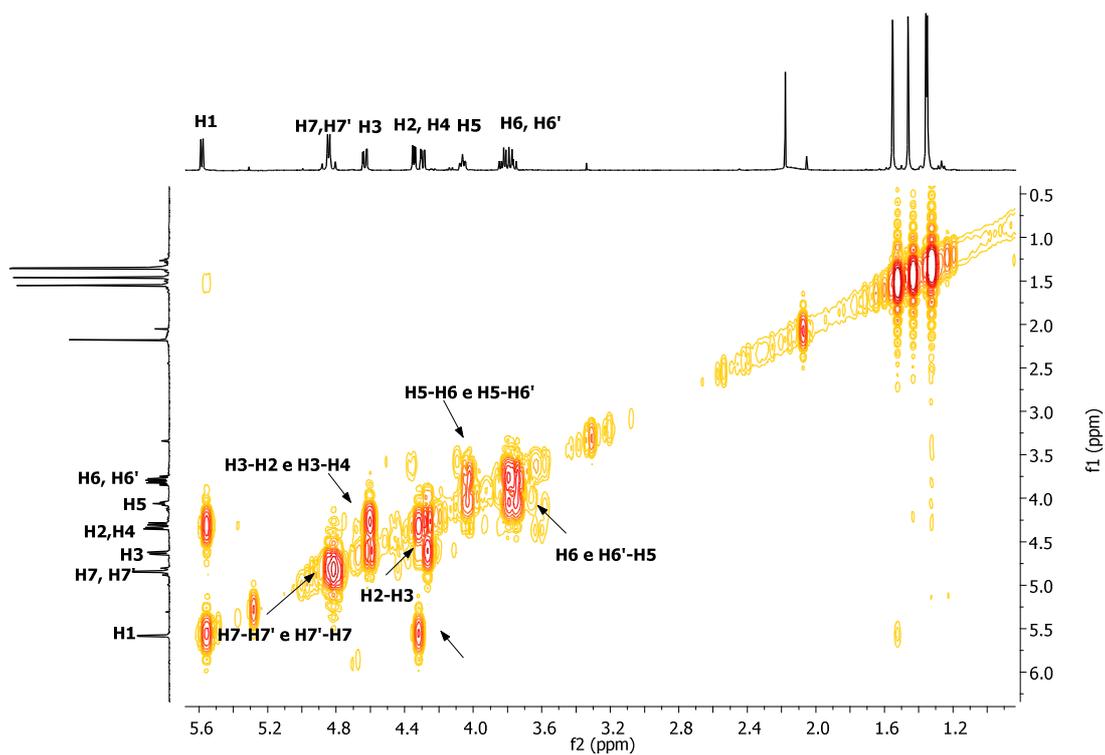
Na **Figura 35** é apresentado o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do produto **101**. O singlete localizado em 8,23 ppm é característico de hidrogênio do anel triazólico (H8) comprovando dessa forma a formação do produto de interesse. Os hidrogênios aromáticos do precursor benzazólico (H13-20) estão localizados na região entre 8,35 ppm e 7,40 ppm. Os dubletes em 8,42 ppm e 7,95 ppm com constante de acoplamento ( $J=8,7$  Hz e 8,4 Hz) referem-se aos hidrogênios H13, H14, H15 e H16. Os hidrogênios H17-H20 aparecem como multipletos na região entre 7,84 ppm e 7,38 ppm. Na região entre 5,60-1,37 ppm encontram-se os hidrogênios do núcleo do carboidrato. Em 5,60 ppm observa-se um dubleto com  $J=5,0$  Hz referente ao hidrogênio anomérico H1. Observa-se também entre 4,88 ppm e 4,83 ppm dois dubletos referente aos hidrogênios H7 e H7' com constante de acoplamento de 12,8 Hz. O duplo dubleto em 4,64 ppm é referente ao hidrogênio H3 que acopla com H2 e H4 com  $J=7,9$  Hz e 2,4 Hz. Em 4,35 ppm e 4,31 ppm observa-se um duplo dubleto referente aos hidrogênios H2 e H4 com constantes de acoplamento de 5,0 Hz e 2,7 Hz e 7,9 Hz e 1,8 Hz. Em 4,06 ppm observa-se um duplo dubleto de dubleto referente ao hidrogênio H5 devido ao acoplamento com H4 com  $J=1,7$  Hz e acoplamento com H6 e H6' com diferentes

constantes de acoplamento ( $J=7,2$  Hz e  $5,2$  Hz). Entre 3,86-3,73 ppm observa-se dois doubletos de doubletos referentes aos hidrogênios H6 e H6' ligados ao mesmo carbono com acoplamento geminal  $^2J=17,3$  Hz mostrando seu caráter diastereotópico. Os hidrogênios das metilas são observados na região entre 1,55 ppm e 1,35 ppm.

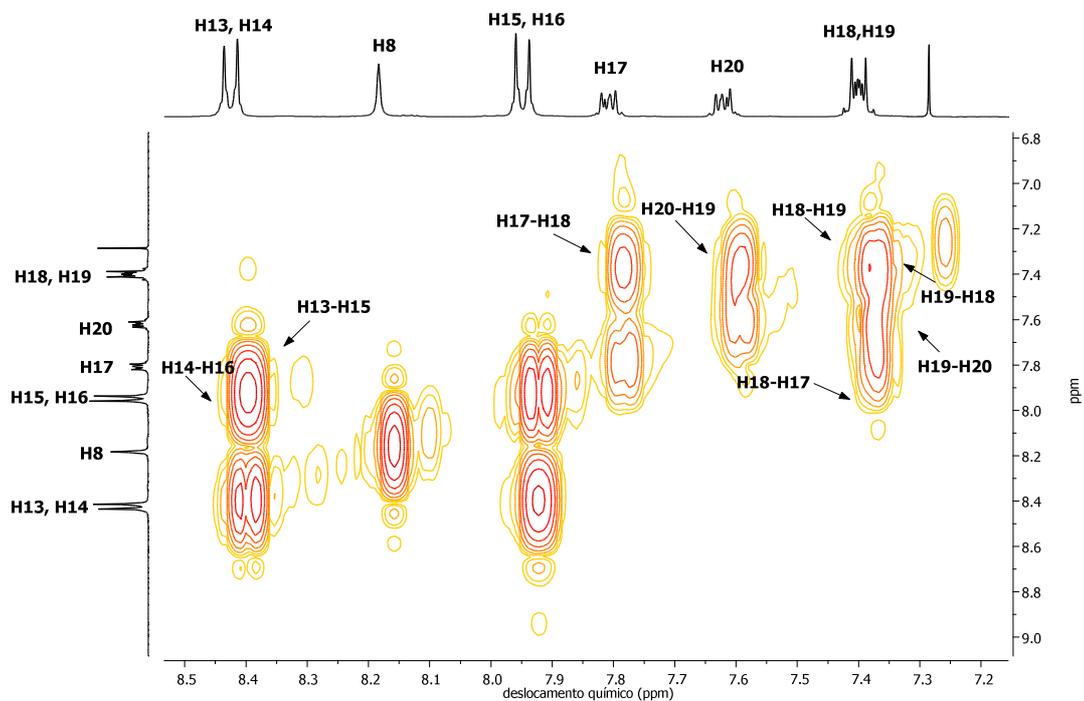


**Figura 35.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **101** em  $\text{CDCl}_3$  com ampliação.

O espectro de RMN bidimensional (2D) COSY do composto **101** com ampliação na região dos sinais do carboidrato é apresentado na **Figura 36**. Nesse espectro é possível confirmar as atribuições realizadas para os hidrogênios do composto, onde observa-se as manchas referentes aos acoplamentos H3-H2, H3-H4, H2-H3, H7-H7', H7'-H7, H5-H6 e H5-H6'. Além disso, é possível confirmar na **Figura 37**, as atribuições realizadas para os hidrogênios do núcleo benzoxazol, onde se observam as manchas referentes aos acoplamentos H13-H15, H14-H16, H17-H18, H18-H17, H18-H19, H19-H18 e H20-H19 e H19-H20.

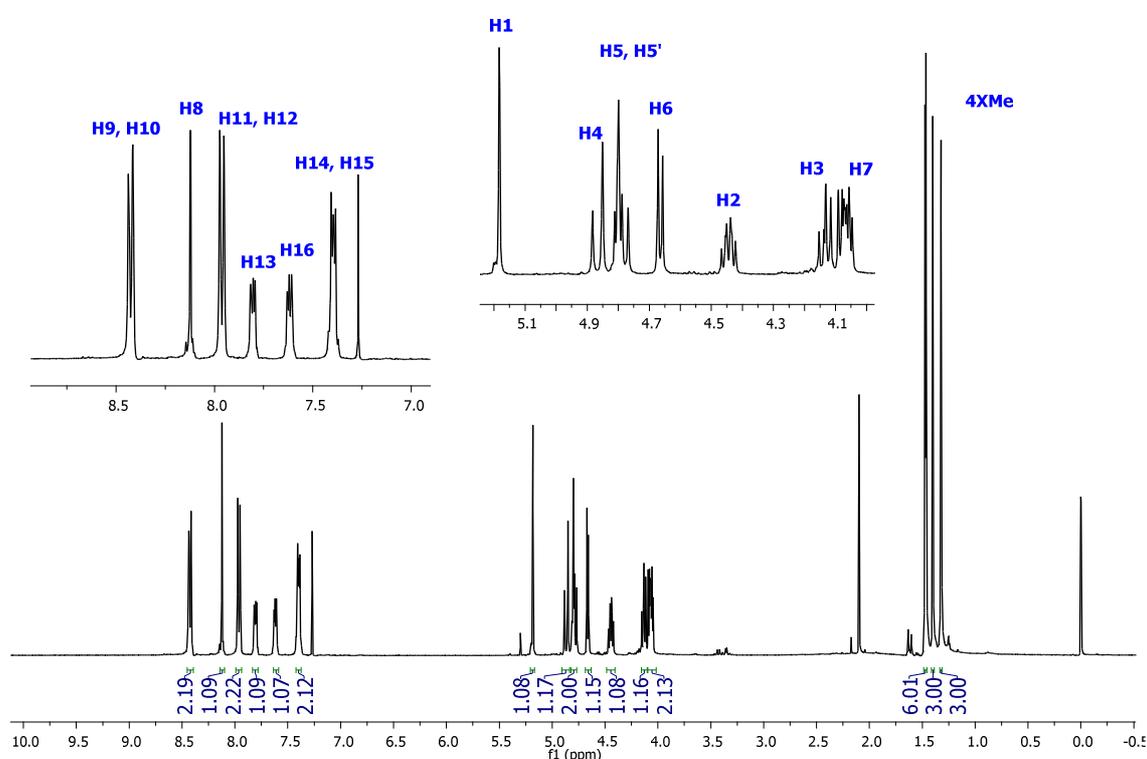


**Figura 36.** Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **101** entre 1,2-5,6 ppm.



**Figura 37.** Ampliação do espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **101** com ampliação entre 7,2-8,5 ppm.

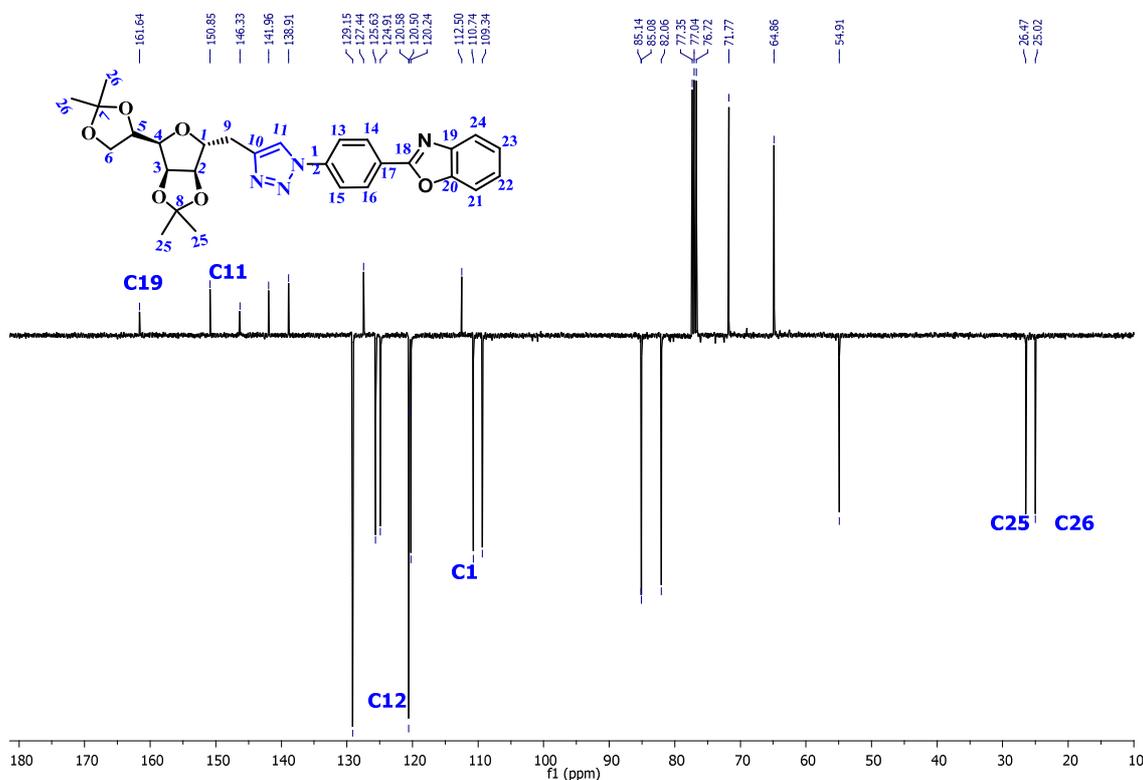
Para o glicoconjugado derivado da manose **104**, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a exemplo dos demais compostos descritos anteriormente, também apresenta os sinais característicos esperado para esse composto (**Figura 38**). Em 8,12 ppm observa-se um singlete mais desblindado referente ao hidrogênio H8 do anel triazólico, evidenciando dessa forma, a formação do produto de interesse. Os hidrogênios do núcleo benzazólico (H9-16) estão localizados na região entre 8,41 e 7,38 ppm. Na região entre 5,60-1,37 ppm encontram-se os hidrogênios do núcleo do carboidrato. Os hidrogênios H4 e H2 aparecem como dubletos em 4,87 e 4,66 ppm com constante de acoplamento de 12 e 8 Hz respectivamente. Os hidrogênios H3, H5, H5', H7 e H7' aparecem como mutipletos na região entre 4,81 e 4,04 ppm. As quatro metilas aparecem entre 1,47 e 1,32 ppm.



**Figura 38.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **104** em  $\text{CDCl}_3$  com ampliação.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) do glicoconjugado **104** (**Figura 39**) apresenta todos os 26 carbonos esperados para essa molécula. Entre 161-109 ppm observam-se os sinais dos carbonos do precursor benzazólico, onde o carbono mais desblindado localizado em 161,6 ppm refere-se ao quartenário C19 ligado ao nitrogênio do anel azólico. Em 146,3-120,6 ppm observa-se os carbonos C10 e C11 do anel triazólico. O carbono anomérico C1 aparece em 110,7 ppm seguido pelos outros três carbonos do

anel do núcleo do carboidrato. Os carbonos C6 e C9, referente aos metilênicos CH<sub>2</sub>, aparecem na região entre 71,7-64,8 ppm. Os carbonos das quatro metilas dos acetais aparecem em 26,5 e 25,0 ppm.



**Figura 39.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (APT) (100 MHz) do glicoconjugado **104** em CDCl<sub>3</sub>.

Todos os demais glicoconjugados sintetizados nesse trabalho foram caracterizados a través de RMN de <sup>1</sup>H, APT, COSY, HSQC e infravermelho cujos espectros encontram-se em anexo.

## 5. Estudo fotofísico

### 5.1. Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e de Emissão de fluorescência das azidas

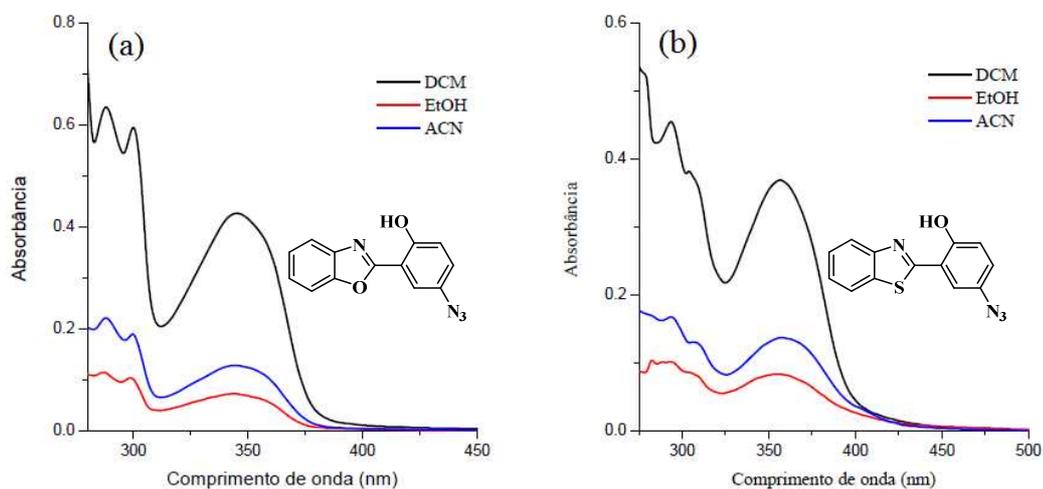
Para a realização das medidas de absorção na região do UV-Vis e de emissão de fluorescência foram preparados soluções de trabalho com concentração de 10<sup>-5</sup> M. O comprimento de onda máximo de absorção de UV-Vis foi utilizado como comprimento de onda de excitação para a obtenção dos espectros de emissão de fluorescência. Todas

as medidas foram realizadas na temperatura ambiente e em solventes com diferentes constantes dielétricas, conforme apresentado na **Tabela 1**.

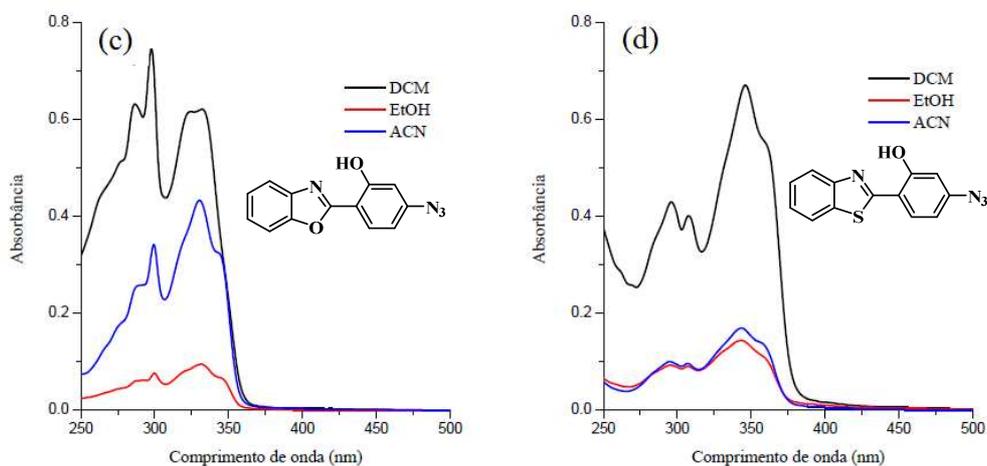
**Tabela 1.** Valores das constantes dielétricas dos solventes utilizados nos estudos fotofísicos.

Solvente	Abreviatura	Constante dielétrica
Diclorometano	DCM	9,1
Etanol	EtOH	24,5
Acetonitrila	ACN	37,5

Os espectros de absorção das azidas **36-41** são mostrados nas **Figuras 40-42**. Os dados relevantes calculados a partir da espectroscopia de absorção UV-Vis para todas as azidas são apresentados na **Tabela 2**.



**Figura 40.** Espectro de absorção na região do UV-Vis das azidas **36** (a) e **37** (b).



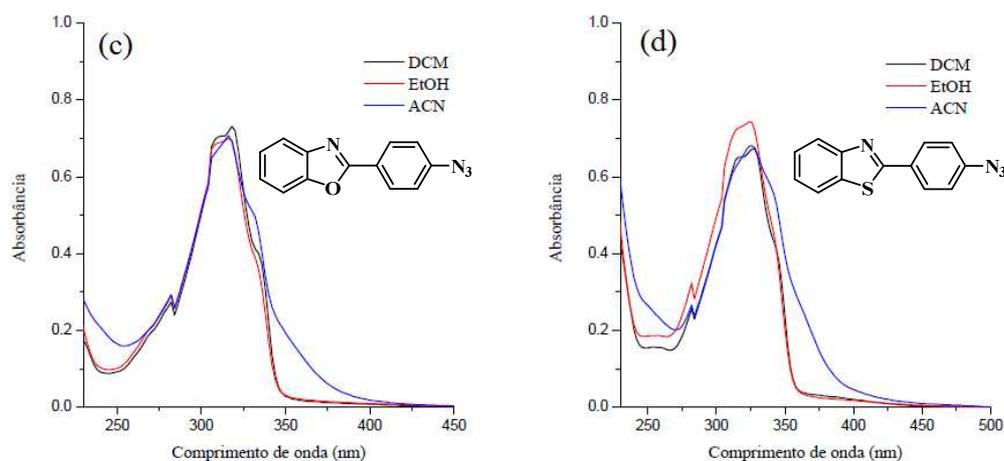
**Figura 41.** Espectro de absorção na região do UV-Vis das azidas **38** (c) e **39** (d).

Nas **Figuras 40-41** são apresentados os espectros de absorção das azidas **36-39**, onde é possível observar uma absorção máxima localizada na região UV entre 330-358 nm com valores de coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) relacionados a transições eletrônicas permitidas de  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Apesar da absorção na região do UV para todas as amostras estudadas, os corantes **36** e **37** apresentam em geral uma faixa de absorção mais intensa localizada abaixo de 300 nm, atribuída ao cromóforo do benzoxazol. Esta característica fotofísica pode ser relacionada à diferença de planaridade dos corantes estudados,<sup>104,105</sup> onde as estruturas menos planas presentes nos compostos **36** e **37** não favorecem uma deslocalização eletrônica mais efetiva entre os dois sistemas  $\pi$  (anéis fenólicos e benzazólicos), o que é confirmado levando em consideração os valores do coeficiente de extinção. Além disso, também foi possível observar que os derivados benzotiazólicos **37** e **39** apresentaram bandas de absorção com deslocamento para o vermelho, apesar dos benzoxazol (**36** e **38**), relacionados à melhor delocalização do elétron permitida pelo átomo de enxofre no núcleo benzotiazólico, como já observado em compostos semelhantes.

**Tabela 2.** Dados obtidos a partir da espectroscopia de absorção na região do UV-Vis para as azidas **36-41**, onde  $\lambda_{\text{abs}}$  (nm/cm<sup>-1</sup>) é o máximo de absorção e  $\epsilon$  é o coeficiente de absorvidade molar.

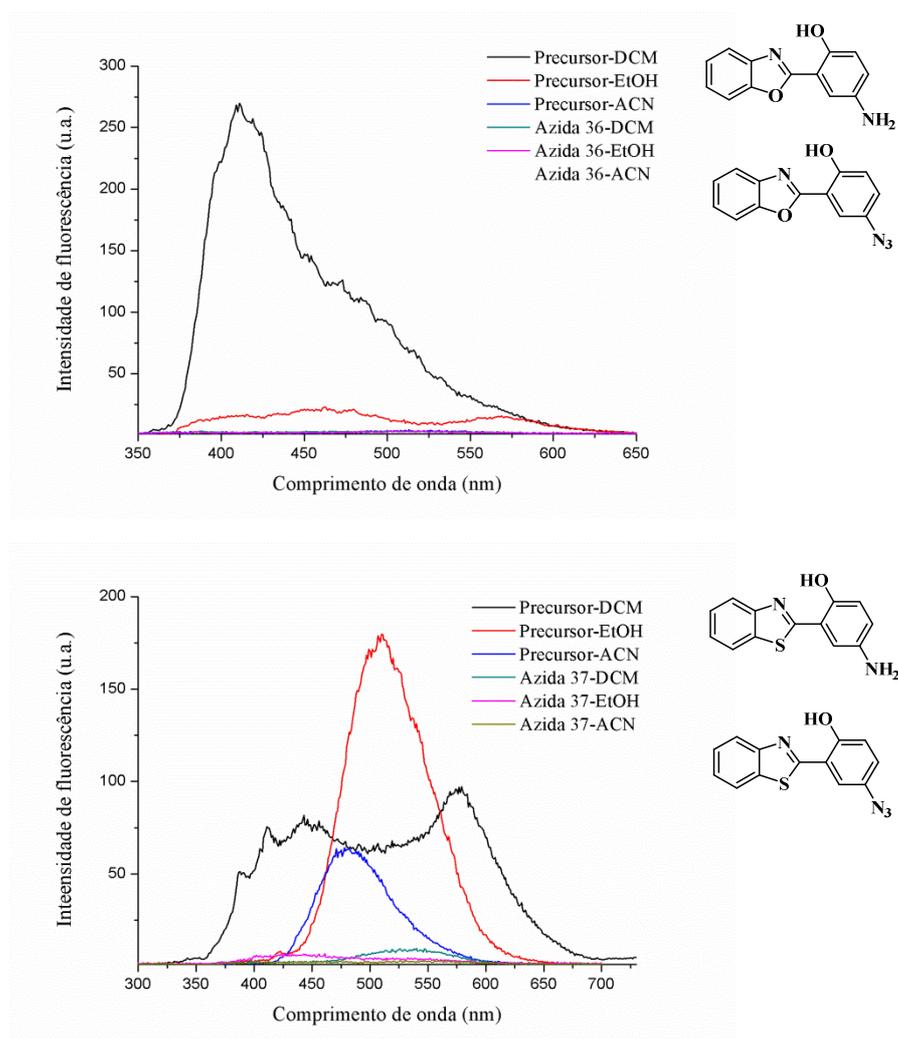
Azida	Solvente	$\epsilon \times 10^3$ (M <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup> )	$\lambda_{\text{abs}}$
<b>36</b>	Diclorometano	14,51	346/28901,73
	Etanol	2,35	345/28985,51
	Acetonitrila	4,47	345/28985,51
<b>37</b>	Diclorometano	12,28	356/28089,88
	Etanol	2,82	358/27932,96
	Acetonitrila	4,49	358/27932,96
<b>38</b>	Diclorometano	31,31	331/30211,48
	Etanol	4,67	330/30303,03
	Acetonitrila	21,66	330/30303,03
<b>39</b>	Diclorometano	35,91	345/28985,51
	Etanol	7,68	343/29154,52
	Acetonitrila	9,46	343/29154,52
<b>40</b>	Diclorometano	51,54	315/31746,03
	Etanol	32,63	305/32786,88
	Acetonitrila	62,00	315/31746,03
<b>41</b>	Diclorometano	59,42	325/30769,23
	Etanol	79,03	323/30959,75
	Acetonitrila	54,56	324/30864,19

Na **Figura 42** são apresentados os espectros de absorção das azidas **40** e **41**. Nesses espectros é possível observar que esses compostos apresentam absorção na região do ultravioleta, conforme o esperado tendo em vista que não apresentam o grupo auxocromo -OH, se comparados com os demais derivados azido obtidos. É possível observar também, que não houve deslocamento significativo no máximo de absorção na quando utilizado solventes com diferentes constantes dielétricas. Os valores de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) na ordem de  $10^3$  estão de acordo com as com as transições do tipo  $\pi-\pi^*$  esperada para esse composto.



**Figura 42.** Espectro de absorção na região do UV-Vis das azidas **40** (c) e **41** (d).

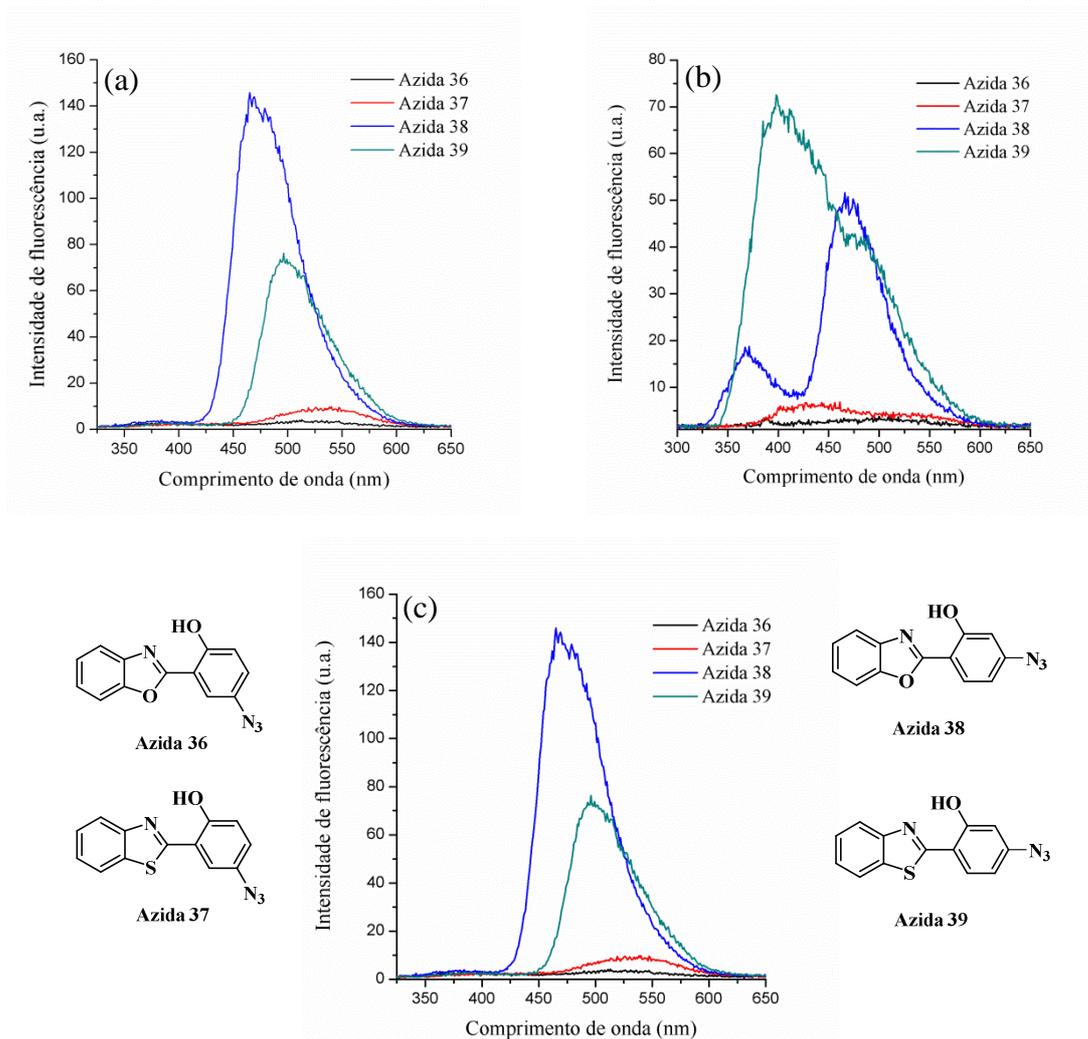
A seguir serão apresentados os espectros de emissão de fluorescência das azida **36-39** em solventes de diferentes polaridades (**Figuras 43-44**). As curvas de emissão foram obtidas excitando os compostos nos comprimentos de onda máximos de absorção ( $\lambda_{abs}$ ). Os dados espectroscópicos relevantes obtidos a partir do estudo de emissão de fluorescência estão resumidos na **Tabela 3**. Primeiramente, pode-se observar, comparando com o comportamento fotofísico dos respectivos precursores, que as azidas apresentaram fraca intensidade de fluorescência (**Figura 43**), conforme esperado e relatado na literatura, e relacionados a um mecanismo de transferência eletrônica fotoinduzida. Além disso, pode-se observar que as azidas estudadas apresentam um comportamento fotofísico no estado excitado dependente da posição do grupo azida, também esperado e já relatado para outros heterociclos benzazólicos fluorescentes por ESIPT.



**Figura 43.** Espectro de emissão de fluorescência em solução ( $10^{-5}$  M) das azidas **36** (acima) e **37** (abaixo) e seus respectivos precursores (Exc./Em. slits 5.0 nm/3.0 nm).

Os compostos **36** e **37** que apresentam o grupo azida na posição 5' exibem uma intensidade de emissão de fluorescência muito pouco intensa em todos os solventes estudados. Apesar deste comportamento, uma emissão dupla de fluorescência pode ser observada em etanol e diclorometano, o que confirma o equilíbrio conformacional em solução no estado fundamental, e conseqüentemente o mecanismo de ESIPT.<sup>174,195,196</sup> Nestes compostos pode-se observar uma emissão localizada acima de 500 nm, atribuída ao processo de transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT). Esta é proveniente da relaxação radiativa do fototautômero Ceto\*. Adicionalmente, foi observada uma emissão deslocada para o azul (deslocamento hipsocrômico), localizada

em torno de 400 nm e relacionada à emissão normal proveniente da relaxação radiativa do confômero Enol\*. Em acetonitrila, ambos compostos mostraram, embora muito fraca, apenas uma emissão deslocada para maiores comprimentos de onda, e relacionadas ao mecanismo de ESIPT. Por outro lado, os derivados que apresentam o grupamento azida na posição 4' (**38** e **39**) apresentam maior intensidade de fluorescência tanto do confômero enol (370 nm e 390 nm para X=O e S, respectivamente), quanto para os respectivos fototautômeros (470 nm e 500 nm para X=O e S, respectivamente) (**Figura 19**).

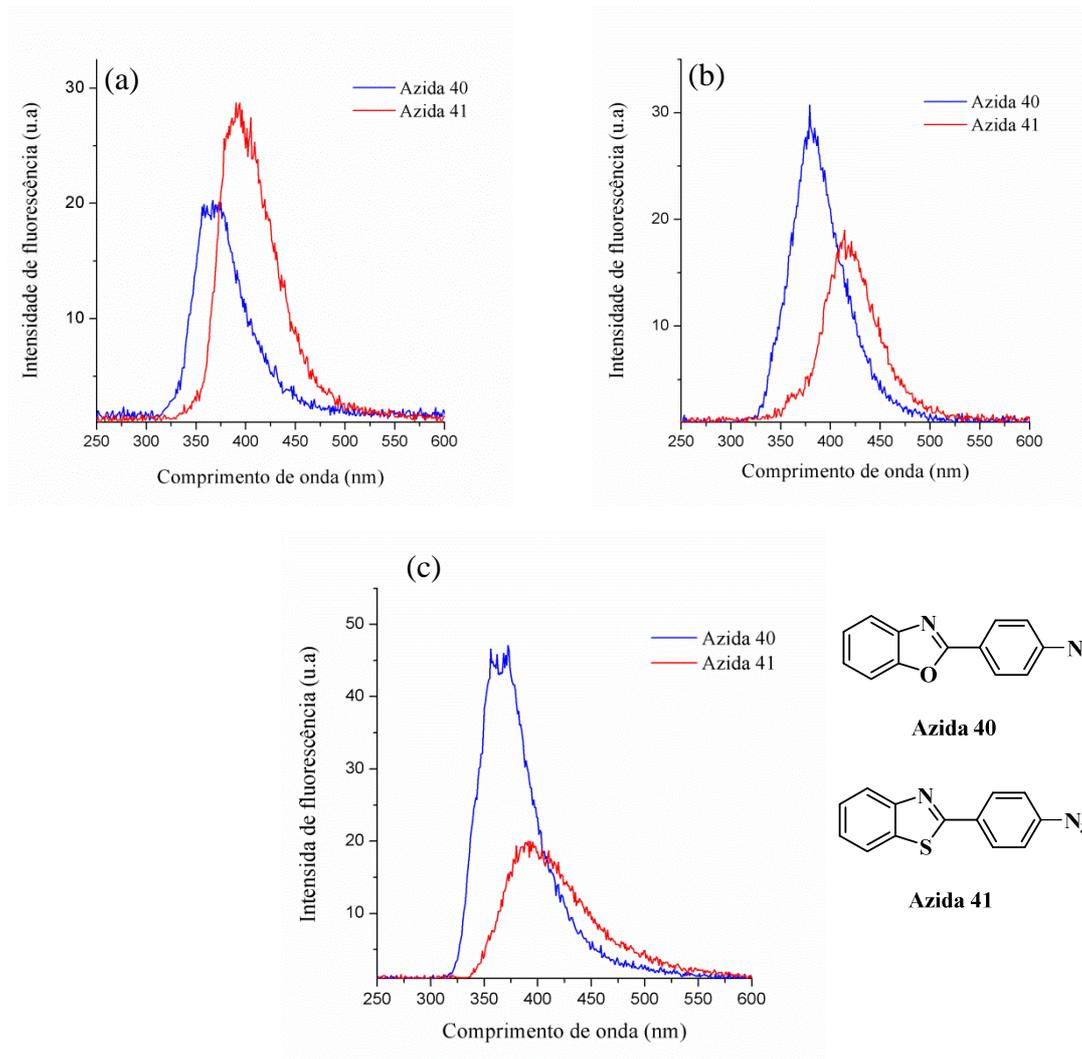


**Figura 44.** Espectro de emissão de fluorescência das azidas **36-39** em solução ( $10^{-5}$  M) de (a) diclorometano, (b) etanol e (c) acetonitrila (Exc./Em. slits 5.0 nm/3.0 nm).

Observou-se para os compostos estudados, a tendência dos derivados benzotiazólicos de apresentarem bandas deslocadas para o vermelho se comparados

com os análogos benzoxazólicos. Este comportamento está relacionado, conforme já discutido para as bandas de absorção na região do UV-Vis, à melhor deslocalização de elétrons permitida pelo átomo de enxofre. Vale ressaltar que, a literatura relata que geralmente os compostos com grupo azida apresentam uma emissão de fluorescência quase ausente ou muito fraca, o que pode estar relacionado a um mecanismo de transferência de elétrons fotoinduzida (PET) proporcionado pelo grupo  $-N_3$ .<sup>7,87,91,94</sup> No entanto, com base nos resultados de fluorescência apresentados neste trabalho, a presença do grupo  $-N_3$  parece não ser suficiente para a supressão de fluorescência esperada em tais derivados. Além disso, a extinção da fluorescência parece ser significativamente favorecida quando o grupo azida está localizado na posição para em relação ao grupo hidroxilo, como mostrado nos compostos **36** e **37**. Neste sentido, os resultados experimentais indicam que um mecanismo adicional ou até mesmo diferente do PET está ocorrendo e influenciando a emissão de fluorescência nestes compostos. Observou-se também um grande deslocamento de Stokes para as azidas **38** e **39**, indicando que as moléculas sofrem mudanças na sua estrutura eletrônica ou rearranjos moleculares no estado excitado, preconizado no mecanismo de ESIPT.

Na **Figura 45** é apresentado o espectro de emissão de fluorescência das azidas **40** e **41** nos diferentes solventes. Embora os compostos estudados apresentem estruturas químicas diferentes das demais azidas sintetizadas, foi possível observar novamente que os derivados benzotiazólicos apresentaram bandas de emissão deslocadas para o vermelho. Além disso, observou-se uma baixa intensidade de emissão de fluorescência para essas azidas, com um pequeno deslocamento de Stokes, conforme esperando, indicando que essas moléculas não apresentam nenhuma modificação significativa em sua estrutura química no estado excitado.



**Figura 45.** Espectro de emissão de fluorescência das azidas **40** e **41** em solução ( $10^{-5}$  M) de (a) diclorometano, (b) etanol e (c) acetonitrila (Exc./Em. slits 5.0 nm/3.0 nm).

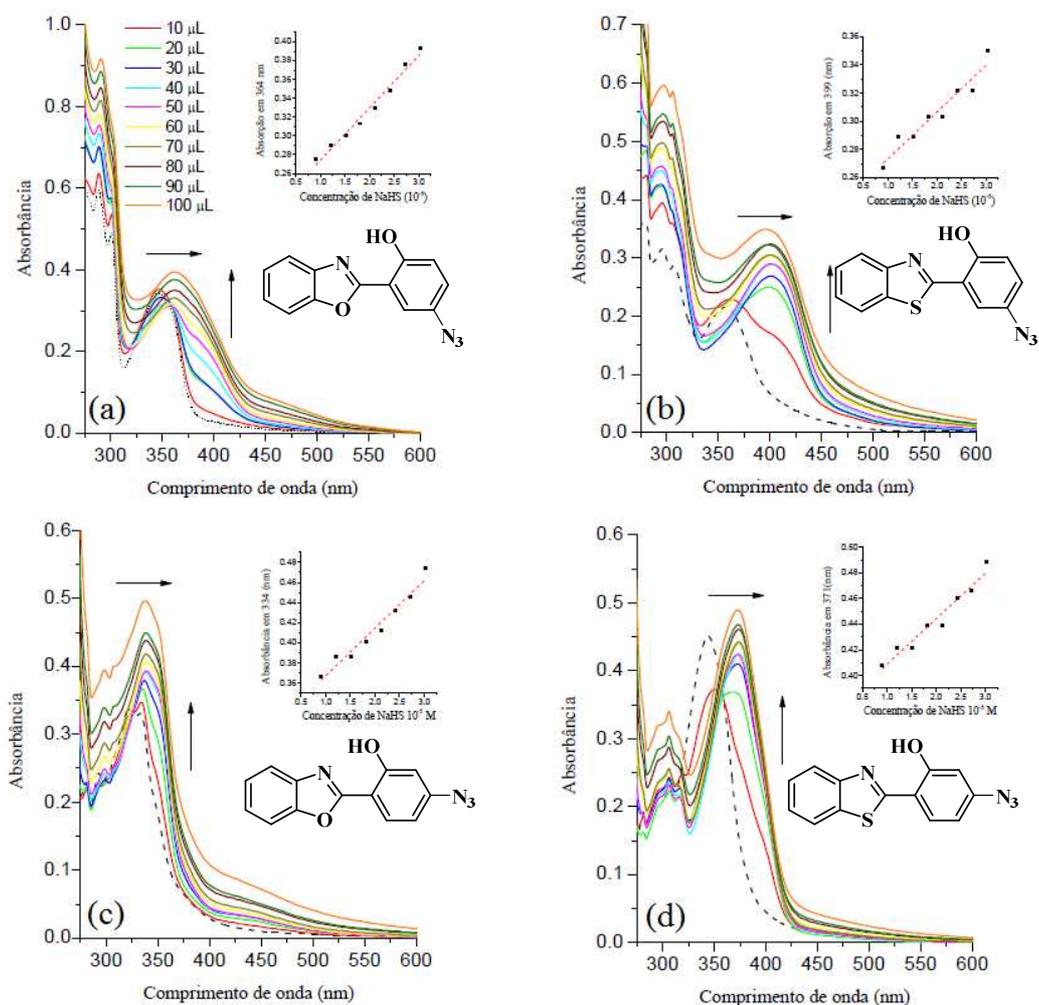
**Tabela 3.** Dados relevantes obtidos a partir da espectroscopia de emissão de fluorescência para as azidas **36-41**, onde  $\lambda_{em}$  (nm/cm<sup>-1</sup>) é o máximo de emissão e  $\Delta\lambda_{ST}$  é o deslocamento de Stokes (nm/cm<sup>-1</sup>).

Azida	Solvente	$\lambda_{em}$ (nm)	$\Delta\lambda_{ST}$ (nm)
<b>36</b>	Diclorometano	392;522	168/9446,48
	Etanol	503	169/9530,26
	Acetonitrila	512	169/9530,26
<b>37</b>	Diclorometano	420;537	175/9257,49
	Etanol	438;532	169/9171,59
	Acetonitrila	420;551	75/8957,63
<b>38</b>	Diclorometano	376;473	139/8934,89
	Etanol	369;473	140/9026,44
	Acetonitrila	376;474	147/9338,67
<b>39</b>	Diclorometano	399;500	151/8824,22
	Etanol	390;495	57/4154,52
	Acetonitrila	392;504	155/9074,20
<b>40</b>	Diclorometano	366	49/4273,51
	Etanol	381	75/6471,10
	Acetonitrila	362	53/4572,12
<b>41</b>	Diclorometano	390	67/5259,03
	Etanol	415	92/6863,37
	Acetonitrila	387	66/5223,17

## 5.2. Estudo de detecção de H<sub>2</sub>S em solução

Os estudos de detecção de H<sub>2</sub>S com as azidas **36-41** foram realizados em solução de etanol com concentração na ordem de 10<sup>-5</sup> M. A essas soluções foram adicionadas diferentes valores de equivalentes de NaHS em etanol/solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4) com o intuito de mimetizar o H<sub>2</sub>S. Na **Figura 46** são apresentados os espectros de absorção na região do UV-Vis das azidas **36-39** na presença de diferentes alíquotas de NaHS. O espectro de absorção na região do UV-Vis na ausência de NaHS é apresentado para comparação. Estes compostos apresentaram bandas de absorção em torno de 350 nm. Após a adição de 10  $\mu$ L de NaHS, a intensidade de absorção da azida aumenta e muda para valores maiores de comprimentos de onda. Foram observados deslocamentos na localização do máximo de absorção na ordem de ~16 nm (**36**), ~42 nm (**37**), ~12 nm (**38**) e ~28 nm (**39**) para os compostos estudados indicando que houve uma mudança na estrutura química das azidas, como esperado quando este grupo químico é reduzido paraamina.<sup>103</sup> Embora os espectros UV-Vis pareçam não apresentar uma tendência clara, uma vez que o máximo de absorção foi alterado, bem como a sua intensidade, foi possível obter uma correlação linear para o intervalo de 9,09x10<sup>-6</sup>-3,03x10<sup>-5</sup> M entre a absorção com a quantidade adicionada de NaHS. Para a obtenção

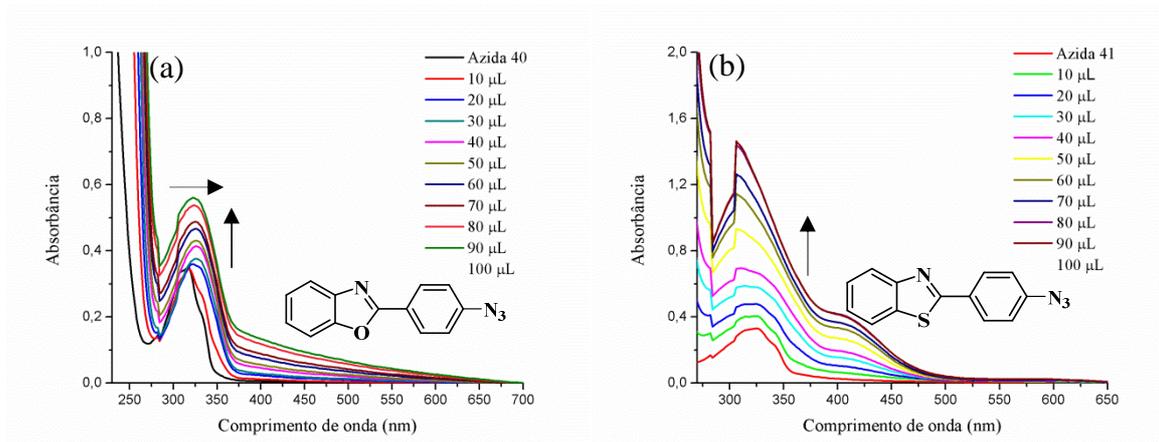
desta relação linear foi levado em conta os valores para os máximos de absorção do composto reduzido (inserções da **Figura 46**). Este resultado preliminar já indica que estas azidas podem ser usadas como sonda para a detecção quantitativa de H<sub>2</sub>S em solução.



**Figura 46.** Espectro de UV-Vis das azidas (a) **36** ( $2.88 \times 10^{-5}$  M), (b) **37** ( $2.98 \times 10^{-5}$  M), (c) **38** ( $1.98 \times 10^{-5}$  M) e (d) **39** ( $1.86 \times 10^{-5}$  M) após adição de diferentes alíquotas (10-100  $\mu$ L) de NaHS ( $1.0 \times 10^{-3}$  M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7.4). A linha pontilhada representa a respectiva azida na ausência de NaHS, A inserção apresenta a respectiva correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS nos máximos de absorção do composto reduzido.

Para a azida **40** o máximo de absorção localizado em 313 nm apresentou um deslocamento batocrômico após a adição de alíquotas NaHS (**Figura 47**). No entanto, esse deslocamento (12nm) foi menor do que o observado para os compostos **36-39**. Já

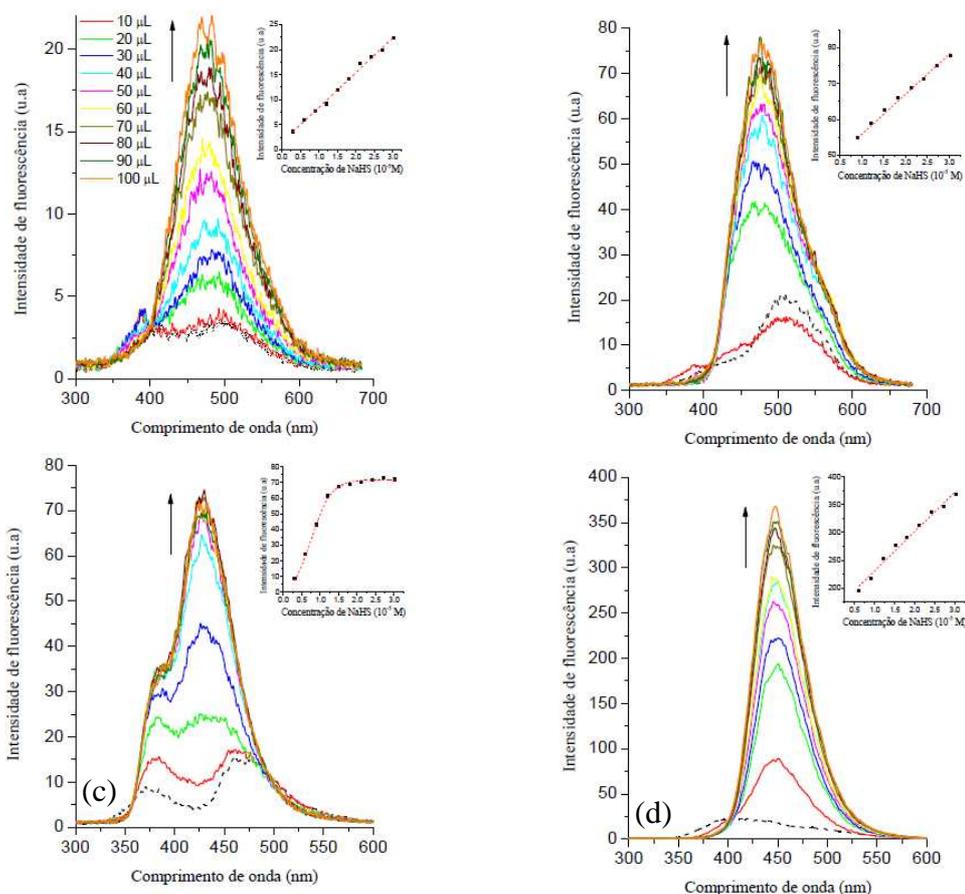
para a azida **41** não foi possível observar um deslocamento do máximo de absorção (319nm), embora tenha sido possível observar a formação de uma nova banda em 412 nm, indicando que a mudança química do grupamento azido para amino embora seja uma reação relativamente simples, afeta de forma complexa a fotofísica destes compostos em solução.



**Figura 47.** Espectro de UV-Vis das azidas (a) **40** ( $1,34 \times 10^{-5}$  M) e (b) **41** ( $1,56 \times 10^{-5}$  M), após adição de diferentes alíquotas (10-100 µL de NaHS ( $1,0 \times 10^{-3}$  M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4).

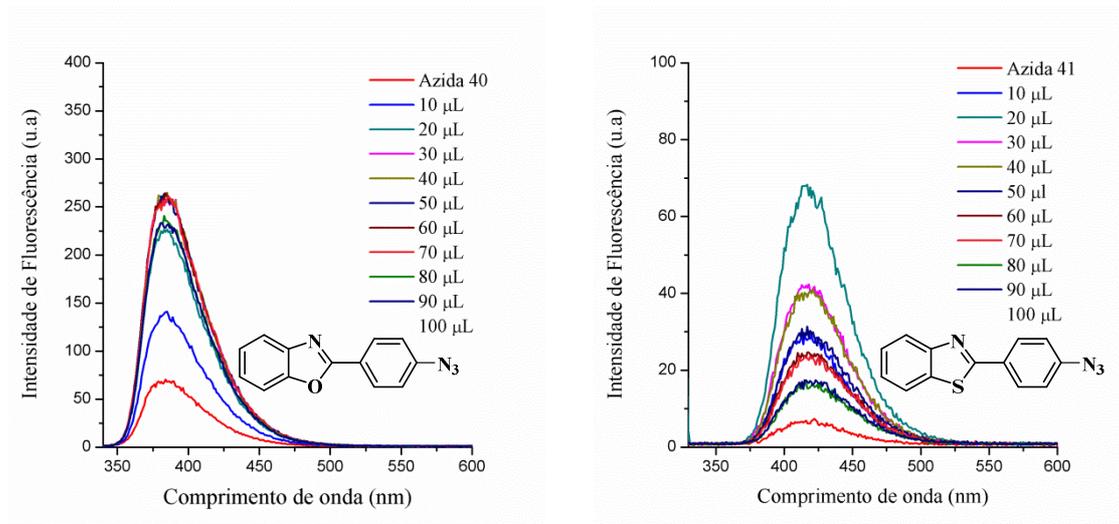
Com o objetivo de avaliar as azidas obtidas neste trabalho como sensores de H<sub>2</sub>S através o mecanismo de resposta *off-on*, também foram realizadas titulações fotométricas com NaHS monitorando os espectros de emissão de fluorescência (**Figuras 23-24**). Como mostrado na **Figura 48**, as azidas apresentam baixa intensidade de fluorescência antes da adição de NaHS. Após a adição de diferentes quantidades de NaHS, observou-se um aumento gradativo na intensidade de fluorescência das azidas, caracterizando de certa forma o mecanismo de resposta *off-on*, tendo em vista que os compostos já apresentam fluorescência, embora muito baixa, antes mesmo da adição da primeira alíquota de NaHS. Levando em consideração as intensidades de emissão, observou-se que as azidas **36-39** apresentaram uma relação linear entre a intensidade de fluorescência e a concentração de NaHS conforme já observado na literatura,<sup>7,29</sup> sendo que a azida **36** apresentou a faixa linear mais ampla (10-100 µM) se comparada às azidas **37** e **39** (20-100 µM). Este resultado indica que a resposta de fluorescência destes compostos também pode ser utilizada para a detecção quantitativa de H<sub>2</sub>S. Vale ressaltar que, embora a azida **38** tenha apresentado um aumento na intensidade de fluorescência após a adição de NaHS, não foi observada uma resposta linear,

provavelmente devido à dupla emissão de fluorescência que permanece presente após a adição de 30  $\mu\text{L}$  de NaHS.



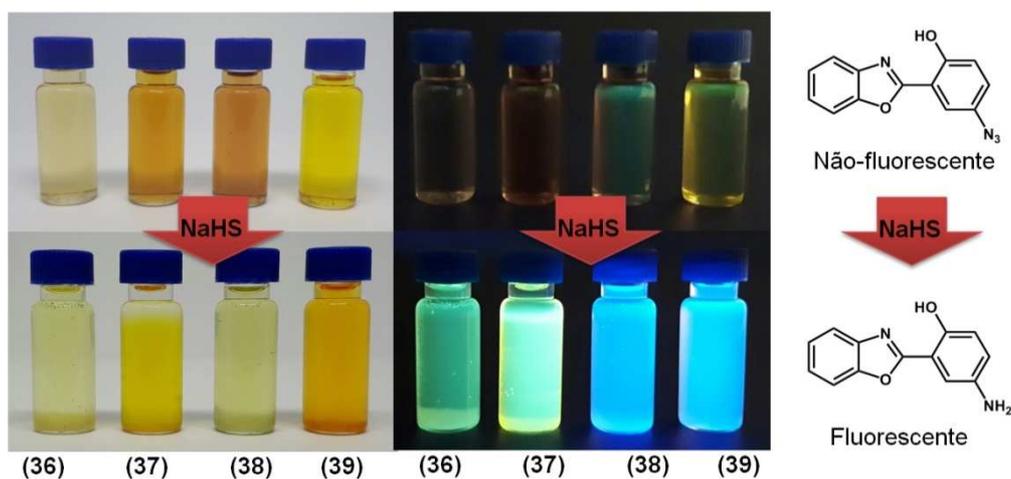
**Figura 48.** Espectros de emissão de fluorescência (a) **36** ( $2,88 \times 10^{-5}$  M), (b) **37** ( $2,98 \times 10^{-5}$  M), (c) **38** ( $1,98 \times 10^{-5}$  M) e (d) **39** ( $1,86 \times 10^{-5}$  M) após diferentes alíquotas de NaHS (10-100  $\mu\text{L}$ ) ( $1,0 \times 10^{-3}$  M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4) e slitsExc/Em 3,0. A linha pontilhada representa a respectiva azida na ausência NaHS. A inserção apresenta a respectiva correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS nos máximos do composto reduzido.

Para a azidas **40** e **41** observou-se também um aumento na intensidade de fluorescência após a adição de NaHS. No entanto, esse aumento não ocorreu de forma linear (**Figura 49**).



**Figura 49.** Espectro de emissão de fluorescência das azidas **40** e **41** presença de diferentes alíquotas de NaHS.

Na **Figura 50** são apresentadas as azidas **36-39** em solução tampão etanol/PBS (50/50, v/v, pH=7,4) sob radiação UV (365 nm). Na ausência de NaHS, as soluções não apresentam fluorescência (em cima) como esperado para azidas aromáticas. Por outro lado, após a adição de NaHS os grupamentos azidos são convertidos nos respectivos amino, permitindo assim a emissão de fluorescência (abaixo).

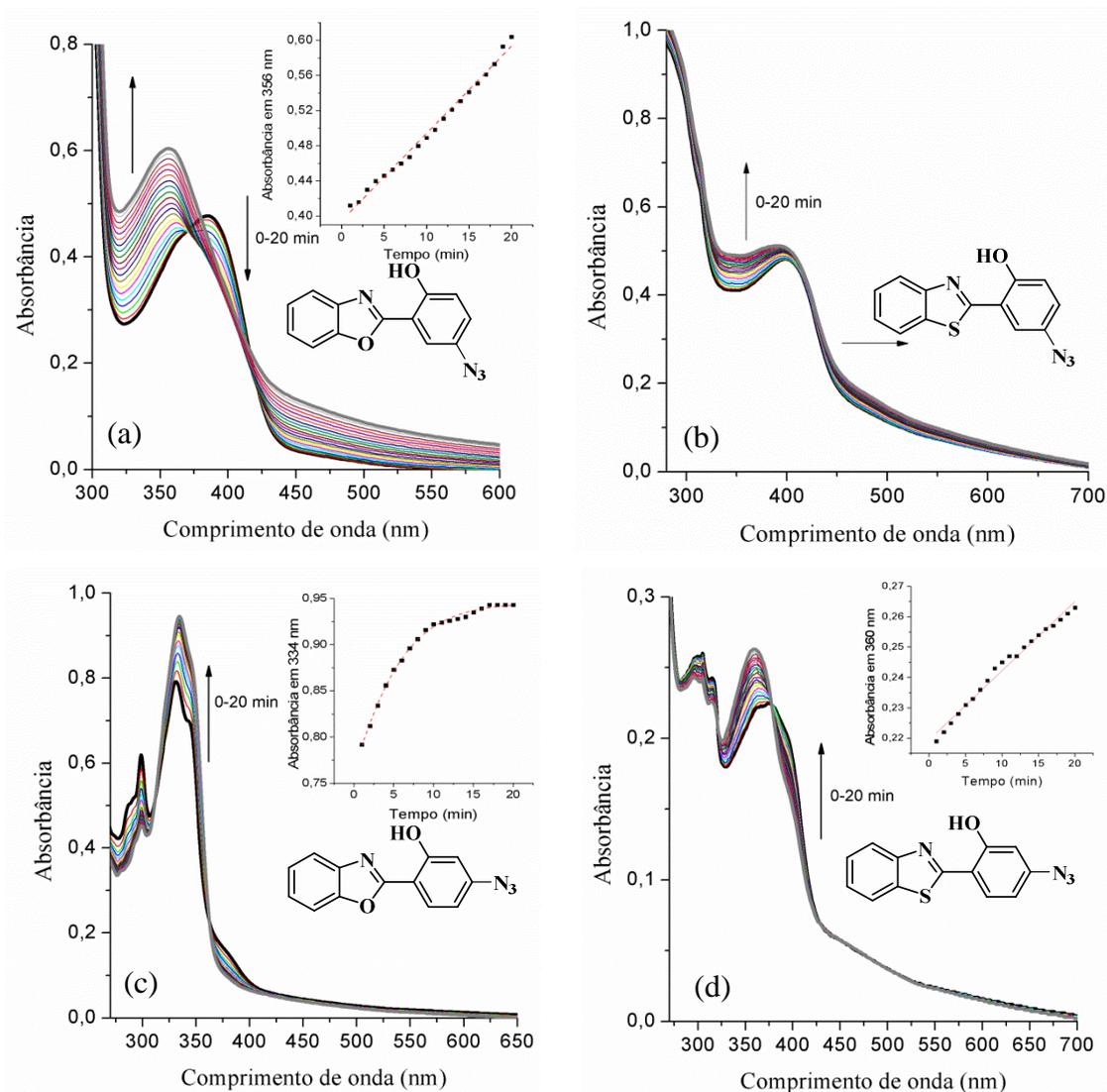


**Figura 50.** Soluções de azidas **36-39** em solução tampão etanol/PBS (50/50 v/v, pH=7,4) sob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de NaHS.

### 5.3. Estudo de detecção de H<sub>2</sub>S em solução em função do tempo

Com base nos resultados fotofísicos obtidos anteriormente, também foi investigada a cinética reacional das azidas sintetizadas após adição de NaHS a partir da análise das mudanças nos espectros de UV-Vis (**Figura 51**) e de emissão de fluorescência (**Figura 52**) em função do tempo.

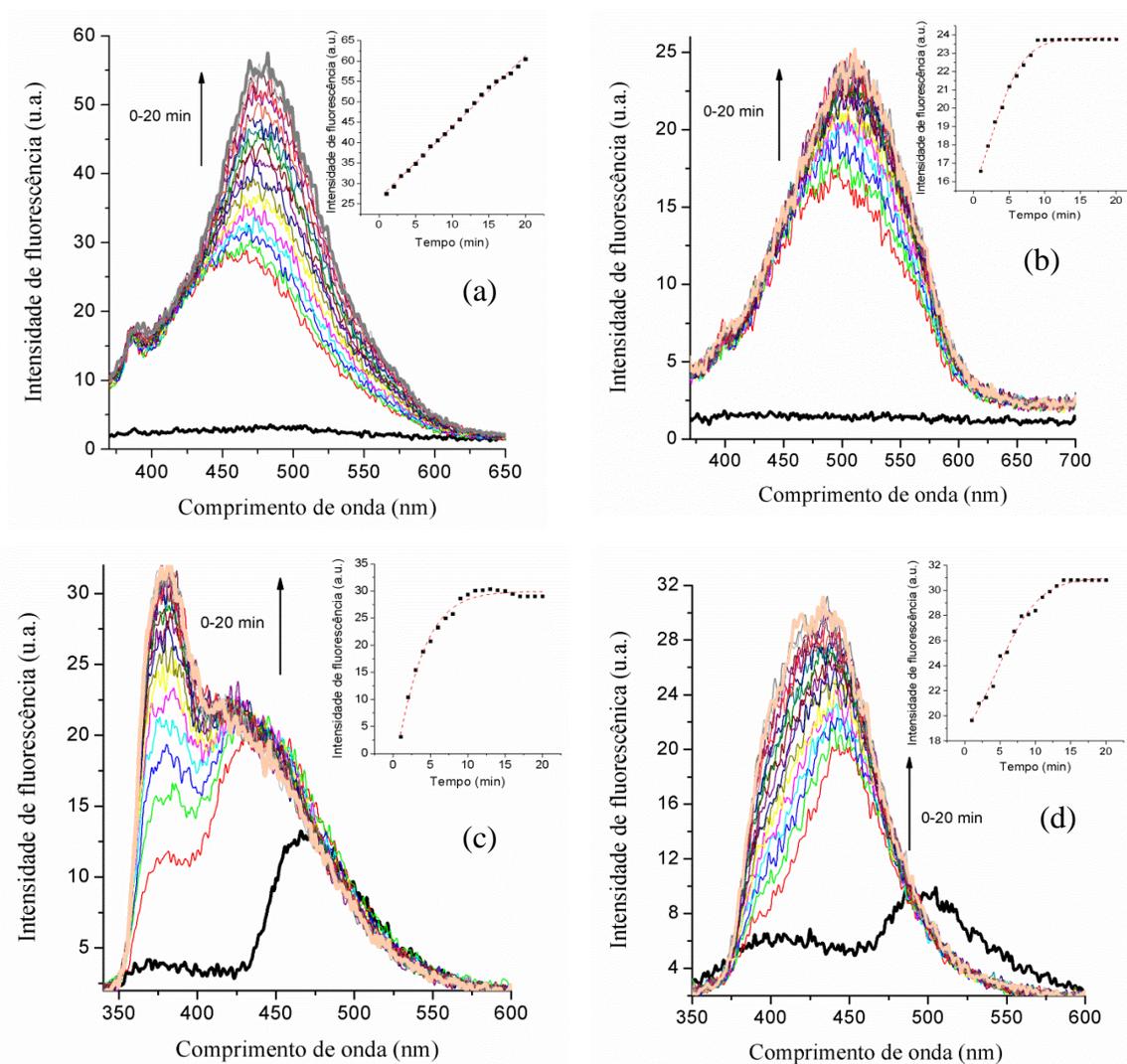
Na **Figura 51** é apresentada a evolução dos máximos de absorção das azidas em função do tempo, onde se pode observar que cada composto se comporta de maneira diferente. É possível observar que a intensidade de absorção em torno de 400 nm das azidas **36** e **39** diminui após a adição de NaHS e uma nova banda de absorção surge e aumenta sua intensidade em 350 nm. Para as azidas **37** e **38**, a intensidade de absorção aumenta e muda com a adição de NaHS. Além disso, a presença de um ponto isobéstico (**38** e **39**) ou de dois (**36**), assim como a ausência de ponto isobéstico para **37** sugere transformação química, diferente do relatado na literatura.<sup>7,29</sup>



**Figura 51.** Espectros de absorção na região do UV-vis em função do tempo das azidas (a) **36** ( $2,88 \times 10^{-5}$  M), (b) **37** ( $2,98 \times 10^{-5}$  M), (c) **38** ( $1,98 \times 10^{-5}$  M) e (d) **39** ( $1,86 \times 10^{-5}$  M) após adição de NaHS ( $1,0 \times 10^{-3}$  M) em etanol/ solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4). A linha preto representa a respectiva azida sem a adição de NaHS. A inserção apresenta a correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS.

A **Figura 52** apresenta a evolução dos valores máximos de emissão das azidas em função do tempo. Mais uma vez, embora estes compostos apresentem significativas alterações de sinal na presença de NaHS, pode-se observar que cada composto apresenta um perfil particular de emissão. Pode-se observar que as azidas **36** e **37** apresentam uma intensidade de fluorescência muito baixa, que aumenta significativamente após a adição de NaHS, além de apresentar um grande deslocamento de Stokes. Esta última

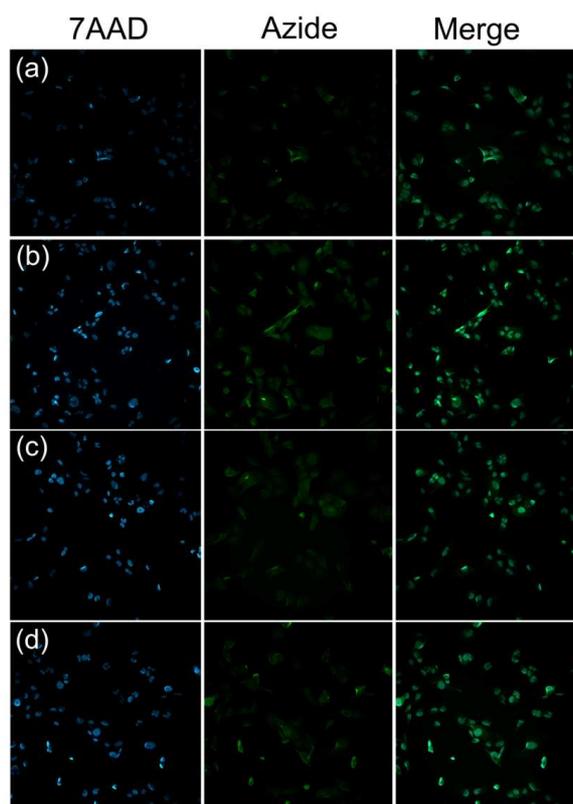
característica é bastante interessante para aplicações de imagens de fluorescência.<sup>36</sup> Para os compostos **38** e **39**, dupla emissão de fluorescência, que já estava presente, aumenta sua intensidade e se desloca para azul com máximos de emissão localizados em 375 e 435 nm, respectivamente. No entanto, em geral, a taxa de reação quase não tem alteração com a variação da concentração de NaHS após 10 minutos. O composto **36** demonstrou precisar de mais tempo de reação para atingir a saturação.



**Figura 52.** Espectros de emissão de fluorescência em função do tempo das azidas (a) **36** ( $2,88 \times 10^{-5}$  M), (b) **37** ( $2,98 \times 10^{-5}$  M), (c) **38** ( $1,98 \times 10^{-5}$  M) e (d) **39** ( $1,86 \times 10^{-5}$  M) após adição de NaHS ( $1,0 \times 10^{-3}$  M) em etanol/solução tampão PBS (50/50 v/v, pH=7,4). A linha preta representa a respectiva azida sem a adição de NaHS. A inserção apresenta a correlação entre a intensidade de absorção e a concentração de NaHS.

#### 5.4. Bioimageamento celular

Com o objetivo de avaliar a eficácia destas sondas como sensores ópticos de H<sub>2</sub>S em células fixadas (*in vitro*) foram utilizadas as células do tipo T98G (linhagem de tumor cerebral humano). Na **figura 53** é apresentada a imagem de microscopia de fluorescência das azidas. A primeira coluna mostra a fluorescência das células T98G encubadas com o corante 7AAD, a coluna central mostra as azidas e a terceira coluna mostra a sobreposição das duas imagens. As azidas **36-39** mostraram-se eficientes para marcação celular (**Figura 53**), demonstrando, dessa forma, que essas sondas são adequadas para bioimageamento. É importante notar, como apresentado na literatura,<sup>35,197-199</sup> que a cisteína pode ser considerada como um precursor do H<sub>2</sub>S nos ensaios de imagem celular, portanto neste trabalho as células T98G foram pré-incubadas com cisteína e incubados com as azidas sintetizadas que apresentam fluorescência por ESIPT.



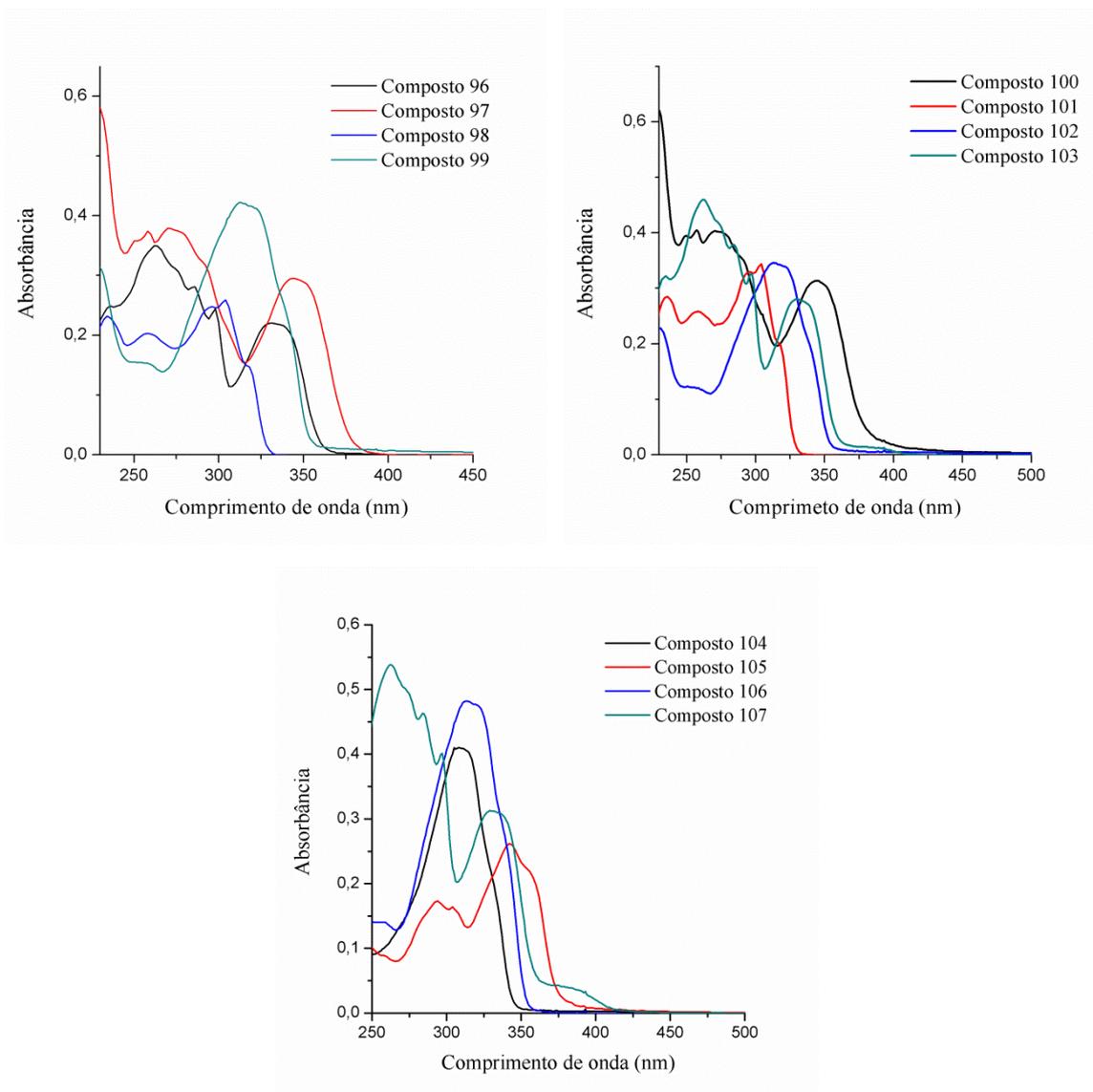
**Figura 53.** Imagens de microscopia de fluorescência da azidas (a) **36**, (b) **37**, (c) **38** e (d) **39** em cultura de células T98G fixado em paraformaldeído (3,7%), lavado com PBS, permeabilizado em Triton X-100 (0,01%) e incubado com cisteína (100  $\mu$ M, 30 min, 37°C). A primeira coluna mostra a fluorescência das células incubadas com o corante nuclear 7-AAD, a coluna central mostra os compostos azidas e a terceira coluna a sobreposição das imagens.

## 5.5. Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e de emissão de fluorescência dos glicoconjugados

Nas Figuras **54-56** são apresentados os espectros de absorção de UV-Vis dos glicoconjugados sintetizados em três solventes com diferentes constantes dielétricas. Os dados relevantes estão apresentados na **Tabela 4**.

**Tabela 4.** Dados relevantes obtidos a partir da espectroscopia de absorção na região do UV-Vis para os glicoconjugados **46-57** onde  $\lambda_{\text{abs}}$  (nm) é o máximo de absorção e  $\epsilon$  é o coeficiente de absorvidade molar.

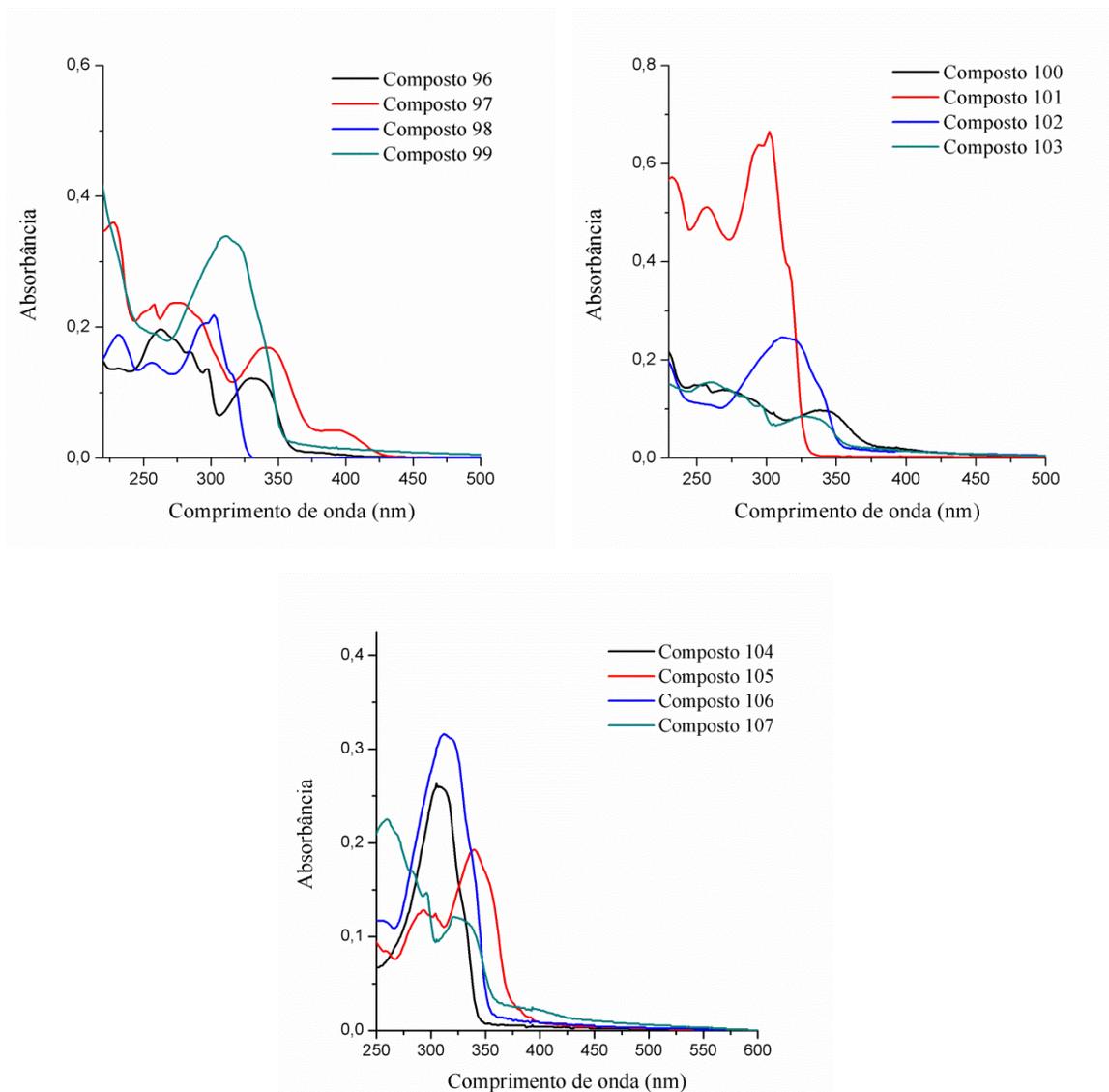
Glicoconjugados	Solvente	$\epsilon \times 10^3$ ( $M^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\lambda_{\text{abs}}$ (nm)
<b>96</b>	Diclorometano	16,6	332
	Etanol	9,24	327
	Acetonitrila	14,4	330
<b>97</b>	Diclorometano	22,8	343
	Etanol	13,2	339
	Acetonitrila	16,1	340
<b>98</b>	Diclorometano	18,7	304
	Etanol	15,7	302
	Acetonitrila	19,3	298
<b>99</b>	Diclorometano	35,4	313
	Etanol	26,2	311
	Acetonitrila	57,3	309
<b>100</b>	Diclorometano	14,3	343
	Etanol	4,5	337
	Acetonitrila	12,9	341
<b>101</b>	Diclorometano	28,2	304
	Etanol	27,5	302
	Acetonitrila	53,1	297
<b>102</b>	Diclorometano	29,6	312
	Etanol	21,1	311
	Acetonitrila	49,8	310
<b>103</b>	Diclorometano	12,0	329
	Etanol	3,7	326
	Acetonitrila	10,9	328
<b>104</b>	Diclorometano	32,9	307
	Etanol	20,5	305
	Acetonitrila	71,4	306
<b>105</b>	Diclorometano	21,6	341
	Etanol	15,9	338
	Acetonitrila	25,3	339
<b>106</b>	Diclorometano	35,7	313
	Etanol	23,4	312
	Acetonitrila	52,3	310
<b>107</b>	Diclorometano	12,3	329
	Etanol	4,9	323
	Acetonitrila	11,6	328



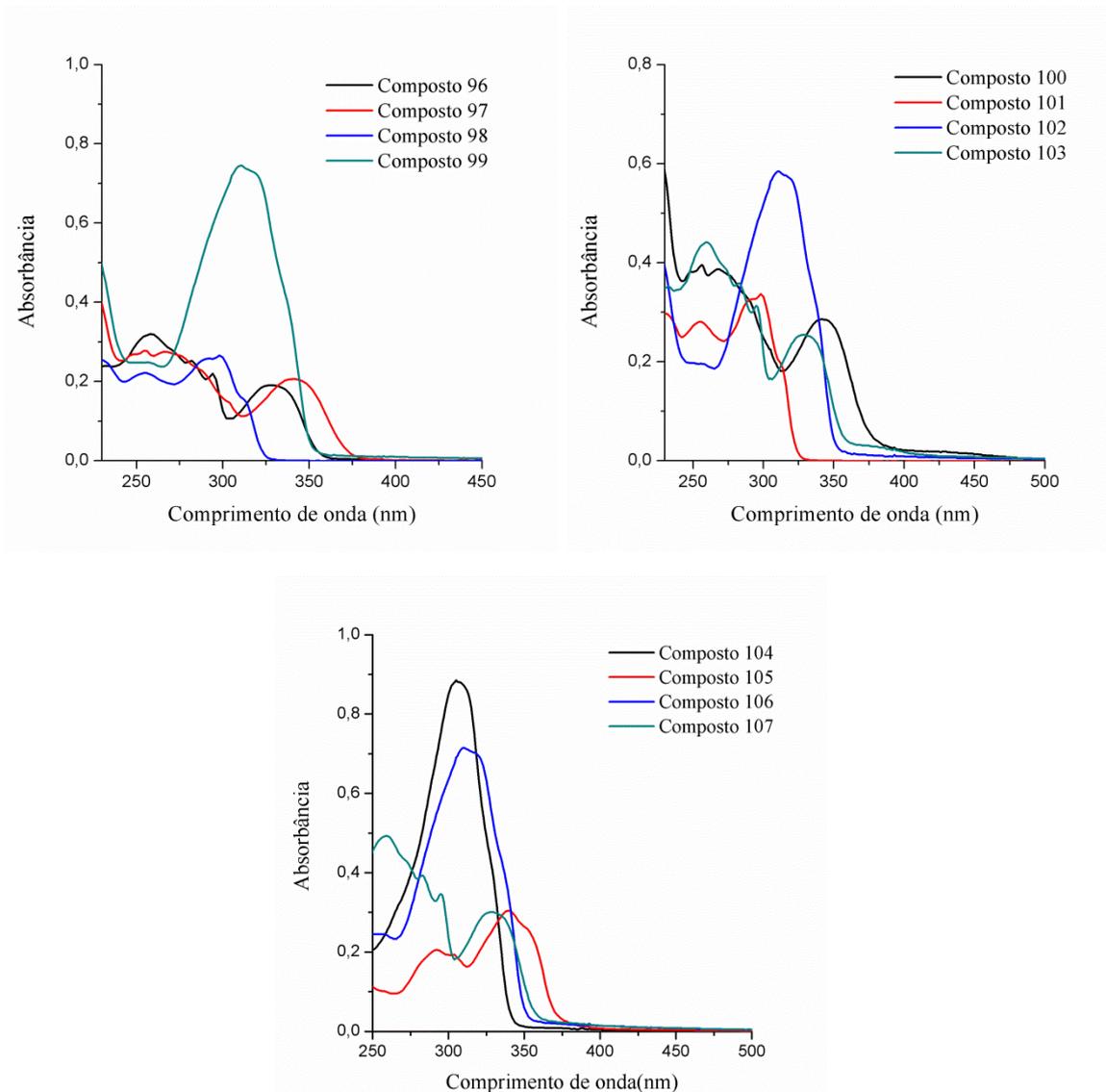
**Figura 54.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diclorometano dos glicoconjugados **96-107**.

O estudo fotofísico no estado fundamental foi realizado à temperatura ambiente (25°C), em uma concentração na ordem de  $10^{-5}$  M. Os máximos de absorção para esses compostos encontram-se entre 298-347 nm, com valores de coeficiente de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) relacionados a transições eletrônicas permitidas do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$ , que são esperadas para esses compostos. Em diclorometano (**Figura 54**), solvente com menor constante dielétrica, observa-se que os glicoconjugados que apresentam a núcleo benzotiazólicos em sua estrutura (**97**, **99**, **102**, **105** e **107**) apresentaram bandas de absorção com máximos deslocados para o vermelho, em comparação com os análogos oxigenados. Este fato deve-se ao átomo de enxofre permitir uma maior delocalização

dos elétrons como já observado em compostos semelhantes. Observações similares foram feitas na presença de etanol e acetonitrila (**Figuras 55 e 56**). Para todos os glicoconjugados estudados não foi observado deslocamento significativo no máximo de absorção com o aumento da polaridade do solvente.



**Figura 55.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de etanol dos glicoconjugados **96-107**.



**Figura 56.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de acetonitrila dos glicoconjugados **96-107**.

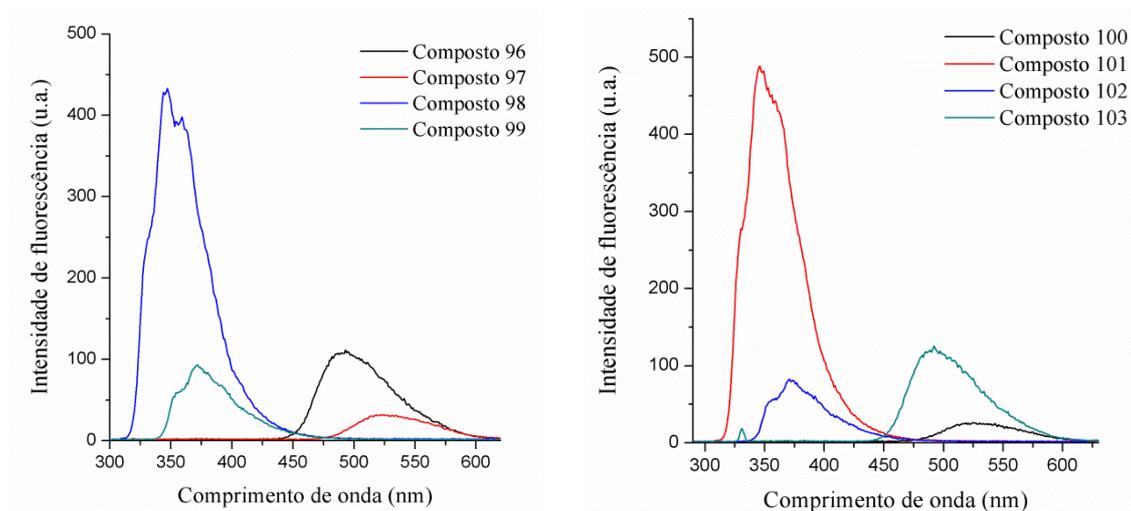
A seguir foram realizados experimentos de emissão de fluorescência em solventes de diferentes polaridades dos glicoconjugados obtidos. O comprimento de onda do máximo de absorção foi utilizado como primeiro parâmetro de excitação para as medidas de emissão de fluorescência. Os dados relevantes obtidos a partir deste estudo estão apresentados na **Tabela 5**.

**Tabela 5.** Dados relevantes obtidos a partir da espectroscopia de emissão de fluorescência para os glicoconjugados **96-107**, onde  $\lambda_{em}$  (nm) é o máximo de emissão e  $\Delta\lambda_{ST}$  (nm) é o deslocamento de Stokes.

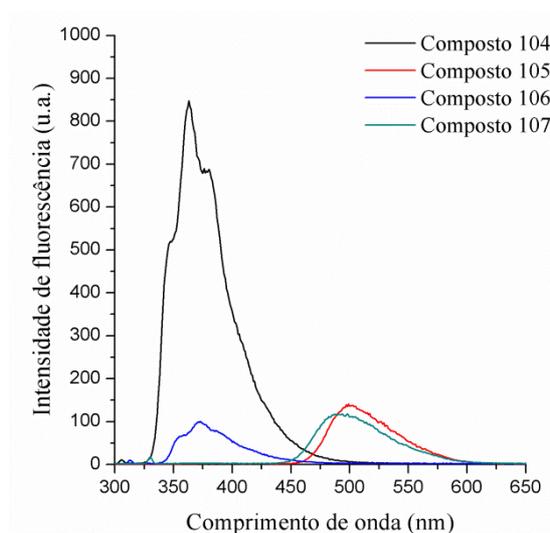
<b>Glicoconjugado</b>	<b>Solvente</b>	<b><math>\lambda_{em}</math> (nm)</b>	<b><math>\Delta\lambda_{ST}</math> (nm)</b>
<b>96</b>	Diclorometano	493	161
	Etanol	485	158
	Acetonitrila	366;490	160
<b>97</b>	Diclorometano	524	181
	Etanol	466	127
	Acetonitrila	377;525	185
<b>98</b>	Diclorometano	347	43
	Etanol	345	42
	Acetonitrila	349	51
<b>99</b>	Diclorometano	371	58
	Etanol	373	62
	Acetonitrila	368	59
<b>100</b>	Diclorometano	525	182
	Etanol	383;462	125
	Acetonitrila	380;528	187
<b>101</b>	Diclorometano	346	42
	Etanol	346	44
	Acetonitrila	350	53
<b>102</b>	Diclorometano	372	60
	Etanol	371	60
	Acetonitrila	369	59
<b>103</b>	Diclorometano	492	163
	Etanol	373;487	161
	Acetonitrila	490	162
<b>104</b>	Diclorometano	362	55
	Etanol	361	56
	Acetonitrila	362	56
<b>105</b>	Diclorometano	500	159
	Etanol	384;498	160
	Acetonitrila	381;503	164
<b>106</b>	Diclorometano	372	59
	Etanol	374	62
	Acetonitrila	370	60
<b>107</b>	Diclorometano	492	163
	Etanol	373;487	164
	Acetonitrila	492	164

Para todos os glicoconjugados estudados é possível observar um considerável aumento na intensidade de fluorescência em comparação com os precursores azidas, devido à presença do substituinte traizólico ligado ao carboidrato. No entanto, o composto **100** (**Figura 57**) apresentou baixa intensidade de fluorescência em

acetona nitrila provavelmente por algum mecanismo soluto-solvente que desative não radiativamente o estado excitado. No espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **96-107** em diclorometano (**Figuras 56-57**) pode-se observar duas regiões de emissão bem distintas. Os compostos que não apresentam o mecanismo de ESIPT, apresentam bandas de emissão localizadas em torno de 350 nm, conforme esperado. Os compostos capazes de apresentar o mecanismo de ESIPT apresentam bandas de emissão deslocadas para o vermelho (~500 nm), referentes às bandas de emissão ESIPT.

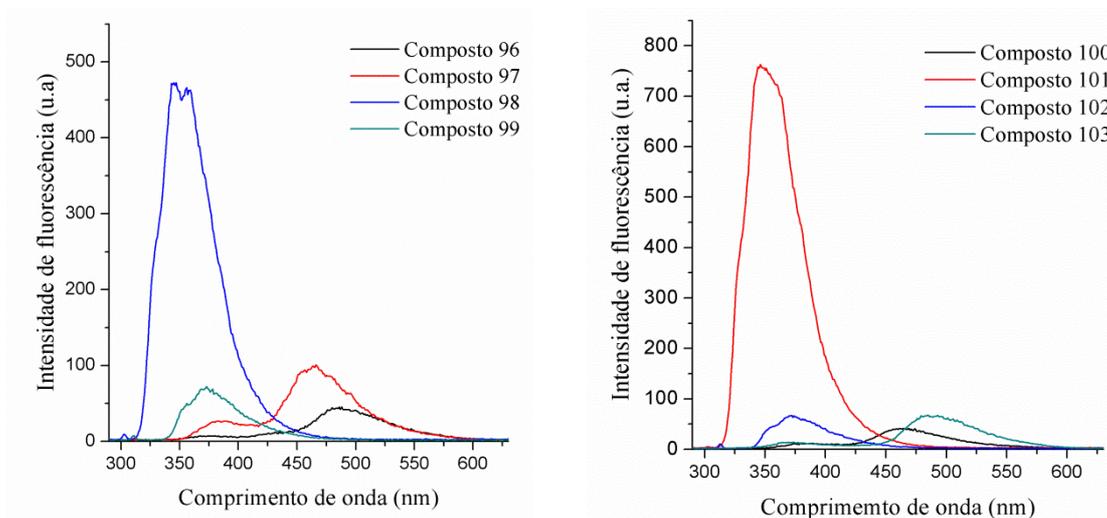


**Figura 57.** Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **96-103** em solução ( $10^{-5}$  M) de diclorometano (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).

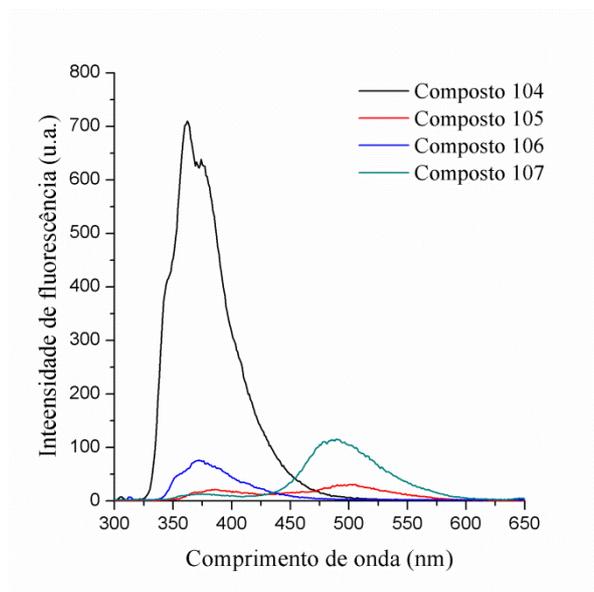


**Figura 58.** Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **104-107** em solução ( $10^{-5}$  M) de diclorometano (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).

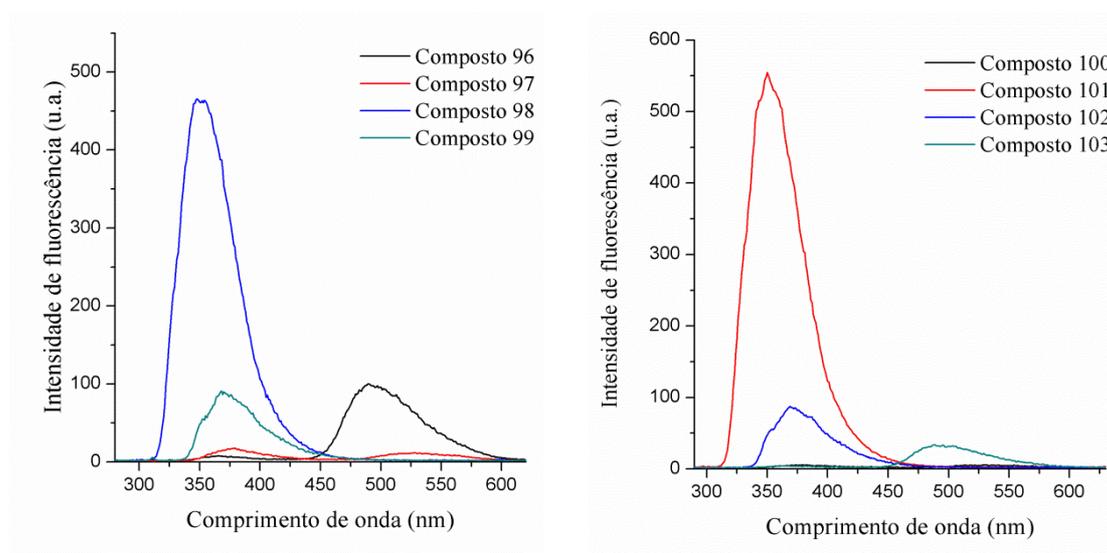
Em etanol e acetonitrila (**Figuras 59-62**) observa-se comportamento similar ao visto em diclorometano. Entretanto, para os glicoconjugados **96, 97, 100, 103** e **105**, capazes de apresentar o mecanismo de ESIPT foi possível observar uma dupla emissão de fluorescência, sendo que para os glicoconjugados **96** e **97**, a dupla emissão foi em acetonitrila. Para **100** e **105** foi observada em metanol e acetonitrila e para os compostos **103** e **107** em etanol. Nestes compostos, observa-se uma emissão próxima de 500 nm, atribuída ao processo ESIPT e uma emissão deslocada para o azul, localizada em torno de 380 nm e relacionada à emissão normal. Isso ocorre porque no estado excitado ocorre uma transferência protônica do grupo OH fenólico e o nitrogênio do grupo imina da porção benzazólica. Esses glicoconjugados apresentaram grande deslocamento de Stokes, com valores acima de 100 nm, indicando que no estado excitado esses compostos perdem energia devido à modificação eletrônica. Os demais compostos apresentaram deslocamento de Stokes relacionados a emissões normais, isto é, conformados em solução que no estado excitado não apresenta o mecanismo de ESIPT. Para todos os compostos estudados não foi observado mudanças significativas no máximo de emissão com o aumento da polaridade do solvente.



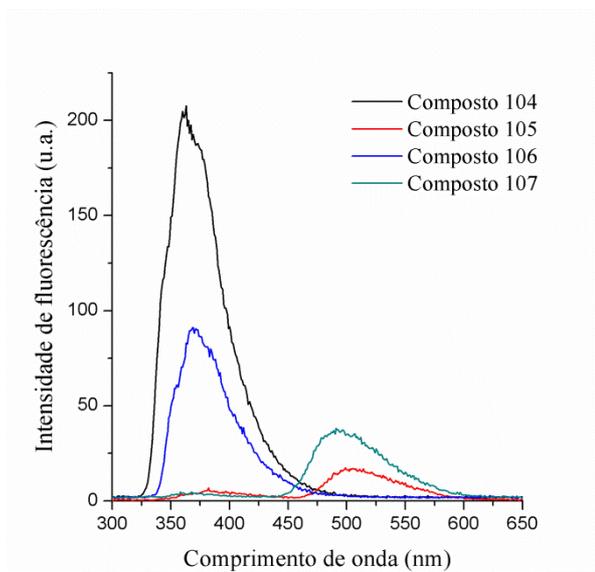
**Figura 59.** Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **96–103** em solução ( $10^{-5}$  M) de etanol (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).



**Figura 60.** Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **104–107** em solução ( $10^{-5}$ M) de etanol (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).



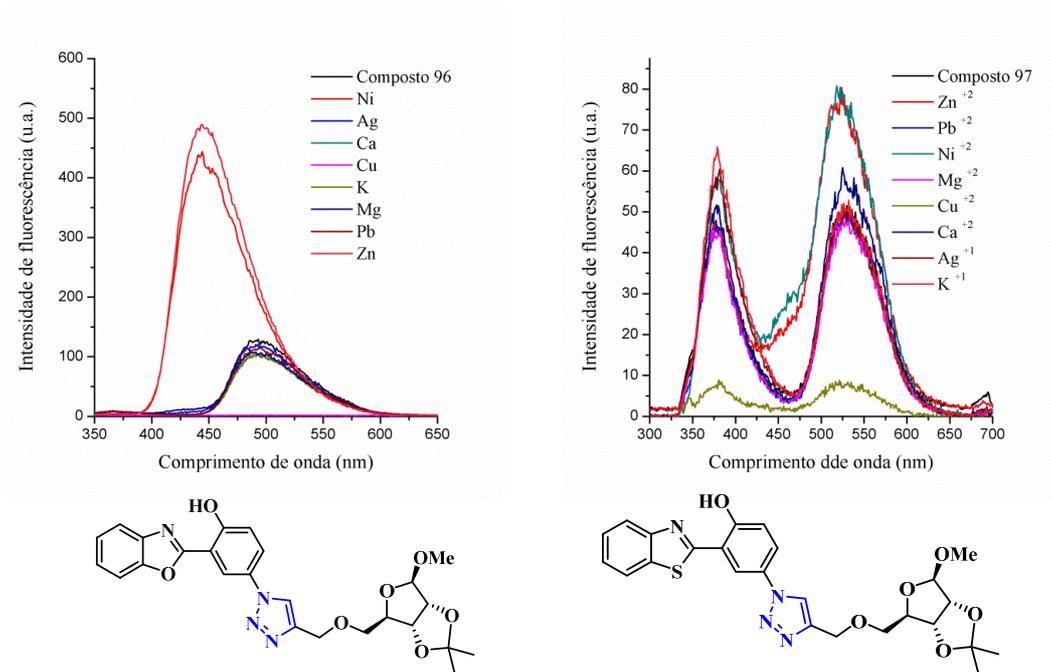
**Figura 61.** Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **96–103** em solução ( $10^{-5}$ M) de acetona (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).



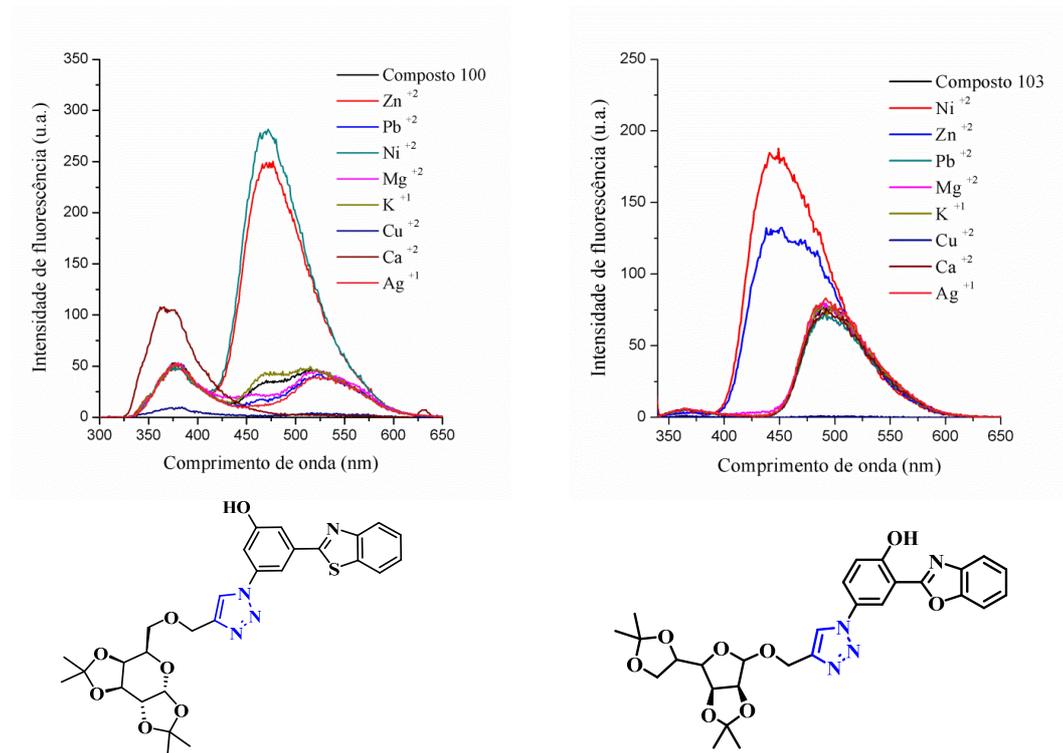
**Figura 62.** Espectro de emissão de fluorescência dos glicoconjugados **104–107** em solução ( $10^{-5}$ M) de acetonitrila (Exc./Em. slits 3,0 nm/3,0 nm e 5,0 nm/3,0 nm).

### 5.6. Estudo de interação com cátions

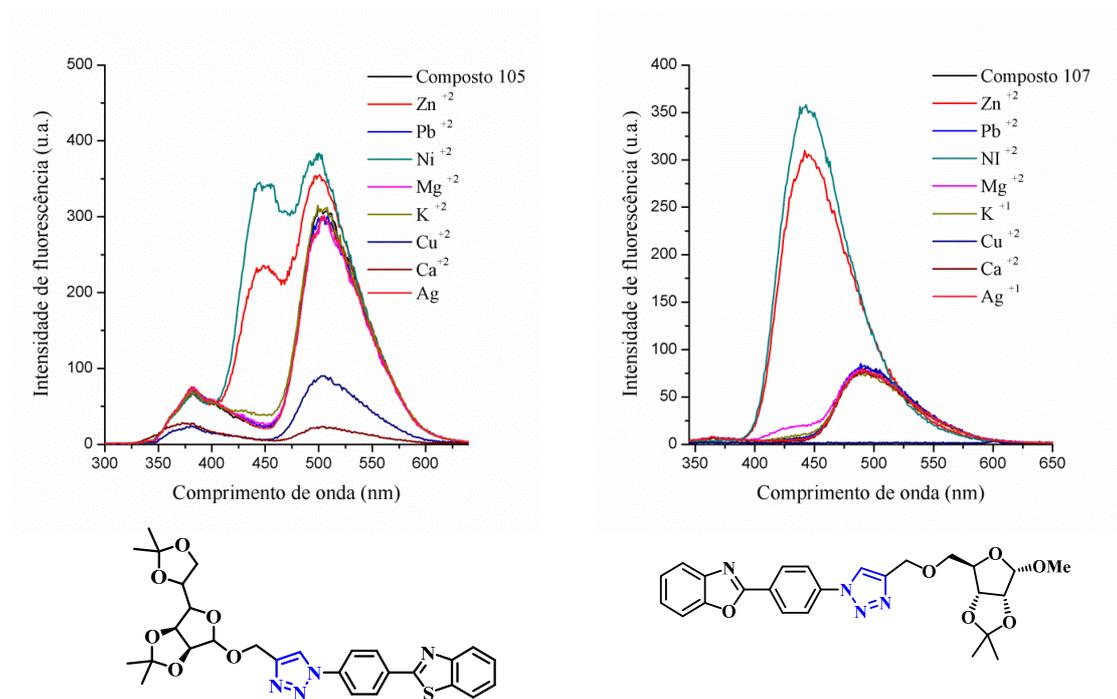
Com o objetivo de obter informações sobre a interação dos glicoconjugados sintetizados com os cátions ( $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$ ,  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^{+1}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Ag}^{+1}$ ), inicialmente foi investigado o perfil de emissão de fluorescência dos compostos após a adição de 20 equiv. em solução de acetonitrila dos cátions selecionados. Foram preparadas soluções de concentração na ordem de  $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  destes em acetonitrila e a estas foram adicionados 20 equiv. dos cátions selecionados. Os espectros de UV-Vis dos glicoconjugados após a adição de alíquotas dos diferentes cátions encontram-se em anexo. Analisando o espectro de emissão de fluorescência desses compostos, foi possível observar que a intensidade de fluorescência dos compostos apresentou um significativo aumento na presença dos cátions  $\text{Zn}^{+2}$  e  $\text{Ni}^{+2}$  e uma grande diminuição da intensidade de fluorescência na presença do cátion  $\text{Cu}^{+2}$  para os glicoconjugados **96**, **97**, **100**, **103**, **105** e **107** (Figuras 63-65). Além disso, para os glicoconjugados **96**, **103** e **107** observa-se além do aumento da intensidade de fluorescência após a adição de equivalentes de  $\text{Ni}^{+2}$ , um deslocamento dos máximos de emissão para menores comprimentos de onda. Isso indica que no estado excitado a complexação dos cátions com os glicoconjugados provoca um aumento da energia dos compostos e consequentemente um deslocamento para o azul.



**Figura 63.** Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **96** e **97**.

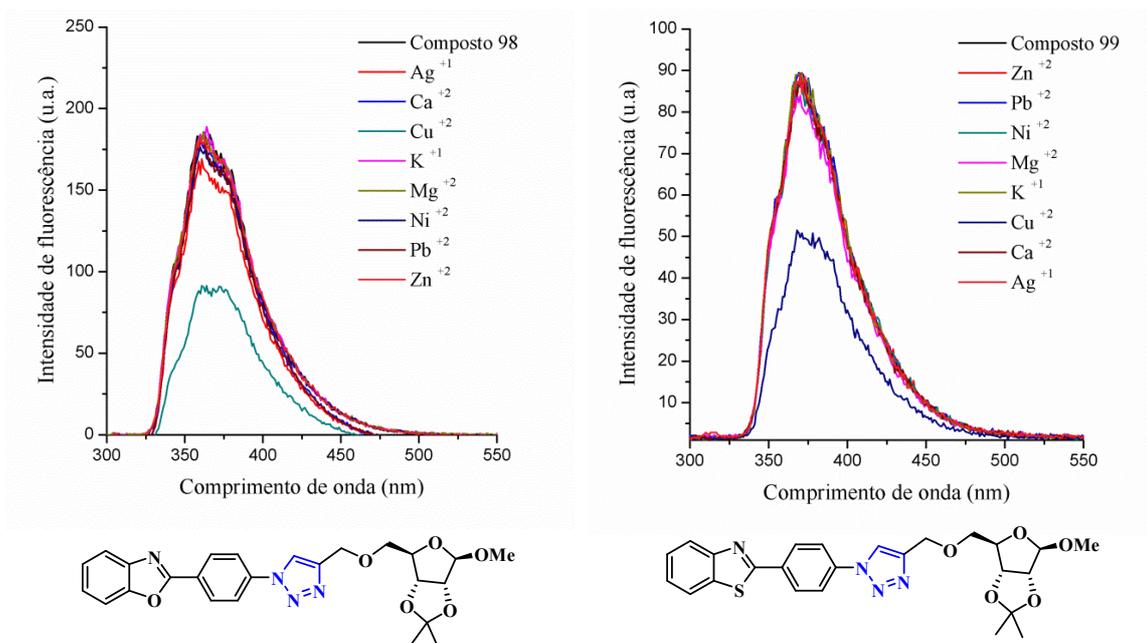


**Figura 64.** Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **100** e **103**.

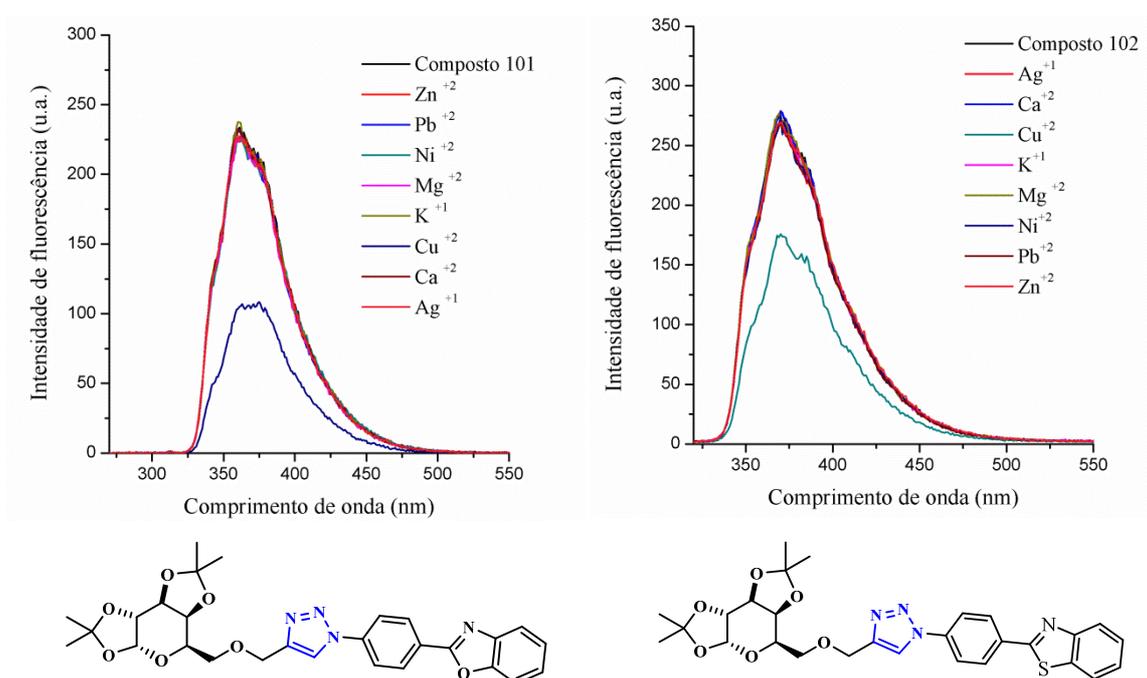


**Figura 65.** Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **105** e **107**.

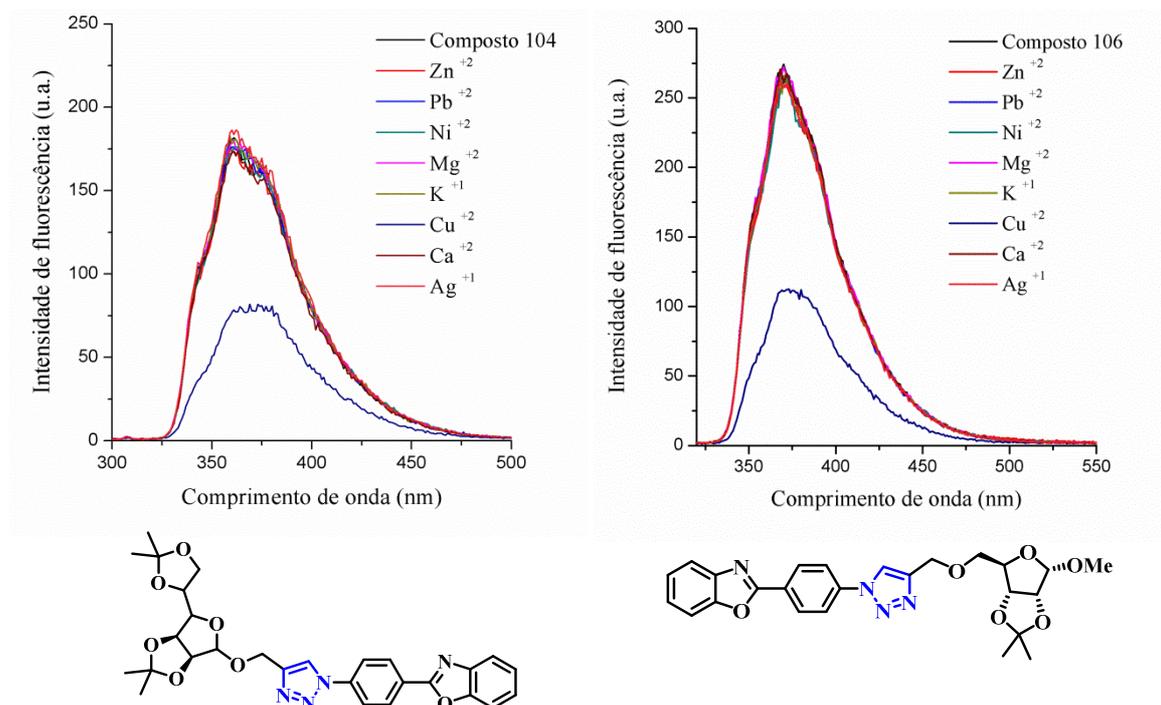
Para os glicoconjugados **98**, **99**, **101**, **102**, **104** e **105** (Figuras 66-68) foi possível observar uma significativa diminuição da intensidade de fluorescência somente após a adição de 20 equivalentes do sal de cobre. Além disso, para todos os glicoconjugados utilizados, como pode ser observado, a intensidade de emissão de fluorescência não foi afetada de forma significativa na presença dos demais cátions testados, indicando a seletividade para este analito.



**Figura 66.** Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **98** e **99**.

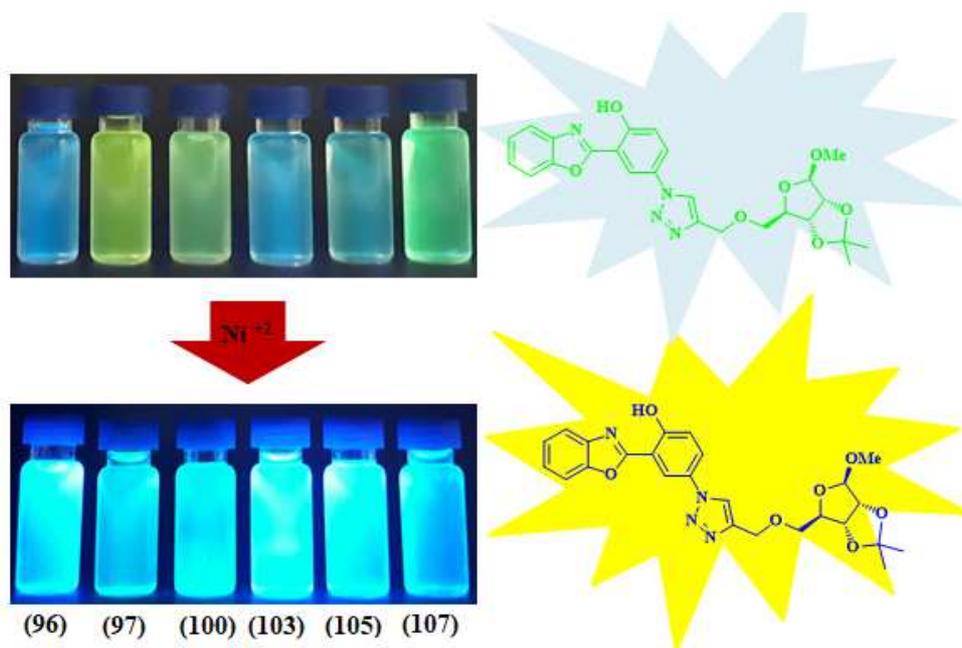


**Figura 67.** Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **101** e **102**.

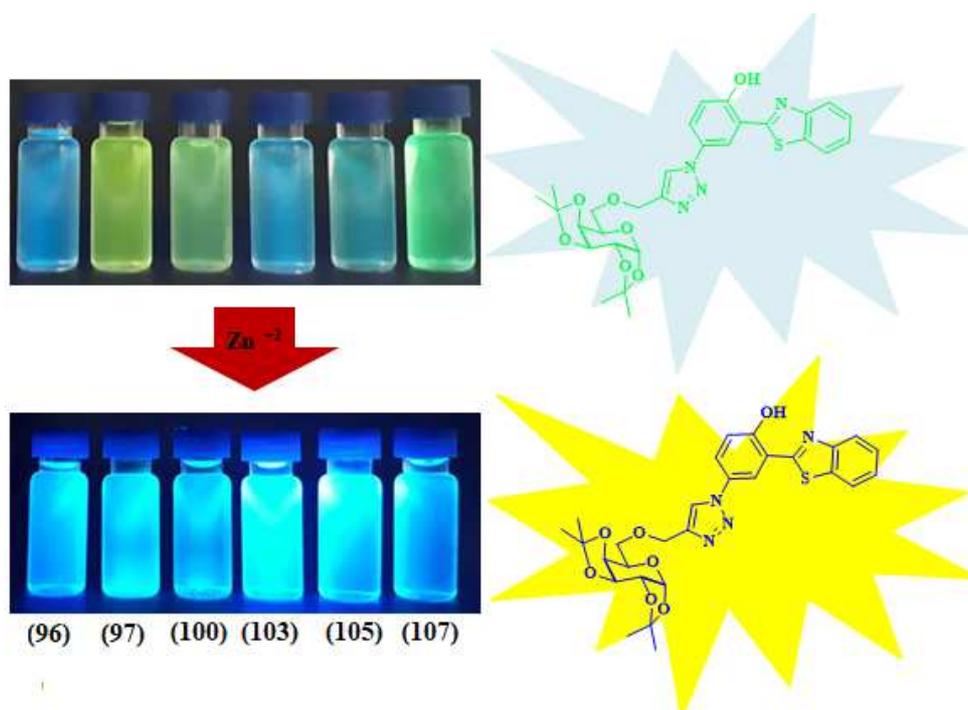


**Figura 68.** Espectros de emissão de fluorescência em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **104** e **106**.

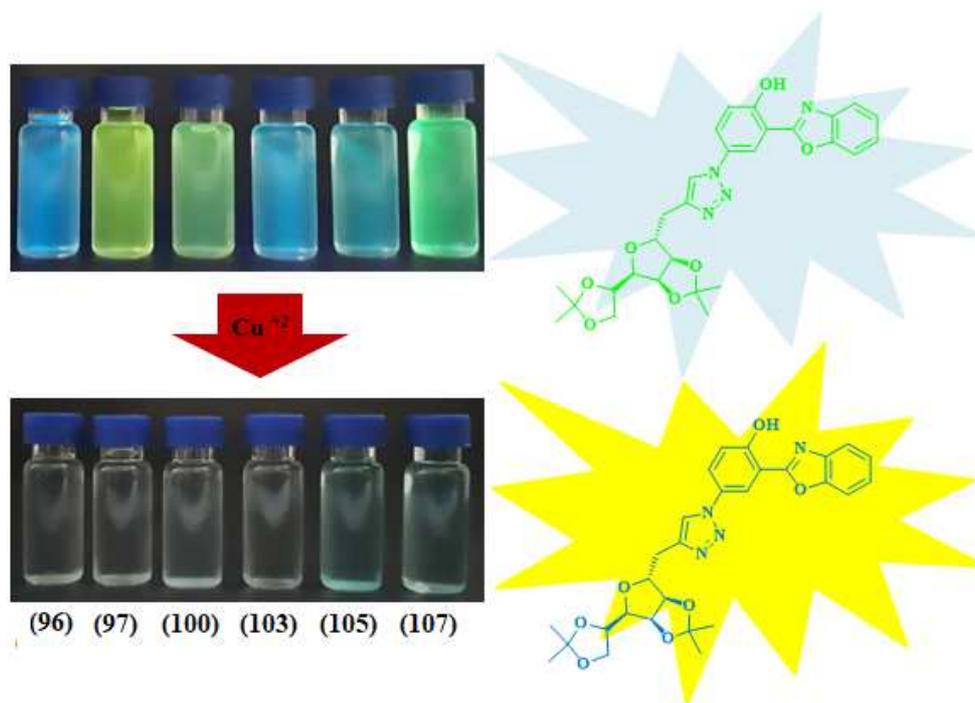
Nas **Figuras 69-72** são apresentados os glicoconjugados **96, 97, 100, 103, 105** e **107** em solução de acetonitrila sob radiação UV. Na ausência dos cátions  $\text{Ni}^{+2}$  ou  $\text{Zn}^{+2}$  as soluções são fluorescentes, como esperado. Após a adição dos cátions, ocorre a formação de um complexo entre o glicoconjugado e o metal. Compostos com maior intensidade de fluorescência. Esses mesmos compostos tiveram sua intensidade de fluorescência drasticamente diminuída após a adição de equivalentes de cobre (**Figura 70**). Os glicoconjugados **98, 99, 101, 102, 104** e **105** também apresentaram seletividade para o cobre. É possível que sob radiação UV antes da adição do cobre esses compostos são fluorescentes. Após a adição do cobre essa fluorescência diminui (**Figura 71**).



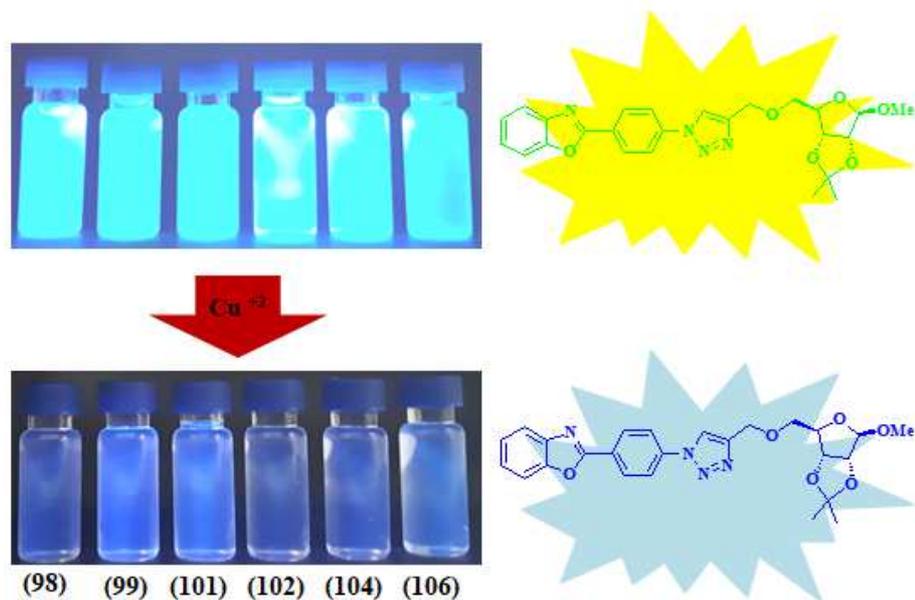
**Figura 69.** Glicoconjugados em acetonitril sob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ .



**Figura 70.** Glicoconjugados em acetonitril sob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ .



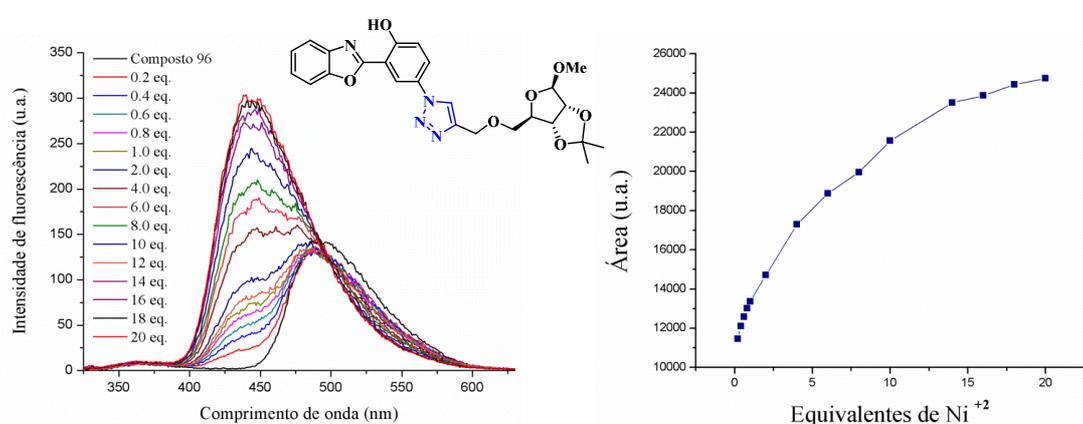
**Figura 71.** Glicoconjugados em acetonitrilasob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ .



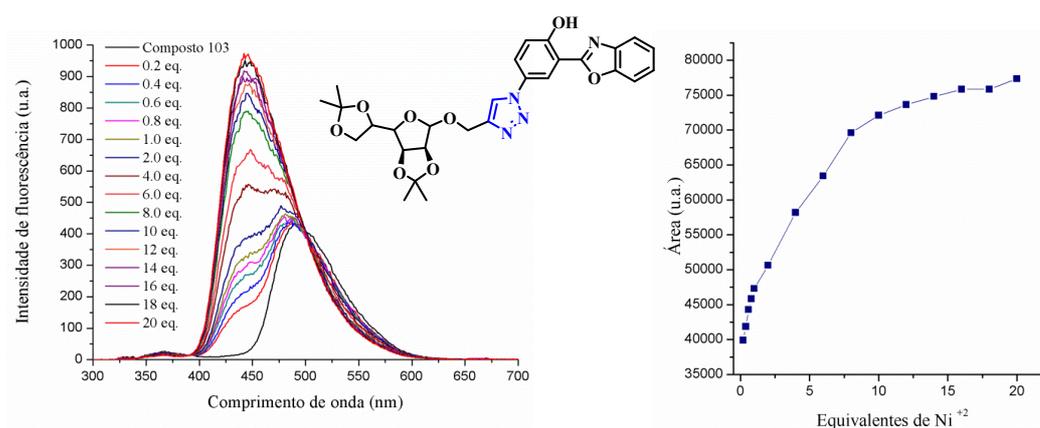
**Figura 72.** Glicoconjugados em acetonitrilasob radiação UV na ausência (acima) e na presença (abaixo) de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ .

Devido à melhor resposta de intensidade de fluorescência após a adição dos cátions  $\text{Ni}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$ , foram realizadas avaliações mais detalhadas da interação dos

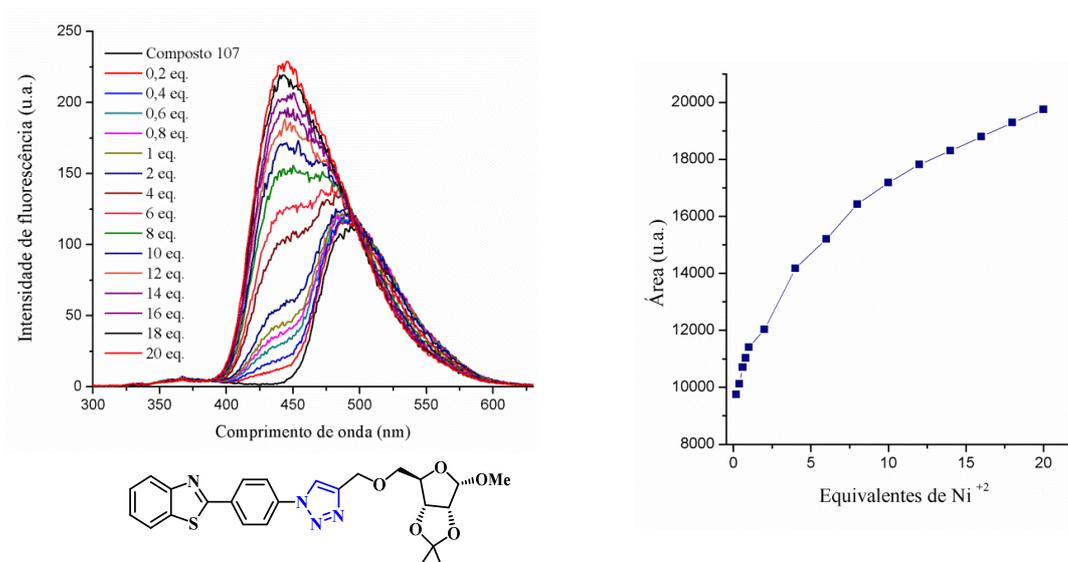
compostos com os metais selecionados. Para isso foram adicionadas diferentes equivalentes dos cátions, separadamente, na solução dos glicoconjugados em acetonitrila. Na **Figura 73** é apresentado o espectro de emissão de fluorescência do glicoconjugado **96**, onde é possível observar que a intensidade de fluorescência, localizada em 492 nm do composto antes da adição de alíquotas de níquel, diminuiu de intensidade juntamente com o aparecimento de uma nova banda em 446 nm. Essa nova banda tem sua intensidade de fluorescência aumentada gradualmente com a adição de diferentes alíquotas dos cátions. Observações semelhantes foram feitas para os glicoconjugados **103** e **107** (**Figuras 74** e **75**).



**Figura 73.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto **96** ( $1,43 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Ni}^{2+}$  (direita).

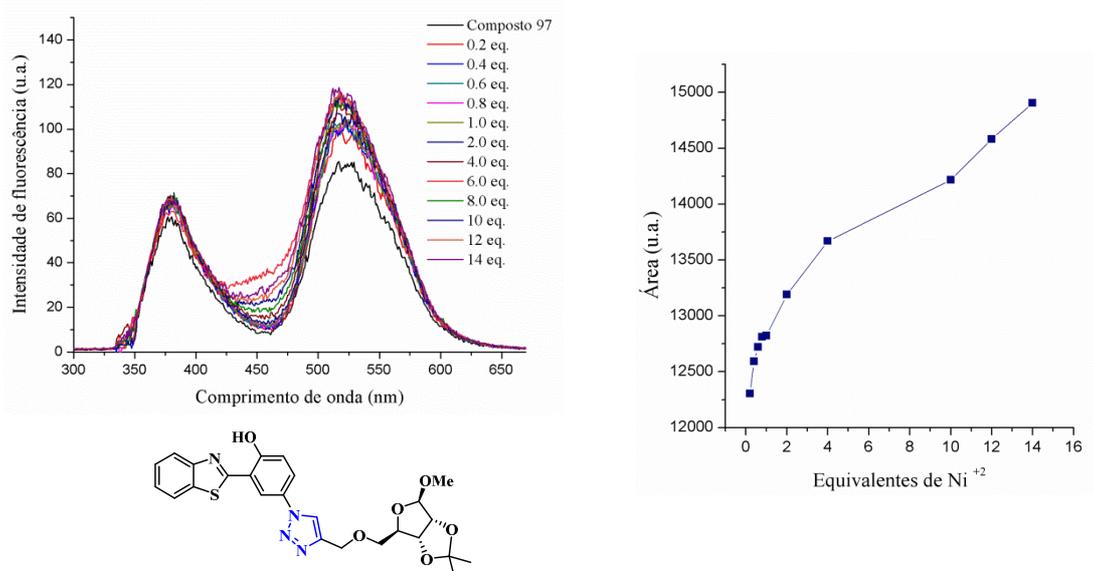


**Figura 74.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto **103** ( $1,36 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Ni}^{2+}$  (direita).



**Figura 75.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto **107** ( $1,46 \times 10^{-5} \text{M}$ ) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Ni}^{+2}$  (direita).

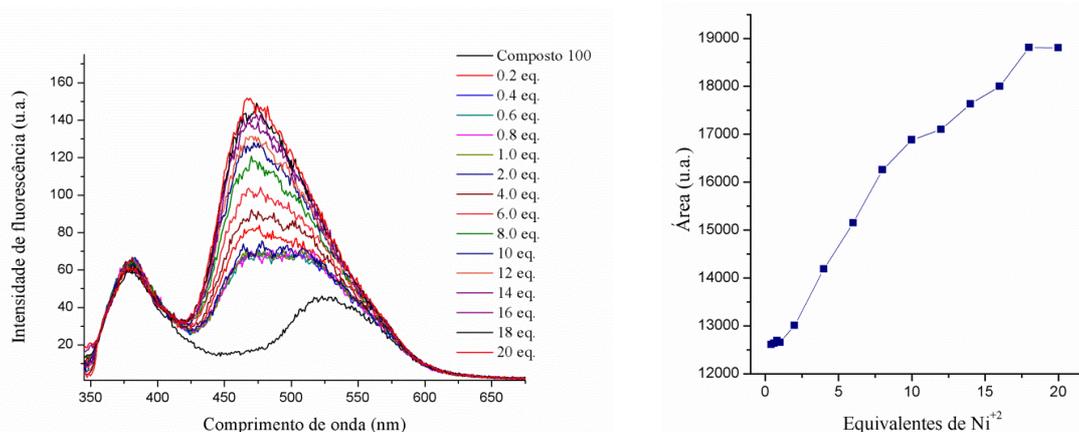
Para o glicoconjugado **97** (**Figura 76**) tanto a banda normal localizada em 380 nm como a banda ESIPT tem sua intensidade de fluorescência aumentada após a adição de equivalentes de níquel. No entanto, a banda ESIPT tem esse aumento mais pronunciado indicando que a complexação do metal com o composto se dá de forma mais efetiva quando o composto está na forma ceto.



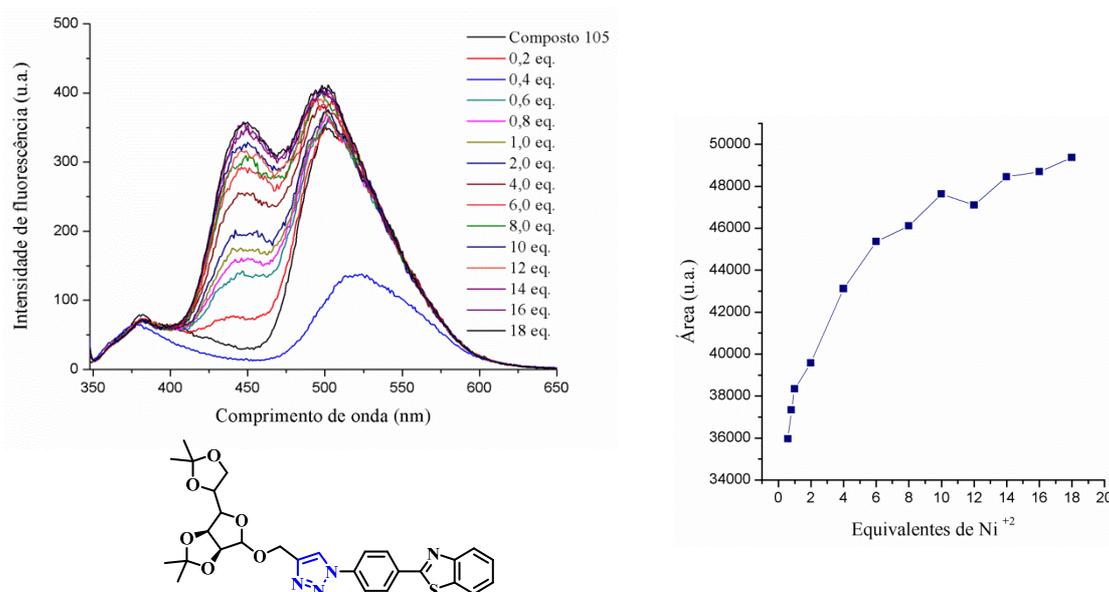
**Figura 76.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-14 equiv.) do composto **97** ( $1,41 \times 10^{-5} \text{M}$ ) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Ni}^{+2}$  (direita).

No espectro de emissão de fluorescência do composto **100** (**Figura 77**), pode-se observar um deslocamento para o azul da banda localizada em 522 nm. A nova banda em 468 nm a exemplo dos glicoconjugados citados anteriormente, tem sua intensidade de fluorescência aumentada com a adição de alíquotas de níquel. A banda normal localizada em 380 nm não apresenta mudanças significativas com a adição do níquel. Já para o composto **105** (**Figura 77**), observa-se um deslocamento para o vermelho da banda normal e um deslocamento para o azul da banda ESIPT após a adição de equivalentes de níquel acompanhado de um aumento da intensidade de fluorescência.

Esse aumento de intensidade de fluorescência, observado para todos os compostos citados deve-se provavelmente, a formação de um complexo entre metal com e o composto, onde o cátion se liga aos átomos de nitrogênio do núcleo triazólico. A incorporação do metal ao composto provoca um aumento da rigidez da molécula impedindo os processos não radiativos resultando no aumento da intensidade de fluorescência. Através desse mecanismo esses compostos podem ser classificados como um quimiossensor *turn-on*, visto que a interação dos cátions com os compostos provoca um aumento da intensidade de fluorescência. Resultados semelhantes foram observados quando foi utilizada a mesma quantidade de equivalentes de zinco.<sup>200,201</sup>



**Figura 77.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto **100** ( $1,28 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de Ni<sup>+2</sup> (direita).

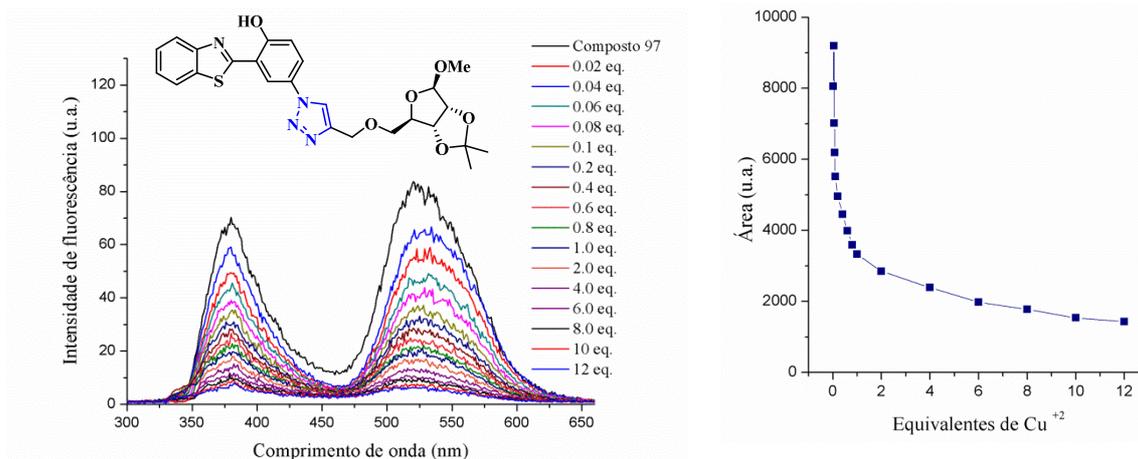


**Figura 78.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de níquel (0.2-20 equiv.) do composto **105** ( $1,35 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de Ni<sup>2+</sup> (direita).

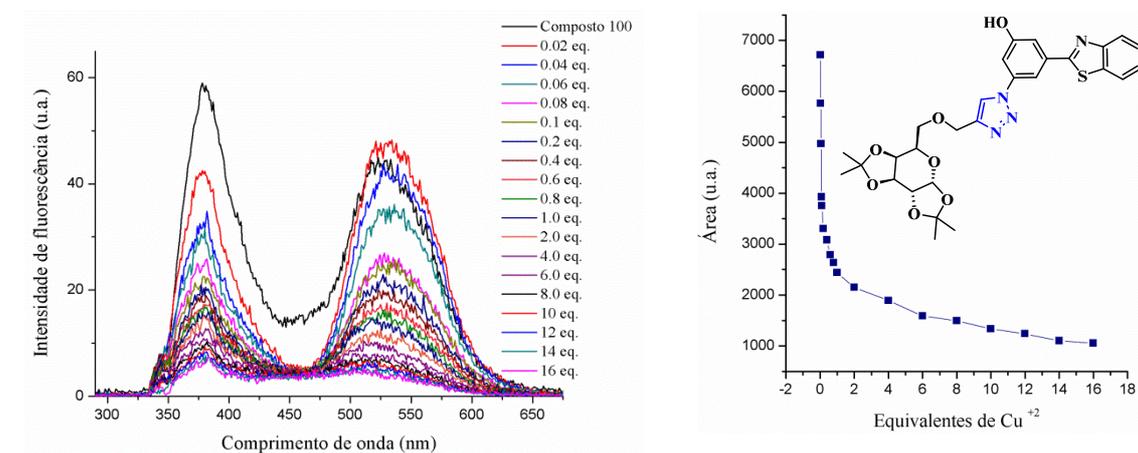
Os glicoconjugados sintetizados também foram avaliados como quimiossensores de Cu<sup>2+</sup> em solução de acetonitrila. Nas **Figuras 79-84** estão apresentados os espectros de emissão de fluorescência e o gráfico área x equiv. dos glicoconjugados **97**, **100**, **101**, **103**, **104** e **105** na presença de diferentes alíquotas do cátion (0,002-20 eq.), onde é possível observar uma supressão gradual na intensidade de fluorescência desses compostos após adição de diferentes equivalentes de Cu<sup>2+</sup>. Para os glicoconjugados **97**, **100** e **103** (**Figuras 78-80**) que apresentam dupla emissão de fluorescência devido a o mecanismo de ESIPT, observa-se que tanto a banda enol como a banda ceto localizados entre 368 e 433 nm, tiveram sua intensidade de fluorescência diminuída com a adição de alíquotas do cátion. O mesmo pode ser observado para os compostos **101**, **104** e **105** (**Figuras 82-84**).

Essa supressão de fluorescência ocorre devido a dois processos, a interação através de colisões entre as moléculas no estado excitado ou a formação de um complexo não fluorescente entre os compostos e o supressor, onde esses efeitos promovem à diminuição do rendimento quântico do fluoróforo. Nesse trabalho, acredita-se que a supressão da fluorescência dos glicoconjugados pela interação com o Cu<sup>2+</sup> observada nas **Figuras 72-87** é resultado da reação de complexação e por isso espera-se que o mecanismo de supressão seja estático.<sup>202</sup> Ou seja, neste mecanismo tem-

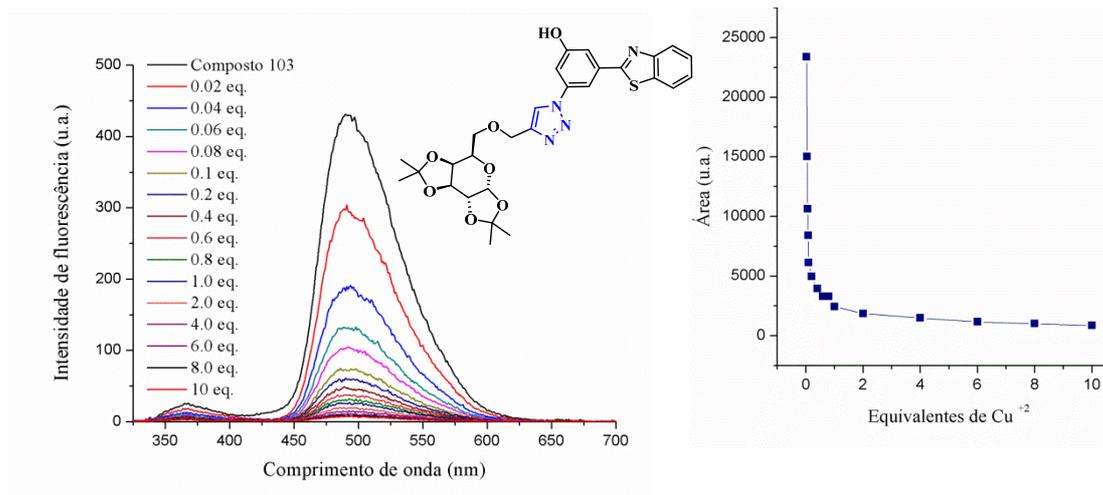
se a formação de um complexo não luminescente entre o fluoróforo receptor e quando esse complexo absorve luz, ele imediatamente retorna ao estado fundamental sem a emissão de fóton. Essa supressão de luminescência pode ser justificada pelo fato de que o cobre tem uma configuração eletrônica  $d^9$  e ser paramagnético que exerce um efeito de extinção de luminescência nos ligantes fluoróforos após a complexação via processos não radiativos ultrarrápidos.<sup>203</sup>



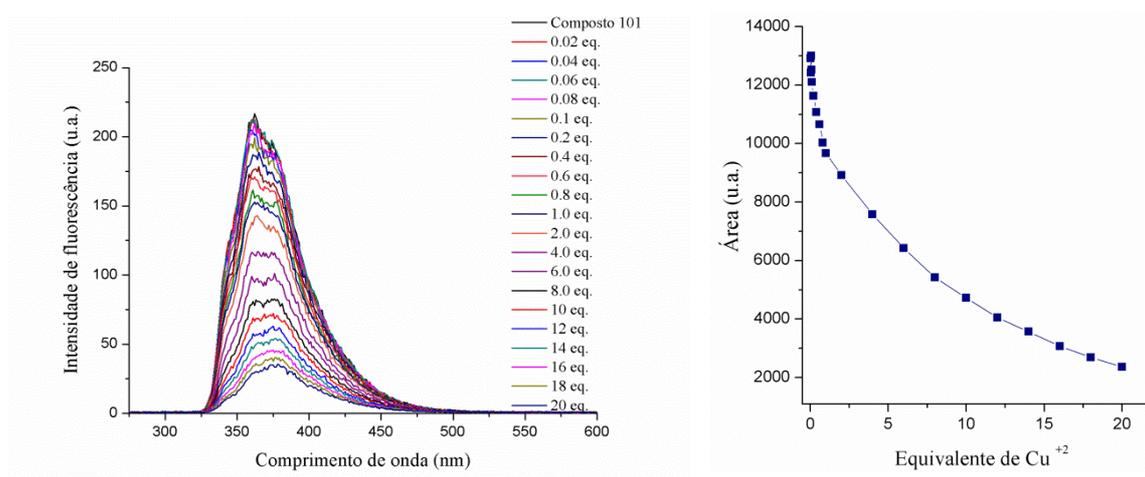
**Figura 79.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-14 equiv.) do composto **97** ( $1,41 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Cu}^{+2}$  (direita).



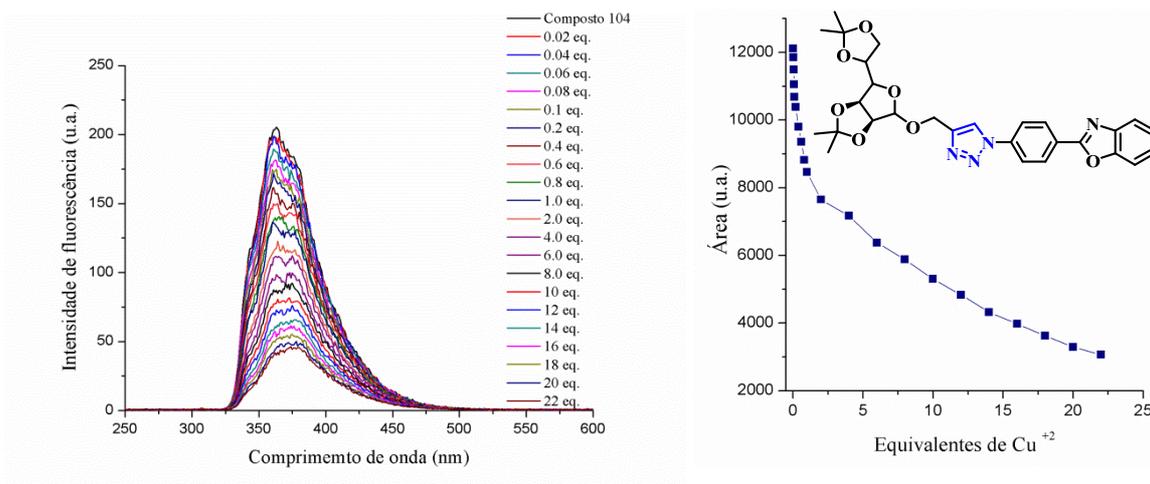
**Figura 80.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-16 equiv.) do composto **100** ( $1,28 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Cu}^{+2}$  (direita).



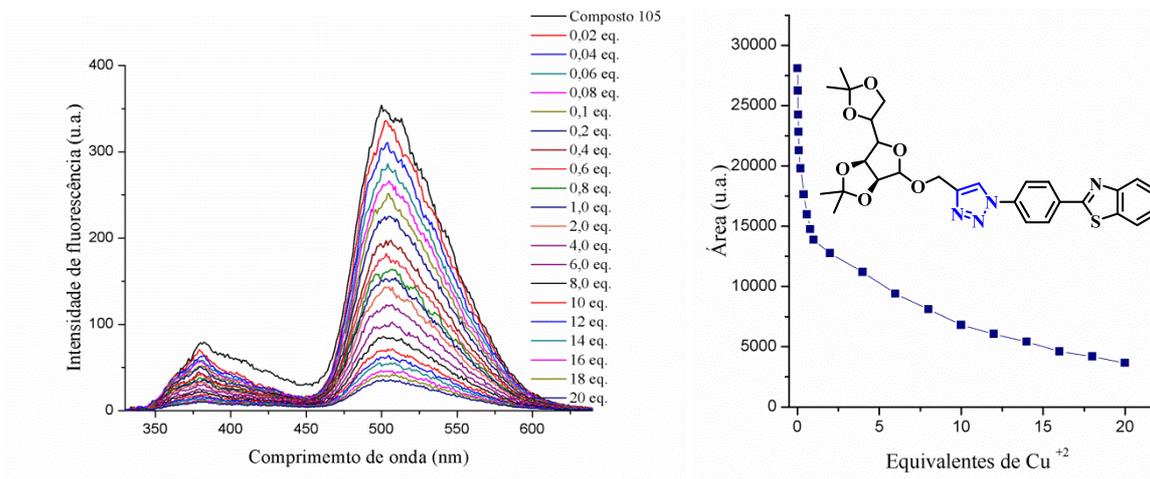
**Figura 81.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-10 equiv.) do composto **103** ( $1,36 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Cu}^{+2}$  (direita).



**Figura 82.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre -(0,02-20 equiv.) do composto **101** ( $1,38 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de  $\text{Cu}^{+2}$  (direita).



**Figura 83.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-22 equiv.) do composto **104** ( $1,40 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de Cu<sup>+2</sup> (direita).

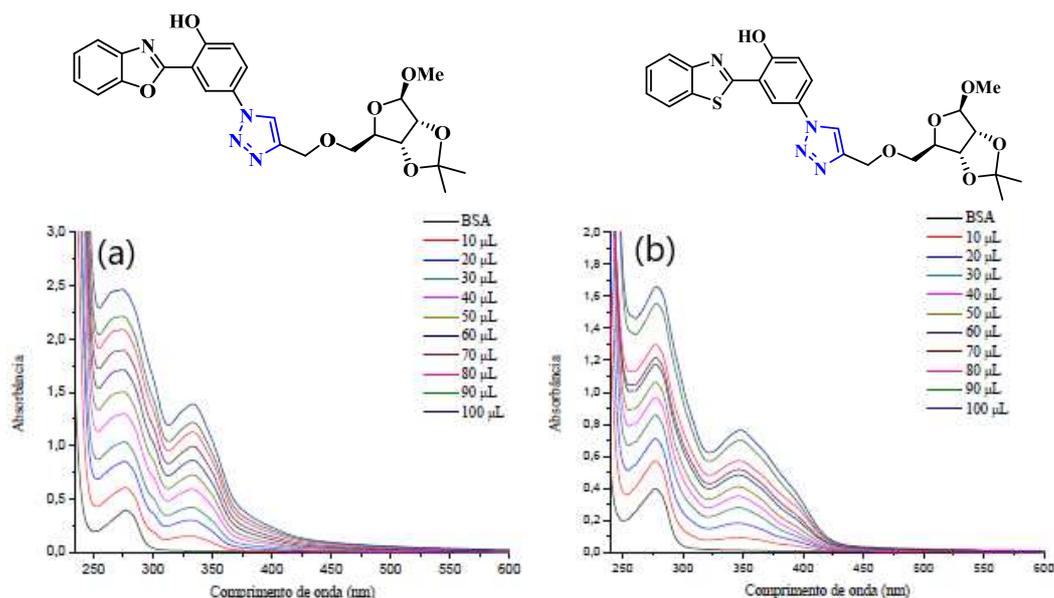


**Figura 84.** Espectro de emissão de fluorescência em solução de nitrato de cobre (0,02-20 equiv.) do composto **105** ( $1,35 \times 10^{-5}$  M) (esquerda) e gráfico área x equivalentes de Cu<sup>+2</sup> (direita).

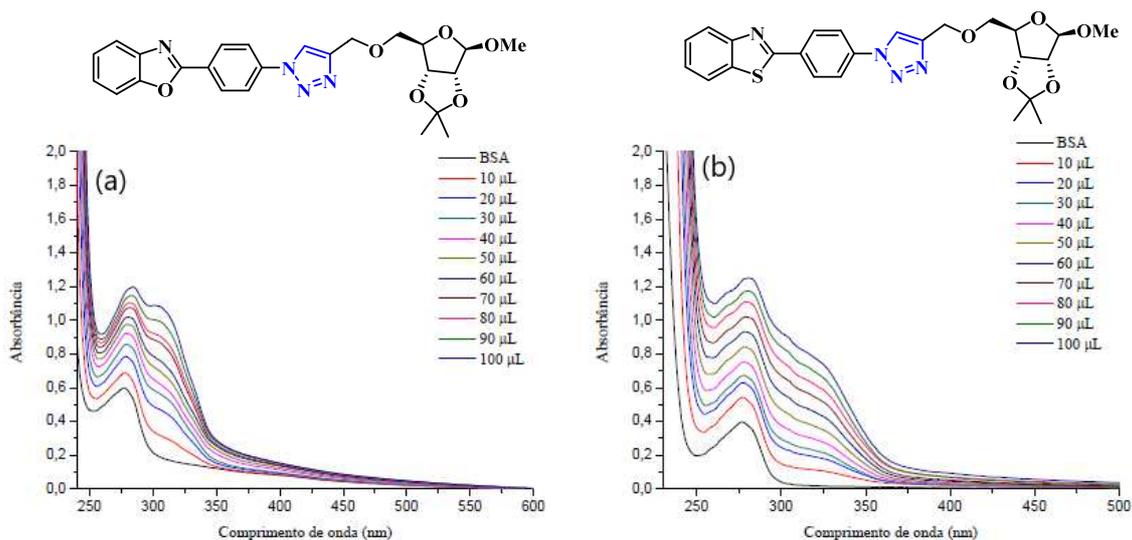
### 5.7. Estudo da interação do glicoconjugados com BSA

Os testes de interação foram realizados a fim de investigar a interação dos glicoconjugados com a albumina sérica bovina (BSA). A BSA possui uma banda de absorção na região do UV-Vis com máximo localizado em aproximadamente 280 nm e emissão de fluorescência com máximo em torno de 348 nm, originadas devido aos resíduos de triptofano, que são os principais responsáveis pela sua fluorescência intrínseca. A interação de um composto com a BSA geralmente conduz a uma supressão na emissão de fluorescência da albumina sérica.<sup>204</sup> A análise de interação com a BSA

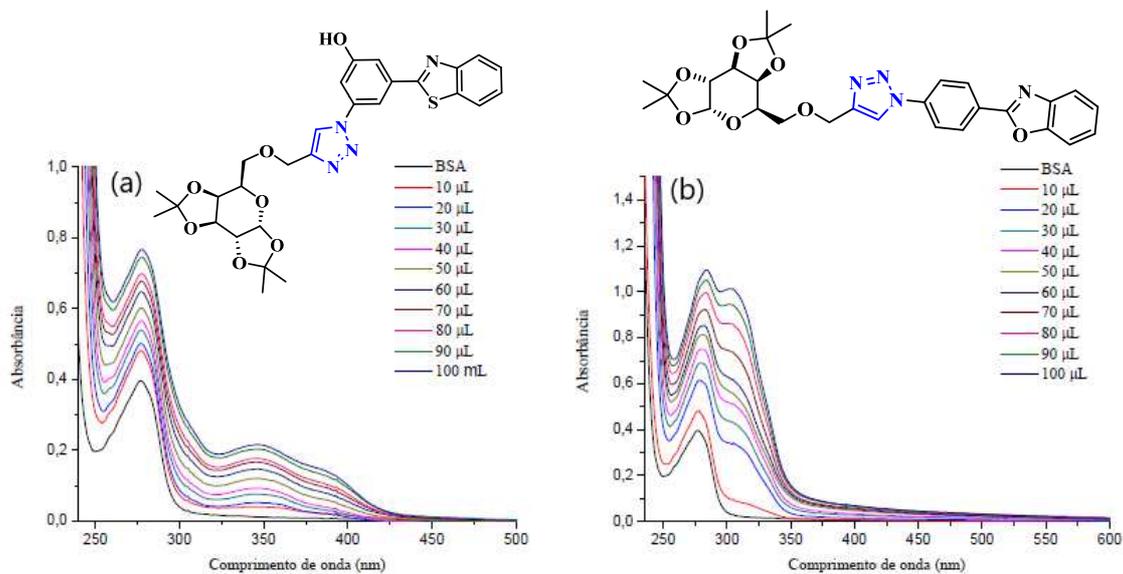
foram realizada a partir da titulação de uma solução de BSA [2  $\mu\text{M}$ ] com os glicoconjugados **96-107** (10-100  $\mu\text{M}$ ) em tampão fosfato salino (PBS) (pH 7,4). As análises foram realizadas à temperatura ambiente (25°C). Nas **Figuras 85-90** são apresentados os espectros de absorção na região do UV-Vis dos glicoconjugados **96-103**. Através dos espectros de absorção verifica-se que com o aumento da concentração dos glicoconjugados ocorre um aumento na absorbância em aproximadamente 277 nm, que corresponde à região de absorção da BSA.



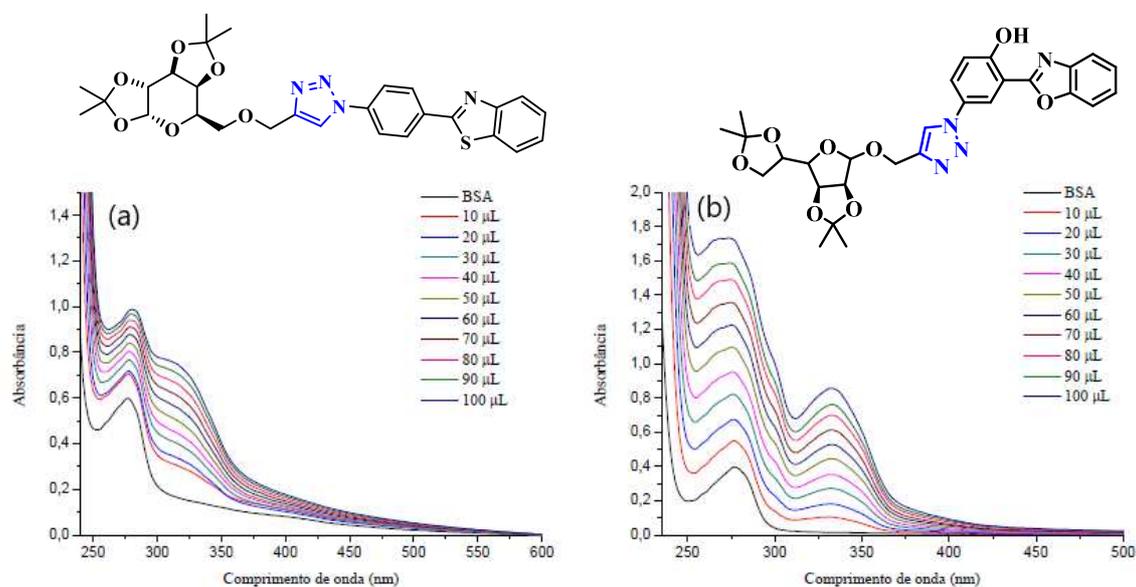
**Figura 85.** Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados **96** (a) e **97** (b) (10-100  $\mu\text{M}$ ).



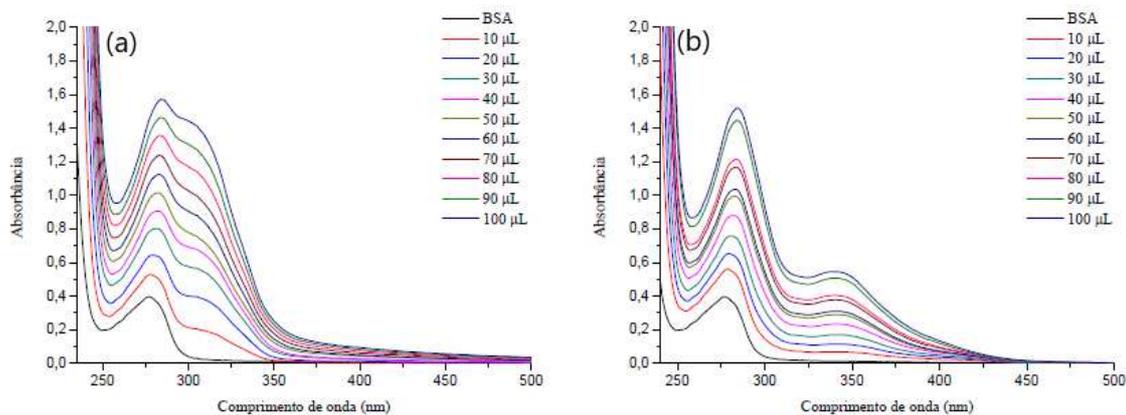
**Figura 86.** Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados **98** (a) e **99** (b) (10-100  $\mu\text{M}$ ).



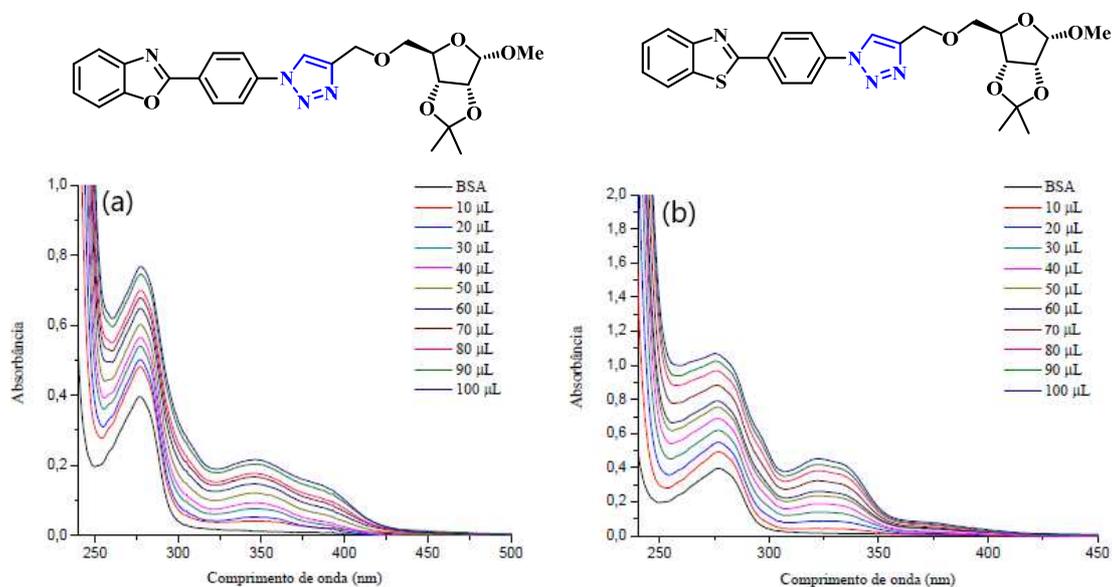
**Figura 87.** Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados **100** (a) e **101** (b) (10-100 μM).



**Figura 88.** Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados **102** (a) e **103** (b) (10-100 μM).

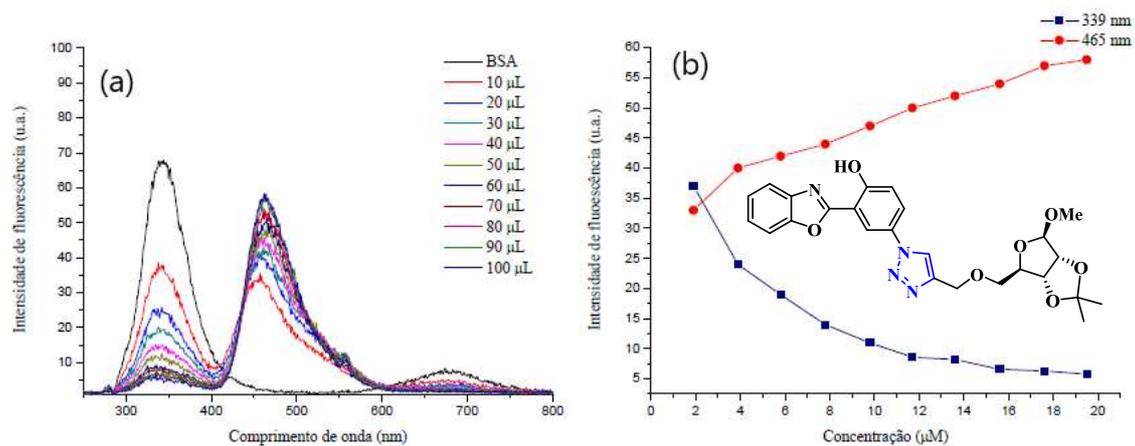


**Figura 89.** Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados **104** (a) e **105** (b) (10-100 μM).

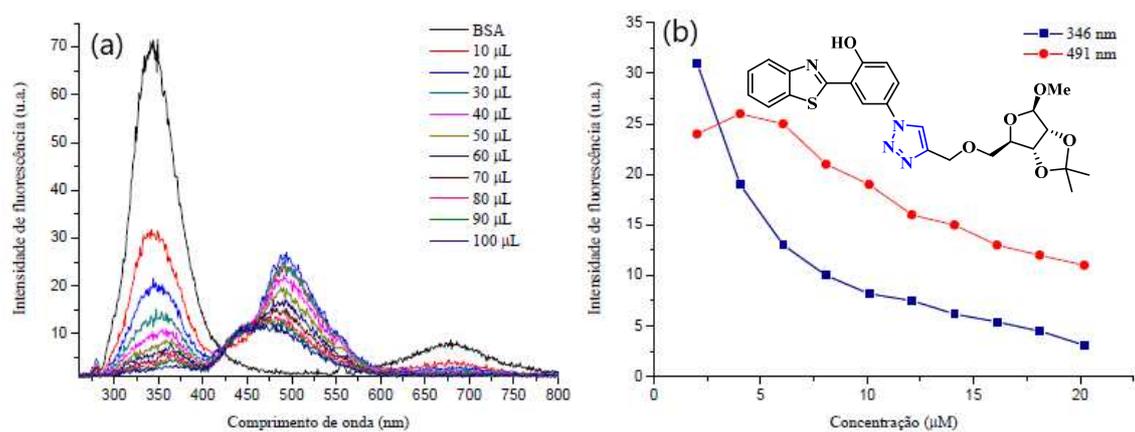


**Figura 90.** Espectros de absorção de UV-Vis da BSA na presença de diferentes concentrações dos glicoconjugados **106** (a) e **107** (b) (10-100 μM).

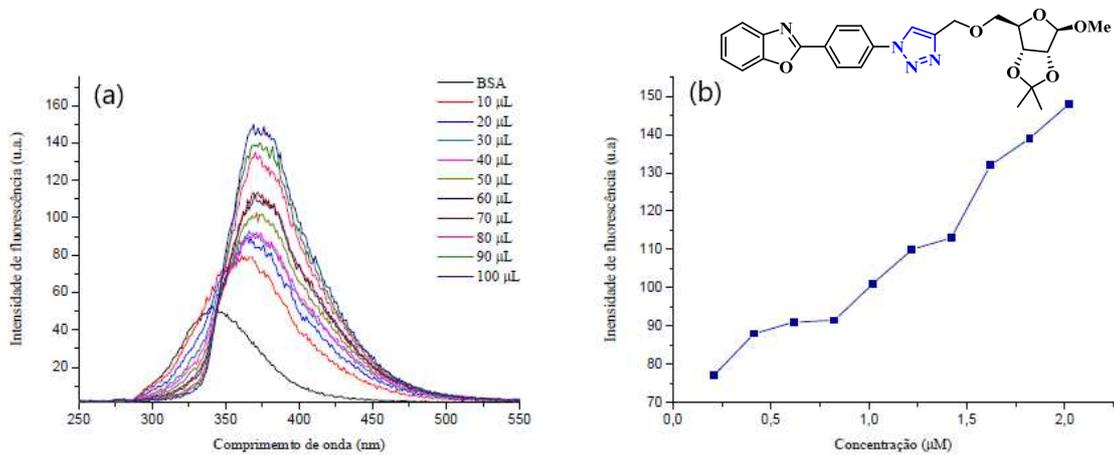
Também foi analisada a supressão de fluorescência da BSA através da titulação fotométrica na presença dos glicoconjugados estudados. Essas medidas foram realizadas, utilizando como excitação 280 nm. Os resultados encontram-se nas **Figuras 91-102**. Para o cálculo da porcentagem de supressão da BSA, foram considerados os valores da intensidade do máximo de emissão em 277 nm. A maioria dos compostos estudados apresentou boa interação com a BSA, com supressão de fluorescência em torno de 72-96% (**Tabela 6**).



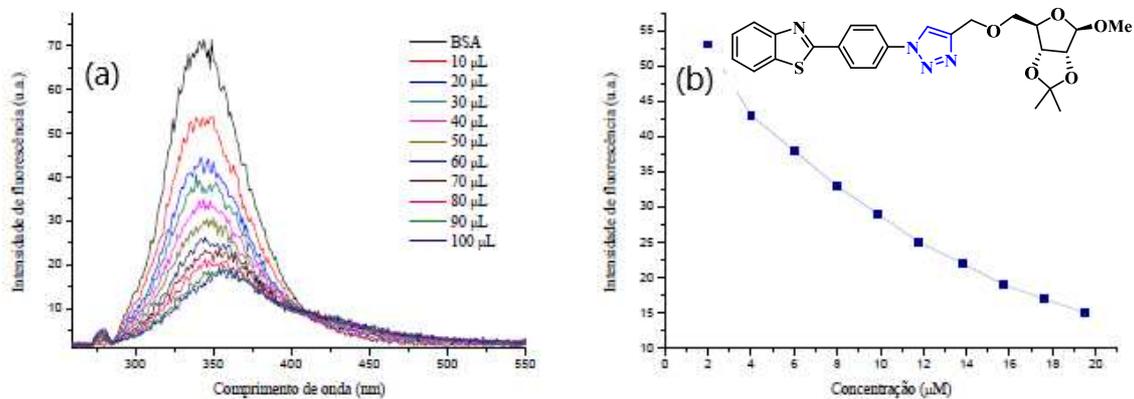
**Figura 91.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **96**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



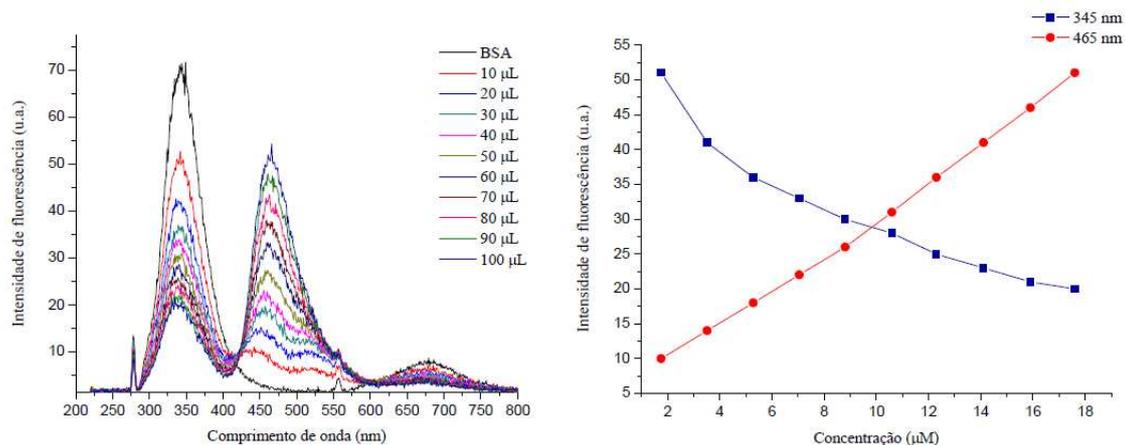
**Figura 92.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **97**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



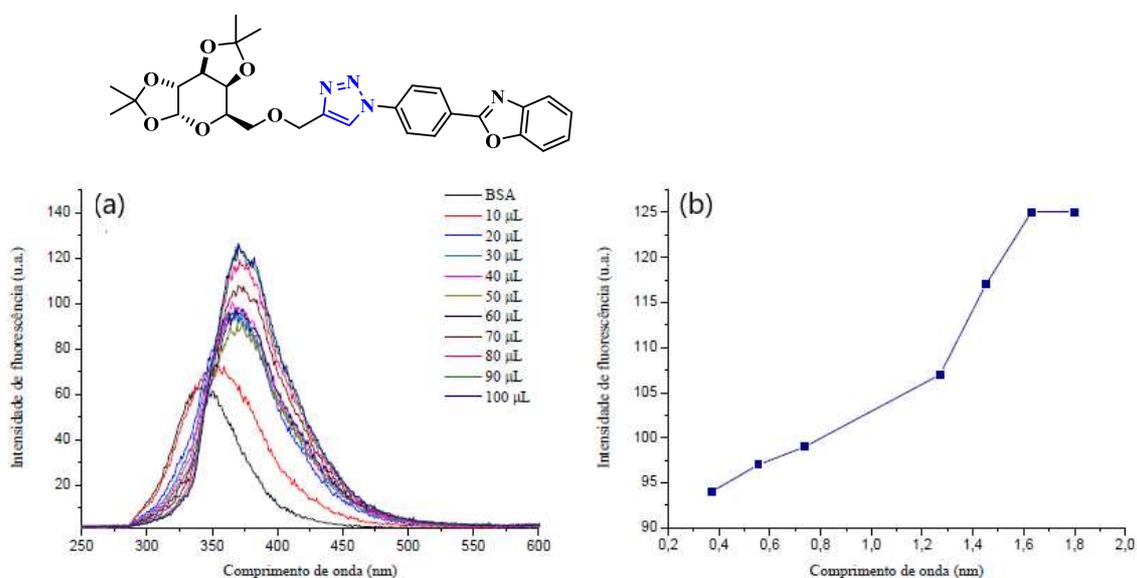
**Figura 93.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **98**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



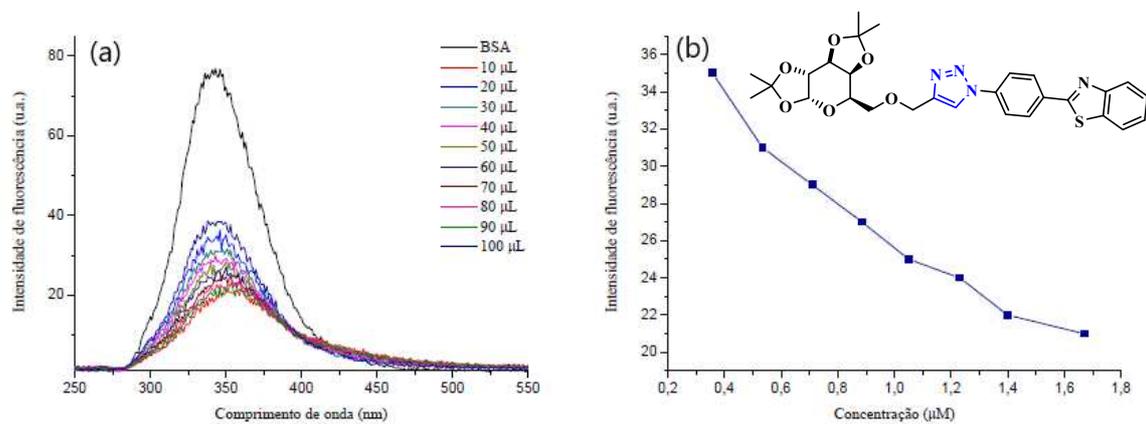
**Figura 94.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **99**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



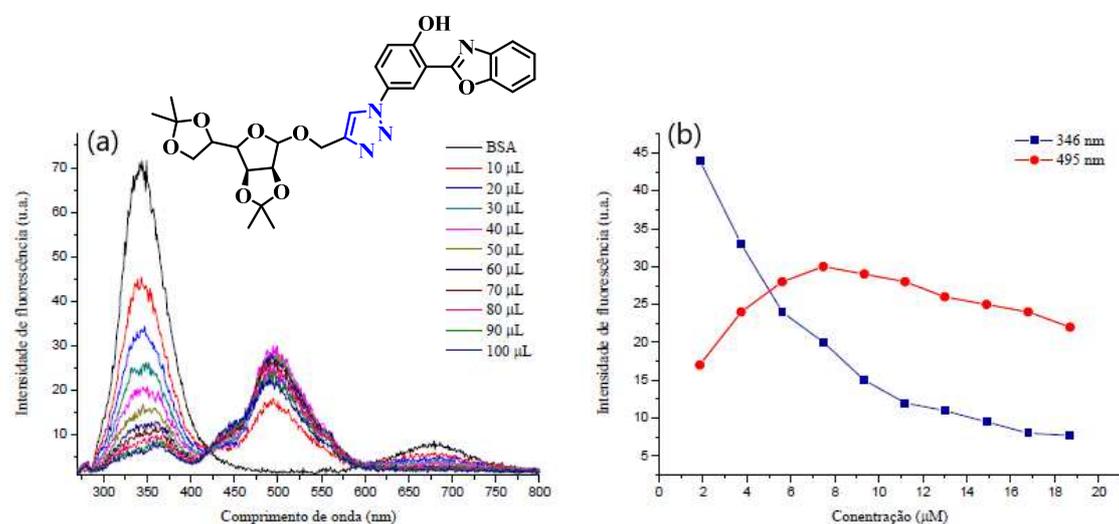
**Figura 95.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **100**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



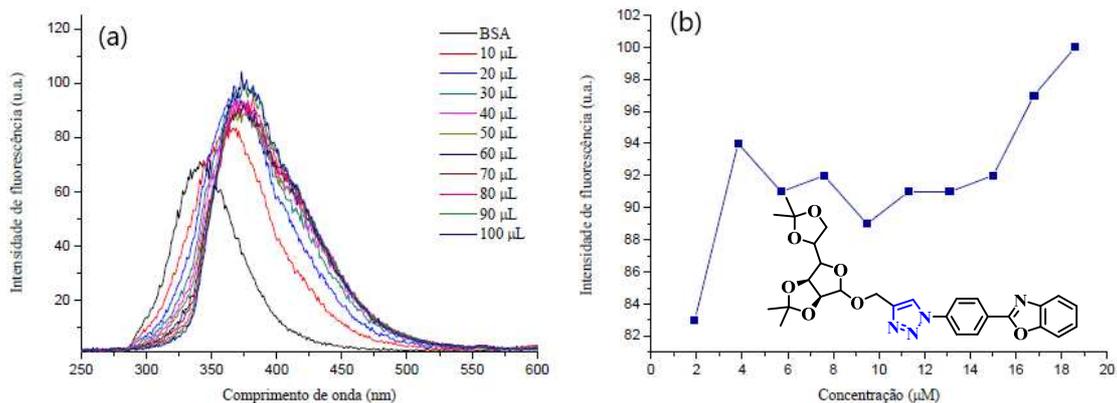
**Figura 96.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **101**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



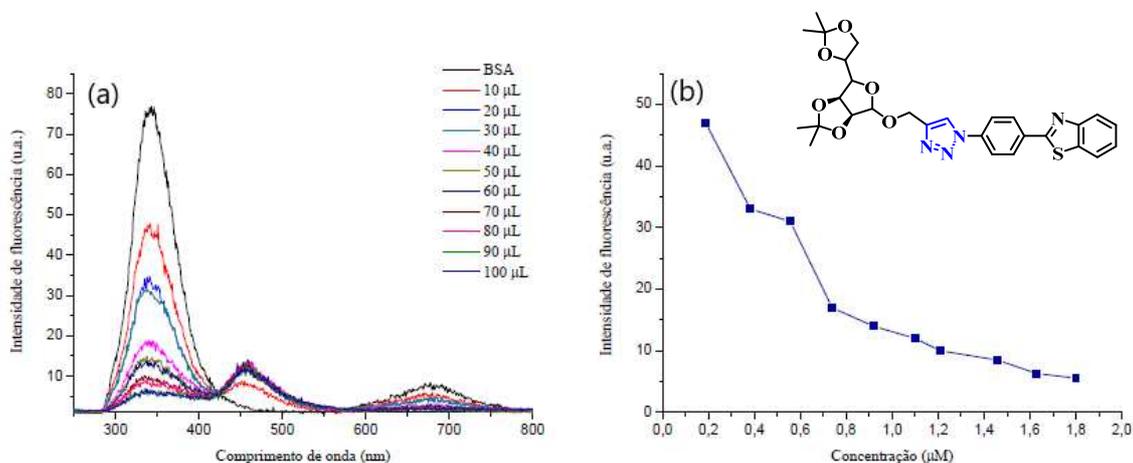
**Figura 97.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **102**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



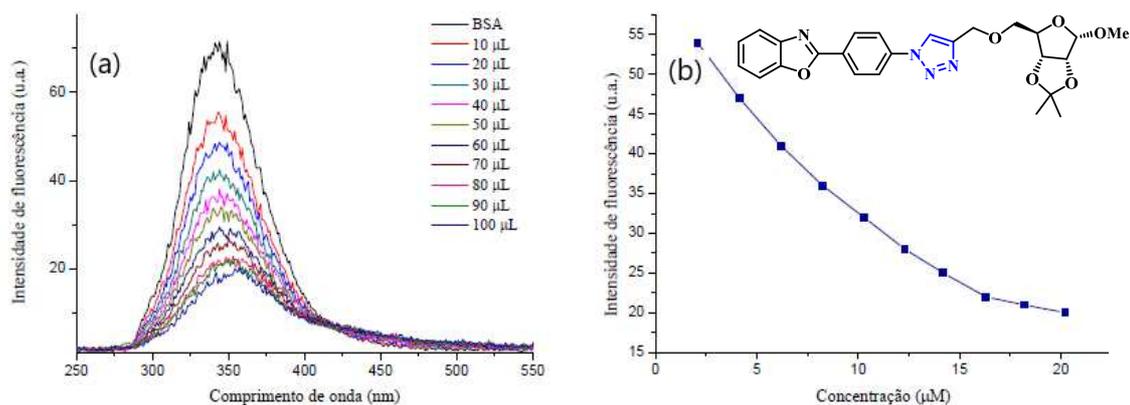
**Figura 98.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **103**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



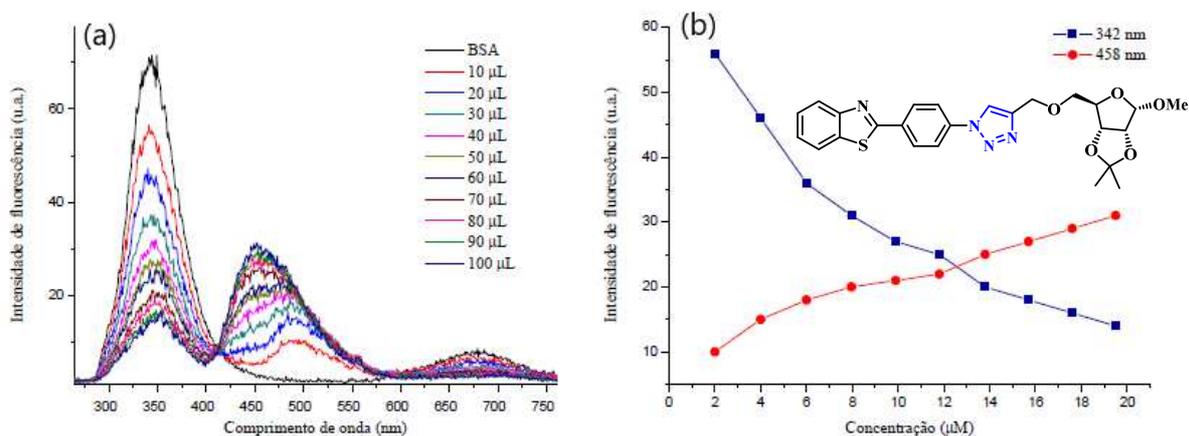
**Figura 99.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **104**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



**Figura 100.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **105**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



**Figura 101.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **106**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.



**Figura 102.** (a) Espectro de emissão de fluorescência da BSA com o aumento da concentração do glicoconjugado **107**. (b) Variação da intensidade de fluorescência com o aumento da concentração do glicoconjugado.

Para os glicoconjugados **96**, **97**, **99**, **100**, **102**, **103**, **105**, **106** e **107** os resultados mostram que à medida que a concentração desses compostos aumenta, a intensidade de fluorescência da BSA diminui, e de forma praticamente linear que a intensidade de fluorescência teve uma redução entre 72% e 93%. Indicando que a inserção dos glicoconjugados nas cavidades da proteína BSA diminui significativamente a emissão de fluorescência dos resíduos de triptofano da BSA. Observa-se também o aparecimento de um nova banda entre 457 e 495 nm que pode ser atribuída a banda ceto do núcleo benzazólico dos glicoconjugados. Essa nova banda tem sua intensidade aumentada à medida que aumenta a concentração dos glicoconjugados. Este resultado preliminar, já

evidencia qualitativamente uma interação significativa dos glicoconjugados com a proteína. Entretanto, a interação moléculas **98**, **101** e **104**, com a proteína BSA apresentou um aumento da intensidade de fluorescência acompanhado de um deslocamento para o vermelho.

**Tabela 6.** Porcentagem de supressão da banda de emissão da BSA pela interação com os glicoconjugados **96-107**.

Glicoconjugados	Porcentagem de supressão (%)
<b>96</b>	96
<b>97</b>	93
<b>99</b>	73
<b>100</b>	72
<b>102</b>	72
<b>103</b>	91
<b>105</b>	93
<b>106</b>	73
<b>107</b>	80

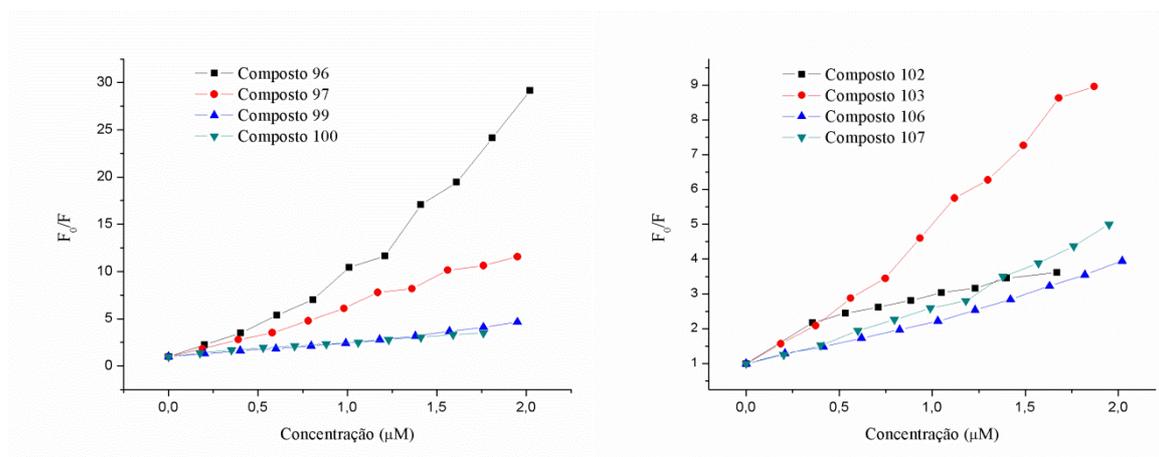
Com o objetivo de avaliar a natureza da supressão de fluorescência e também determinar o valor da constante de supressão, foram obtidas curvas de Stern-Volmer para cálculos das respectivas constantes de supressão. Esta relação é apresentada na Equação (1):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv}[Q] \text{ (Equação 1)}$$

onde que  $F_0$  é a intensidade de fluorescência da solução de BSA puro (branco);  $F$  é a intensidade de fluorescência do BSA na presença do supressor;  $K_q$  é a constante bimolecular de supressão, que está relacionada com a eficiência de supressão;  $\tau_0$  é o tempo de vida do fluoróforo na ausência do supressor, com valor de  $10^{-8}$  s para biomoléculas;<sup>205</sup>  $[Q]$  é a concentração do supressor e  $K_{sv}$  é a constante de supressão de Stern-Volmer. Os resultados obtidos encontram-se na **Tabela 7**. Os gráficos das regressões lineares encontram-se na **Figura 103**.

**Tabela 7.** Resultados obtidos a partir da equação de Stern-Volmer, à 25°C.

Composto	Regressão linear	R <sup>2</sup>	K <sub>SV</sub> (L·mol <sup>-1</sup> )	K <sub>q</sub> (L·mol <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )
96	F <sub>0</sub> /F=1,37X10 <sup>6</sup> [Q]+1,38	0,967	1,37x10 <sup>5</sup>	1,37x10 <sup>13</sup>
97	F <sub>0</sub> /F=5,69X10 <sup>5</sup> [Q]+0,66	0,990	1,36x10 <sup>5</sup>	1,36x10 <sup>13</sup>
99	F <sub>0</sub> /F=1,81X10 <sup>6</sup> [Q]+0,82	0,978	1,81x10 <sup>5</sup>	1,81x10 <sup>13</sup>
100	F <sub>0</sub> /F=1,36X10 <sup>6</sup> [Q]+1,13	0,992	1,36x10 <sup>6</sup>	1,36x10 <sup>13</sup>
102	F <sub>0</sub> /F=1,43X10 <sup>5</sup> [Q]+1,47	0,909	1,43x10 <sup>5</sup>	1,43x10 <sup>13</sup>
103	F <sub>0</sub> /F=4,37X10 <sup>6</sup> [Q]+0,67	0,994	4,37x10 <sup>5</sup>	4,37x10 <sup>13</sup>
106	F <sub>0</sub> /F=1,43X10 <sup>6</sup> [Q]+0,88	0,986	1,28x10 <sup>5</sup>	1,43x10 <sup>13</sup>
107	F <sub>0</sub> /F=2,02X10 <sup>6</sup> [Q]+0,75	0,979	2,02x10 <sup>5</sup>	2,02x10 <sup>13</sup>



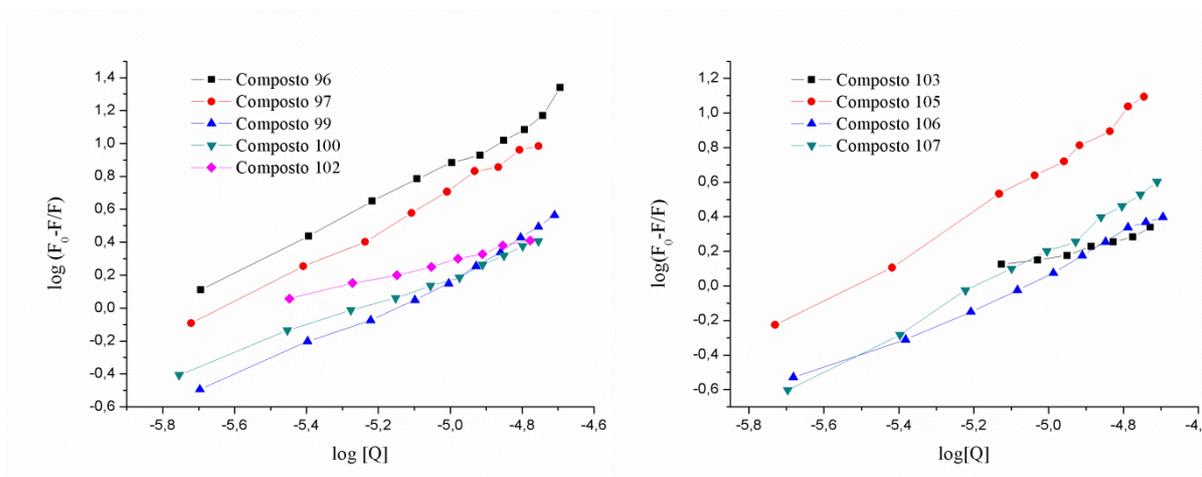
**Figura 103.** Curvas de Stern-Volmer aplicadas ao máximo de emissão da BSA em 342 nm na presença dos glicoconjugados.

Através dos dados obtidos pela equação de Stern-Volmer, observa-se que os valores de K<sub>SV</sub> se encontram entre 10<sup>5</sup> L·mol<sup>-1</sup>, enquanto que para K<sub>q</sub> se encontram entre 10<sup>13</sup> L·mol<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>. Estes resultados indicam que o *quenching* de fluorescência da BSA é de natureza estática, onde ocorre a formação de um complexo entre os glicoconjugados e a BSA, uma vez que, de acordo com a literatura, os valores limites da constante bimolecular de supressão (K<sub>q</sub>) para mecanismos dinâmicos são de 2,0x10<sup>10</sup> L·mol<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>. Considerando mecanismo estático, é possível calcular a constante de ligação (K<sub>A</sub>) e o número de sítios de ligação (n) entre a BSA e o supressor através da equação 2.<sup>206,207</sup> Os resultados obtidos a partir da Equação 2 encontram-se na **Tabela 8** e os gráficos das regressões lineares encontram-se na **Figura 104**.

$$\log\left(\frac{F_0-F}{F}\right) = \log KA + n \log [Q] \text{ (Equação 2)}$$

**Tabela 8.** Constante de ligação com BSA e número de sítios de ligação para os glicoconjugados **96-107**, à 25°C.

Composto	Regressão linear	R <sup>2</sup>	K <sub>A</sub> (L·mol <sup>-1</sup> )	n
<b>96</b>	$\log(F_0-F/F)=6,57+1,14\log[S]$	0,983	$3,71 \times 10^3$	1,14
<b>97</b>	$\log(F_0-F/F)=6,43+1,14\log[S]$	0,994	$2,69 \times 10^3$	1,14
<b>99</b>	$\log(F_0-F/F)=5,51+1,06\log[S]$	0,985	$3,23 \times 10^5$	1,06
<b>100</b>	$\log(F_0-F/F)=4,16+0,79\log[S]$	0,994	$1,40 \times 10^4$	0,79
<b>102</b>	$\log(F_0-F/F)=2,93+0,52\log[S]$	0,992	851	0,52
<b>103</b>	$\log(F_0-F/F)=2,80+0,53\log[S]$	0,945	630	0,53
<b>105</b>	$\log(F_0-F/F)=7,38+1,34\log[S]$	0,991	$2,40 \times 10^4$	1,34
<b>106</b>	$\log(F_0-F/F)=5,02+0,98\log[S]$	0,988	$1,04 \times 10^5$	0,98
<b>107</b>	$\log(F_0-F/F)=6,26+1,20\log[S]$	0,995	$1,82 \times 10^3$	1,02



**Figura 104.** Curvas de  $\log[S]$  x  $\log(F_0-F/F)$  utilizadas para o cálculo da constante de ligação ( $K_A$ ) e número de sítios de ligação dos glicoconjugados com a BSA.

A partir dos resultados obtidos, podemos verificar que a maioria dos glicoconjugados apresentam forte interação com a BSA devido aos altos valores de constante de ligação que se encontram entre  $10^3$ - $10^5$  L·mol<sup>-1</sup>. Além disso, pode-se destacar que para a maioria das moléculas o número de sítios de ligação de aproximadamente 1, evidenciando, assim que apenas uma molécula do glicoconjugado esta inserida nas cavidades da proteína. Observa-se também que o ajuste da curva é linear, com valores de R<sup>2</sup> entre a 0,94 e 0,99.

---

---

## *Conclusões e Considerações Finais*

---

---

## 6. Conclusões e Considerações Finais

De acordo com a literatura é notória a relevância da síntese de novos compostos fluorescente que possam ser utilizados como quimiossensores para detecção de espécies de importância biológica e ambiental. Dessa forma, considerando os objetivos propostos para a realização dessa tese de doutorado, como foco principal na síntese de compostos para utilização como quimiossensores, as seguintes considerações podem ser feitas:

Foi possível a obtenção das azidas desejadas através da formação do sal de diazônio utilizando como precursores compostos benzoxazóis fluorescentes. O método utilizado mostrou-se eficiente e rápido resultando compostos com bons rendimentos sem necessidade de purificação cromatográfica. Os compostos obtidos apresentaram máximos de absorção localizados na região UV, com coeficiente de absorvidade molar relacionada a transições eletrônicas permitidas do tipo  $\pi-\pi^*$  e baixa emissão de fluorescência. As azidas apresentaram alterações fotofísicas significativas nos estados fundamental e excitado, na presença de  $\text{H}_2\text{S}$ , o que permitiu a sua aplicação como sensores ópticos para o  $\text{H}_2\text{S}$  em solução. A metodologia empregada foi a redução de azidas a aminas utilizando  $\text{NaHS}$ , como mimetizador de  $\text{H}_2\text{S}$ , resultando em um mecanismo de fluorescência do tipo *off-on*. O aumento da intensidade de fluorescência observada para as azidas que apresentam transferência protônica no estado excitado mostrou ser diferente do processo de transferência eletrônica fotoinduzida (PET), discutido na literatura. Finalmente, os experimentos de imagem de fluorescência em células T98G indicam seu potencial uso como sondas para imageamento biológico.

Foi possível ainda a síntese de novos glicoconjugados através da reação de cicloadição 1,3-dipolar azida-alcino entre azidas derivadas de benzoxazóis fluorescente e alcinos derivados de carboidratos. O método sintético aplicado é simples e proporcionou aos compostos uma rota sintética eficiente com bons rendimentos. Além disso, os estudos fotofísicos revelaram que os glicoconjugados apresentaram coeficientes de extinção relacionados a transições permitidas, grandes deslocamentos de Stokes e grande intensidade de fluorescência, o que torna essas moléculas promissoras para aplicações ópticas. Esses compostos apresentaram resultados promissores frente à utilização como quimiossensores de cátions utilizando espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e emissão de fluorescência. No que diz respeito às aplicações, foi demonstrado que alguns dos glicoconjugados obtidos podem ser usados como sensores químicos apresentando forte ligação com os cátions:  $\text{Ni}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  e  $\text{Cu}^{+2}$  em solução,

provocando um aumento significativo na intensidade de fluorescência desses compostos. A partir desses resultados pode-se concluir que esses compostos podem ser utilizados como potenciais quimiossensores de cátions utilizando o mecanismo de resposta *turn-on*. Além disso, pode-se observar que os alguns glicoconjugados apresentaram forte interação seletiva o  $\text{Cu}^{+2}$ , provocando uma diminuição na sua intensidade de fluorescência podendo ser utilizados como potenciais quimiossensores através do mecanismo de resposta *turn-off*.

Com o objetivo de ampliar o número de aplicações dos glicoconjugados sintetizados, foram realizados testes destes como sensores de BSA em solução. A maioria dos novos glicoconjugados apresentou uma forte interação com a proteína BSA, observada através da supressão da fluorescência da BSA quando esta estava na presença dos glicoconjugados. O mecanismo de supressão de fluorescência ocorre através do mecanismo estático, com a formação de um complexo glicoconjugado-BSA, investigado através da equação de Stern-Volmer. Esta complexação ocorre na porção dos carboidratos, já que existiram diferenças entre os glicoconjugados em relação à magnitude da constante de ligação e ao número de sítios de ligação.

---

---

## *Experimental*

---

---

## 7. Experimental

### 7.1 Materiais e métodos

Para a realização desse trabalho foram utilizados os seguintes reagentes: ácido polifosfórico, *o*-aminofenol, *o*-aminotiofenol, ácido-5-aminosalicílico, ácido-4-aminobenzóico, Nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>), Azida de sódio (NaN<sub>3</sub>), ácido clorídrico (HCl), hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH), hidrogeno sulfeto de sódio (NaHS). Os solventes utilizados foram, metanol, diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), etanol, acetonitrila, tampão PBS (pH=7,3). Para purificação por cromatografia em coluna foi utilizado Sílica gel 60 (70-230 mesh) como fase estacionária. A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando placas de alumínio com 0,2 mm de sílica gel. Para o teste com os sensores foram utilizados os seguintes cátions: níquel, zinco, chumbo, prata, calcio, potássio, magnésio e cobre todos como sais de nitrato. Para os testes de interação com BSA, as soluções foram preparadas em solução tampão PBS, que consiste em uma mistura de fosfato de potássio monobásico, fosfato de sódio dibásico, cloreto de sódio e água deionizada, resultando em uma solução de pH 7,4. Os compostos sintetizados neste trabalho foram previamente solubilizados em dimetilsulfóxido, e desta solução foi retirada uma alíquota para a preparação da solução-mãe em PBS. A BSA foi diretamente solubilizada em PBS.

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos de espectrômetros Varian VNMRS operando em frequências de 300 MHz e 75 MHz, 400 MHz e 100 MHz respectivamente, em tubos de 5 mm de diâmetro interno e utilizando clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>) ou dimetilsulfóxido (DMSO-*d*<sub>6</sub>) como solventes. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão relacionados em partes por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS) utilizado como padrão interno para os espectros de hidrogênio, ao CDCl<sub>3</sub> e ao DMSO-*d*<sub>6</sub>, colocando entre parentêses a multiplicidade (s = simpleto, d = duplete, t = tripleto, q = quarteto, dd = duplo duplete, ddd=duplo dubleto de dubleto m = multiplete), o número de hidrogênios deduzido da integral relativa e a constante de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz).

Os espectros no infravermelho por transformada de Fourier (IV) foram obtidos em um espectrômetro Alpha P da Bruker. Os espectros foram obtidos no modo ATR utilizando um cristal de seleneto de zinco (ZnSe).

Os pontos de fusão das moléculas foram obtidos utilizando o aparelho microscópio ótico Olympus BX41 acoplado a um forno Mettler Toledo FP-90 F 982 T com temperatura controlada.

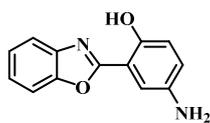
As medidas espectroscópicas de absorção na região do UV-Vis foram obtidas em um espectrômetro Shimadzu UV-2450. As medidas de emissão de fluorescência foram obtidas em um espectro fluorímetro Shimadzu RF-5301PC. As medidas de absorção e emissão foram realizadas à temperatura ambiente em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico e soluções de solventes de grau espectroscópico. Todos os experimentos foram realizados a 25°C utilizando soluções de concentrações entre  $10^{-5}$ - $10^{-6}$ M.

## 7.2 Compostos sintetizados

### 7.2.1 Síntese precursores benzazólicos fotoativos (28-29)

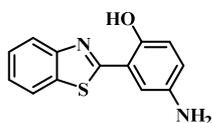
Quantidades equimolares de *o*-aminofenol (**25**) (2,8 g, 26,12 mmol) ou *o*-aminotiofenol (**26**) (2,76 mL, 26,12 mmol) e ácido-5-amino salicílico (**27**) (4g, 26,12 mmol) em ácido polifosfórico (60 mL) foi aquecida sob agitação a 170°C por 5 h. Após resfriar, a mistura reacional foi vertida em gelo picado sob agitação e em seguida foi deixada em repouso para decantar o produto. O precipitado formado foi filtrado, neutralizado com uma solução de NaHCO<sub>3</sub>, lavado com água e seco a temperatura ambiente. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando diclorometano como eluente.

#### 2-(5'-Amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol (28)



Rendimento: 2,35g (71%). Ponto de fusão: 173-175°C. FTIR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3405 ( $\nu_{\text{as}} \text{NH}_2$ ), 3250 ( $\nu_{\text{s}} \text{NH}_2$ ), 1630 e 1548 ( $\nu \text{C}=\text{C}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 10,42 (s, 1H, OH), 7,81 (m, 2H), 7,44 (m, 2H), 7,26 (d, 1H,  $J=2,3$  Hz), 6,84 (m, 2H), 4,96 (s, 2H, NH<sub>2</sub>). RMN de  $^{13}\text{C}$  (75,5 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 162,8; 149,3; 148,6; 141,7; 139,6; 125,6; 125,2; 121,3; 119,0; 117,6; 110,9; 110,4; 109,6.

#### 2-(5'-Amino-2'-hidroxifenil)benzotiazol (29)



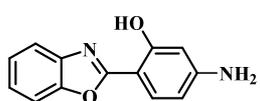
Rendimento: 1,53g (53%). Ponto de fusão: 196-198°C. FTIR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3497 ( $\nu_{\text{as}} \text{N-H}$ ), 3325 ( $\nu_{\text{s}} \text{N-H}$ ), 3000 ( $\nu_{\text{arom}} \text{C-H}$ ), 1620 e 1470 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 10,72 (s, 1H,

OH), 8,12-7,40 (m, 4H, H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>), 7,37-7,36 (d, 1H, H,  $J_m=2,7$  Hz), 6,85-6,83 (d, 1H, H,  $J_o=8,7$  Hz), 6,77-6,76 e 6,74-6,73 (2d, 2H, H,  $J_m=2,7$  Hz e  $J_o=8,78$ ) 4,8 (s, 2H, NH<sub>2</sub>). RMN de <sup>13</sup>C (75,5 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 166,3; 151,6; 147,8; 141,5; 134,0; 126,4; 125,0; 121,9; 121,8; 119,9; 117,8; 117,6; 112,0.

### 7.2.2 Síntese precursores benzazólicos fotoativos (31-32)

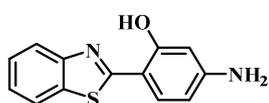
Quantidades equimolares de *o*-aminofenol (**25**) (1,92, 17,6 mmol) ou *o*-aminotiofenol (**26**) (1,7mL, 22 mmol) e ácido 4-amino salicílico (**30**) (2,70 g, 17,6 mmol) em ácido polifosfórico (20 mL) foi aquecida sob agitação a 170°C por 5 h. Após resfriar, a mistura reacional foi vertida em gelo picado sob agitação e em seguida foi deixada em repouso para decantar o produto. O precipitado formado foi filtrado, neutralizado com uma solução de NaHCO<sub>3</sub>, lavado com água e seco a temperatura ambiente. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando diclorometano como eluente.

#### 2-(4'-Amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol (31)



Rendimento: 1,76g (44%). Ponto de fusão: 226-228°C. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3493 (ν<sub>as</sub> N-H), 3386 (ν<sub>s</sub> N-H), 3000 (ν<sub>arom</sub> C-H), 1620 e 1470 (ν C=C<sub>arom</sub>). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10,95 (s, 1H), 7,76-7,71 (m, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,42-7,36 (m, 3H), 6,99 (d,  $J=4,1$  Hz, 1H), 6,87 (dd,  $J=8,7$ Hz e 2,8 Hz, 1H), 3,56 (s, 2H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163,6; 160,6; 151,7; 148,9; 140,4; 128,6; 124,6; 124,3; 118,5; 110,2; 107,3; 101,5; 101,5.

#### 2-(4'-Amino-2'-hidroxifenil)benzotiazol (32)

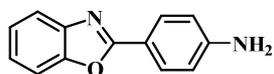


Rendimento: 1,3g (33%). Ponto de fusão: 211-213°C. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3473 (ν<sub>as</sub> N-H), 3376 (ν<sub>s</sub> N-H), 3000 (ν<sub>arom</sub> C-H), 1620 e 1470 (ν C=C<sub>arom</sub>). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12,66 (s, 1H), 7,90 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H), 7,86 (d,  $J=7,9$  Hz, 1H), 7,49-7,43 (m, 2H), 7,38-7,33 (m, 1H), 6,34 (d,  $J=2,2$  Hz, 1H), 6,28 (dd,  $J=8,4$  Hz e 2,3 Hz, 1H), 4,05 (s, 2H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169,6; 160,1; 152,2; 150,9; 132,3; 130,0; 126,4; 124,6; 121,4; 121,3; 108,5; 107,2; 101,7.

### 7.2.3 Síntese precursores benzazólicos fotoativos (34-35)

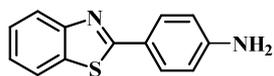
Quantidades equimolares de *o*-aminofenol (**25**) (2,4g, 22 mmol) ou *o*-aminotiofenol (**26**) (2,7 mL, 22 mmol) e ácido-*p*-amino benzoico (**33**) (3,0 g, 22 mmol) em ácido polifosfórico (20 mL) foi aquecida sob agitação a 170°C por 5 h. Após resfriar, a mistura reacional foi vertida em gelo picado sob agitação e em seguida foi deixada em repouso para decantar o produto. O precipitado formado foi filtrado, neutralizado com uma solução de NaHCO<sub>3</sub>, lavado com água e seco a temperatura ambiente. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando diclorometano como eluente.

#### 2-(4'-Amino)benzoxazo l(34)



Rendimento: 1,7g (69%). Ponto de fusão: 150-152° C. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3497 (v<sub>as</sub> N-H), 3325 (v<sub>s</sub> N-H), 3000 (v<sub>arom</sub> C-H), 1620 e 1470 (v C=C<sub>arom</sub>). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,10-8,04 (m, 2H), 7,76-7,70 (m, 1H), 7,57-7,52 (m, 1H), 7,36-7,28 (m, 2H), 6,79-6,75 (m, 2H), 4,21 (s, 2H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 163,8; 150,5; 149,7; 142,36; 129,4; 124,3; 124,2; 119,9; 116,8; 114,7; 110,2.

#### 2-(4'-Amino)benzotiazol (35)



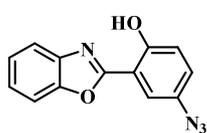
Rendimento: 1,4g (63%). Ponto de fusão: 161-163°C. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3497 (v<sub>as</sub> N-H), 3325 (v<sub>s</sub> N-H), 3000 (v<sub>arom</sub> C-H), 1620 e 1470 (v C=C<sub>arom</sub>). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,87 (dd, *J* = 13,9 e 7,9 Hz, 3H), 7,46 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H), 7,34 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,34 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,28 (dd, *J* = 8,4 e 2,1 Hz, 1H), 4,25 (s, 2H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169,6; 159,8; 150,9; 131,9; 130,0; 126,4; 121,4; 121,31; 108,5; 107,2; 101,7.

### 7.2.4 Síntese das azidas (36-41)

Em um balão de 50 mL sob agitação e banho de gelo adicionou-se o respectivo precursor benzazólico (2,0 mmol) e 15 mL de uma solução de HCl:H<sub>2</sub>O (3:1). Em seguida foram adicionados gota a gota uma solução de nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) (0,166 g, 2,4 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação e banho de gelo por 30 minutos. Após adicionou-se a azida de sódio (NaN<sub>3</sub>) (0,260 g, 4 mmol). Em seguida retirou-se o banho de gelo e a mistura reacional foi deixada á temperatura ambiente e

sob agitação durante 2 h. Após esse tempo o produto foi neutralizado com hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) e extraído com acetato de etila (3x20 mL).

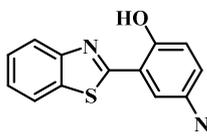
#### 2-(5'-Azido-2'-hidroxifenil)benzoxazol (36)



Rendimento: 0,464 g (79%). Ponto de fusão: 143-145°C. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3056 (ν<sub>arom</sub>C-H), 2117 (ν, -N=N=N), 1553 e 1471 (ν C=C<sub>arom</sub>).

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,37 (s, 1H), 7,77-7,72 (m, 1H), 7,67-7,61 (m, 2H), 7,45-7,39 (m, 2H), 7,16-7,07 (m, 2H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 161,9; 156,0; 149,1; 139,8; 131,5; 125,8; 125,2; 124,4; 119,4; 118,9; 116,6; 111,2; 110,8.

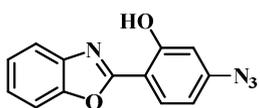
#### 2-(5'-Azido-2'-hidroxifenil)benzotiazol (37)



Rendimento: 0,456 g (70%). Ponto de fusão: 147-149°C. IV (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3086 (νO-H), 2098 (ν, -N=N=N), 1613 e 1513 (ν C=C<sub>arom</sub>).

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12,43 (s, 1H), 7,99 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,91 (d, J=7,9 Hz, 1H), 7,56-7,49 (m, 1H), 7,46-7,40 (m, 1H), 7,26 (d, J=2,5 Hz, 1H), 7,11-7,05 (m, 2H). APT(101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 168,1; 155,3; 151,7; 132,6; 131,3; 126,9; 126,1; 123,3; 122,7; 121,6; 119,4; 117,9; 117,3.

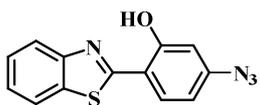
#### 2-(4'-Amino-2'-hidroxifenil)benzoxazol (38)



Rendimento: 0,464 g (90%). Ponto de fusão: 111-112°C. IV (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3056 (ν O-H), 2118(ν, -N=N=N), 1644 e 1573 (ν C=C<sub>arom</sub>).

RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,64 (s, 1H), 7,93 (d, J=8,5 Hz, 1H), 7,72-7,64 (m, 1H), 7,60-7,52 (m, 1H), 7,41-7,33 (m, 2H), 6,74 (d, J=2,1 Hz, 1H), 6,63 (dd, J=8,5 Hz e 2,2 Hz, 1H).

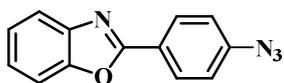
#### 2-(4'-Amino-2'-hidroxifenil)benzotiazol (39)



Rendimento: 0,456 g (89%). Ponto de fusão: 132-134°C. IV (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3077 (νO-H), 2117 (ν, -N=N=N), 1653 e 1573 (ν C=C<sub>arom</sub>).

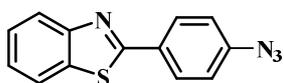
RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12,79 (s, 1H), 7,96 (d, J=7,7 Hz, 2H), 7,88 (d, J=7,5 Hz, 1H), 7,61 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,54-7,49 (m, 2H), 7,45-7,38 (m, 2H), 6,74 (d, J=2,2 Hz, 1H), 6,59 (dd, J=8,4 Hz e 2,2 Hz, 1H). APT (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 162,3; 159,9; 149,0; 145,2; 139,9; 128,5; 125,4; 125,1; 119,1; 110,9; 110,6; 107,5; 107,3.

### 2-(4'-Azido)benzoxazol (40)



Rendimento: 0,453 g (71%). Ponto de fusão: 128-130°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3077 ( $\nu_{\text{arom C-H}}$ ), 2077 ( $\nu$ , -N=N=N), 1513 e 1452 ( $\nu$  C=C<sub>arom</sub>). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,28-8,22 (m, 1H), 7,83-7,74 (m, 1H), 7,62-7,55 (m, 1H), 7,43-7,32 (m, 1H), 7,20-7,12 (m, 1H). APT(75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  150,8; 143,4; 142,1; 129,2; 125,1; 124,6; 123,8; 119,9; 119,5; 110,5.

### 2-(4'-Azido)benzotiazol (41)

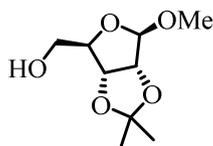


Rendimento: 0,431g (78%). Ponto de fusão: 154-156°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3046 ( $\nu_{\text{arom C-H}}$ ), 2108 ( $\nu$  -N=N=N), 1602 e 1482 ( $\nu$  C=C<sub>arom</sub>). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,12-8,06 (m, 1H), 7,91 (d,  $J=7,6$  Hz, 1H), 7,52-7,49 (m, 1H), 7,44-7,37 (m, 1H), 7,16-7,12 (m, 1H). APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167,1; 154,3; 142,8; 135,3; 130,6; 129,0; 126,4; 125,2; 123,1; 121,6; 119,5.

## 7.2.5 Síntese do acetonídeo (85)

Em balão de 200 mL, a uma solução de *D*-ribose (20 mmol, 3,00 g), em metanol (60 mL) e acetona (60 mL), foi feita a adição de ácido clorídrico concentrado (20,0 mmol, 1,5 mL). O sistema foi deixado em refluxo sob agitação por 3 h. Após este período resfriou-se o sistema e neutralizou-se com solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  até pH neutro. A fase orgânica foi lavada com água destilada e o produto foi extraído com  $\text{AcOEt}$  (3x100 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  e os solventes foram removidos em rotaevaporador. O produto obtido foi utilizado diretamente na etapa seguinte, sem necessidade de purificação.

### 1-metil-2,3-*O*-isopropilideno- $\beta$ -*D*-ribofuranose (85)

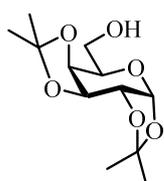


Óleo amarelo. Rendimento: 3,02 g (74%). RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 4,97 (s, 1H); 4,84 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H); 4,59 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H); 4,43 (s, 1H); 3,70 (d,  $J = 12,4$  Hz, 1H); 3,66 – 3,59 (m, 1H); 3,44 (s, 3H); 3,26 (sl, 1H); 1,49 (s, 3H); 1,32 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta$  = 111,9; 109,7; 88,1; 85,6; 81,3; 63,8; 55,3; 26,2; 24,5.

### 7.2.6 Síntese do bis-acetonídeo (86)

Em um balão de uma boca de 500 mL, sob sistema aberto, foram adicionados à *D*-galactose (20,0 mmol, 3,60 g), acetona (200 mL) e I<sub>2</sub> (3,5 mmol, 0,90 g). A mistura reacional ficou sob agitação por 24 h ou até que não se observasse carboidrato depositado no fundo do recipiente. Após evaporação de cerca de 2/3 do solvente reacional, foi adicionada solução saturada de tiosulfato de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) para que o iodo remanescente fosse consumido até que a mistura apresentasse aspecto incolor. Então, o produto foi extraído com diclorometano (3x100 mL), a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>) e os solventes evaporados em rotaevaporador. O produto bruto foi utilizado diretamente na etapa seguinte, sem a necessidade de purificação.

### 1,2:3,4-di-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -*D*-galactopiranosose (86)

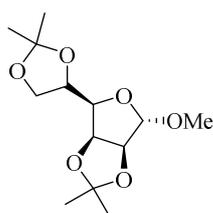


Óleo amarelo. Rendimento: 4,05g (78%). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5,57 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H); 4,62 (dd, *J* = 7,9; 2,4 Hz, 1H); 4,34 (dd, *J* = 5,0; 2,4 Hz, 1H); 4,28 (dd, *J* = 7,9; 1,6 Hz, 1H); 3,92-3,80 (m, 2H); 3,77-3,70 (m, 1H); 2,51 (sl, 1H); 1,54 (s, 3H); 1,46 (s, 3H); 1,34 (s, 6H). RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  109,3; 108,5; 96,1; 77,0; 71,4; 70,6; 70,4; 68,0; 62,1; 25,9; 25,8; 24,8; 24,2.

### 7.2.7 Síntese do bis-acetonídeo (87)

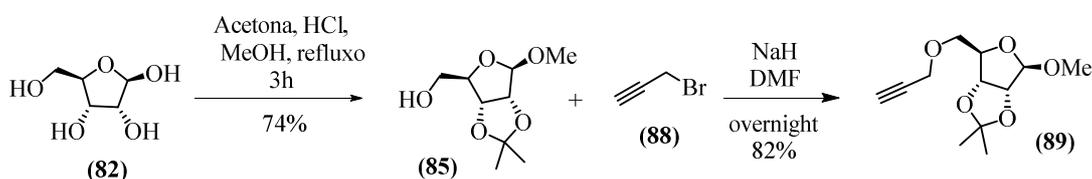
Em um balão de uma boca de 500 mL, sob sistema aberto, foi adicionado à *D*-manose (20,0 mmol, 3,6 g) sob suspensão em acetona (150 mL), I<sub>2</sub> (3,5 mmol, 0,90 g). A mistura reacional ficou sob agitação por 24 h ou até que não se observasse carboidrato depositado no fundo do recipiente. Após evaporação de cerca de 2/3 do solvente reacional, foi adicionado Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> até que a mistura apresentasse aspecto incolor. Então, a fase orgânica foi lavada com solução de NaCl saturado (1 x 100 mL) e extraído com AcOEt (3 x 100 mL), a fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em rotaevaporador. O bruto foi utilizado diretamente na etapa seguinte, sem a necessidade de purificação.

### 1-Metil-2,3:5,6-di-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -D-manofuranose (87)



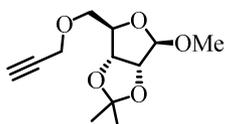
Óleo amarelo. Rendimento: 3,40 g (62%).  $R_f = 0,8$  [hexano/AcOEt (7:3)]. Número de Registro CAS: 26255-73-2. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,90 (s, 1H), 4,84 (dd,  $J = 5,9$  e  $3,7$  Hz, 1H), 4,57 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,05-3,98 (m, 1H), 3,92 (dd,  $J = 8,3$  e  $3,7$  Hz, 1H), 3,75-3,66 (m, 1H), 3,42 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H), 3,31 (s, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,34 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  112,5; 107,0; 84,6; 79,9; 79,0; 70,0; 64,3; 54,4; 25,8; 24,6.

### 7.2.8 Síntese do alcino derivado da D-ribose (89)



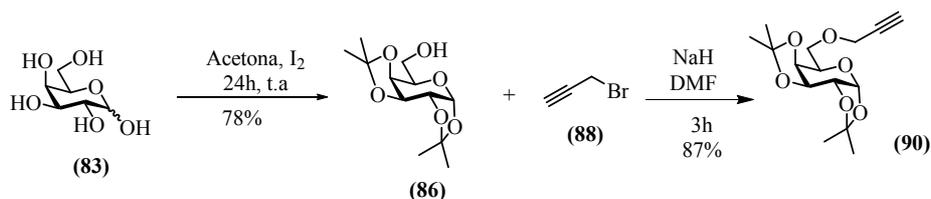
Em um balão de duas bocas de 50 mL, sob atmosfera inerte, contendo o acetônídeo **85** (3 mmol, 0,618 g) em 10 mL de DMF, foi adicionado o hidreto de sódio (NaH, 9 mmol, 0,362 g) e a mistura reacional foi então agitada por 20 min. Após esse período, adicionou-se o brometo propargílico (3,6 mmol, 0,55 mL) lentamente e a reação ficou sob agitação por 16 h a temperatura ambiente. A fase orgânica foi lavada com água destilada e solução saturada de NaCl, o produto foi extraído com AcOEt (3x90 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  e os solventes foram evaporados em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* utilizando acetato de etila/hexano (20:80) como eluente.

### (3aR, 4R, 6R, 6aR)-4-metoxi-2,2-dimetil-6-((2-propino-1-iloxi) metil) tetraidrofuro [3,4-d] [1,3] dioxol (89)



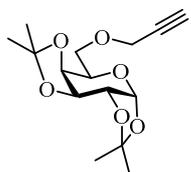
Rendimento: 0,563 g (82%). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,95 (s, 1H), 4,65 (dt,  $J = 5,7$  Hz e  $1,6$  Hz, 1H), 4,57 (dd,  $J = 6,1$  Hz e  $3,5$  Hz, 1H), 4,34-4,28 (m, 1H), 4,18 (d,  $J = 2,4$  Hz, 2H), 3,61-3,47 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,45 (t,  $J = 2,3$  Hz, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,30 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  112,5; 109,2; 85,1; 84,9; 81,9; 74,9; 70,5; 58,3; 54,8; 26,2; 25,2.

### 7.2.9 Síntese do alcino derivado da *D*-galactose (90)



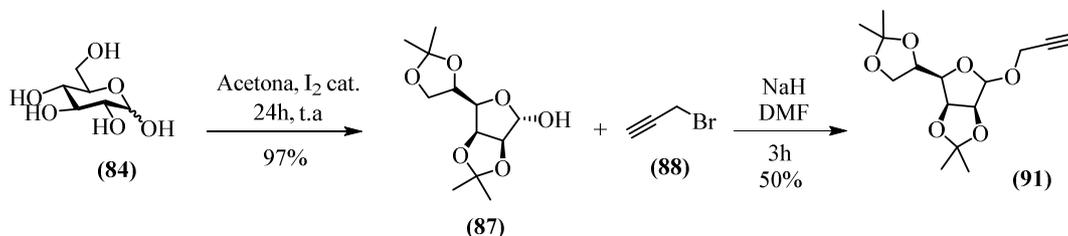
Em um balão de duas bocas de 50 mL, sob atmosfera inerte, contendo o bis-acetonídeo **37** (6,83 mmol, 1,776 g) em 20 mL de DMF, foi adicionado NaH (20,9 mmol, 0,836 g) e a mistura reacional foi então agitada por 20 min. Após esse período, adicionou-se o brometo propargílico (8,4 mmol, 1,25 mL) lentamente e a reação ficou sob agitação por 3h a temperatura ambiente. A fase orgânica foi lavada com água destilada e solução saturada de NaCl, o produto foi extraído com AcOEt (3x90 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub> e os solventes foram removidos em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* utilizando acetato de etila/hexano (20:80) como eluente.

#### (3aR, 5R, 5aS, 8aS, 8bR) -2,2,7,7-tetrametil-5 - ((2-propino-1-iloxi) metil) tetra-hidro-5H-bis ([1,3] dioxolo ) [4,5-b: 4', 5'-d] pirano (90)



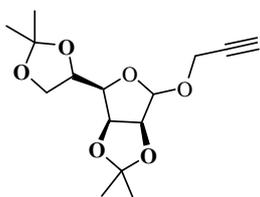
Rendimento: 1, 75g (87%). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,56 (d, *J*=5,0 Hz, 1H), 4,62 (dd, *J*=7,9, 2,4 Hz, 1H), 4,33 (dd, *J*=5,0 Hz e 2,4 Hz, 1H), 4,29 (d, *J*=2,2 Hz, 1H), 4,27 (d, *J*=1,9 Hz, 1H), 4,25 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 4,23 (d, *J*=2,4 Hz, 1H), 4,01 (ddt, *J*=10,8 Hz, 7,4 Hz e 3,7 Hz, 1H), 3,79 (dd, *J*=10,1 Hz e 5,3 Hz, 1H), 3,69 (dd, *J*=10,1 Hz e 7,1 Hz, 1H), 2,45 (t, *J*=2,4 Hz, 1H), 1,56 (s, 3H), 1,47 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,35 (s, 3H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 109,4; 108,6; 96,4; 74,6; 71,2; 70,7; 70,5; 68,7; 66,8; 58,5; 26,1; 25,9; 24,9; 24,5.

### 7.2.10 Síntese do alcino derivado da *D*-manose (91)



Em um balão de duas bocas de 50 mL, sob atmosfera inerte, contendo o acetonídeo **87** (3 mmol, 0,618 g) em 10 mL de DMF, foi adicionado o hidreto de sódio (NaH, 9 mmol, 0,362 g) e a mistura reacional foi então agitada por 20 min. Após esse período, adicionou-se o brometo propargílico (3,6 mmol, 0,55 mL) lentamente e a reação ficou sob agitação por 16 h a temperatura ambiente. A fase orgânica foi lavada com água destilada e solução saturada de NaCl, o produto foi extraído com AcOEt (3x90 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub> e os solventes foram evaporados em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* utilizando acetato de etila/hexano (20:80) como eluente.

**2,3:5,6-(3aS,4R,6aS)-4-((S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)-2,2-dimetil-6-(prop-2-in-1-iloxi)tetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol (91)**

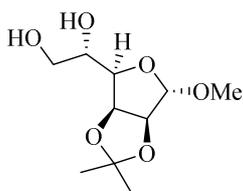


Rendimento: 5,04 g (97%). RMN de <sup>1</sup>H(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,17 (s, 1H), 4,78 (dd, *J* = 5,9 e 3,6 Hz, 1H), 4,62 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,40 (ddd, *J* = 10,7, 6,2, 4,3 Hz, 1H), 4,18 (dd, *J* = 2,4 e 1,5 Hz, 2H), 4,07 (ddd, *J* = 24,4 e 8,7 e 5,3 Hz, 2H), 3,95 (dd, *J* = 7,8 e 3,6 Hz, 1H), 2,45 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 1,37 (s,3H), 1,32 (s, 3H). APT (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 112,7; 109,3; 106,4;84,9; 80,6; 79,4; 78,8; 74,7;73,0; 66,8; 54,1; 26,9; 25,9; 25,1; 24,5.

**7.2.11 Síntese do diolvicinal (92)**

Ao bis-acetonídeo **87** (10 mmol, 2,70 g) obtido na etapa anterior, foi adicionado uma solução de ácido acético 60% (50 mL) que permaneceu sob agitação por 16 horas à temperatura ambiente, ou até fosse observado o consumo de todo material de partida por CCD. Após esse período, o solvente foi co-evaporado com o auxílio de água e tolueno em rotaevaporador. O produto bruto foi diluído em AcOEt, lavado com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> (1 x100 mL) e extraído com AcOEt (3 x 100 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO<sub>4</sub>, filtrada e o produto concentrado sob pressão reduzida. O bruto foi novamente utilizado na etapa seguinte sem a necessidade de purificação.

### 1-Metil-2,3-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -D-manofuranose (**92**)

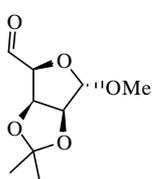


Óleo transparente. Rendimento: 2,11 g (90%). RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,91 (s, 1H), 4,84 (dd,  $J = 5,9$  e  $3,9$  Hz, 1H), 4,57 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,05-3,97 (m, 1H), 3,93 (dd,  $J = 8,1$  e  $3,9$  Hz, 1H), 3,87 (dd,  $J = 11,4$  e  $2,3$  Hz, 1H), 3,72 (dd,  $J = 11,4$  e  $5,9$  Hz, 1H), 3,31 (s, 3H), 3,20 (sl, 1H), 2,66 (sl, 1H), 1,48 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  112,6; 107,0; 84,6; 80,0; 79,1; 70,3; 64,4; 54,5; 25,9; 24,6.

#### 7.2.12 Síntese do aldeído (**93**)

Em um balão de 100 mL, sob atmosfera aberta, foi adicionado a uma suspensão de  $\text{NaIO}_4 \cdot \text{SiO}_2$  (10 g) em diclorometano (25 mL), uma solução do diol **92** (5 mmol, 1,17 g) sob agitação vigorosa. A mistura foi vigorosamente agitada por 30 min à  $0^\circ\text{C}$ , e então filtrada em funil de vidro sinterizado e lavada com diclorometano (4 x 50 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e evaporado. O produto foi concentrado sob alto vácuo, levando ao aldeído sem a necessidade de purificação.

### 1-Metil-2,3-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -D-mano-pentaldeído-1,4-furanose (**93**)

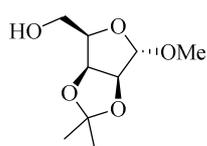


Óleo branco. Rendimento: 0,90 g (89%). RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,66 (s, 1H), 5,09 (s, 1H), 5,08-5,06 (m, 1H), 4,62 (d,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 4,38 (d,  $J = 4,2$  Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,29 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  197,7; 113,4; 107,7; 84,4; 83,9; 80,7; 54,9; 25,7; 24,5.

#### 7.2.13 Síntese do álcool (**94**)

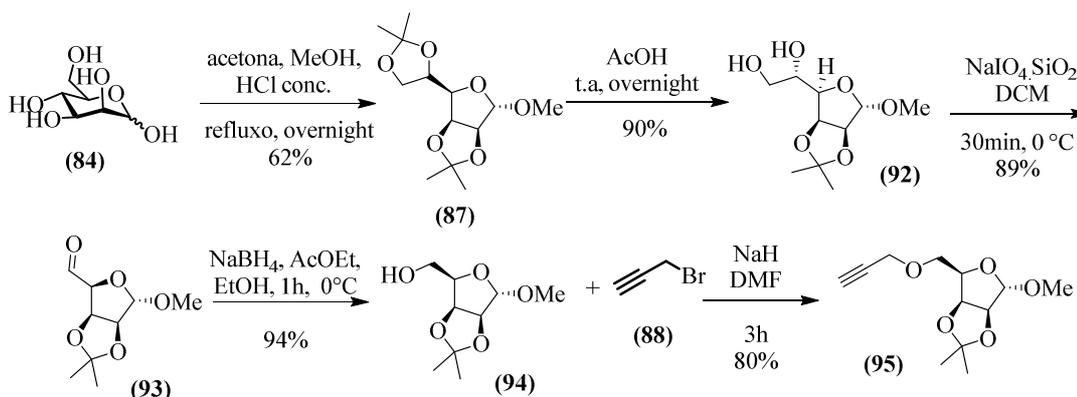
A uma solução do aldeído **93** (12,8 mmol) em  $\text{AcOEt}$  (70 mL) e  $\text{EtOH}$  (40 mL), foram adicionadas porções de  $\text{NaBH}_4$  (25,6 mmol, 0,97 g) a  $0^\circ\text{C}$ . A mistura permaneceu sob agitação por 30 min a  $0^\circ\text{C}$ . Após, foi adicionada acetona e o banho de gelo retirado, permanecendo sob agitação por mais 15 min. Após esse período, a mistura reacional foi concentrada até 2/3 do volume de solventes original, e a fase orgânica lavada com solução aquosa saturada de  $\text{NaCl}$  (1 x 50 mL), seguida da adição de solução de  $\text{HCl}$  1M até que não fosse observado mais borbulhamento. O produto foi extraído com diclorometano (3 x 70 mL), a fase orgânica seca com  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e concentrada em rotaevaporador. O produto bruto foi utilizado diretamente na etapa seguinte.

### 1-Metil-2,3-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -D-manofuranose (94).



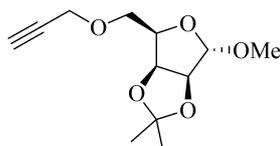
Líquido incolor. Rendimento: 2,45 g (94%). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,92 (s, 1H), 4,76 (dd,  $J = 8,0$  e  $5,9$  Hz, 1H), 4,56 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,03 (dd,  $J = 8,0$  e  $5,3$  Hz, 1H), 3,94 (dd,  $J = 11,8$  e  $5,3$  Hz, 1H), 3,89 (dd,  $J = 11,8$  e  $5,3$  Hz, 1H), 3,32 (s, 3H), 2,33 (sl, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,29 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  112,6; 106,9; 85,0; 80,2; 79,2; 60,9; 54,6; 25,8; 24,5.

### 7.2.14 Síntese do alcino derivado da D-manose (95)



Em um balão de duas bocas de 50 mL, sob atmosfera inerte, contendo o acetonídeo **94** (3mmol, 0,618 g) em 10 mL de DMF, foi adicionado o hidreto de sódio (NaH, 9 mmol, 0,362 g) e a mistura reacional foi então agitada por 20 min. Após esse período, adicionou-se o brometo propargílico (3,6 mmol, 0,55 mL) lentamente e a reação ficou sob agitação por 16 h a temperatura ambiente. A fase orgânica foi lavada com água destilada e solução saturada de NaCl, o produto foi extraído com AcOEt (3x90 mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{MgSO}_4$  e os solventes foram evaporados em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia *flash* utilizando acetato de etila/hexano (20:80) como eluente.

### (3aS,4S,6R,6aS)-4-metoxi-2,2-dimetil-6-((prop-2-in-1-iloxi)metil) tetraidrofuro[3,4-d] [1,3]dioxol (95)



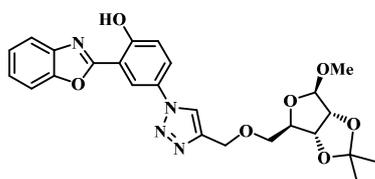
Líquido incolor. Rendimento: 2,45 g (80%). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,92 (s, 1H), 4,76 (dd,  $J = 8,0$  e  $5,9$  Hz, 1H), 4,56 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,03 (dd,  $J = 8,0$  e  $5,3$  Hz, 1H), 3,94 (dd,  $J = 11,8$  e  $5,3$  Hz, 1H), 3,89 (dd,  $J = 11,8$  e  $5,3$  Hz, 1H), 3,32 (s, 3H), 2,33 (sl, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,29 (s,

3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  112,6; 106,9; 85,0; 80,2; 79,2; 60,9; 54,6; 25,8; 24,5.

### 7.2.15 Síntese dos glicoconjugados (96-107)

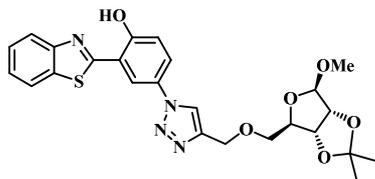
Em um balão de 25 mL foram adicionados uma solução da azida precursora (0,5 mmol) e do respectivo alcino (0,5 mmol) em diclorometano (5 mL) e água (5 mL). Em seguida adicionou-se sulfato de cobre pentaidrato ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) (0,013 g, 0,05 mmol) e ascorbato de sódio (0,010 g, 0,05 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante 72 h. Após o término da reação a mistura reacional foi lavada com uma solução de EDTA 0,1M (10 mL) e extraída com acetato de etila (3x10 mL). Os extratos orgânicos foram lavados com uma solução saturada de NaCl, seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrado e o solvente removido no rotaevaporador. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando diclorometano e metanol (95:5) como eluente.

#### Glicoconjugado (96)



Rendimento: 0,207 g (0,40 mmol, 88%). Ponto de fusão: 137-139°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3126 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2915 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1532 e 1482 ( $\nu_{\text{C=C}_{\text{arom}}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12,86 (s, 1H), 8,09 (d,  $J=2,5$  Hz, 1H), 8,04 (dd,  $J=8,2$  Hz e 0,4 Hz, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,98-7,93 (m, 1H), 7,65 (dt,  $J=12,6$  Hz e 4,4 Hz, 1H), 7,58-7,54 (m, 1H), 7,51-7,45 (m, 1H), 7,25 (d,  $J=8,9$  Hz, 1H), 5,00 (s, 1H), 4,81 (s, 2H), 4,73 (dd,  $J=5,9$  Hz e 0,7 Hz, 1H), 4,62 (d,  $J=6,0$  Hz, 1H), 4,40 (t,  $J=7,2$  Hz, 1H), 3,65 (ddd,  $J=17,6$  Hz, 9,6 Hz e 7,3 Hz, 2H), 3,35 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167,9; 158,2; 151,5; 145,9; 132,7; 129,4; 127,1; 126,2; 124,9; 122,4; 121,7; 121,0; 120,7; 119,2; 117,2; 112,5; 109,3; 85,1; 85,1; 82,1; 72,1; 64,9; 54,9; 26,5; 25,0.

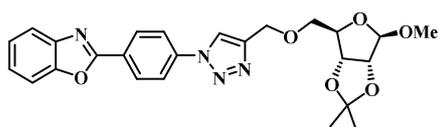
#### Glicoconjugado (97)



Rendimento: 0,157g (0,32 mmol, 84%). IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3137 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2946 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1522 e 1431 ( $\nu_{\text{C=C}_{\text{arom}}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11,72 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,80 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H), 7,70-7,65 (m, 1H), 7,46-7,44 (m, 2H), 7,31-7,27 (m, 1H), 5,00 (s, 1H), 4,81 (s, 1H),

4,73 (d,  $J=5.8$  Hz, 1H), 4,62 (d,  $J=6.0$  Hz, 1H), 4,40 (t,  $J=7.1$  Hz, 1H), 3,70 (ddd,  $J=17.6, 9.6, 7.3$  Hz, 2H), 3,35 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167,9; 158,2; 151,5; 145,9; 132,7;129,4; 127,1; 126,2; 124,9; 122,4; 121,7;121,0; 120,7; 119,2; 117,2;112,5; 109,3; 85,2; 85,1; 82,1; 71,7; 64,9; 54,9; 26,5; 25,0.

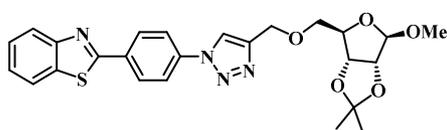
### Glicoconjugado (98)



Rendimento: 0,204 g (0,43 mmol, 87%). Ponto de fusão: 144-146°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3157 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2946 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1522 e 1470 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de

$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,31-8,23 (m, 2H), 8,12 (s, 1H), 7,97-7,93 (m, 1H), 7,84-7,79 (m, 2H), 7,66-7,61 (m, 1H), 7,44-7,39 (m, 2H), 5,00 (s, 1H), 4,81 (s, 2H), 4,72 (d,  $J=6,4$ , Hz, 1H), 4,61 (d,  $J=6,0$  Hz, 1H), 4,42-4,37 (m, 1H), 3,71-3,59 (m, 2H), 3,34 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,6; 150,9; 146,3; 142,0; 138,9; 129,1;127,4; 125,6; 124,9; 120,6; 120,2; 112,5; 110,7; 109,3; 85,2; 85,1; 82,1; 71,8;64,9 ; 54,9; 26,5; 25,0.

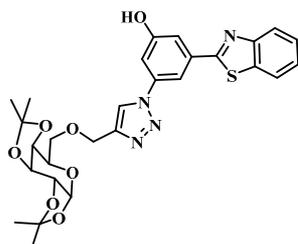
### Glicoconjugado (99)



Rendimento: 0,145 g (0,29 mmol, 88%). Ponto de fusão: 143-145°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3137 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2934 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1553 e 1482 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de

$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,31-8,25 (m, 2H), 8,11 (s, 1H), 7,95 (dd,  $J=8,0$  Hz e 0,5 Hz, 1H), 7,93-7,90 (m, 2H), 7,54 (tt,  $J=6,5$  Hz e 3,2 Hz, 1H), 7,47-7,39 (m, 2H), 5,00 (s, 1H), 4,81 (s, 2H), 4,76-4,69 (m, 1H), 4,64-4,58 (m, 1H), 4,43-4,36 (m, 1H), 3,74-3,58 (m, 2H), 3,35 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,1; 154,1; 146,3;138,5; 135,1; 133,9; 128,9;126,6; 125,6; 123,5; 121,7; 120,7; 112,5; 109,3; 85,2; 85,1; 82,1; 71,8; 64,9; 54,9; 26,5; 25,0.

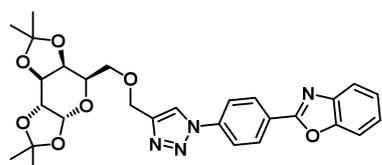
### Glicoconjugado (100)



Rendimento: 0,143 g (0,25 mmol, 58%). Ponto de fusão: 196-198°C. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12,84 (s, 1H), 8,08 (d,  $J=2,5$  Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 8,03 (d,  $J=8,1$  Hz, 1H), 7,95 (d,  $J=7,9$  Hz, 1H), 7,65 (dd,  $J=8,9$  Hz e 2,6 Hz, 1H), 7,59-7,52 (m,

1H), 7,49-7,44 (m, 1H), 7,23 (d,  $J=8,9$  Hz, 1H), 5,59 (d,  $J=5,0$  Hz, 1H), 4,88-4,80 (m, 2H), 4,63 (dd,  $J=7,9$  Hz e 2,4 Hz, 1H), 4,34 (dd,  $J=5,0$  Hz e 2,4 Hz, 1H), 4,30 (dd,  $J=7,9$  Hz e 1,9 Hz, 1H), 4,09-4,04 (m, 1H), 3,86-3,75 (m, 2H), 1,55 (s, 3H), 1,46 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167,9; 158,1; 151,5; 146,1; 132,7; 128,6; 127,1; 126,1; 124,8; 122,4; 121,7; 121,1; 120,6; 119,1; 117,2; 109,3; 108,6; 96,4; 71,2; 70,7; 70,5; 69,6; 66,8; 64,9; 29,7; 26,1; 26,0; 24,9; 24,5.

### Glicoconjugado (101)

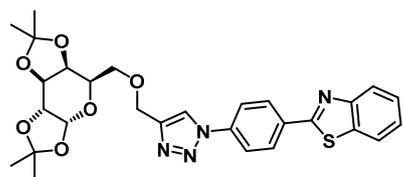


Rendimento: 0,147 g (0,27 mmol, 72%). Ponto de fusão:

173-175°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3126 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2934 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1513 e 1461 ( $\nu \text{ C=C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400

MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,60 (t,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 8,34 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,05 – 8,00 (m, 1H), 7,84 – 7,79 (m, 1H), 7,71 (t,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,66 – 7,61 (m, 1H), 7,42 (dd,  $J = 6,2, 2,5$  Hz, 2H), 5,59 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 4,86 (q,  $J = 12,8$  Hz, 2H), 4,64 (dd,  $J = 7,9, 2,4$  Hz, 1H), 4,35 (dd,  $J = 5,0, 2,4$  Hz, 1H), 4,31 (dd,  $J = 7,9, 1,8$  Hz, 1H), 4,10-4,05 (m, 1H), 3,80 (ddd,  $J = 17,3, 10,2, 6,2$  Hz, 2H), 1,57 (s, 3H), 1,47 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,35 (s, 3H). RMN de  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,7; 150,8; 141,9; 139,0; 129,1; 127,3; 125,6; 124,9; 120,5; 120,2; 110,7; 109,3; 108,6; 96,4; 71,2; 70,7; 70,5; 69,7; 66,9; 64,9; 26,1; 26,0; 24,9; 24,5.

### Glicoconjugado (102)



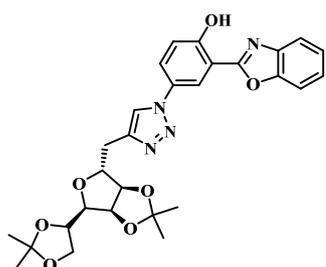
Rendimento: 0,180 g (0,33 mmol, 70%). Ponto de

fusão: 147-149°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3126 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2946 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 3000 1532 e 1452 ( $\nu \text{ C=C}_{\text{arom}}$ ). RMN

de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,25 (d,  $J=8,6$  Hz, 3H),

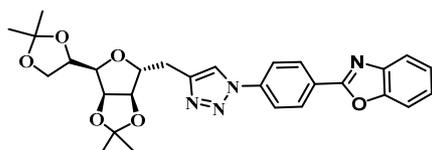
8,15 (s, 1H), 8,10 (d,  $J=8,0$  Hz, 2H), 7,92 (dd,  $J=11,1$  Hz e 8,5 Hz, 4H), 7,53 (t,  $J=7,6$  Hz, 2H), 7,43 (t,  $J=7,5$  Hz, 2H), 4,84 (d,  $J=3,1$  Hz, 2H), 4,63 (dd,  $J=7,9$  Hz e 2,2 Hz, 1H), 4,35-4,27 (m, 3H), 4,06 (t,  $J=5,5$  Hz, 1H), 3,88-3,73 (m, 3H), 1,55 (s, 3H), 1,46 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,35 (s, 3H). APT (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,1; 154,1; 146,5; 138,6; 135,1; 133,8; 128,9; 126,6; 125,6; 123,4; 121,7; 120,6; 109,3; 108,6; 96,4; 71,2; 70,7; 70,4; 69,6; 66,9.

### Glicoconjugado (103)



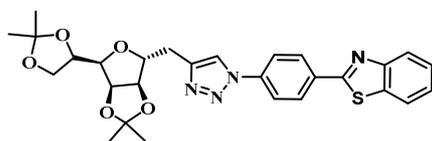
Rendimento: 0,156 g (0,29mmol, 92%). Ponto de fusão: 186-188°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3126 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2899 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1493 e 1442 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11,67 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,81-7,77 (m,  $J = 10,7, 6,0$  Hz, 2H), 7,70 – 7,63 (m, 1H), 7,47 – 7,43 (m, 2H), 7,28 (d,  $J = 6,5$  Hz, 1H), 5,20 (s, 1H), 4,88 (d,  $J = 12,5$  Hz, 1H), 4,84 – 4,76 (m, 2H), 4,69 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,48-4,43 (m, 1H), 4,15 (dd,  $J = 8,7, 6,3$  Hz, 1H), 4,11 – 4,05 (m, 2H), 1,49 (s, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,6; 158,8; 149,2; 145,1; 139,6; 129,5; 126,1; 125,9; 125,4; 119,5; 119,4; 118,8; 112,7; 111,1; 110,8; 109,1; 106,0; 85,0; 80,5; 79,5; 73,2; 66,7; 60,5; 26,9; 25,8; 25,2; 24,5.

### Glicoconjugado (104)



Rendimento: 0,193 g (0,37 mmol, 90%). Ponto de fusão: 182-184°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3157 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2931 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1503 e 1431 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,43 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 8,13 (s, 1H), 7,97 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,82-7,79 (m, 1H), 7,66 – 7,58 (m, 1H), 7,44 – 7,37 (m, 2H), 5,19 (s, 1H), 4,87 (d,  $J = 12,7$  Hz, 1H), 4,82-4,76 (m, 2H), 4,67 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,45 (dd,  $J = 11,5, 6,3$  Hz, 1H), 4,16-4,14 (m, 1H), 4,13 – 4,04 (m, 2H), 1,48 (s, 3H), 1,47 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,33 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,6; 150,8; 146,3; 141,9; 138,9; 129,1; 127,4; 125,6; 124,9; 120,5; 120,5; 120,2; 112,5; 110,7; 109,3; 85,1; 85,0; 82,0; 71,7; 64,8; 54,9; 26,4; 25,0.

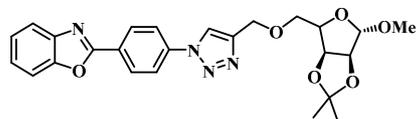
### Glicoconjugado (105)



Rendimento: 0,079 g (0,15 mmol, 62%). Ponto de fusão: 191-193°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3136 ( $\nu_{\text{aromC-H}}$ ), 2941 ( $\nu_{\text{alifC-H}}$ ), 1493 e 1431 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,10 (s, 1H), 8,02 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,94 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H), 7,82 (d,  $J = 8,9$  Hz, 1H), 7,56-7,52 (m, 1H), 7,49 – 7,43 (m, 4H), 5,20 (s, 1H), 4,87 (d,  $J = 12,7$  Hz, 1H), 4,82-4,76 (m, 2H), 4,68 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,49-4,44 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,12 – 4,07 (m, 2H), 1,50 (s, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,43 (s, 3H), 1,34 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168,0; 159,0; 151,7; 139,5; 132,5; 129,8; 127,0; 125,9;

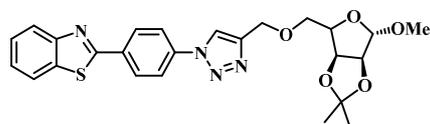
122,3; 121,6; 120,8; 116,9; 112,7; 111,3; 109,1; 109,0; 106,1; 85,0; 80,4; 79,4; 73,2; 66,6; 60,6.

### Glicoconjugado (106)



Rendimento: 0,135 g (0,28 mmol, 70%). Ponto de fusão: 177-179°C. IV (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3136 ( $\nu_{\text{arom}}\text{C-H}$ ), 2899 ( $\nu_{\text{alif}}\text{C-H}$ ), 1473 e 1431 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,27-8,23 (m, 2H), 8,12 (s, 1H), 8,10 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 7,93 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,90-7,88 (m, 2H), 7,55-7,50 (m, 1H), 7,46-7,39 (m, 1H), 4,93 (s, 1H), 4,91-4,78 (m, 2H), 4,76 (dd,  $J = 5,9, 3,7$  Hz, 1H), 4,57 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H), 4,24 – 4,17 (m, 1H), 3,95 (dd,  $J = 10,5, 4,5$  Hz, 1H), 3,83 (dd,  $J = 10,5, 7,1$  Hz, 1H), 3,35 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 1,31 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,1; 154,0; 146,3; 138,5; 135,1; 133,8; 128,9; 126,6; 125,6; 123,4; 121,7; 120,6; 120,5; 107,3; 84,8; 79,8; 78,8; 68,8; 64,9; 54,7; 26,0; 24,8.

### Glicoconjugado (107)



Rendimento: 0,114 g (0,23 mmol, 75%). Ponto de fusão: 160-162°C. (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3136 ( $\nu_{\text{arom}}\text{C-H}$ ), 2920 ( $\nu_{\text{alif}}\text{C-H}$ ), 1514 e 1442 ( $\nu \text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ ). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,40 (m, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,78 (m, 2H), 7,65 (s, 1H), 7,44 (m, 2H), 7,28 (m, 1H), 4,95 (s, 1H), 4,92-4,80 (m, 2H), 4,77 (dd,  $J = 5,6, 3,7$  Hz, 1H), 4,59 (d,  $J = 5,8$  Hz, 1H), 4,26-4,19 (m, 1H), 3,97 (dd,  $J = 10,5, 4,2$  Hz, 1H), 3,89-3,81 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 1,47 (s, 3H), 1,33 (s, 3H). APT (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,6; 158,7; 149,2; 146,0; 139,7; 129,6; 126,1; 125,8; 125,4; 120,9; 119,5; 119,2; 118,8; 112,6; 111,1; 110,8; 107,3; 84,9; 79,9; 78,8; 68,8; 65,0; 54,8; 26,1; 24,9.

## 8. Referências

---

1. Czarnik, A.W. *Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition*, American Chemical Society, Washington, DC, **1993**.
2. Wu, D.; Sedgwick, A.C.; Gunnlaugsson, T.; Akkaya, E.U.; Yoon, J.; James, T.D. Fluorescent chemosensors: the past, present and future. *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, 46, 7105.
3. (a) Touati, D. Iron and oxidative stress in bacteria. *Arch. Biochem. Biophys.*, **2000**, 373, 1. (b) Aisen, P.; Wessling-Resnick, M.; Leibold, E.A. Iron metabolism. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, 3, 200.
4. (a) Lynch, S.R. Interaction of iron with other nutrients. *Nutr. Rev.*, **1997**, 55, 102. (b) Cairo, G.; Pietrangelo, A. Iron regulatory proteins in pathobiology. *Biochem. J.*, **2000**, 352, 241. (c) Beutler, E.; Felitti, V.; Gelbart, T.; Ho, N. Genetics of iron storage and hemochromatosis. *Drug. Metab. Dispos.*, **2001**, 29, 495. (d) Lieu, P.T.; Heiskala, M.; Peterson, P.A.; Yang, Y. The roles of iron in health and disease. *Mol. Aspects Med.*, **2001**, 22, 1.
5. Matzanke, B.F.; Muller-Matzanke, G.; Raymond, K.N. Iron Carriers and Iron Proteins, vol. 5, *VCH Publishers, New York*, **1989**.
6. Zimmermann, M.B. The influence of iron status on iodine utilization and thyroid function. *Annu. Rev. Nutr.*, **2006**, 26, 367.
7. Toyokuni, S. Iron-induced carcinogenesis: the role of redox regulation. *Free Radic. Biol. Med.*, **1996**, 20, 553.
8. (a) Schenck, J.F. Magnetic resonance imaging of brain iron. *J. Neurol. Sci.*, **2003**, 207, 99. (b) Vymazal, J.; Brooks, R.A.; Patronas, N. Magnetic resonance imaging of brain iron in health and disease. *J. Neurol.*, **1995**, 134, 19.
9. (a) Chung, P.K.; Liu, S.R.; Wang, H.F.; Wu, S.P. A Pyrene-based Highly Selective Turn-on Fluorescent Chemosensor for Iron(III) Ions and its Application in Living Cell Imaging. *J. Fluoresc.*, **2013**, 23, 1139. (b) Huang, S.; Li, Z.; Li, S.; Yin, J.; Liu, S. Imidazole-based dithienylethenes as a selective chemosensors for iron(III) ions. *Dyes Pigm.*, **2012**, 92, 961. (c) Wu, C.; Zhao, Y.J.L.; Jiang, X.K.; Long, X.; Zeng, X.; Redshaw, C.; Yamat, T. 'Turn-on' fluorescence assay for inorganic phosphate sensing. *Sens. Actuators B*, **2016**, 228, 340.
10. Lau, Y.H.; Rutledge, P.J.; Watkinson, M.; Todd, M.H. Chemical sensors that incorporate click-derived triazoles. *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 2848.

- 
11. (a) Hrishikesan, E.; Saravanan, C.; Kannan, P. Bis-Triazole-Appended Azobenzene Chromophore for Selective Sensing of Copper(II) Ion. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2011**, *50*, 8225. (b) Shi, D.T.; Zhang, B.; Yang, Y.; Guan, C.; He, X.; Li, Y.; Chen, K. G. Bis-triazolyl indoleamines as unique "off-approach-on" chemosensors for copper and fluorine. *Analyst*, **2013**, 138, 2808.
12. (a) Singh, H.; Sindhu, J.; Khurana, J.M. Determination of dipole moment, solvatochromic studies and application as turn off fluorescence chemosensor of new 3-(4-(dimethylamino)phenyl)-1-(5-methyl-1-(naphthalen-1-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)prop-2-en-1-one. *Sens.Actuators B*, **2014**, *192*, 536. (b) Singh, H.; Sindhu, J.; Khurana, J.M. Synthesis of novel fluorescence xanthene-aminoquinoline conjugates, determination of dipole moment and selective fluorescence chemosensor for Th<sup>4+</sup> ions. *Opt. Mater.*, **2015**, *42*, 449.
13. (a) Berg, J. M.; Shi, Y. The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles of zinc. *Science*, **1996**, *271*, 1081. (b) Maret, W. Zinc biochemistry, physiology, and homeostasis - recent insights and current trends. *BioMetals*, **2001**, *14*, 187.
14. (a) Cuajungco, M.P.; Lees, G.J. Zinc metabolism in the brain: relevance to human neurodegenerative disorders. *Neurobiol. Dis.*, **1997**, *4*, 137. (b) Bush, A.I. The metallobiology of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.*, **2003**, *26*, 207.
15. Voegelin, A.; Pfister, S.; Scheinost, A.C.; Marcus, M.A.; Kretzschmar, R. Changes in Zinc Speciation in Field Soil after Contamination with Zinc Oxide. *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, *39*, 6616.
16. Dedola, S.; Nepogodiev, S.A.; Field, R.A. Recent applications of the CuI-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in carbohydrate chemistry. *Org. Biomol.Chem.*, **2007**, *5*, 1006.
17. Diéguez, M.; Pàmies, O.; Claver, C. Ligands Derived from Carbohydrates for Asymmetric Catalysis. *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 3189.
18. Oliveira, E.; Santos, H.M.; Capelo, J.L.; Lodeiro, C. New emissive dopamine derivatives as fluorescent chemosensors for metal ions: A CHEF effect for Al(III) interaction. *Inorg. Chim. Acta*, **2012**, *381*, 203.

- 
19. Li, T.; Yang, Z.; Li, Y.; Liu, Z.; Qi, G.; Wang, B. A novel fluorescein derivative as a colorimetric chemosensor for detecting copper(II) ion. *Dyes Pigm.*, **2011**, *88*, 103.
20. Udhayakumari, D.; Saravanamoorthy, S.; Velmathi, S. Colorimetric and fluorescent sensing of transition metals ions in aqueous medium by salicylaldehyde based chemosensor. *Mater. Sci. Eng. C*, **2012**, *32*, 1878.
21. Scrima, M.; Isaad, L. C.; Rovero, P.; Papini, A. M.; Chorev, M.; D'Ursi, A.M. CuI-catalyzed azide-alkyne intramolecular 1-to-(i+4) side-chain-to-side-chain cyclization promotes the formation of helix-like secondary structures. *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, *2010*, 446.
22. Tornøe, C.W.; Sanderson, S.J.; Mottram, J.C.; Coombs, G.H.; Meldal, J.M. Combinatorial Library of Peptidotriazoles: Identification of [1,2,3]-Triazole Inhibitors against a Recombinant *Leishmania mexicana* Cysteine Protease. *Comb. Chem.*, **2004**, *6*, 312.
23. Tron, G.C.; Pirali, T.; Billington, R.A.; Canonico, P.L.; Sorba, G.; Genazzani, A.A. Click chemistry reactions in medicinal chemistry: applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. *Med. Res. Rev.*, **2008**, *28*, 278.
24. Hemamalini, A.; Das, T.M. Studies on the synthesis of a sugar triazole based ligand for protein and DNA binding. *RSC Adv.*, **2014**, *4*, 34189.
25. Karthikeyan, S.; Chinnathambi, S.; Kannan, A.; Rajakumar, P.; Velmurugan, D.; Bharanidharan, G.; Aruna, P.; Ganesan, S. Investigation of Optical Spectroscopic and Computational Binding Mode of Bovine Serum Albumin with 1, 4-Bis ((4-((4-Heptylpiperazin-1-yl) Methyl)-1H-1, 2, 3-Triazol-1-yl) Methyl) Benzene. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **2015**, *29*, 373.
26. T. Morita, M. A.; Perrella, M. E.; Lee, S. Kourembanas. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1995**, *92*, 1475.
27. Lin, V.S.; Chen, W.; Xian, M.; Chang, C. J. Chemical probes for molecular imaging and detection of hydrogen sulfide and reactive sulfur species in biological system. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, *44*, 4596.
28. Li, J.; Yin, C.; Huo, F. A new rosamine-based fluorescent chemodosimeter for hydrogen sulfide and its bioimaging in live cells. *New J. Chem.*, **2016**, *40*, 6384.

- 
29. Peng, H.; Cheng, Y.; Dai, C.; King, A.L.; Predmore, B.L.; Lefer, D.J.; Wang, B. A Fluorescent Probe for Fast and Quantitative Detection of Hydrogen Sulfide in Blood. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 9672.
30. Zhang, J.; Guo, W. A new fluorescent probe for gasotransmitter H<sub>2</sub>S: high sensitivity, excellent selectivity, and a significant fluorescence *off-on* response. *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, 4214.
31. Kato Jr, E.T.; Yoshida, C.M.P.; Reis, A.B.; Melo I.S.; Franco, T.T. Fast detection of hydrogen sulfide using a biodegradable colorimetric indicator system. *Polym.Int.*, **2011**, *60*, 951.
32. Iversen, K.J.; Spencer, M.J.S. Effect of ZnO Nanostructure Morphology on the Sensing of H<sub>2</sub>S Gas. *J. Phys. Chem. C*, **2013**, *117*, 26106.
33. Hoffman, A.M.; Rajapakse, X.L.H.; Gates, K.S. Generation of DNA-Damaging Reactive Oxygen Species via the Autoxidation of Hydrogen Sulfide under Physiologically Relevant Conditions: Chemistry Relevant to Both the Genotoxic and Cell Signaling Properties of H<sub>2</sub>S. *Chem. Res. Toxicol.*, **2012**, *25*, 1609.
34. Libardi, S.H.; Pindstrup, H.; Cardoso, D.R.; Skibsted, L.H. Reduction of Ferrylmyoglobin by Hydrogen Sulfide. Kinetics in Relation to Meat Greening. *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, *61*, 2883.
35. Li, S.P.; Hu, K.D.; Hu, L.Y.; Li, Y.H.; Jiang, A.M.; Xiao, F.; Han, Y., Liu, Y.S.; Zhang, H. Hydrogen Sulfide Alleviates Postharvest Senescence of Broccoli by Modulating Antioxidant Defense and Senescence-Related Gene Expression. *J. Agric. Food Chem.*, **2014**, *62*, 1119.
36. Guo, Z.; Chen, G.; Zeng, G.; Li, Z.; Chen, A.; Wang, J.; Jiang, L. Fluorescence chemosensors for hydrogen sulfide detection in biological systems. *Analyst* **2015**, *140*, 1772.
37. Xiang, K.; Liu, Y.; Li, C.; Tian, B.; Tong, T.; Zhang, J. A colorimetric and ratiometric fluorescent probe with a large Stokes shift for detection of hydrogen sulfide. *Dyes Pigm.*, **2015**, *123*, 78.
38. Pu, S.Z.; Ma, L.L.; Liu, G.; Ding, H.C.; Chen, B. A multiple switching diarylethene with a phenyl-linked rhodamine B unit and its application as chemosensor for Cu<sup>2+</sup>. *Dyes Pigm.*, **2015**, *113*, 70.

- 
39. Bae, S.K.; Heo, C.H.; Choi, D.J.; Sen, D.; Joe, E.H.; Cho, B.R.; Kim, H.M. A Ratiometric Two-Photon Fluorescent Probe Reveals Reduction in Mitochondrial H<sub>2</sub>S Production in Parkinson's Disease Gene Knockout Astrocytes. *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 9915.
40. Hou, P.; Chen, S.; Wang, H.B.; Wang, J.X.; Voitchovsky, K.; Song, X.Z. An aqueous red emitting fluorescent fluoride sensing probe exhibiting a large Stokes shift and its application in cell imaging. *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, 320.
41. Liu, P.; Jing, X.T.; Yu, F.B.; Lv, C.J.; Chen, L.X. A near-infrared fluorescent probe for the selective detection of HNO in living cells and in vivo. *Analyst*, **2015**, *140*, 4576.
42. Gao, M.; Yu, F.B.; Chen, H.; Chen, L.X. Near-Infrared Fluorescent Probe for Imaging Mitochondrial Hydrogen Polysulfides in Living Cells and in Vivo. *Anal. Chem.*, **2015**, *87*, 3631.
43. Acuña, A.U.; Amat, F.; Catalán, J.; Costela, A.; Figueira, L.M.; Muños, J.M. Pulsed liquid lasers from proton transfer in the excited state. *Chem. Phys. Lett.*, **1986**, *132*, 567.
44. Costela, A.; Amat, F.; Catalán, J.; Douhal, A.; Figueira, L. M.; Muños, J.M.; Acuña, A.U. Phenylbenzimidazole proton-transfer laser dyes: spectral and operational properties. *Opt. Commun.*, **1987**, *64*, 457.
45. Täuber, U; Carvalho, C.E.M.; dos Santos, R.F.; Carvalhaes, C.G.; Fellows, C.E. Impact of photodepletion to amplified spontaneous emission of proton-transfer dyes in polymeric matrices. *Appl. Phys. B Lasers Opt.*, **2007**, *87*, 475.
46. Zhao, J.; Ji, S.; Chen, Y.; Guo, H.; Yang, P. Excited state intramolecular proton transfer (ESIPT): from principal photophysics to the development of new chromophores and applications in fluorescent molecular probes and luminescent materials. *Chem. Phys.*, **2012**, *14*, 8803.
47. Abeywickrama, C.S.; Pang, Y. Synthesis of fused 2-(2'-hydroxyphenyl)benzoxazole derivatives: the impact of meta-/para-substitution on fluorescence and zinc binding. *Tetrahedron Lett.*, **2016**, *57*, 3518.
48. Santos, F.S.; Medeiros, N.G.; Affeldt, R.F.; Duarte, R.C.; Moura, S.; Rodembusch, F.S. Small heterocycles as highly luminescent building blocks in the solid state for organic synthesis. *New J. Chem.*, **2016**, *40*, 2785.

- 
49. Tian, Y.; Chen, C.; Yang, C.; Young, A.C.; Jang, S.; Chen, W.; Jen, A.K.Y. 2-(2'-Hydroxyphenyl)benzoxazole-Containing Two-Photon-Absorbing Chromophores as Sensors for Zinc and Hydroxide Ions. *Chem. Mater.*, **2008**, *20*, 1977.
50. Taki, M.; Wolford, J.L.; O'Halloran, T.V. Emission Ratiometric Imaging of Intracellular Zinc: Design of a Benzoxazole Fluorescent Sensor and Its Application in Two-Photon Microscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 712.
51. Hu, R.; Feng, J.; Hu, D.; Wang, S.; Li, S.; Li, Y.; Yang, G. A Rapid Aqueous Fluoride Ion Sensor with Dual Output Modes. *Angew. Chem.*, **2010**, *49*, 4915.
52. Coelho, F.L.; Rodembusch, F.S.; Campo, L.F. Synthesis, characterization and photophysics of new photoactive ESIPT lipophilic dyes. Partition experiments with different composed liposomes. *Dyes Pigm.*, **2014**, *110*, 134.
53. Pathak, T. Azidonucleosides: Synthesis, Reactions, and Biological Properties; *Chem. Rev.*, **2002**, *102*, 1623.
54. Bräse, S.; Banert, K. *Organic Azide: Syntheses and Application*. Wiley & Sons Ltd: United Kingdom, **2010**.
55. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 2004.
56. Haiges, R.; Boatz, A.; Vij, A.; Gerken, M.; Schneider, S.; Schroer, T.; Christie, K.O. Polyazide chemistry: preparation and characterization of  $\text{Te}(\text{N}_3)_4$  and  $[\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]_2[\text{Te}(\text{N}_3)_6]$  and evidence for  $[\text{N}(\text{CH}_3)_4][\text{Te}(\text{N}_3)_5]$ . *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 5847.
57. Melo Salvador, C.E. Síntese de Peptóides Lineares e Cíclicos via Reação Multicomponente de Ugi e Cicloadição Azido/Alcino Catalisada por Cobre, realizada sob Regime de Fluxo Contínuo. **2015**, UB, *Tese de Doutorado*.
58. (a) Glukhovtsev, M.N.; Bach, R.D.; Laiter, L. High-level computation study on the thermochemistry of saturated and unsaturated three- and four- membered nitrogen and phosphorus rings. *Int. J. Quantum Chem.*, **1997**, *62*, 373 (b) Hantzsch, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1933**, *66*, 1349.
59. Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. Organic azides. An exploding diversity of a unique class of compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 5188.

- 
60. Takahashi, M.; Suga, D. Synthesis of 2-aryl-3-(arylsulfonyl)indoles and 2-anilino-3-(arylsulfonyl)indoles from 2-[(arylsulfonyl)methyl]anilines using the aza-Wittig reaction of iminophosphoranes. *Synthesis* **1998**, 7, 986.
61. Butler, R.N.; Fox, A.; Collier, S.; Burke, L.A. Pentazole chemistry: the mechanism of the reaction of aryldiazonium chlorides with azide ion at -80 °C: concerted versus stepwise formation of arylpentazoles, detection of a pentazene intermediate, a combined <sup>1</sup>H and <sup>15</sup>N NMR experimental and ab initio theoretical study. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1998**, 2243.
62. Capitosti, S.M.; Hansen, T.P.; Brown, M.L. Facile Synthesis of an Azido-Labeled Thalidomide Analogue. *Org. Lett.*, **2003**, 5, 2865.
63. Augustine, J.K.; Bombrun, A.; Mandal, A.B.; Alagarsamy, P.; Atta, R.N.; Selvam, P. Propylphosphonic anhydride (T3P)-mediated one-pot rearrangement of carboxylic acids to carbamates. *Synthesis* **2011**, 1477.
64. Ackermann, L.; Potukuchi, H.K.; Landsberg, D.; Vicente, R. Copper-Catalyzed “Click” Reaction/Direct Arylation Sequence: Modular Syntheses of 1,2,3-Triazoles. *Org. Lett.*, **2008**, 10, 3081.
65. Lin, T.S.; Prusoff, W.H. Synthesis and Biological Activity of Several Amino Analogues of Thymidine. *J. Med. Chem.*, **1978**, 21, 109.
- 66.(a) Lin, V.S.; Chen, W.; Xian, M.; Chang, C. J. Chemical probes for molecular imaging and detection of hydrogen sulfide and reactive sulfur species in biological systems. *Chem. Soc. Rev.*, **2015**, 44, 4596. (b) Clinical Toxicology of Commercial Products, Williams and Wilkins, Baltimore, MD, 5th edn, 1984, pp. III-198–III-202.
67. Wei, C.; Zhu, Q.; Liu, W.; Chen, W.; Xi, Z.; Yi, L. NBD-based colorimetric and fluorescent turn-on probes for hydrogen sulfide. *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, 12, 479.
68. Sasakura, K.; Hanaoka, K.; Shibuya, N.; Mikami, Y.; Kimura, Y.; Komatsu, T.; Ueno, T.; Terai, T.; Kimura, H.; Nagano, T. Development of a Highly Selective Fluorescence Probe for Hydrogen Sulfide. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 18003.
69. Li, L.; Rose, P.; Moore, P.K. Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2011**, 51, 169.
70. Kabil, O.; Banerjee, R. Redox biochemistry of hydrogen sulfide. *J. Biol. Chem.*, **2010**, 285, 21903.

- 
71. Mustafa, A.K.; Gadalla, M.M.; Sen, N.; Kim, S.; Mu, W.T.; Gazi, S.K.; Barrow, R.K.; Yang, G.D.; Wang, R.; Snyder, S.H. H<sub>2</sub>S Signals Through Protein S-Sulfhydration. *Sci. Signaling*, **2009**, *2*, 72.
72. Joshi, S.M.; de Cózar, A.; Gómez-Vallejo, V.; Kozirowski, J.; Llop, J.; Cossío, F.P. Synthesis of radiolabelled aryl azides from diazonium salts: experimental and computational results permit the identification of the preferred mechanism. *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 8954.
73. Raiford, L.C.; Couture, J.R. The role of weight of acyl in the migration from nitrogen to oxygen. *J. Am. Chem. Soc.*, **1924**, *46*, 2305.
74. Zhou, G.D.; Wang, H.L.; Ma, Y.; Chen, X.Q. An NBD fluorophore-based colorimetric and fluorescent chemosensor for hydrogen sulfide and its application for bioimaging. *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 867.
75. Li, J.; Yin, C.; Huo, F. Chromogenic and fluorogenic chemosensors for hydrogen sulfide: review of detection mechanisms since the year 2009. *RSC Adv.*, **2015**, *5*, 2191.
76. Yu, F.; Han, X.; Chen, L. Fluorescent probes for hydrogen sulfide detection and bioimaging. *Chem. Commun.*, **2014**, *50*, 12234.
77. Rodembusch, F.S.; Campo, L.F.; Leusin, F.P.; Stefani, V. Excited state intramolecular proton transfer in amino 2-(2'-hydroxyphenyl)benzazole derivatives: Effects of the solvent and the amino group position. *J. Lumin.*, **2007**, *126*, 728.
78. Zheng, K.; Lin, W.; Tan, L. A phenanthroimidazole-based fluorescent chemosensor for imaging hydrogen sulfide in living cells. *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, 9683.
79. Li, W.; Sun, W.; Yu, X.; Du, L.; Li, M. Coumarin-based Fluorescent Probes for H<sub>2</sub>S Detection. *J. Fluoresc.*, **2013**, *23*, 181.
80. Henthorn, H.A.; Pluth, M.D. Mechanistic Insights into the H<sub>2</sub>S-Mediated Reduction of Aryl Azides Commonly Used in H<sub>2</sub>S Detection. *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 15330.
81. Diéguez, M.; Pàmies, O.; Claver, C. Ligands Derived from Carbohydrates for Asymmetric Catalysis. *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 3189.
82. Brase, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. Organic azides. An exploding diversity of a unique class of compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 5188.
83. Stick, R.V.; Williams, S.J. *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life*, Elsevier, **2008**.

- 
84. Varki, A. Biological roles of oligosaccharides: All of the theories are correct. *Glycobiology*, **1993**, *3*, 97.
85. Brandley, B.K.; Schnaar, R.L. Cell-surface carbohydrates in cell recognition and response. *J. Leukoc. Biol.*, **1986**, *40*, 97.
86. (a) Crich, D. Mechanism of a Chemical Glycosylation Reaction. *Acc. Chem. Res.*, **2010**, *8*, 1144. (b) Demchenko, A.V. *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance*, Wiley-VCH, **2008**.
87. Silva, C.O. Anomeric effect in carbohydrates: facts and hypothesis. *Rev. Virtual Quim.*, **2011**, *4*, 235.
88. Silva, L. *Síntese de glicosil amidas e glicoconjugação via utilização de selenocarboxilatos como reagentes traceless*. **2016**, UFRGS, *Dissertação de Mestrado*.
89. Varki, A.; Cummings, R. D.; Esko, J. D. *Essentials of Glycobiology*, 2a Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, **2009**.
90. Cao, H.; Hwang, J.; Chen, X. Carbohydrate-containing natural products in medicinal chemistry. *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*, **2011**, 411.
91. Yang, R. Synthesis of 5-(carbohydrate-ethynyl)-2'-deoxyuridine derivatives. *Lett. Org. Chem.*, **2008**, *5*, 518.
92. Smith, T.L.; Pearson, M.L.; Wilcox, K.R.; Cruz, C.; Lancaster, M.V.; Robinson-Dunn, B.; Tenover, F.C.; Zervos, M.J.; Band, J.D.; White, E.; Jarvis, W.R.N. *N. Engl. J. Med.*, **1999**, *341*, 207.
93. Nicolaou, K.C.; Mitchell, H.J. Adventures in carbohydrate chemistry: new synthetic technologies, chemical synthesis, molecular design, and chemical biology. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 1576.
94. Moro, A.V.; Ferreira, P.C.; Migowski, P.; Rodembusch, F.S.; Dupont, J.; Lüdtké, D.S. Synthesis and photophysical properties of fluorescent 2,1,3-benzothiadiazole-triazole-linked glycoconjugates: selective chemosensors for Ni(II). *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 201.
95. Wouters, A.D.; Trossini, G.H.G.; Stefani, H.A.; Lüdtké, D.S. Enantioselective arylations catalyzed by carbohydrate-based chiral amino alcohols. *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 2351.

- 
96. Vieira, A.S.; Fiorante, P.F.; Hough, T.L.S.; Ferreira, F.P.; Lüdtke, D.S.; Stefani, H.A. Nucleophilic Addition of Potassium Alkynyltrifluoroborates to D-Glucal Mediated by  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ : Highly Stereoselective Synthesis of  $\alpha$ -C-glycosides. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 5215.
97. Wouters, A.D.; Bessa, A.B.; Sachini, M.; Wessjohann, L.A.; Lüdtke, D.S. Boron-zinc exchange in the diastereoselective arylation of sugar-based aldehydes: stereoselective synthesis of (+)-7-epi-goniofufurone and analogues. *Synthesis* **2013**, *45*, 2222.
98. Katritzky, A.R.; Pozharskii, A.F. Em *Handbook of Heterocyclic Chemistry, Second Edition*; Pergamon: Oxford, **2000**.
99. Grimmett, M.R. *Comprehensive Organic Chemistry*; Barton, D.; Ollis, D., eds.; Pergamon Press: Reino Unido, **1979**.
100. John, J.; Thomas, J.; Dehaen, W. Organocatalytic routes toward substituted 1,2,3-triazoles. *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 10797.
101. Wan, J.P.; Hu, D.; Liu, Y.; Sheng, S. Azide-Free Synthesis of 1,2,3-Triazoles: New Opportunity for Sustainable Synthesis. *ChemCatChem*, **2015**, *7*, 901.
102. Praveena, S.S.K.; Murthy, N.Y.S.M.; Pal, S. Syntheses and biological activities of 1,4-disubstituted-1,2,3-triazoles. *J. Chem. Pharm. Res.*, **2015**, *7*, 506.
103. Abound, J.L.M.; Foces-Foces, C.; Notario, R.; Trifonov, R.E.; Volovodenko, A.P.; Ostrovskii, V.A.; Alkorta, I.; Elguero, J. Basicity of N-H- and N-methyl-1,2,3-triazoles in the gas phase, in solution, and in the solid state - an experimental and theoretical study. *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, *16*, 3013.
104. Baines, K.M.; Rourke, T.W.; Vaughan, K.; Hooper, D.L. 5-(Arylamino)-1,2,3-triazoles and 5-Amino-1-aryl-1,2,3-triazoles from 3-(Cyanomethyl)triazenes. *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 856.
105. El-Khadem, H.S. The mechanism of saccharide osotriazole formation. *Carbohydr. Res.*, **1998**, *313*, 255.
106. Krivopalov, V. P.; Shkurko, O. P. 1,2,3-Triazole and its derivatives. Development of methods for the formation of the triazole ring. *Russ. Chem. Rev.*, **2005**, *74*, 339.
107. Huisgen, R.; Szeimies, G.; Möbius, L. 1,3-Dipolar cycloadditions. XXXII. Kinetics of the addition of organic azides to carbon-carbon multiple bonds. *Chem. Ber.*, **1967**, *100*, 2494.

- 
- 108 .a) Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 2596.
- 109 . Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057.
110. Hein, J.E.; Fokin, V.V. Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, *39*, 1302.
111. Demko, Z.P.; Sharpless, K.B. An Expedient Route to the Tetrazole Analogues of  $\alpha$ -Amino Acids. *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 2525.
112. Gajewski, J.J. The Claisen Rearrangement. Response to Solvents and Substituents: The Case for Both Hydrophobic and Hydrogen Bond Acceleration in Water and for a Variable Transition State. *Acc. Chem. Res.*, **1997**, *30*, 219.
113. Jana, S. *Synthesis of 1,2,3-triazoles and biological evaluation*, **2017**, UC. KU Leuven, *Tese de Doutorado*.
114. Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H.H.Y.; Williams, I.D.; Sharpless, K.B.; Fokin, V.V.; Jia, G. Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Alkynes and Organic Azides. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 15998.
115. (a) Jomova, K.; Valko, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* **2011**, *283*, 65. (b) Gierlich, J.; Burley, G.A.; Gramlich, P.M.E.; Hammond, D.M.; Carell, T. Click Chemistry as a Reliable Method for the High-Density Postsynthetic Functionalization of Alkyne-Modified DNA. *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 3639.
116. El-Sayed Aly, M.R.; Saad, H.A.; Mohamed, M.A.M. Click reaction based synthesis, antimicrobial, and cytotoxic activities of new 1,2,3-triazoles. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, *25*, 2824.
117. Lee, L.V.; Mitchell, M.L.; Huang, S.J.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B.; Wong, C.H. A Potent and Highly Selective Inhibitor of Human  $\alpha$ -1,3-Fucosyltransferase via Click Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 9588.
118. Meldal, M.; Tornøe, C.W. Cu-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition. *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, 2952.
- 119 . Sun, S. Mechanistic Insights into Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne "Click" Cycloaddition Monitored by Real Time Infrared Spectroscopy. *J. Phys. Chem.*, **2010**, *114*, 8331.
- 120 . Aragão-Leoneti, V.; Campo, V.L.; Gomes, A.S.; Field, R.A.; Carvalho, I. Application of copper (I)-catalysed azide/alkyne cycloaddition (CuAAC) 'click

---

chemistry' in carbohydrate drug and neoglycopolymer synthesis. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 210.

121. Bock, V.D.; Hiemstra, H.; Maarseveen, J.H. Cu(I) -Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 51.

122. Schulzeab, B.; Schubert, U.S. Beyond click chemistry - supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 2522.

123. Makarem, A.; Berg, R.; Rominger, F.; Straub, B.F. A Fluxional Copper Acetylide Cluster in CuAAC Catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, *54*, 7431.

124. Jin, L.; Tolentino, D.R.; Melaimi, M.; Bertrand, G. Isolation of bis(copper) key intermediates in Cu-catalyzed azide-alkyne "click reaction". *Sci. Adv.*, **2015**, *1*, 1500304.

125. Ziegler, M.S.; Lakshmi, K.V.; Tilley, T.D. Dicopper Cu(I)Cu(I) and Cu(I)Cu(II) Complexes in Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*, 5378.

126. Jin, L.; Romer, E. A.; Melaimi, M.; Bertrand, G. The Janus Face of the X Ligand in the Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 15696.

127. Raitz, I. *Análogos de goniotalamina: síntese e avaliação biológica de triazóis e de híbridos fluorescentes*, **2017**, UNICAMP, *Tese de Doutorado*.

128. Zhang, X.; Liu, P.; Zhu, L. Structural determinants of alkyne reactivity in copper-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. *Molecules*, **2016**, *21*, 1697.

129. Seath, C.P.; Burley, G.A.; Watson, A.J.B. Determining the Origin of Rate-Independent Chemoselectivity in CuAAC Reactions: An Alkyne-Specific Shift in Rate-Determining Step. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, *56*, 3314.

- 
130. Kuang, G.C.; Guha, P.M.; Brotherton, W.S.; Simmons, J.T.; Stankee, L.A.; Nguyen, B.T.; Clark, R.J.; Zhu, L. Experimental Investigation on the Mechanism of Chelation-Assisted, Copper(II) Acetate-Accelerated Azide–Alkyne Cycloaddition. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 13984.
131. Chen, X.; Chen, W.; Mulchandani, A.; Mohideen, U. Application of displacement principle for detecting heavy metal ions and EDTA using microcantilevers. *Sens. Actuat. B*, **2012**, *161*, 203.
132. Kaur, K.; Saini, R.; Kumar, A.; Luxami, V.; Kaur, N.; Singh, P. Chemodosimeters: An approach for detection and estimation of biologically and medically relevant metal ions, anions and thiols. *Coord. Chem. Rev.*, **2012**, *256*, 1992.
133. Lee, D. *Metal chelation chemistry*, in: Chemosensors, *John Wiley & Sons, Inc*, **2011**, 41.
134. Flora, S.J.S.; Pachauri, V. Chelation in metal intoxication. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, **2010**, *7*, 2745.
135. Rahimi, Y.; Goulding, A.; Shrestha, S.; Mirpuri, S.; Deo, S.K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2008**, *370*, 57.
136. He, G.; Zhang, X.; He, C.; Zhao, X.; Duan, C. Ratiometric fluorescence chemosensors for copper(II) and mercury(II) based on FRET systems. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 9762.
137. Mendoza-Espinosa, D.; Negron-Silva, G.E.; Angeles-Beltran, D.; Alvarez-Hernandez, A.; Suarez-Castillo, O.R.; Santillan, R. Copper(II) complexes supported by click generated mixed NN, NO, and NS 1,2,3-triazole based ligands and their catalytic activity in azide–alkyne cycloaddition. *Dalton Trans.*, **2014**, *43*, 7069.
138. Struthers, H.; Spingler, B.; Mindt, T.L.; Schibli, R. Click-to-chelate”: design and incorporation of triazole-containing metal-chelating systems into biomolecules of diagnostic and therapeutic interest. *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 6173.
139. Ghosh, D.; Rhodes, S.; Hawkins, K.; Winder, D.; Atkinson, A.; Ming, W. A simple and effective 1,2,3-triazole based "turn-on" fluorescence sensor for the detection of anions. *New J. Chem.*, **2015**, *39*, 295.

- 
140. Hrishikesan, E.; Saravanan, C.; Kannan, P. Bis-Triazole-Appended Azobenzene Chromophore for Selective Sensing of Copper(II) Ion. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2011**, *50*, 8225.
141. Singh, H.; Rajeshwari, M.; Khurana, J.M. Synthesis, photophysical studies, and application of novel 2,7-bis((1-butyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)naphthalene as a highly selective, reversible fluorescence chemosensor for detection Fe<sup>3+</sup> ions. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2018**, *353*, 424.
142. Xu, H.R.; Li, K.; Liu, Q.; Wu, T.M.; Wang, M.Q.; Hou, J.T. An electrochemical DNA sensor for detection of cytokeratin 19. *Analyst*, **2013**, *138*, 2329.
143. Huang, H.J.; Fang, H.Y.; Chir, J.L.; Wu, A.T. Effect of bis-triazoles on a ribose-based fluorescent sensor. *Luminescence*, **2011**, *26*, 518.
144. Hung, H.C.; Cheng, C.W.; Ho, I.T.; Chung, W.S. Dual-mode recognition of transition metal ions by bis-triazoles chained pyrenes. *Tetrahedron Lett.*, **2009**, *50*, 302.
145. Hung, H.C.; Cheng, C.W.; Wang, Y.Y.; Chen, Y.J.; Chung, W.S. Highly Selective Fluorescent Sensors for Hg<sup>2+</sup> and Ag<sup>+</sup> Based on Bis-triazole-Coupled Polyoxyethylenes in MeOH Solution. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, *36*, 6360.
146. Ruan, Y.B.; Yu, Y.; Li, C.; Bogliotti, N.; Tang, J.; Xie, J. Triazolyl Benzothiadiazole Fluorescent Chemosensors: A Systematic Investigation of 1,4-or 1,5-Disubstituted Monoand Bis-Triazole Derivatives. *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 4603.
147. Hu, Y.N.; Shen, X.S.; Fang, X.Y.; Qu, S.S. Studies on the interaction between 1-hexylcarbonyl-5-fluorouracil and bovine serum albumin. *J. Mol. Struct.*, **2005**, *738*, 143.
148. Majorek, K.A.; Porebski, P.J.; Dayal, A.; Zimmerman, M.D.; Jablonska, K.; Stewart, A.J.; Chruszcz, M.; Minor, W. Structural and immunologic characterization of bovine, horse, and rabbit serum albumins. *Mol. Immunol.*, **2012**, *52*, 174.
149. Pisoni, D.S.; Todeschini, L.; Borges, A.C.A.; Petzhold, C.L.; Rodembusch, F.S.; Campo, L.F. Symmetrical and Asymmetrical Cyanine Dyes. Synthesis, Spectral Properties, and BSA Association Study. *J. Org. Chem.*, **2014**, *79*, 5511.
150. Hu, Y.J.; Yue, H.L.; Li, X.L.; Zhang, S.S.; Tang, E.; Zhang, L.P. Molecular spectroscopic studies on the interaction of morin with bovine serum albumin. *J. Photochem. Photobiol. B*, **2012**, *112*, 16.
151. Gupta, B.S.; Taha, M.; Lee, M. Buffers more than buffering agent: introducing a new class of stabilizers for the protein BSA. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2015**, *17*, 1114.

- 
152. Patel, R.; Kumari, M.; Dohare, N.; Khan, A.B.; Singh, P.; Malik, M.A.; Kumar, A. Interaction between pyrrolidinium based ionic liquid and bovine serum albumin: a spectroscopic and molecular docking insight. *Biochem. Anal. Biochem.*, **2016**, *5*, 265.
153. Kroetz, T. *Aminasfluorescentes de cadeia longa: síntese, estudo fotofísico e obtenção de lipossomas fotoativos de fosfatidilcolina*. **2017**, UFRGS, Dissertação de Mestrado.
154. Sulkowska, A. Interaction of drugs with bovine and human serum albumin. *J. Mol. Struct.*, **2002**, *614*, 227.
155. Li, X.; Jiang, J.H.; Xiao, S.X.; Gu, H.W.; Li, C.H.; Ye, L.J.; Li, X.; He, D.G.; Yao, F.H.; Li, Q.G. Synthesis, thermodynamic properties and BSA interaction of a new Valen Schiff base derived from o-vanillin and trimethoprim. *Thermochim. Acta*, **2014**, *575*, 291.
156. Aroche, D.M.P. *Glicoconjugação de bases de tróger via reações de cicloadição azida-acetileno*, **2014**, UFRGS, Dissertação de Mestrado.
157. Bag, S.S.; Jana, S.; Pradhan, M.K. Synthesis, photophysical properties of triazolyl-donor/acceptor chromophores decorated unnatural amino acids: Incorporation of a pair into Leu-enkephalin peptide and application of triazolylperylene amino acid in sensing BSA. *Bioorg. Med. Chem.*, **2016**, *24*, 3579.
158. Aneja, B.; Kumari, M.; Azam, A.; Kumar, A.; Abid, M.; Patel, R. Effect of triazole-tryptophan hybrid on the conformation stability of bovine serum albumin. *Luminescence*, **2018**, *33*, 464.
159. Morrison, R.; Boyd, R. *Química Orgânica*, 13a Ed., Fundação Calouste Gulberkian, **1996**.
160. Gómez, D.E.; Fabbrizzi, L.; Licchelli, M.; Monzani, E. Urea vs. thiourea in anion recognition. *Org. Biomol.Chem.*, **2005**, *3*, 1495.
161. Rouessac, F.; Rouessac, A. *Chemical Analysis, Modern Instrumentation Methods and Techniques*, John Wiley & Sons, 2nd Ed., **2007**.
162. Pávia, D.L.; Lampamn, G.M.; Kriz, G.S. *Introduction to Spectroscopy: A guide for students of organic chemistry*. 3rd. Ed. USA: Thomson, **2001**, p.579.
163. Atvars, T.D.Z.; Martelli, C. *Espectroscopia de Luminescência* 2002. Disponível em: [http://www.chemkeys.com/bra/md/ede\\_5.html](http://www.chemkeys.com/bra/md/ede_5.html) Acesso em: 22 de agosto de 2017.
164. Schulman, S.G. *Fluorescence and phosphorescence spectroscopy: Physicochemical principles and practice*. New York: Pergamon Press, **1997**.

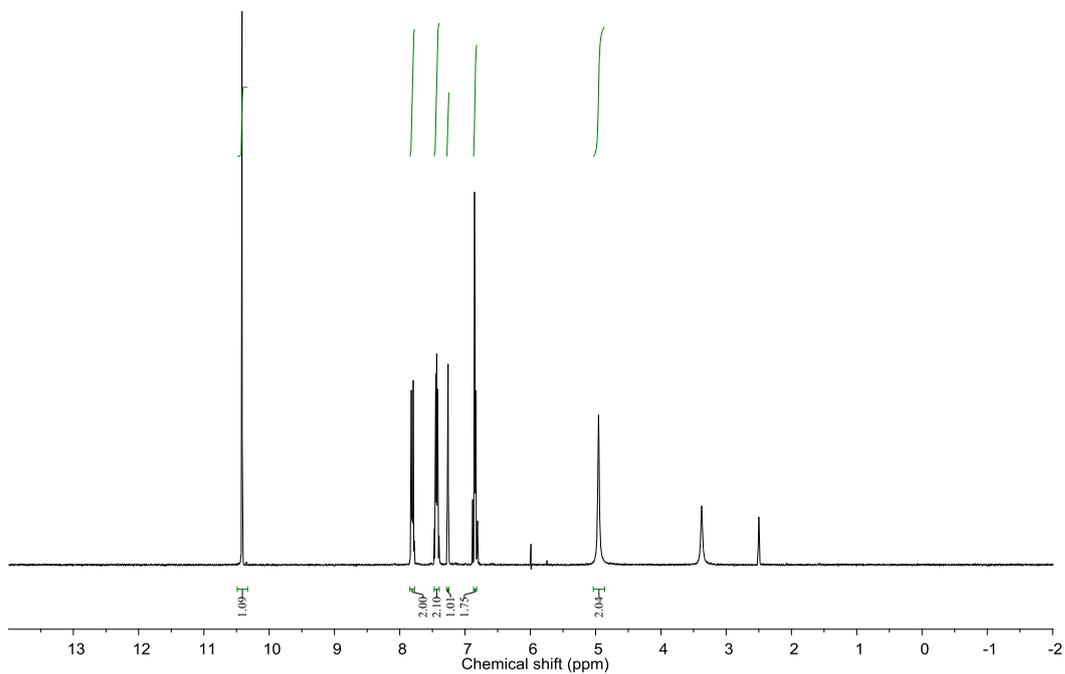
- 
165. Wolde, A.; Dekkers, H.P.J.M.; Jacobs, H.J.C. Synthesis and fluorescence of a configurationally locked Z-hexatriene: 1,2-divinylcyclopentene. *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 6045.
166. Lakowicz, J.R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd Ed. New York: Springer, **2006**.
167. Mason, W.T. *Fluorescent and Luminescent Probes for Biological Activity*. London: Academic Press, **1993**, 12-34.
168. Coelho, A.L. Desenvolvimento de procedimento de derivatização fotoquímica para dois glicocorticoides sintéticos (prednisona e triancinolona) visando à análise espectrofluorimétrica de formulações farmacêuticas. **2004**, PUC-Rio, *Dissertação de Mestrado*.
169. Barrow, G.M. *Introduction to Molecular Spectroscopy*, McGraw-Hill, New York, **1962**.
170. Acuña, A.U.; Amat, F.; Catalán, J.; Costela, A.; Figueira, L.M.; Muños, J.M. Pulsed liquid lasers from proton transfer in the excited state. *Chem. Phys. Lett.*, **1986**, *132*, 567.
171. Costela, A.; Amat, F.; Catalán, J.; Douhal, A.; Figueira, L. M.; Muños, J.M.; Acuña, A.U. Phenylbenzimidazole proton-transfer laser dyes: spectral and operational properties. *Opt. Commun.*, **1987**, *64*, 457.
172. Rodembusch, F.S. *Síntese, caracterização e estudo fotofísico de heterociclos fluorescentes por ESIPT e suas aplicações na preparação de novos materiais*. **2005**, UFRGS, *Tese de Doutorado*.
173. Ireland, T.A.; Wyatt, P.A.H. Acid-base properties of electronically excited states of organic molecules. *Adv. Phys. Org. Chem.*, **1976**, *12*, 131.
174. Santos, F. S.; Ramasamy, E.; Ramamurthy, V.; Rodembusch, F. S. Excited state behavior of benzoxazole derivatives in a confined environment afforded by a water soluble octaacid capsule. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2016**, *317*, 175.
175. Daengngern, R.; Kungwan, N. Dynamics simulations of photoinduced proton transfer reactions of 2-(2'-hydroxyphenyl)benzoxazole in the gas phase and its hydrated clusters. *Chem. Phys. Lett.*, **2014**, *609*, 147.
176. Padalkar, V.S.; Ramasami, P.; Sekar, N. A comprehensive spectroscopic and computational investigation of intramolecular proton transfer in the excited states of 2-(2'-hydroxyphenyl) benzoxazole and its derivatives. *J. Lumin.*, **2014**, *146*, 527.

- 
177. El-Nahass, M.N.; El-Aziz, D.M.A.; Fayed, T.A. Selective “on–off–on” switchable chemosensor for metal ions detection and its complexes. *Sensors Actuat. B*, **2014**, *205*, 377.
178. Liu, Z.; Xu, H.; Chen, S.; Sheng, L.; Zhang, H.; Hao, F.; Su, P.; Wang, W. Solvent-dependent "turn-on" fluorescence chemosensor for Mg<sup>2+</sup> based on combination of C=N isomerization and inhibition of ESIPT mechanisms. *Spectrochim Acta A*, **2015**, *149*, 83.
179. Hossain, S.M.; Singh, K.; Lakma, A.; Pradhan, R.N.; Singh, A.K. A schiff base ligand of coumarin derivative as an ICT-Based fluorescence chemosensor for Al<sup>3+</sup> *Sensors Actuat. B*, **2017**, *239*, 1109.
180. Udhayakumari, D.; Velmathi, S. Colorimetric chemosensor for multi-signaling detection of metal ions using pyrrole based Schiff bases. *Spectrochim. Acta A*, **2014**, *122*, 428.
181. Jiang, J.Q.; Sun, C.L.; Shi, Z.F.; Xu, Z.G.; Zhang, H.L. A ppb level turn-on fluorescence chemosensor for the detection of Zn<sup>2+</sup> *Sensors Actuat. B*, **2015**, *220*, 659.
182. Peng, X.J.; Song, F.L.; Lu, E.; Wang, Y.N.; Zhou, W.; Fan, J.L.; Gao, Y.L. Heptamethine Cyanine Dyes with a Large Stokes Shift and Strong Fluorescence: A Paradigm for Excited-State Intramolecular Charge Transfer. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 4170.
183. Nunes, A.C. *Síntese e estudo fotofísico de novas cianinas conjugadas com heterociclos fotoativos por ESIPT*. **2015**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
184. Eicher, T.; Hauptman, S.; Speicher, A. *The Chemistry of Heterocycles Structure, Reaction, Syntheses and Application*, 2nd ed., Wiley-VCH GmbH, **2003**.
185. So, H.Y.; Heeschen, J.P. Mechanism of Polyphosphoric Acid and Phosphorus Pentoxide–Methanesulfonic Acid as Synthetic Reagents for Benzoxazole Formation. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 3552.
186. Raiford, L.C.; Couture, J.R. The role of weight of acyl in the migration from nitrogen to oxygen. *J. Am. Chem. Soc.*, **1924**, *46*, 2305.
187. Hodd, K.A. *Thermal Analysis*, ICTA: Budapest, **1974**, *2*, 91.
188. Joshi, S.M.; de Cózar, A.; Gómez-Vallejo, V.; Koziorowski, J.; Llop, J.; Cossío, F.P. Synthesis of radiolabelled aryl azides from diazonium salts: experimental and computational results permit the identification of the preferred mechanism. *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 8954.

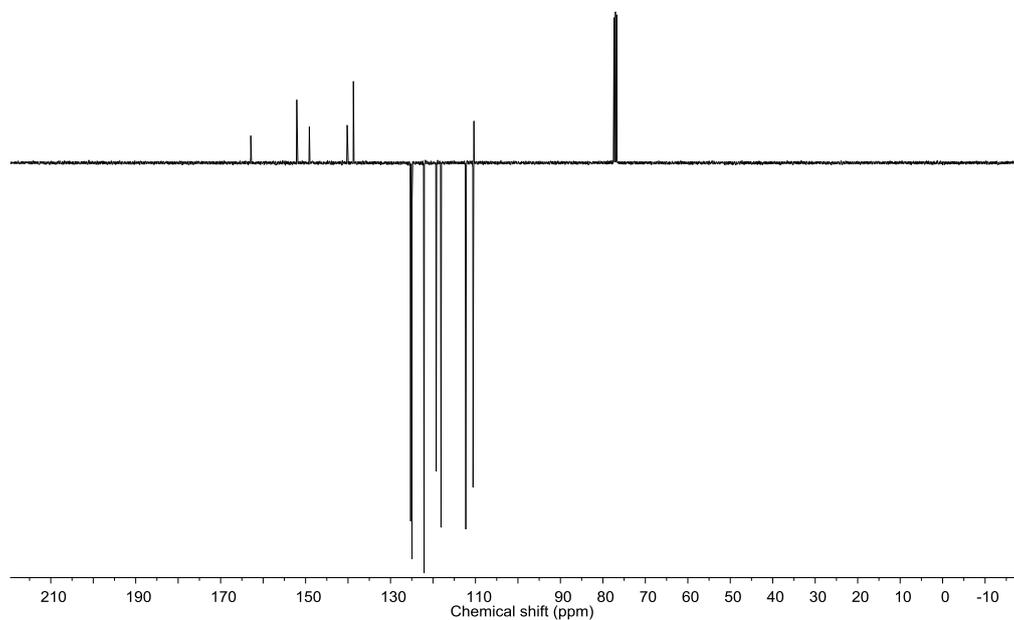
- 
189. Wu, Z.; Glaser, R. Ab Initio Study of the  $S_N1Ar$  and  $S_N2Ar$  Reactions of Benzenediazonium Ion with Water. On the Conception of “Unimolecular Dediazonation” in Solvolysis Reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 10632.
190. (a) Hotha, S.; Anegundi, R.I.; Natu, A.A. Expedient synthesis of 1,2,3-triazole-fused tetracyclic compounds by intramolecular Huisgen (click) reactions on carbohydrate-derived azido-alkynes. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, *46*, 4585. (b) Andrey, O.; Sperry, J.; Larsen, U.S.; Brimble, M.A. An approach to an enantioselective synthesis of crismicin A via a novel double Hauser-Kraus annulation strategy. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3912.
191. Ginisty, M.; Gravier-Pelletier, C.; Merrer, Y. Chemical investigations in the synthesis of *O*-serinyl aminoribosides. *Tetrahedron Asymm.*, **2006**, *17*, 142.
192. Kartha, K.P.R. Iodine, a novel catalyst in carbohydrate reactions. I. *O*-Isopropylideneation of carbohydrates. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 3415.
193. Hwang, C.K.; Nicolaou, K.C. Reactions of hydroxyl groups with the tosyl chloride-dimethylaminopyridine system. Direct synthesis of chlorides from hydroxy compounds. *Tetrahedron Lett.*, **1984**, *25*, 2295.
194. Angyal, S.J.; Odier, L.; Tate, M.E. A simple synthesis of cis-inositol. *Carbohydr. Res.*, **1995**, *266*, 143.
195. Douhal, A.; Amat-Guerri, F.; Lillo, M. P.; Acuña, A. U. Proton transfer spectroscopy of 2-(2'-hydroxyphenyl)imidazole and 2-(2'-hydroxyphenyl)benzimidazole dyes. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **1994**, *78*, 127.
196. Rodembusch, F.S.; Campo, L.F.; Leusin, F.P.; Stefani, V. Excited state intramolecular proton transfer in amino 2-(2'-hydroxyphenyl)benzazole derivatives: Effects of the solvent and the amino group position. *J. Lumin.*, **2007**, *126*, 728.
197. Das, S.K.; Lim, C.S.; Yang, S. .; Han, J.H.; Cho, B.R. A small molecule two-photon probe for hydrogen sulfide in live tissues. *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 8395.
198. Lippert, A.R.; New, E.J.; Chang, C.J. Reaction-Based Fluorescent Probes for Selective Imaging of Hydrogen Sulfide in Living Cells. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 10078.
199. Qian, Y.; Karpus, J.; Kabil, O.; Zhang, S.Y.; Zhu, H.L.; Banerjee, R.; Zhao, J.; He, C. Selective fluorescent probes for live-cell monitoring of sulphide. *Nat. Commun.*, **2011**, *2*, 495.

- 
200. Adnan, S.; Hasan, S.; Zakaria, S.; Yusof, Y.M. Dimethylaminodiethylenetriamine derivatives of fluorescence chemosensor for detection of  $Zn^{2+}$  in aqueous solution. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, **2017**, 172, 012051.
201. Roy, N.; Pramanik, H.A.R.; Paul, P.C.; Singh, T.S. A highly sensitive and selective fluorescent chemosensor for detection of  $Zn^{2+}$  based on a Schiff base. *Spectrochim. Acta. A*, **2015**, 140, 150.
202. Aksuner, N.; Henden, E.; Yilmaz, I.; Cukurovali, A. Selective optical sensing of copper(II) ions based on a novel cyclobutane-substituted Schiff base ligand embedded in polymer films. *Sens. Actuat. B*, **2008**, 134, 510.
203. Zhou, L.; Cai, P.Y.; Feng, Y.; Cheng, J.H.; Xiang, H.F.; Liu, J.; Wu, D.; Zhou, X.G. Synthesis and photophysical properties of water-soluble sulfonato-Salen-type Schiff bases and their applications of fluorescence sensors for  $Cu^{2+}$  in water and living cells. *Anal. Chim. Acta*, **2012**, 735, 96.
204. Ma, X.; Sun, X.; Hargrove, D.; Chen, J.; Song, D.; Dong, Q.; Lu, X.; Fan, T.; Fu, Y.; Lei, Y. A Biocompatible and Biodegradable Protein Hydrogel with Green and Red Autofluorescence: Preparation, Characterization and In Vivo Biodegradation Tracking and Modeling. *Sci. Rep.*, **2016**, 6, 19370.
205. Wang, Q.; Liu, P.; Zhou, X.; Zhang, X.; Fang, T.; Min, X.; Li, X. J. Thermodynamic and conformational investigation of the influence of CdTe QDs size on the toxic interaction with BSA. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **2012**, 230, 23.
206. Tong, J.; Tian, F.; Li, Q.; Li, L.; Xiang, C.; Liu, Y.; Dai, J.; Jiang, F. Probing the adverse temperature dependence in the static fluorescence quenching of BSA induced by a novel anticancer hydrazine. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, 11, 1868.
207. Sun, T.; Liu, L.; Sun, Y.; Tan, C.; Yao, F.; Liang, X.; Wang, Y.; Yang, Y.; Hu, X.; Fan, J. Probing the adverse temperature dependence in the static fluorescence quenching of BSA induced by a novel anticancer hydrazine. *Anal. Sci.*, **2012**, 28, 491.

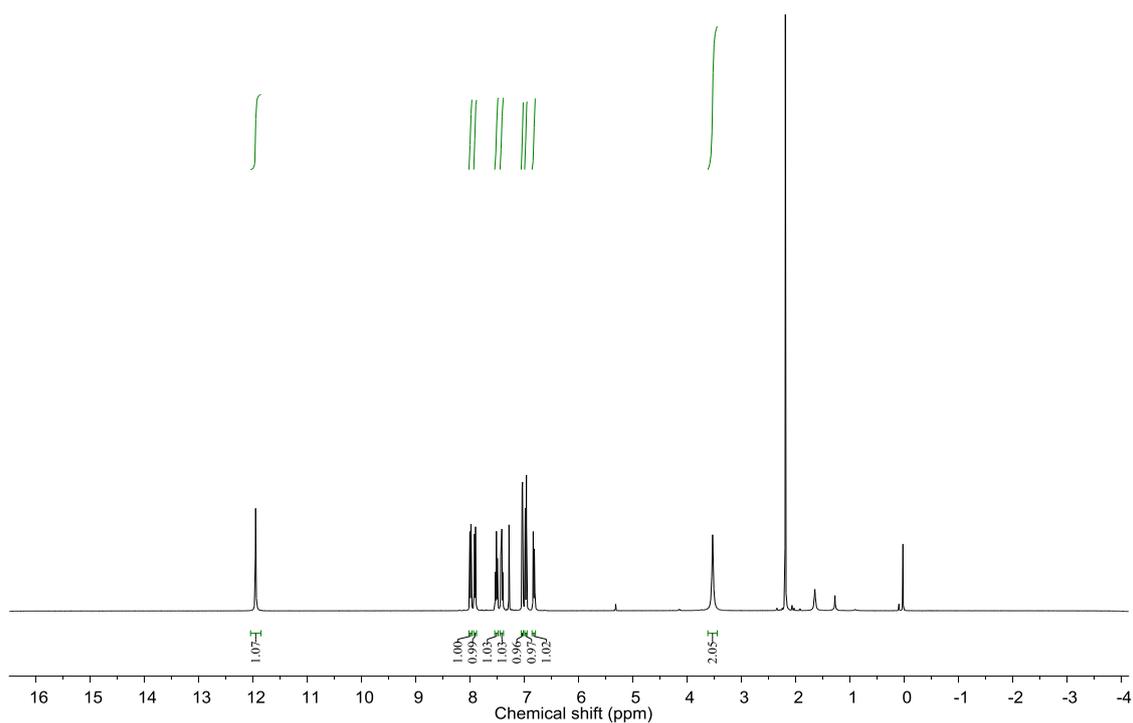
## Anexo



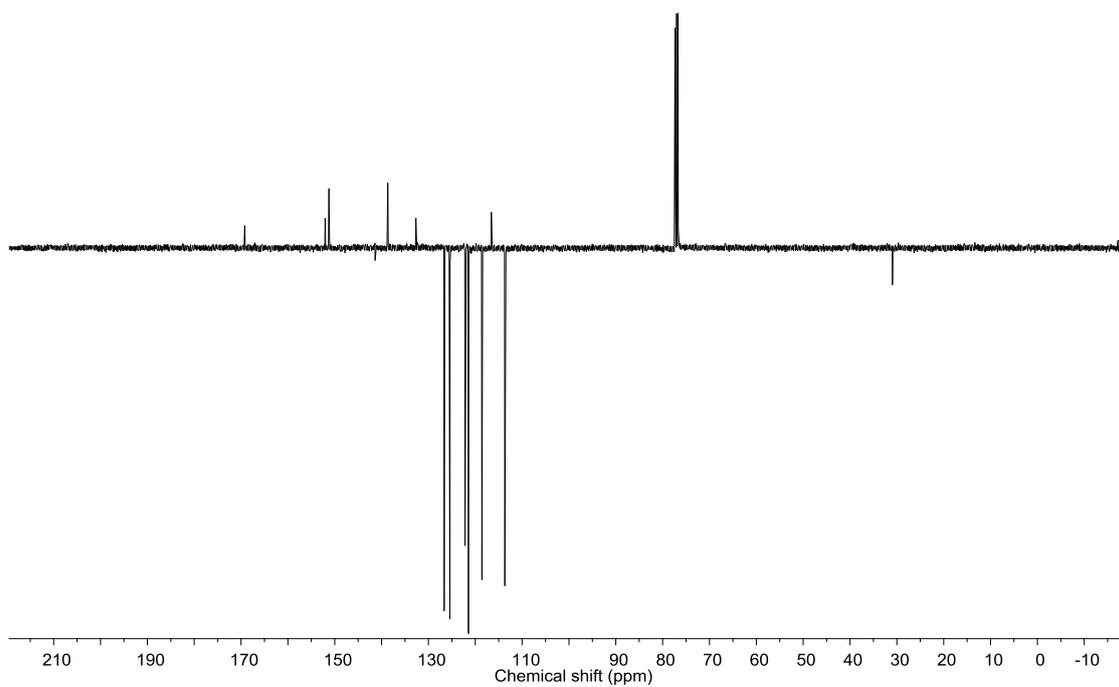
**Figura A1.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz) do composto **28** em CDCl<sub>3</sub>.



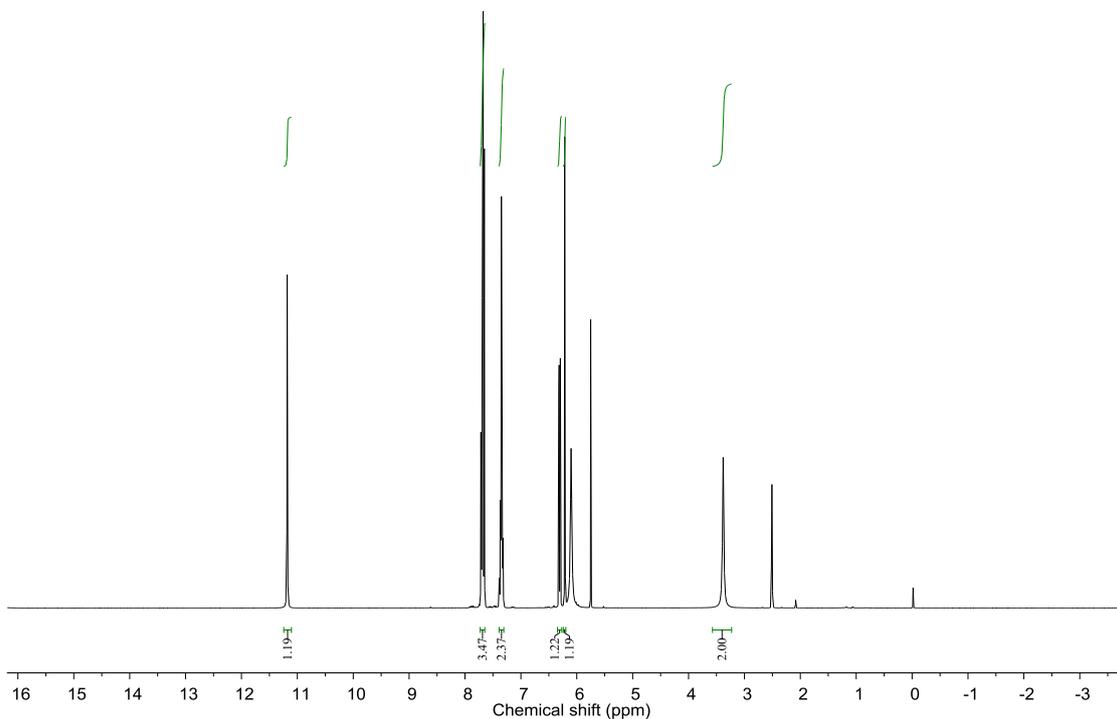
**Figura A2.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (APT) (101 MHz) do composto **28** em CDCl<sub>3</sub>.



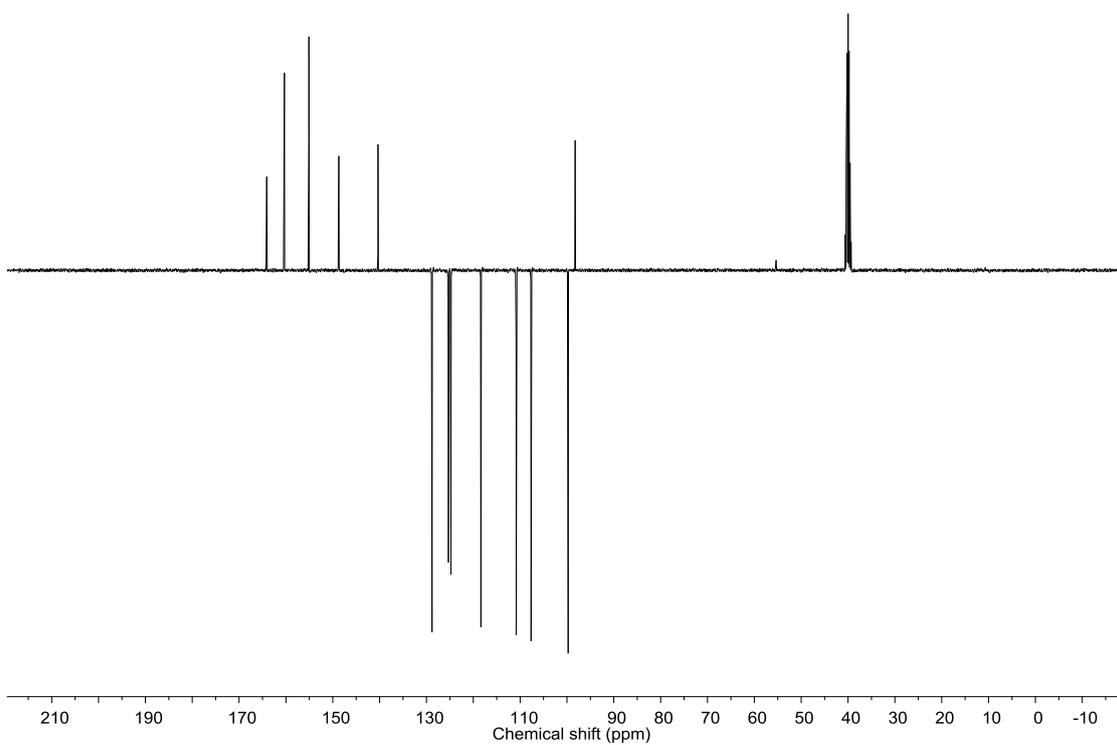
**Figura A3.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do composto **29** em  $\text{CDCl}_3$ .



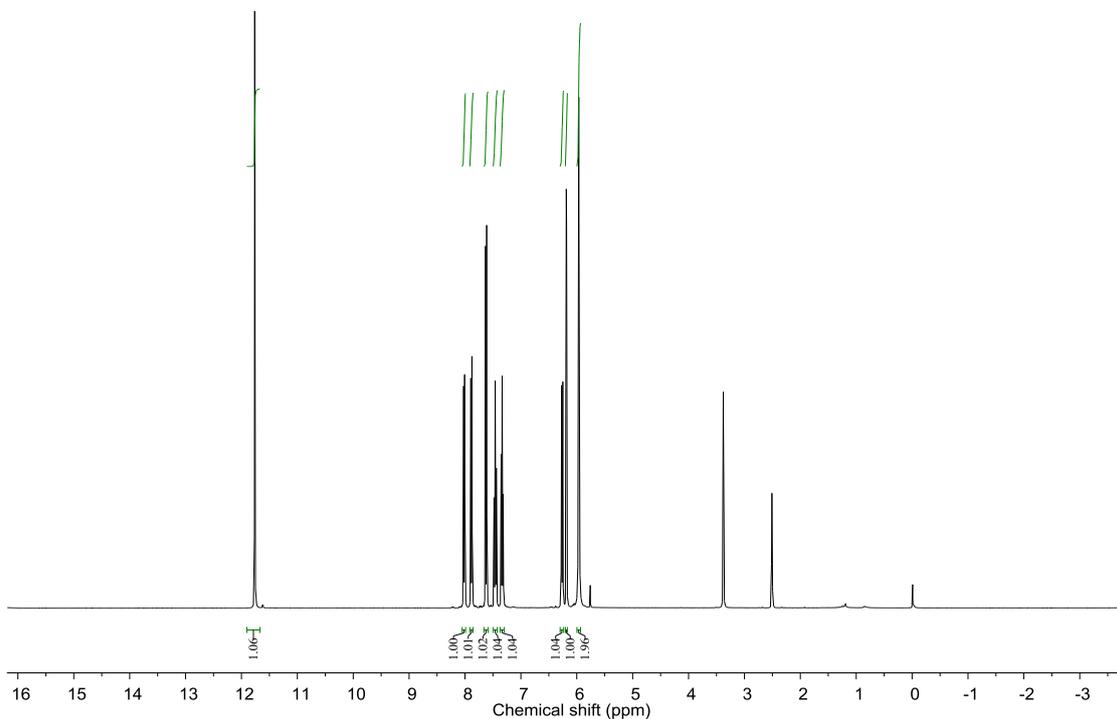
**Figura A4.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do composto **29** em  $\text{CDCl}_3$ .



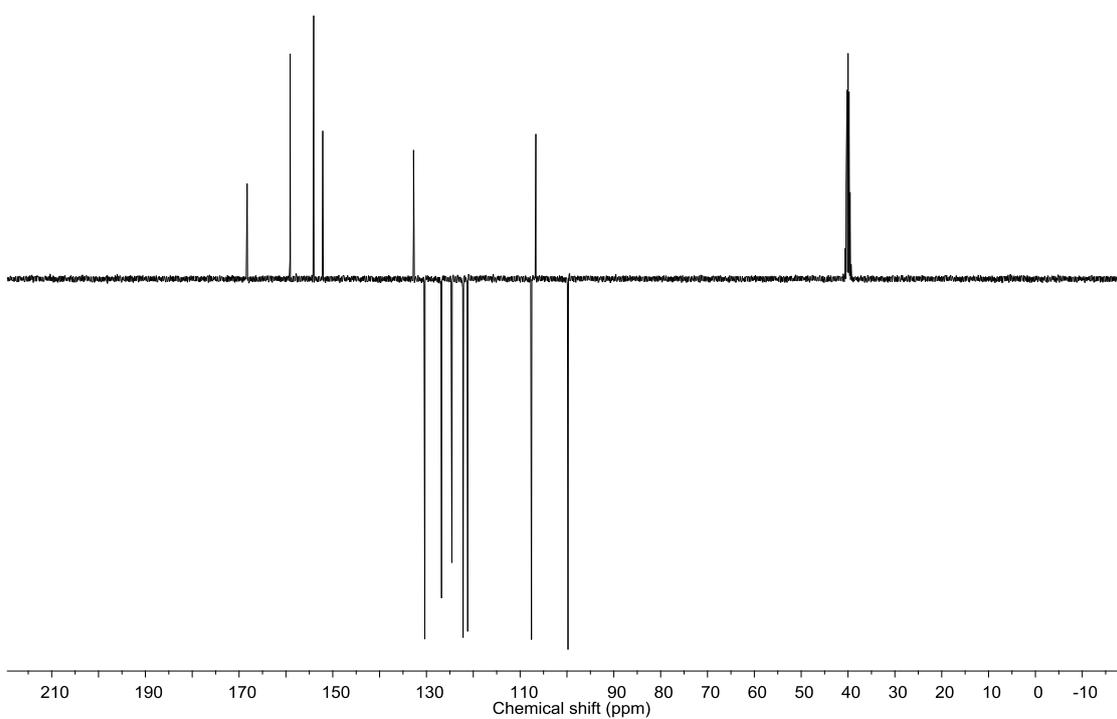
**Figura A5.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz) do composto **31** em CDCl<sub>3</sub>.



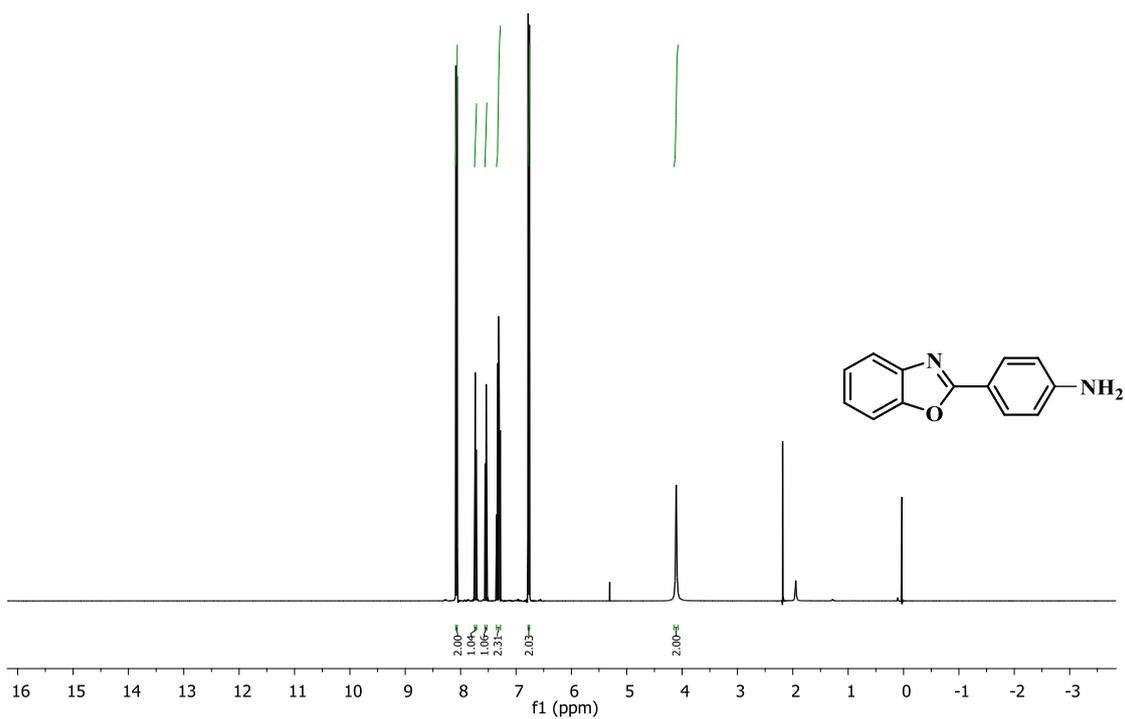
**Figura A6.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (APT) (101 MHz) do composto **31** em CDCl<sub>3</sub>.



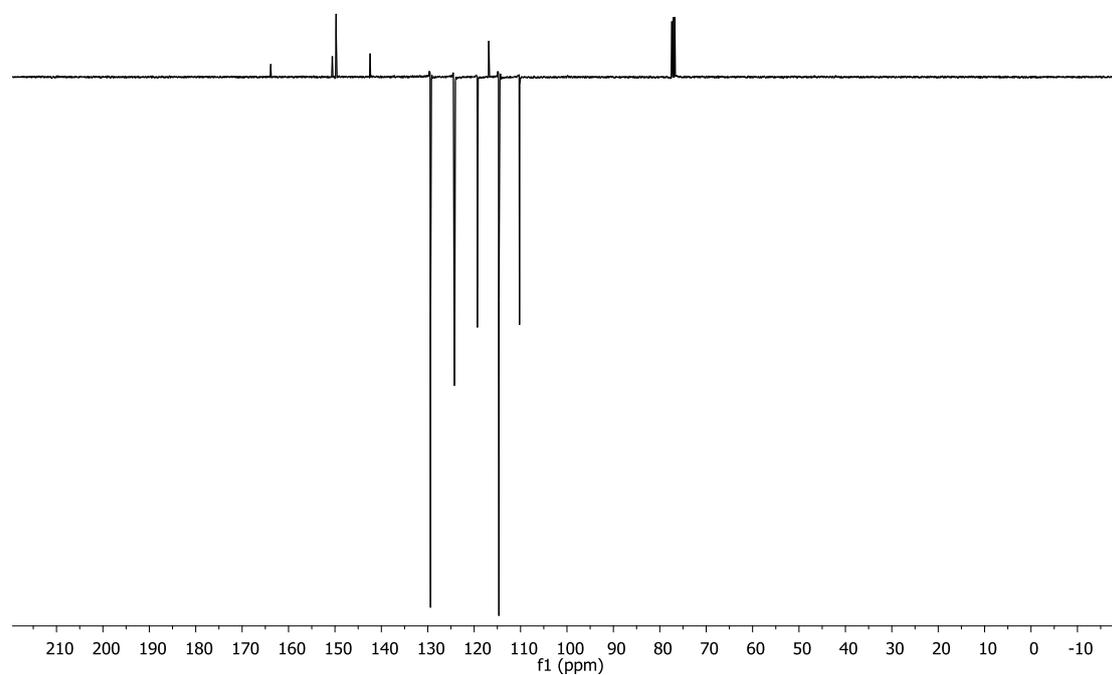
**Figura A7.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do composto **32** em  $\text{CDCl}_3$ .



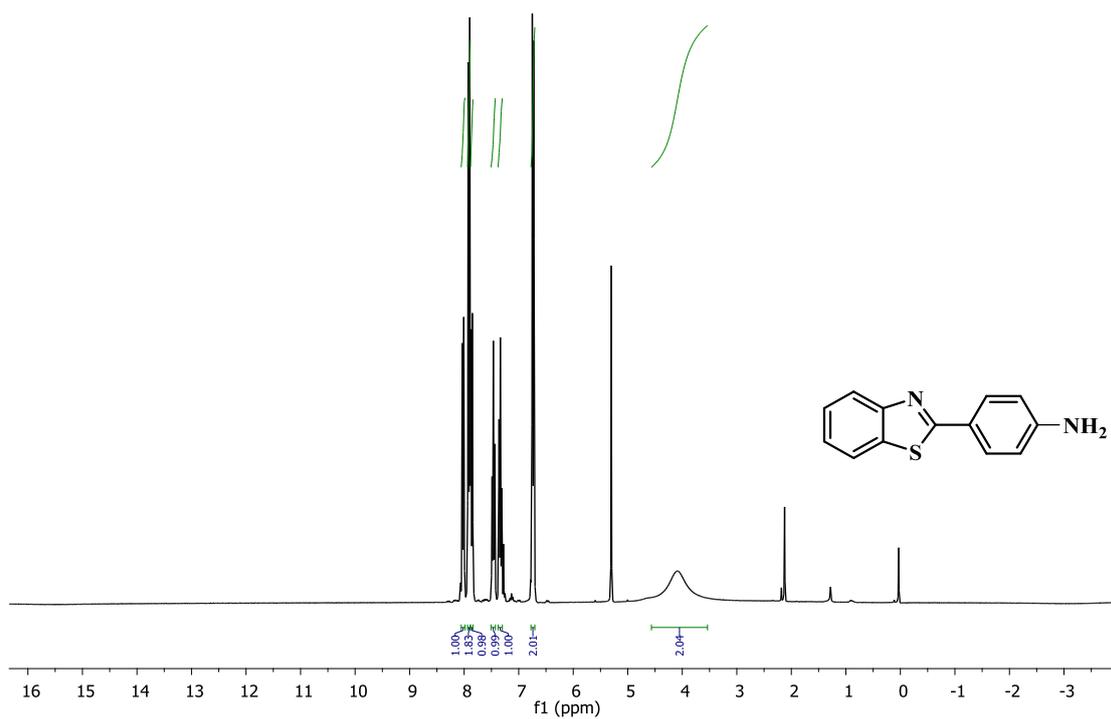
**Figura A8.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do composto **32** em  $\text{CDCl}_3$ .



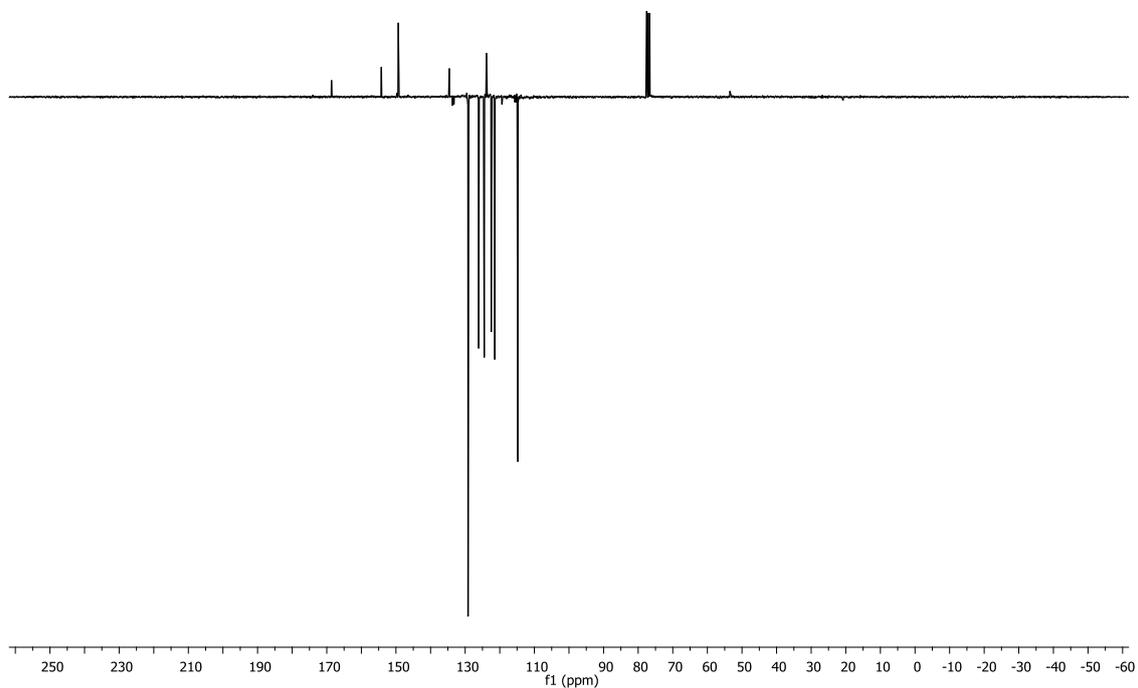
**Figura A9.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do composto **34** em  $\text{CDCl}_3$ .



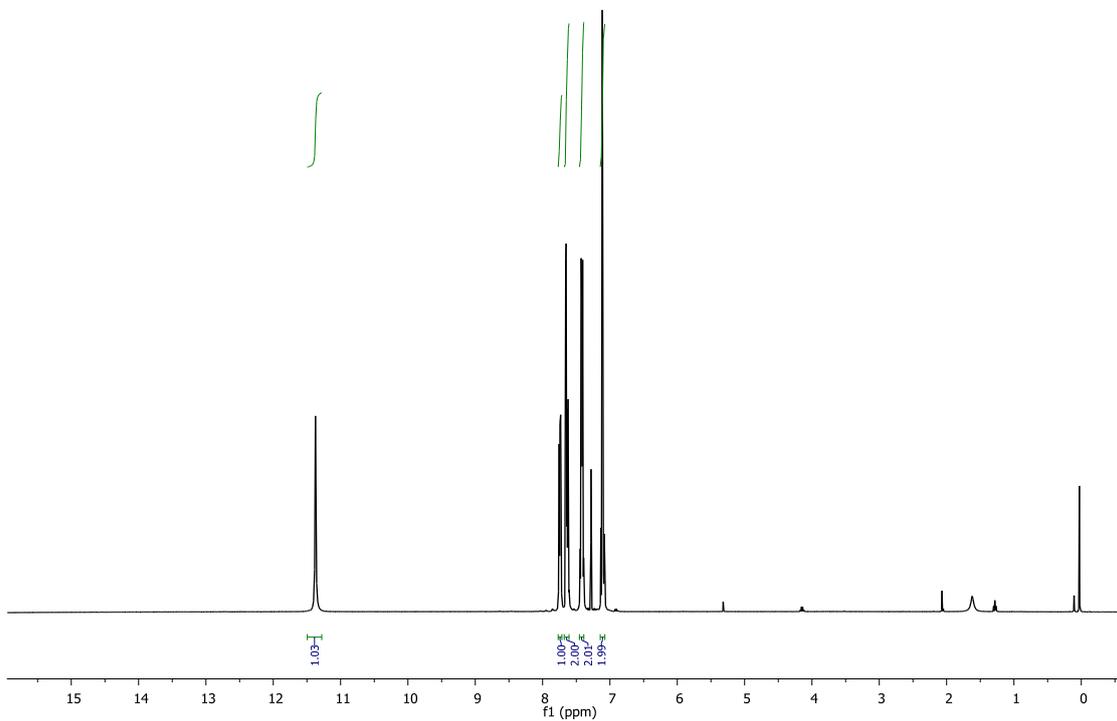
**Figura A10.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do composto **34** em  $\text{CDCl}_3$ .



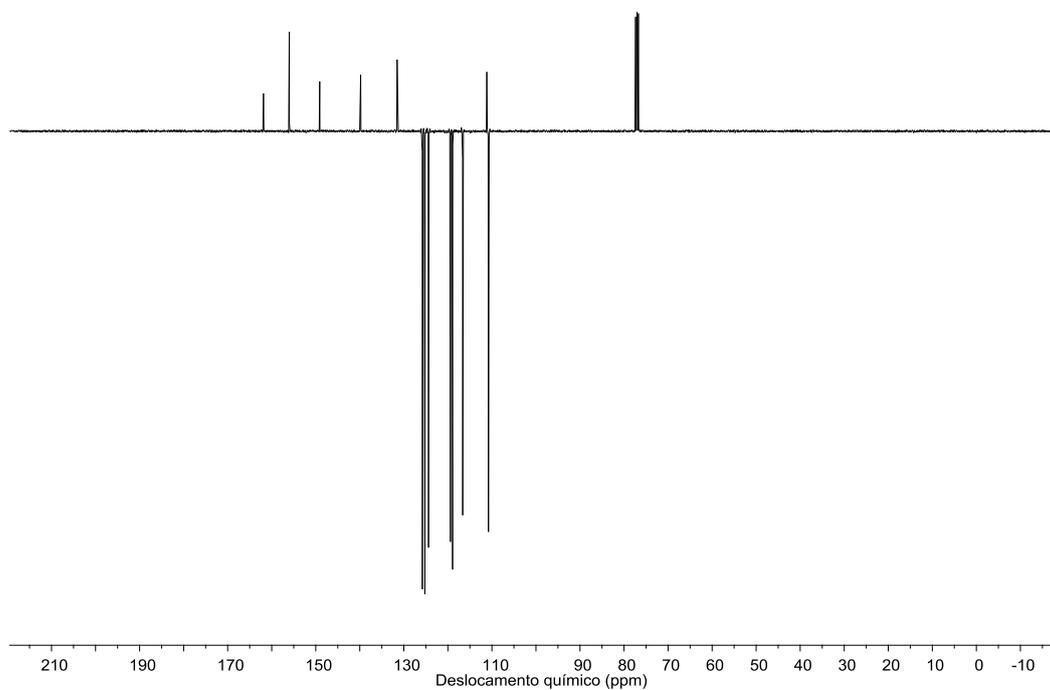
**Figura A11.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do composto **35** em  $\text{CDCl}_3$ .



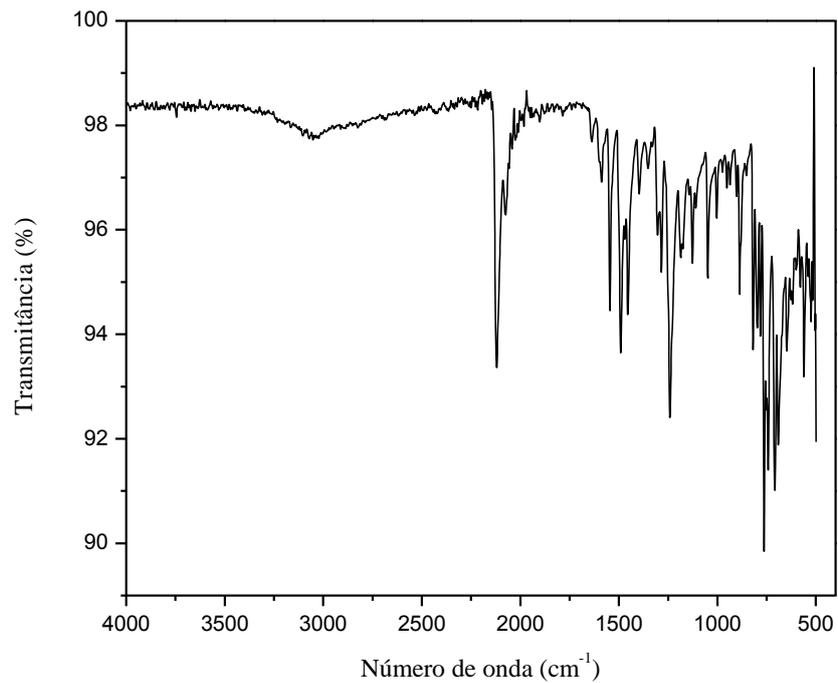
**Figura A12.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (75 MHz) do composto **35** em  $\text{CDCl}_3$ .



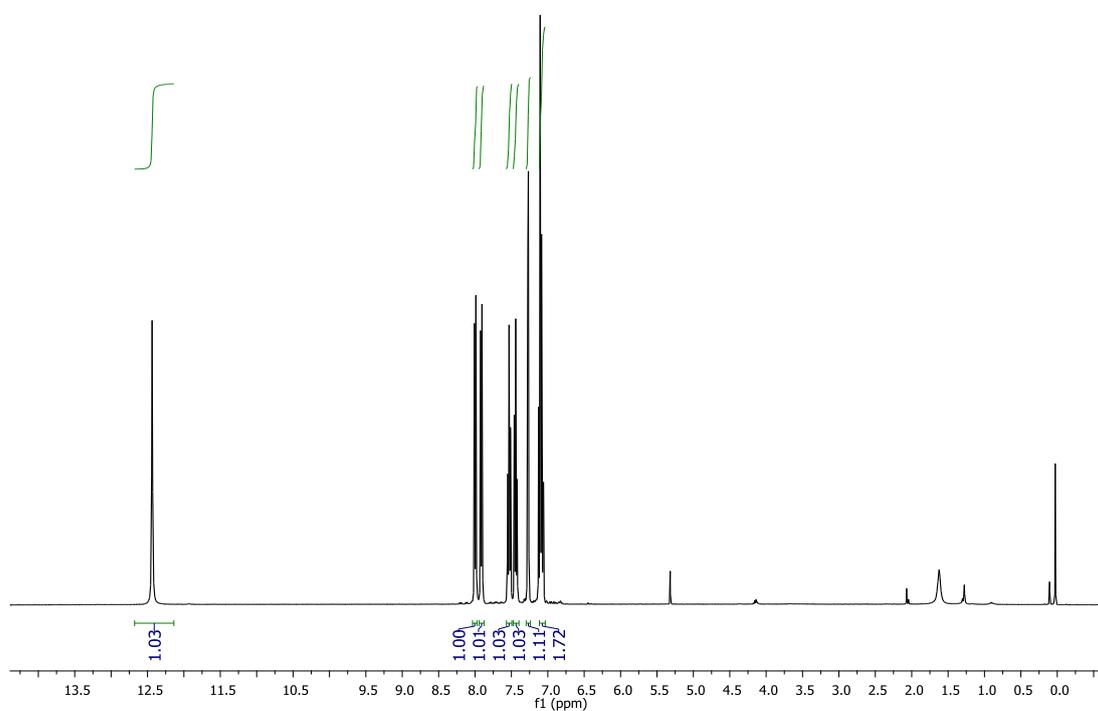
**Figura A13.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **36** em  $\text{CDCl}_3$ .



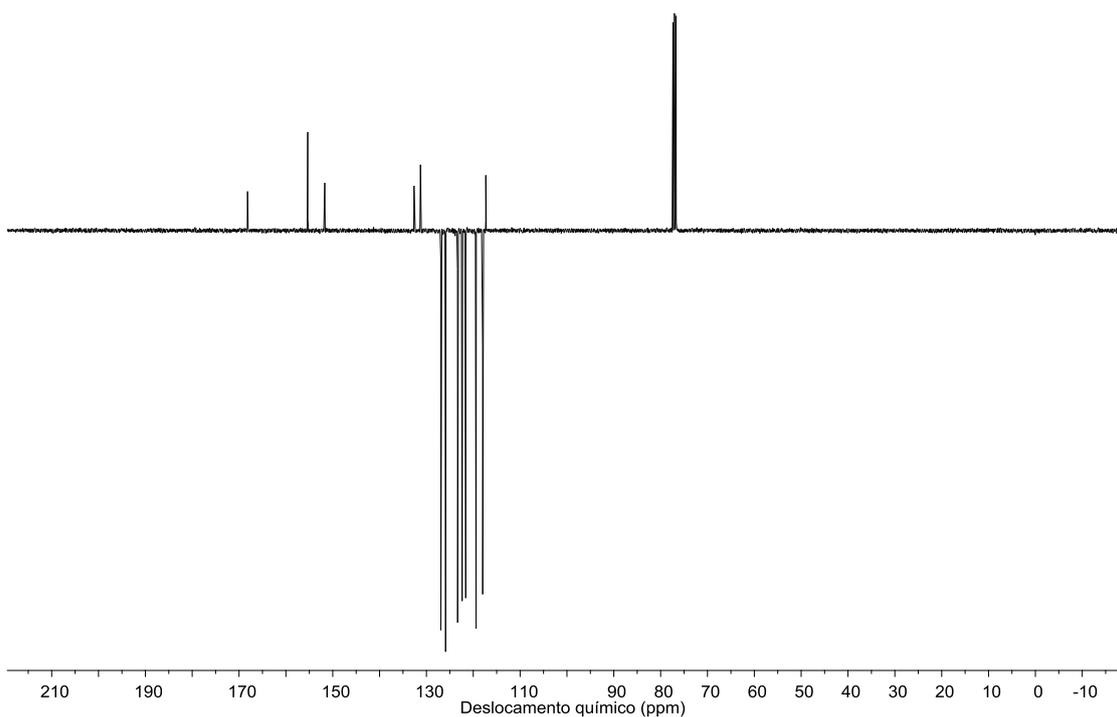
**Figura A14.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) da azida **36** em  $\text{CDCl}_3$ .



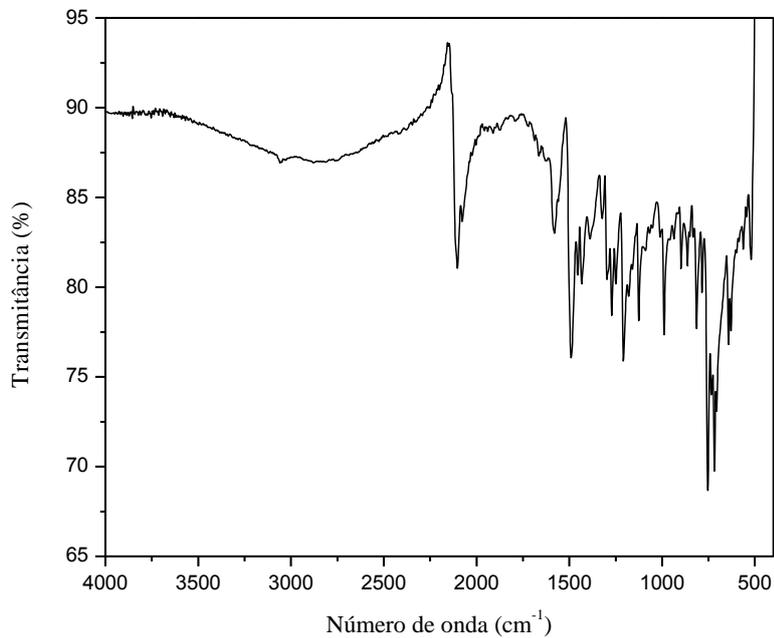
**Figura A15.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **36**.



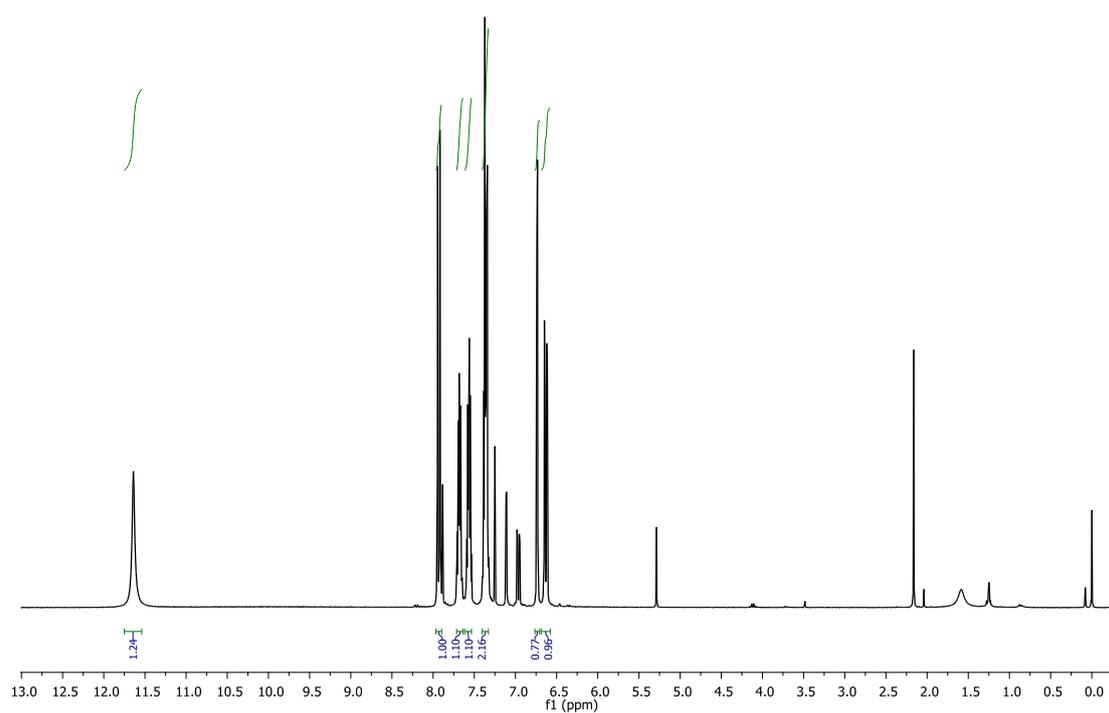
**Figura A16.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **37** em  $\text{CDCl}_3$ .



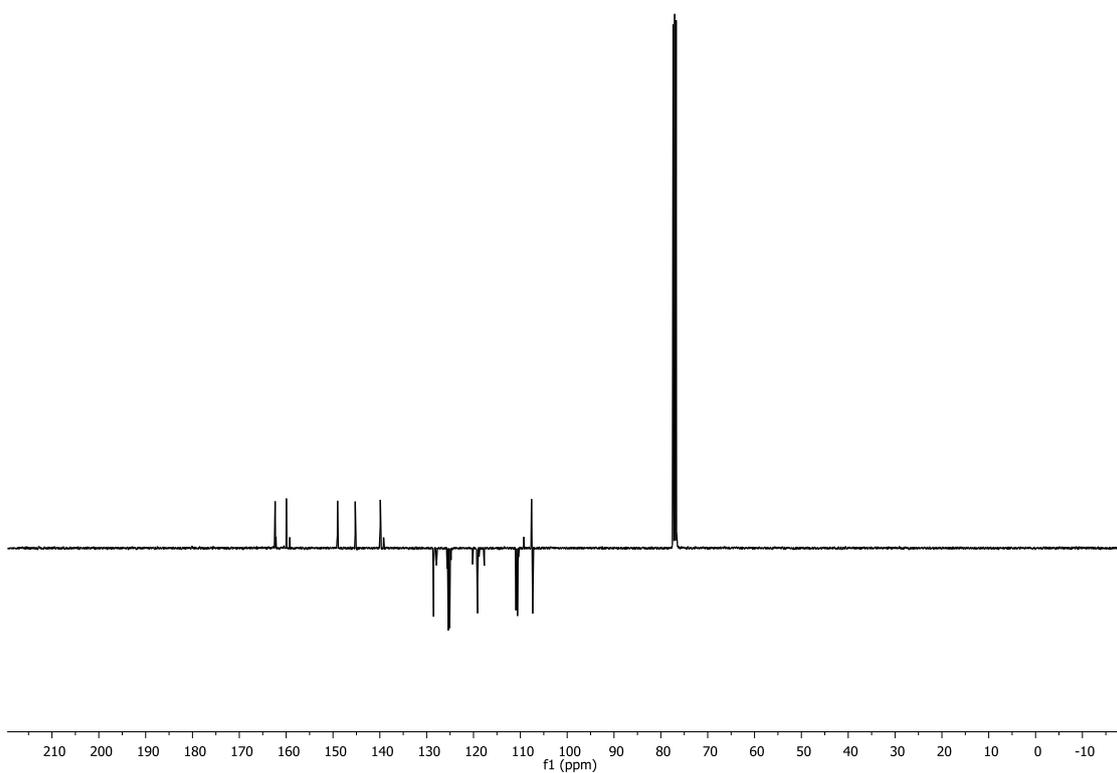
**Figura A17.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) da azida **37** em  $\text{CDCl}_3$ .



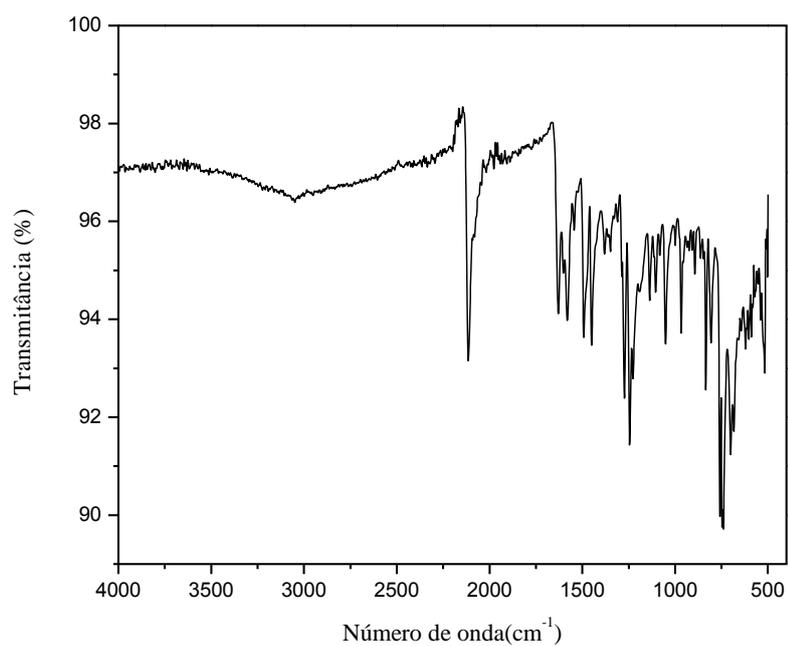
**Figura A18.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **37**.



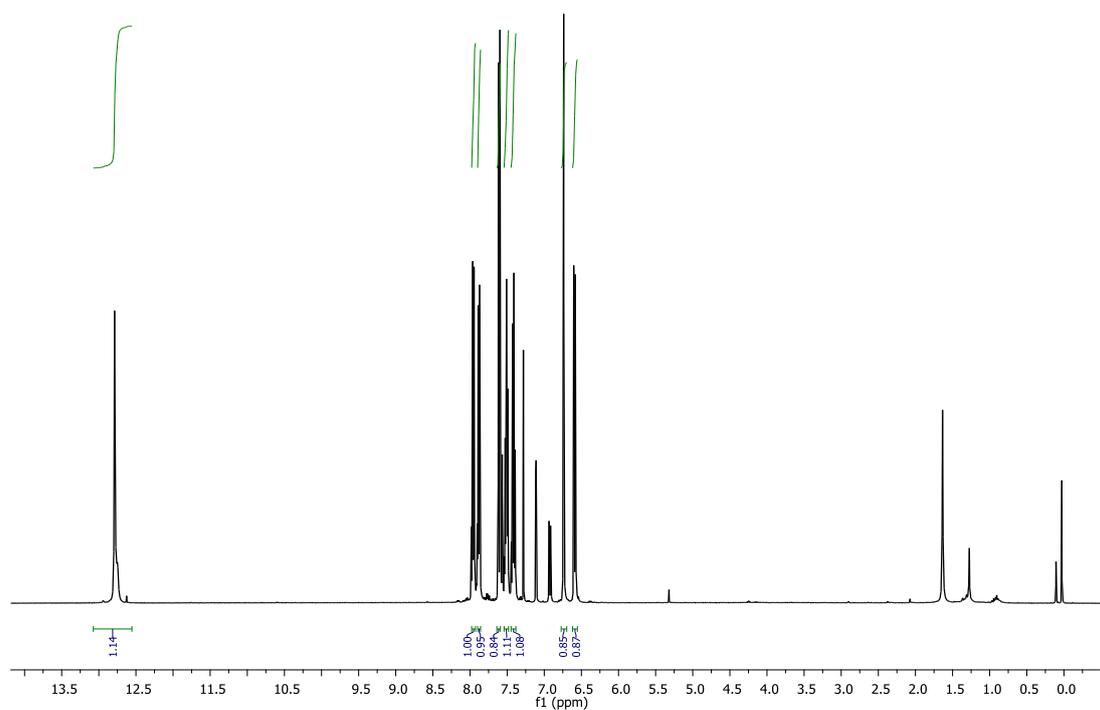
**Figura A19.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **38** em  $\text{CDCl}_3$ .



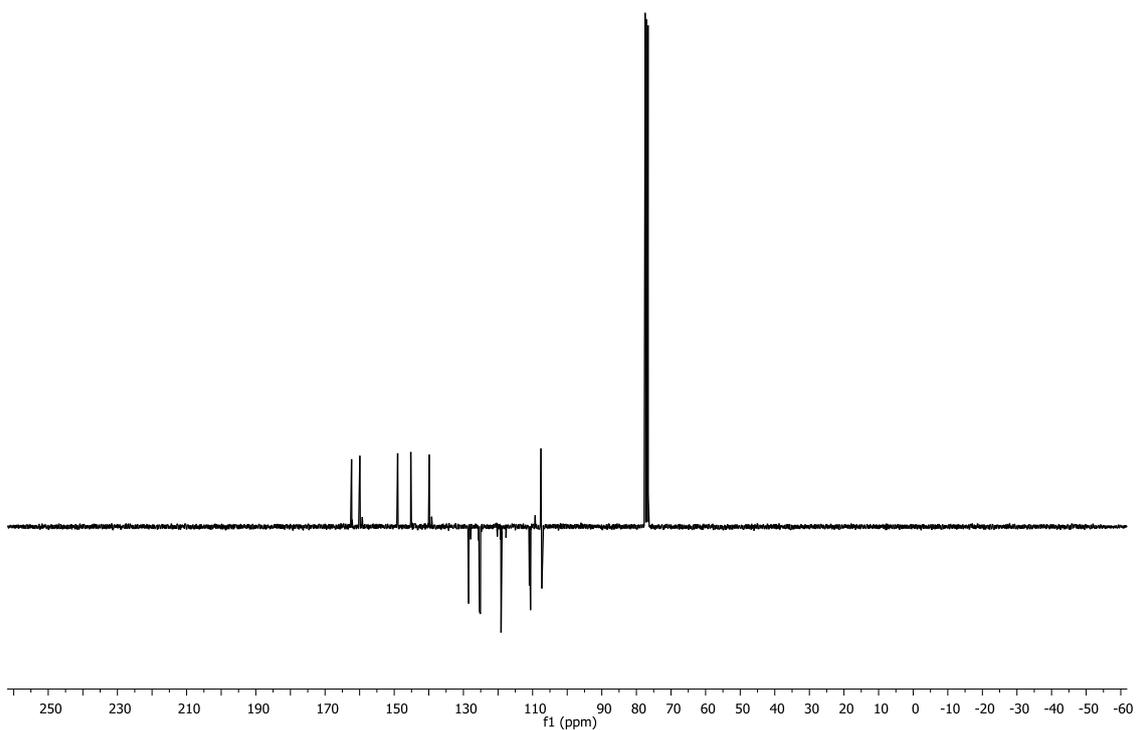
**Figura A20.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) da azida **38** em  $\text{CDCl}_3$ .



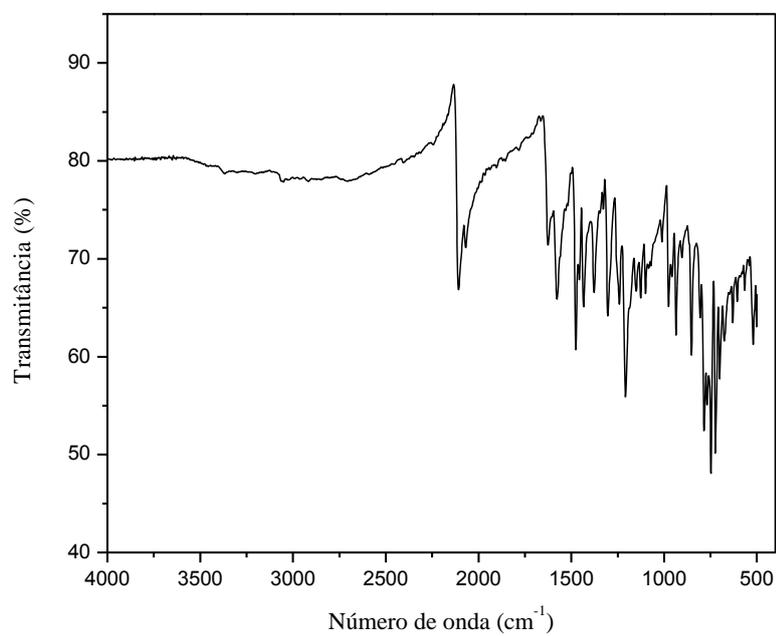
**Figura A21.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **38**.



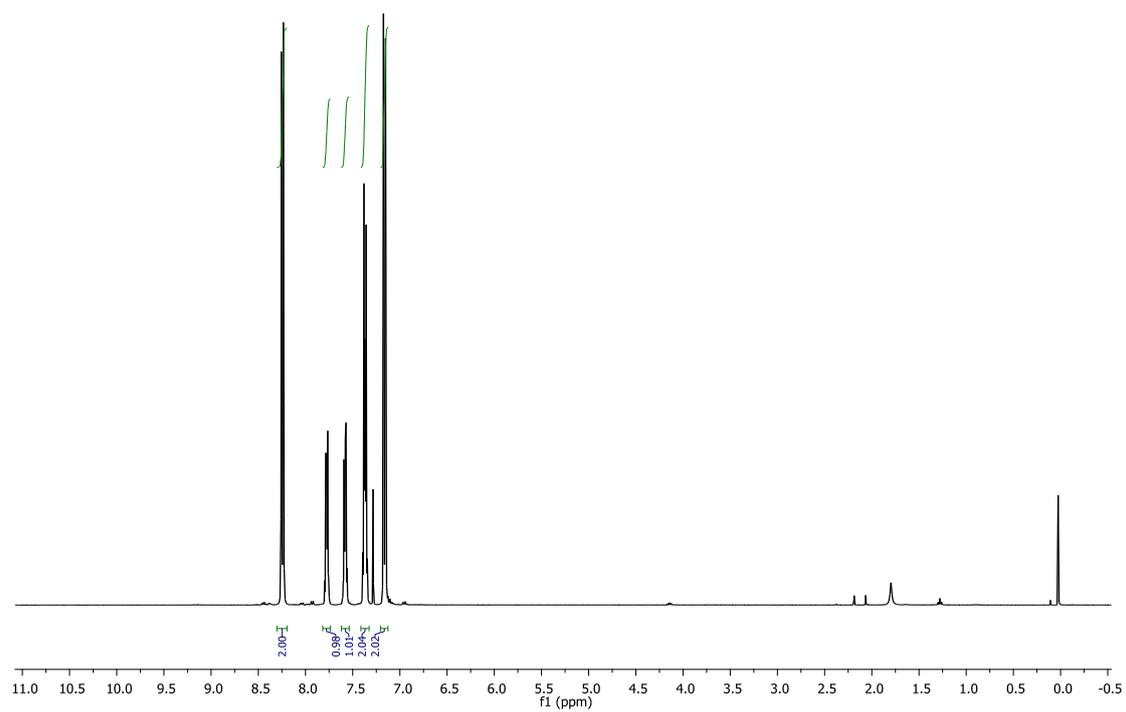
**Figura A22.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **39** em  $\text{CDCl}_3$ .



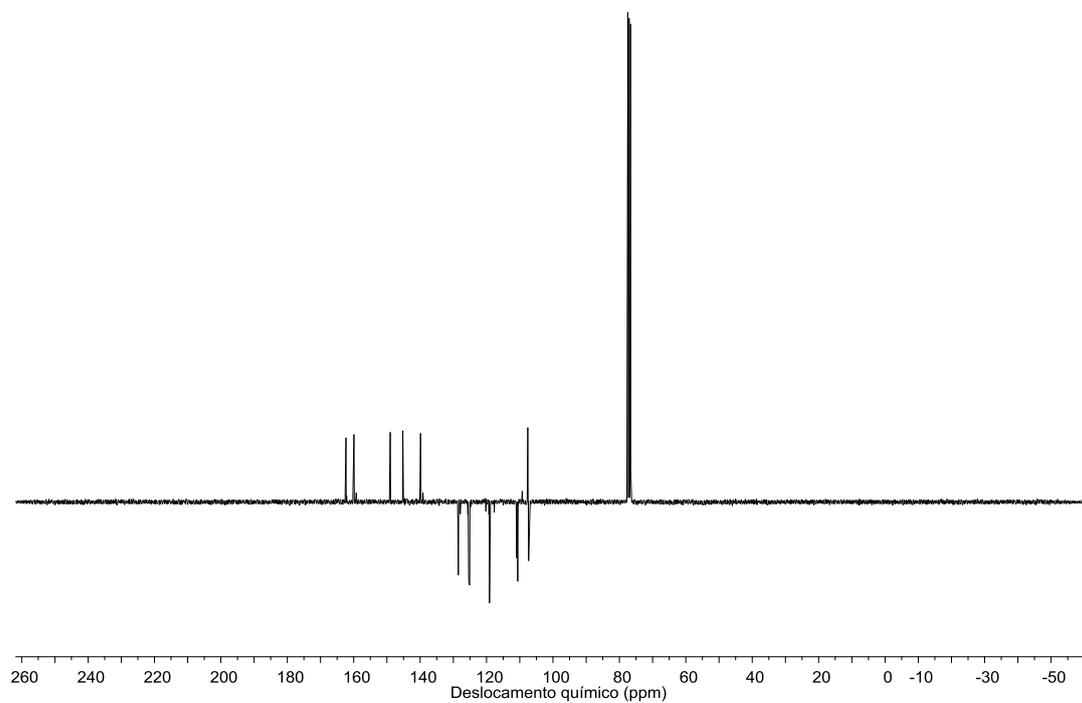
**Figura A23.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (75 MHz) da azida **39** em  $\text{CDCl}_3$ .



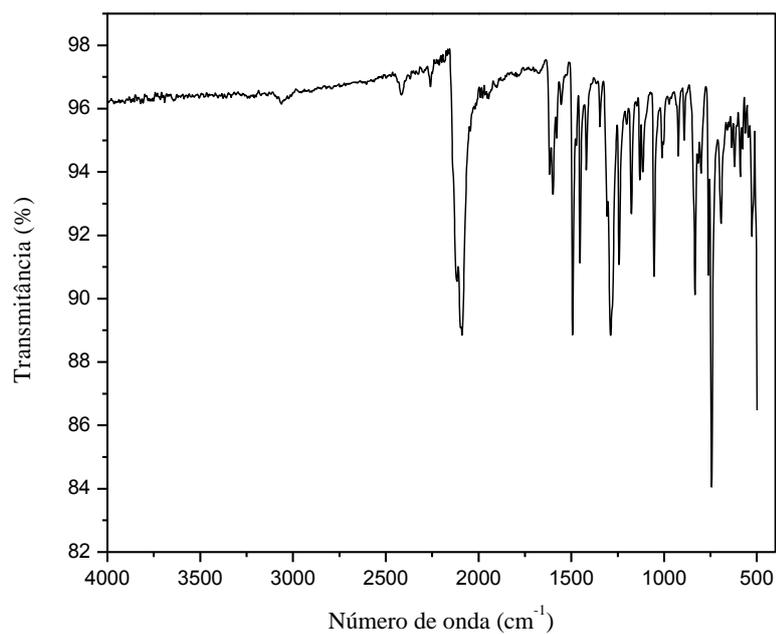
**Figura A24.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **39**.



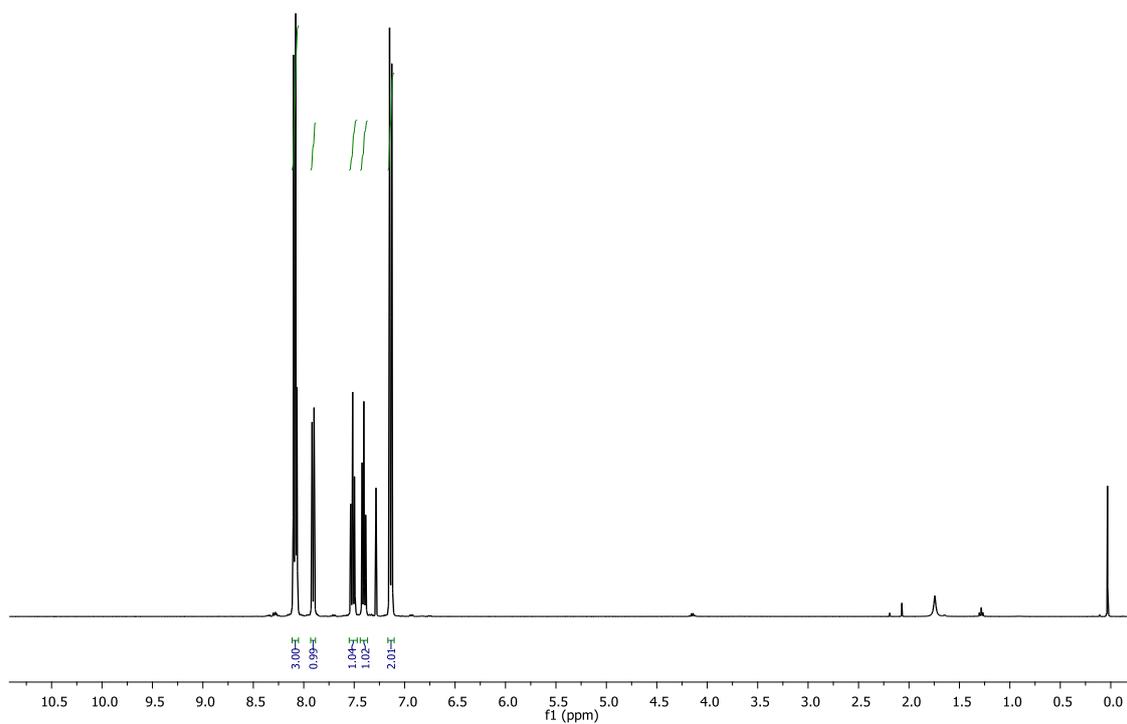
**Figura A25.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **40** em  $\text{CDCl}_3$ .



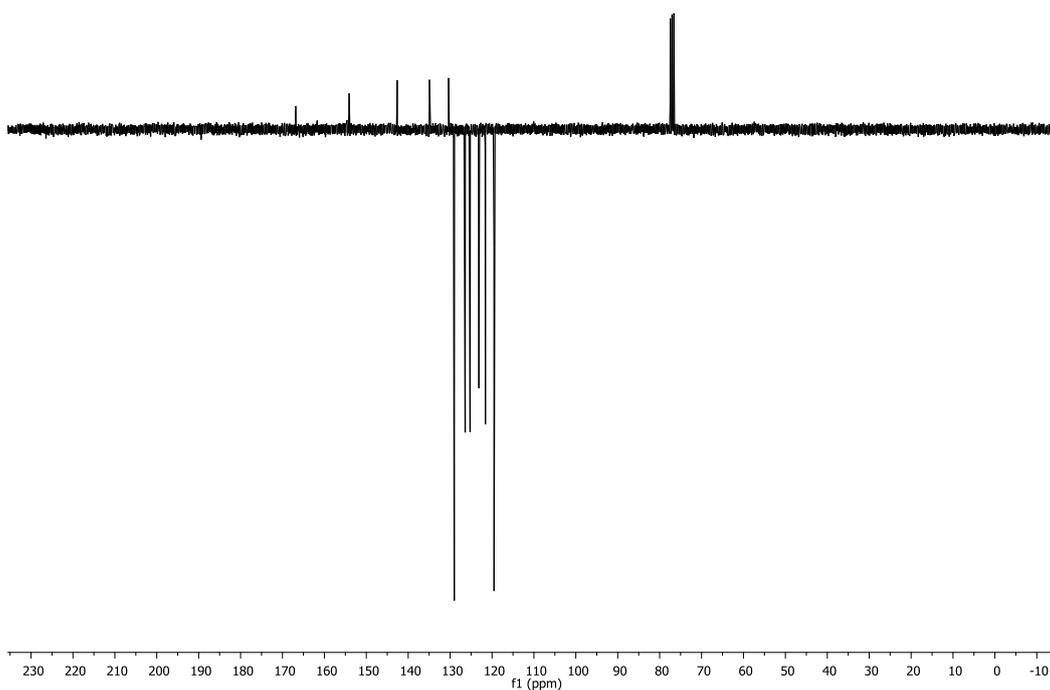
**Figura A26.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) da azida **40** em  $\text{CDCl}_3$ .



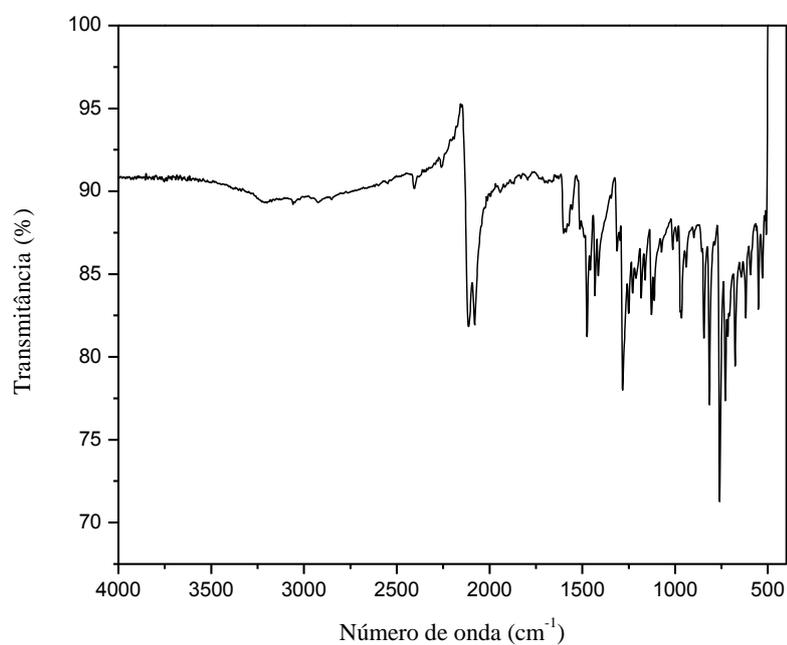
**Figura A27.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **40**.



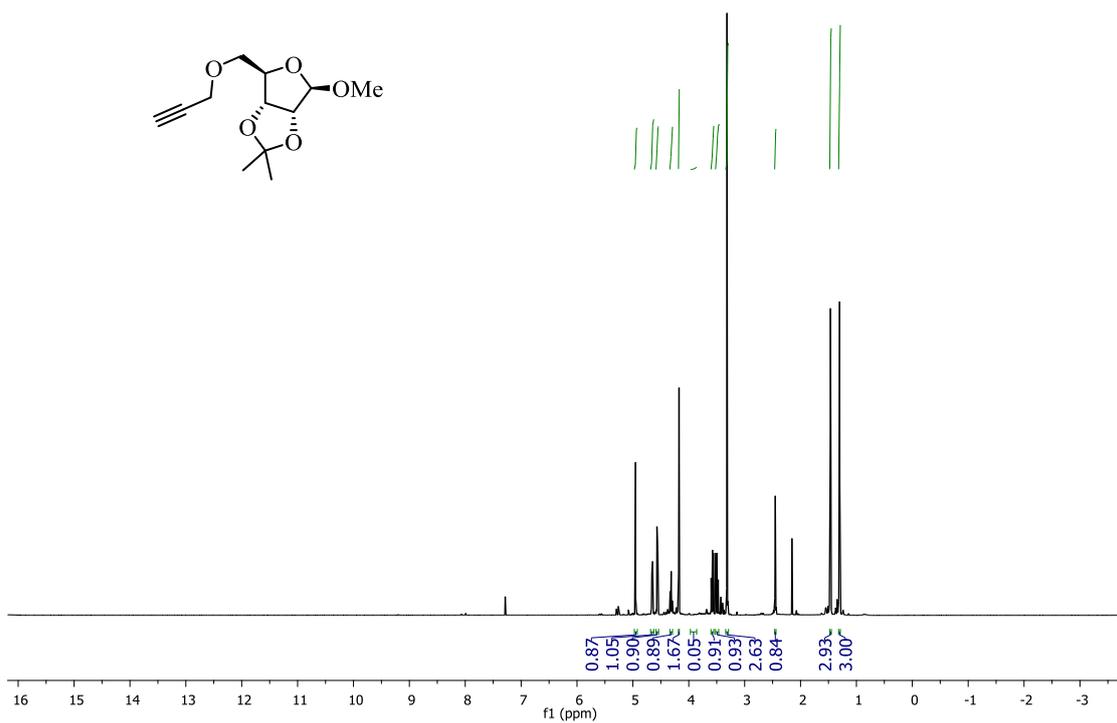
**Figura A28.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) da azida **41** em  $\text{CDCl}_3$ .



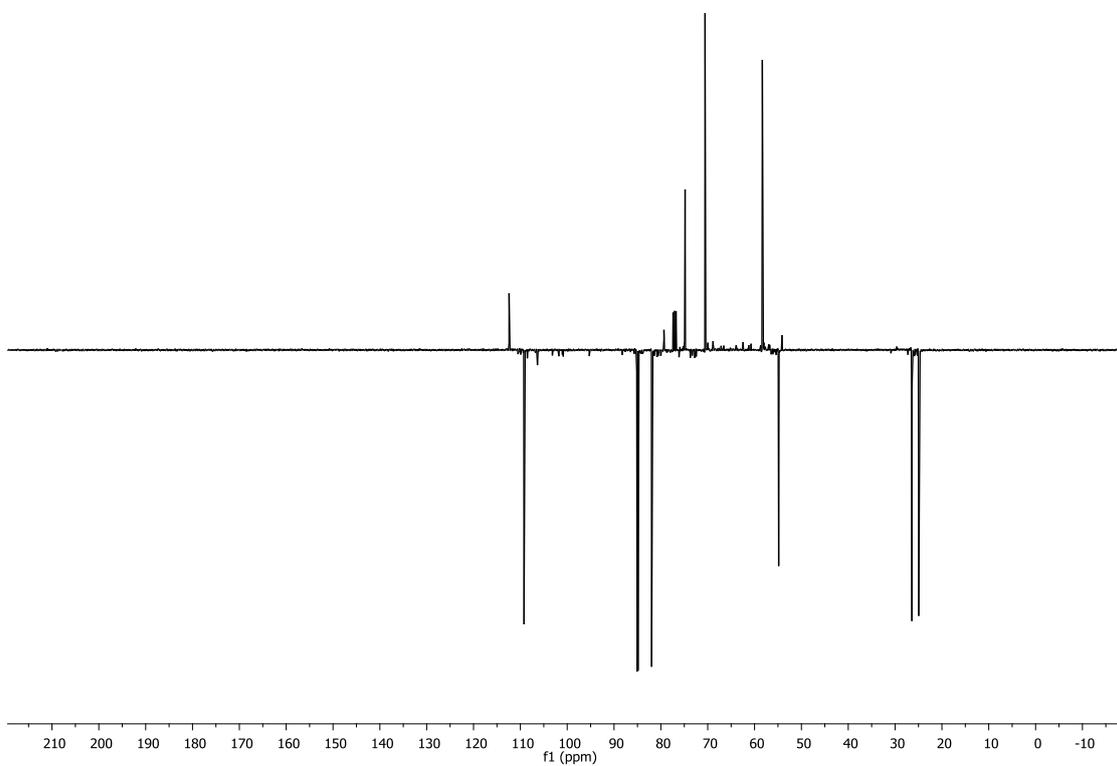
**Figura A29.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) da azida **41** em  $\text{CDCl}_3$ .



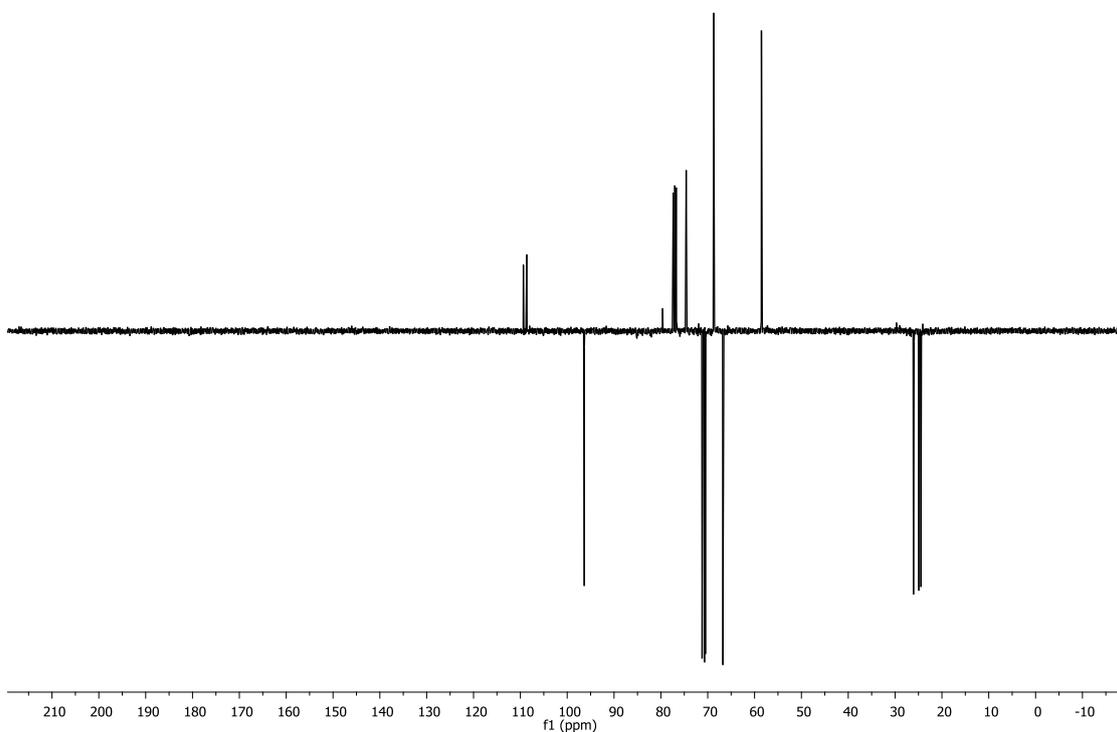
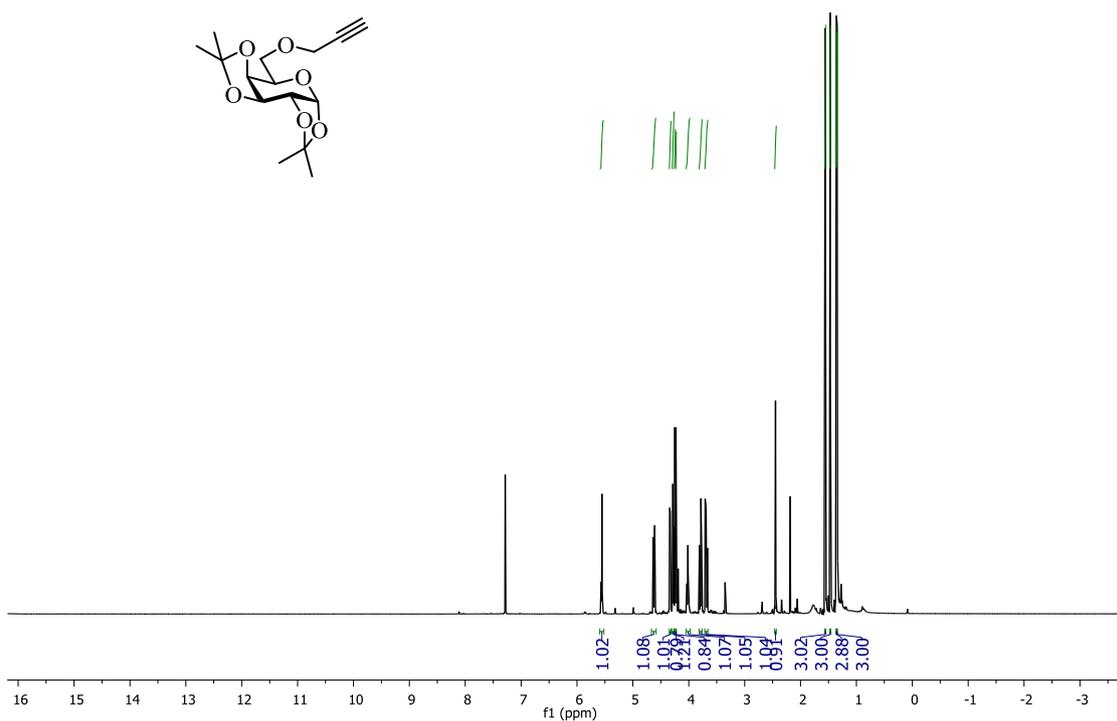
**Figura A30.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) da azida **41**.

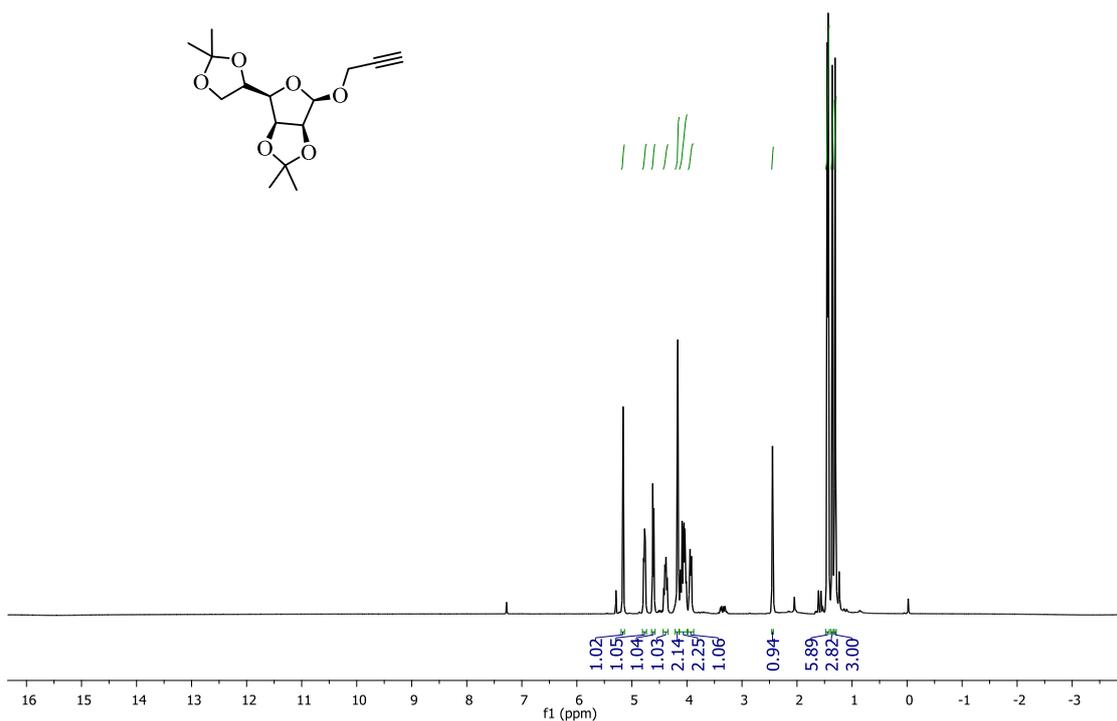


**Figura A31.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do alcino **89** em  $\text{CDCl}_3$ .

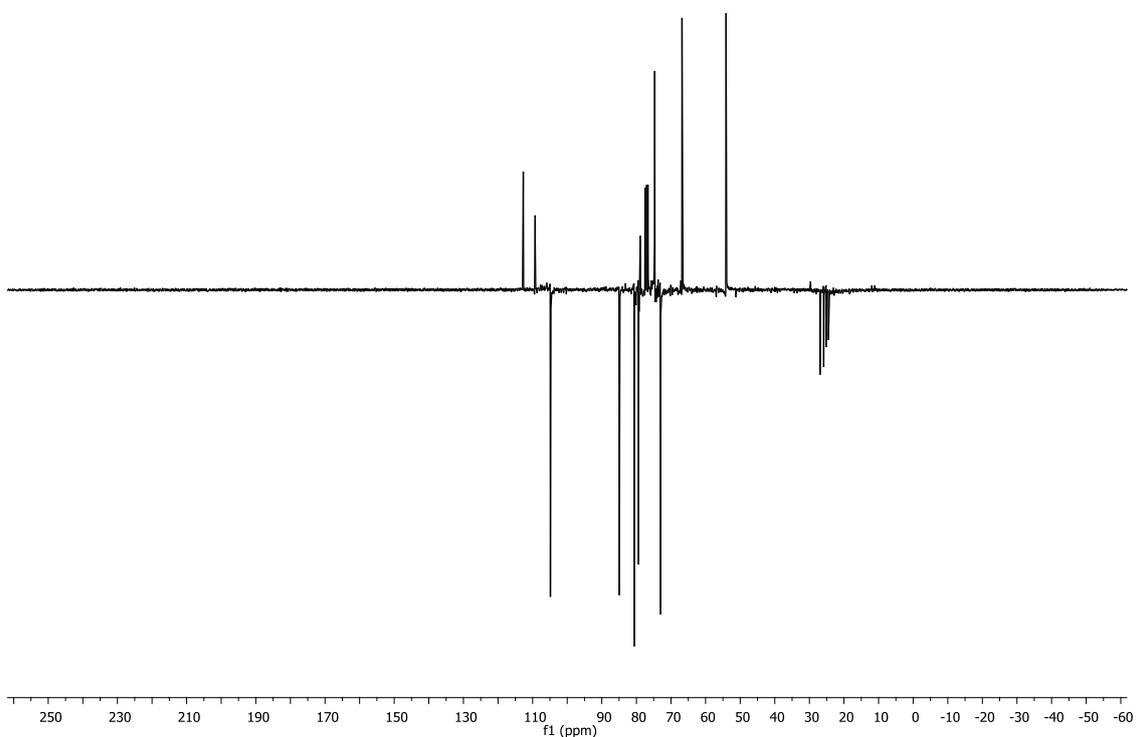


**Figura A32.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do alcino **89** em  $\text{CDCl}_3$ .





**Figura A35.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz) do alcino **91** em CDCl<sub>3</sub>.



**Figura A36.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (APT) (75 MHz) do alcino **91** em CDCl<sub>3</sub>.

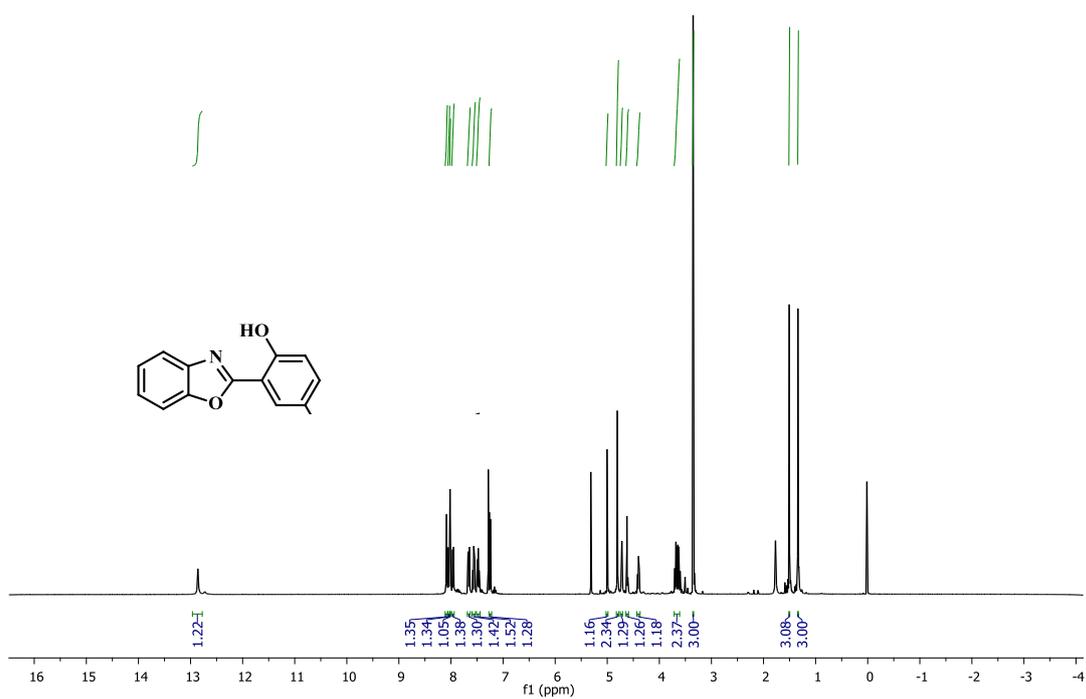


Figura A37. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **96** em  $\text{CDCl}_3$ .

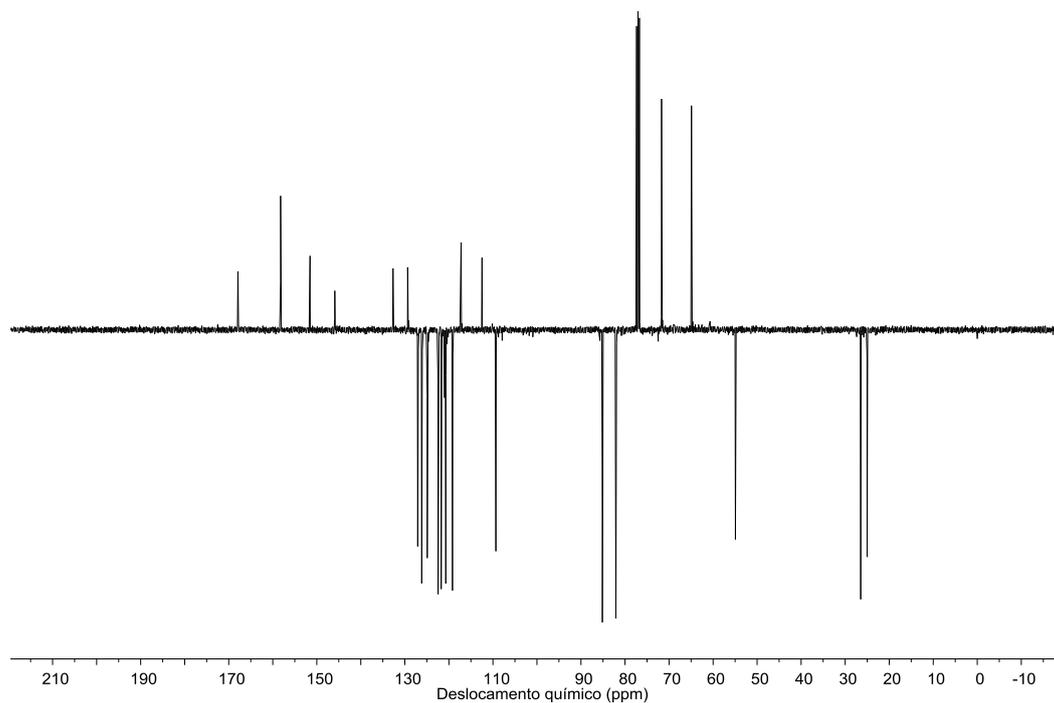
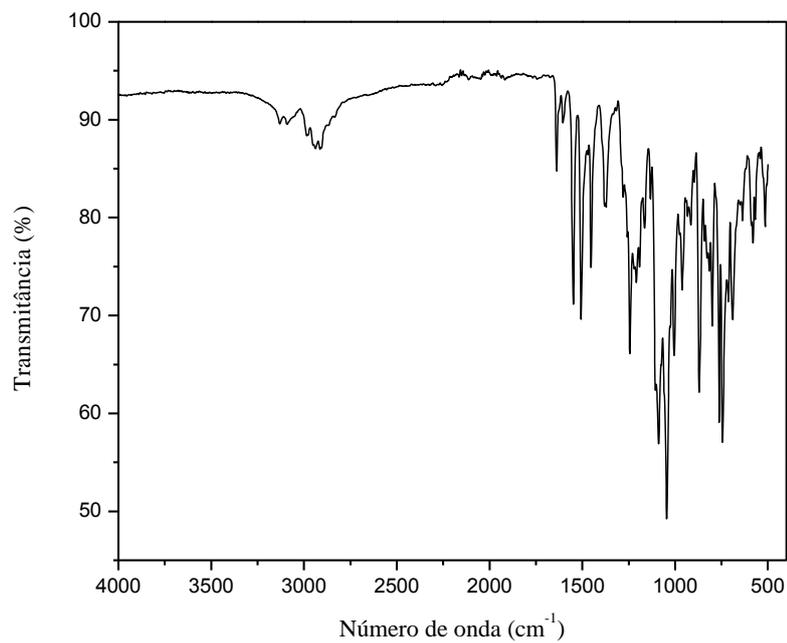
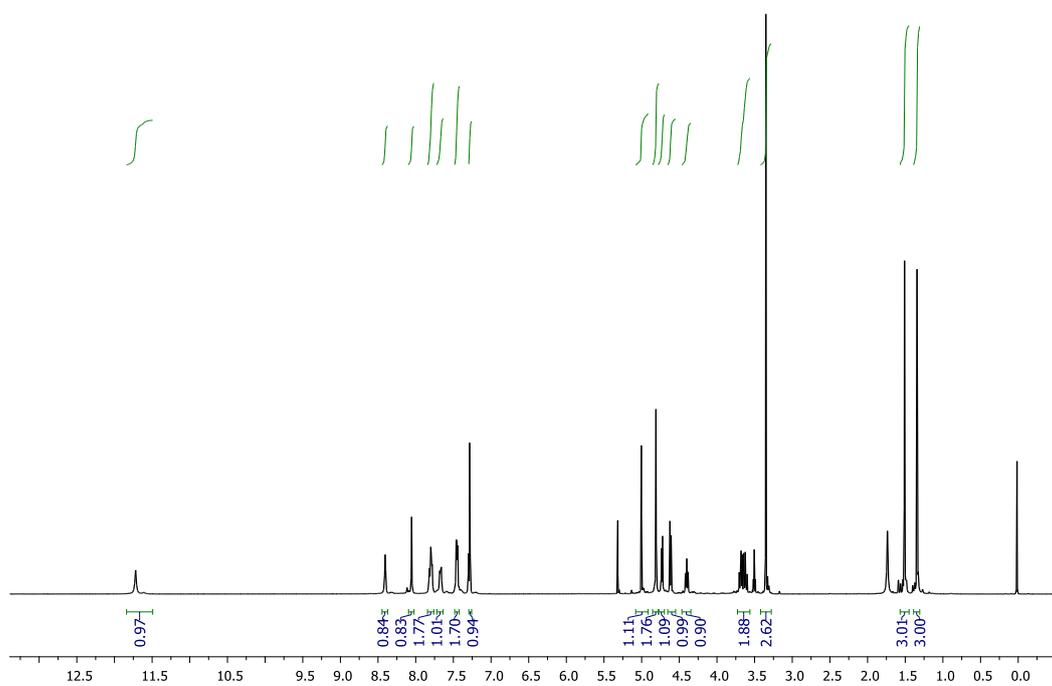


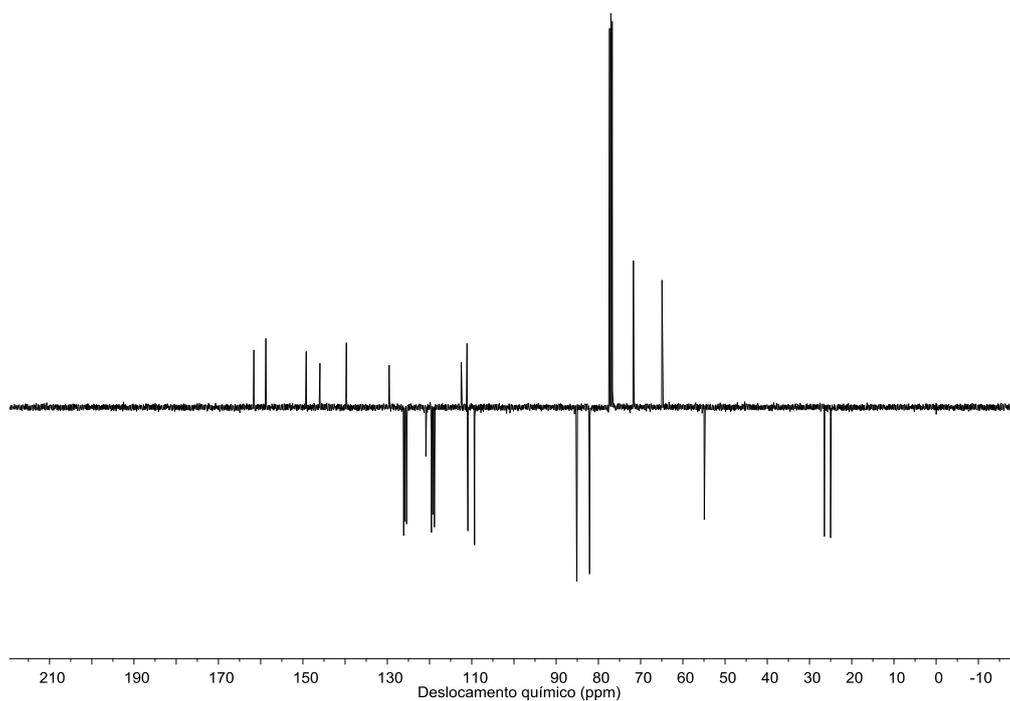
Figura A38. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **96** em  $\text{CDCl}_3$ .



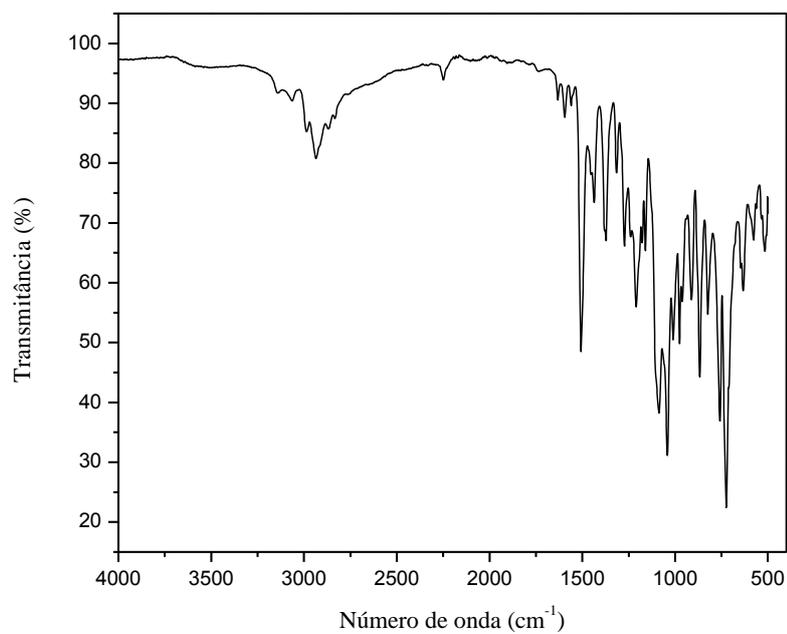
**Figura A39.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **96**.



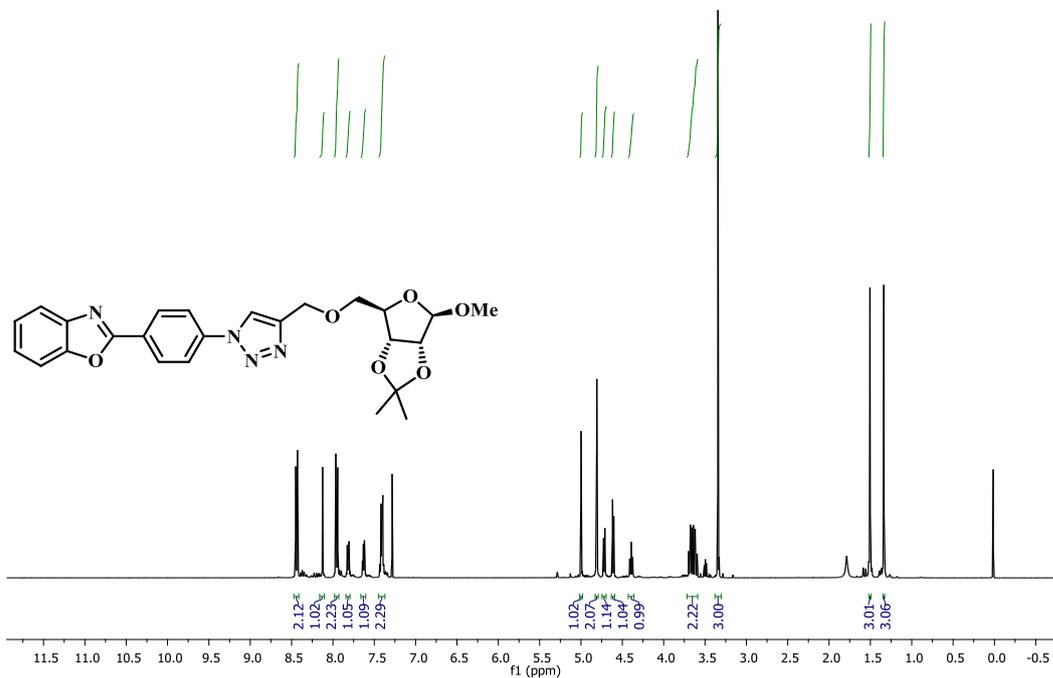
**Figura A40.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **97** em  $\text{CDCl}_3$ .



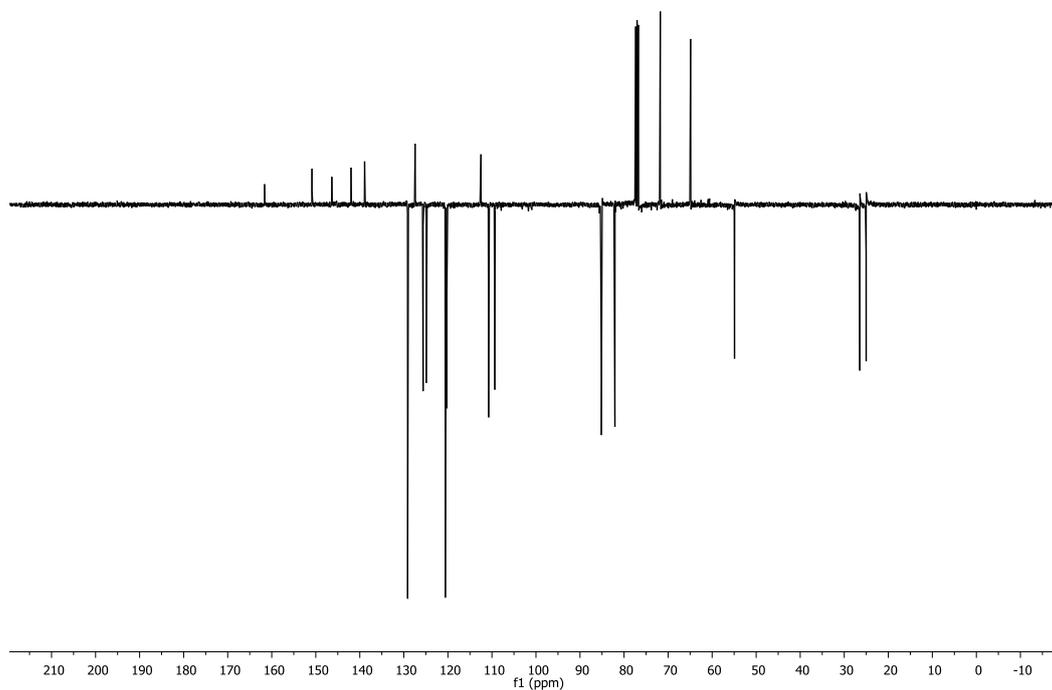
**Figura A41.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **97** em  $\text{CDCl}_3$ .



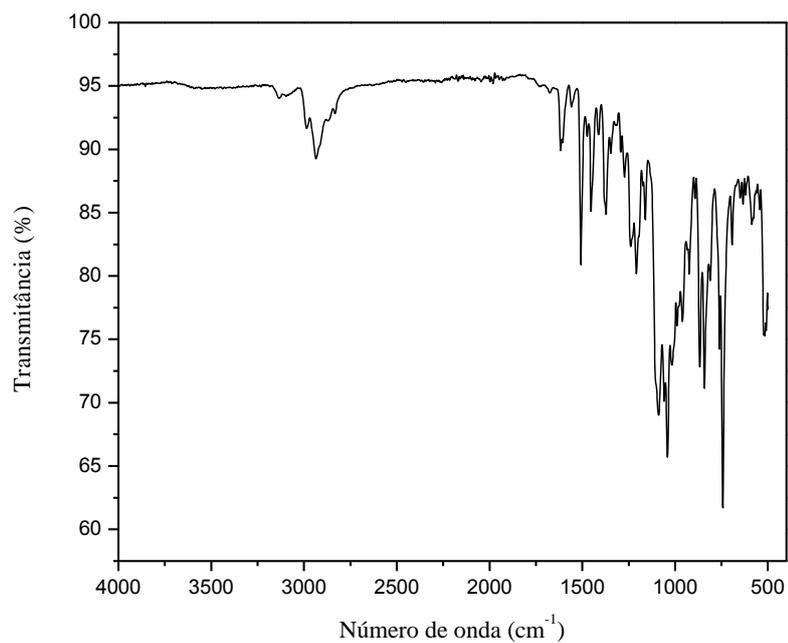
**Figura A42.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **97**.



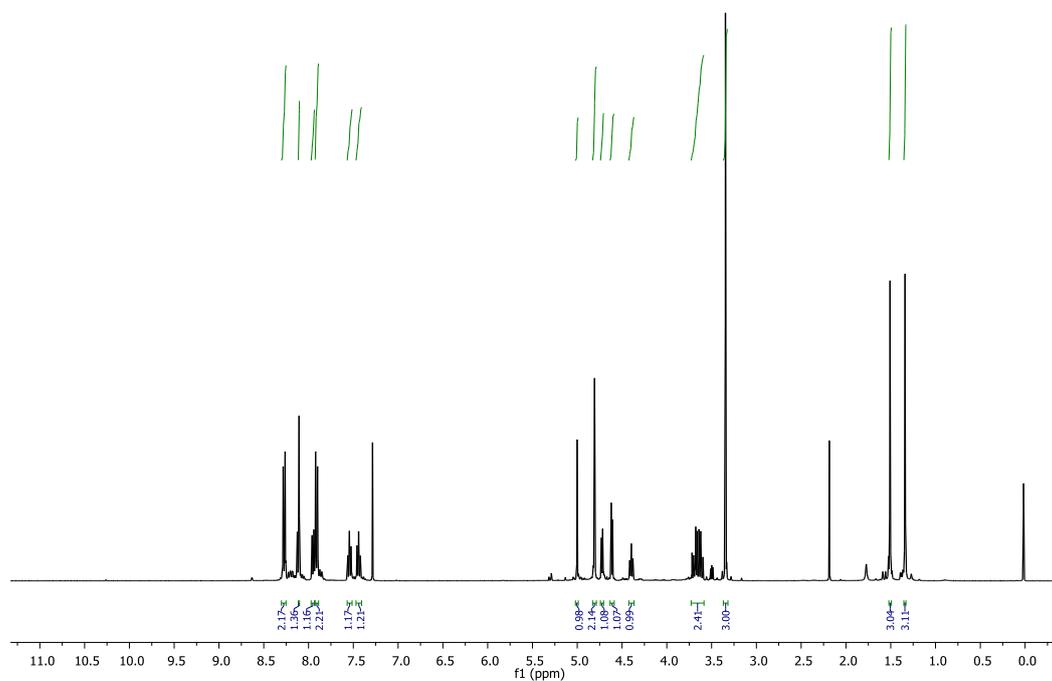
**Figura A43.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **98** em  $\text{CDCl}_3$ .



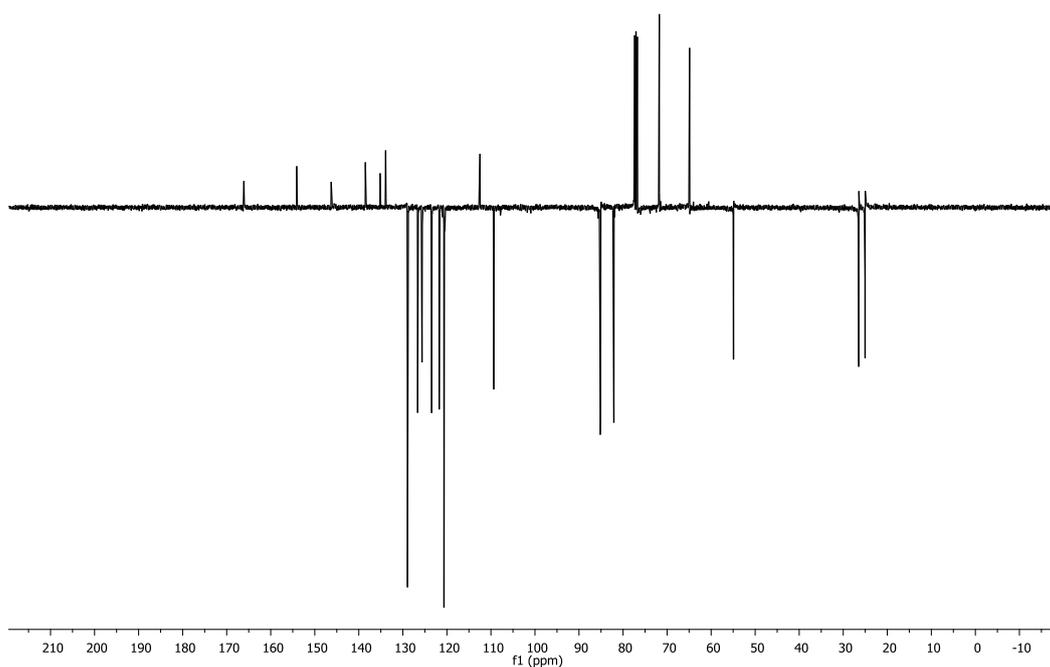
**Figura A44.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **98** em  $\text{CDCl}_3$ .



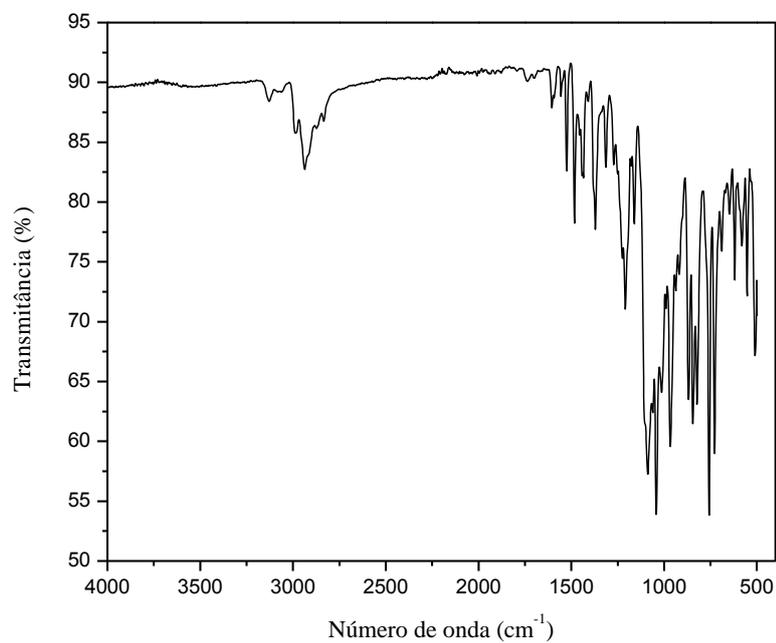
**Figura A45.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **98**.



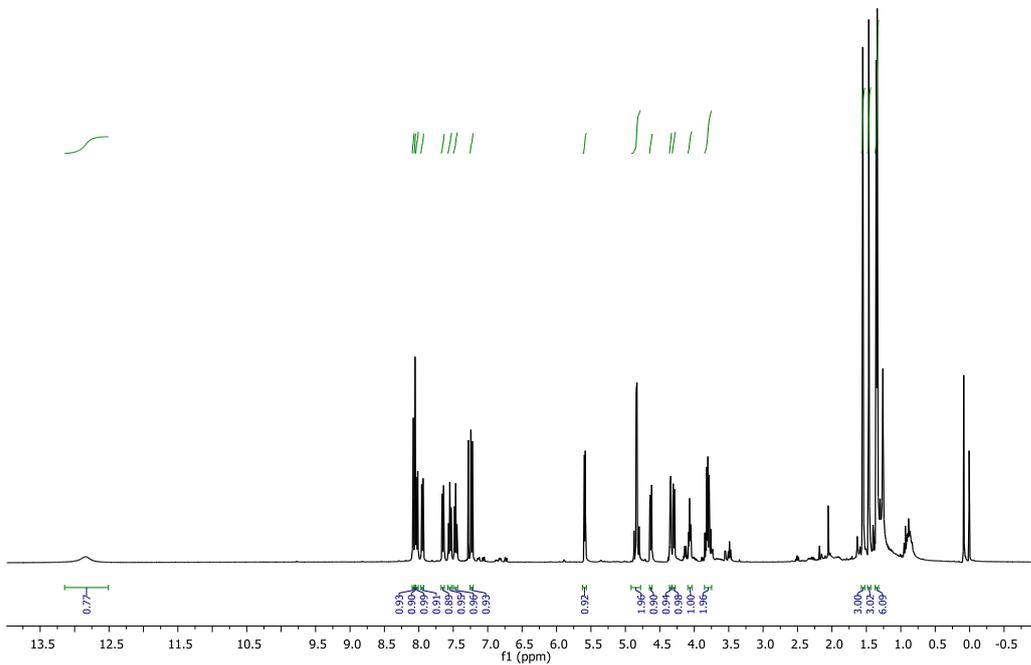
**Figura A46.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **99** em  $\text{CDCl}_3$ .



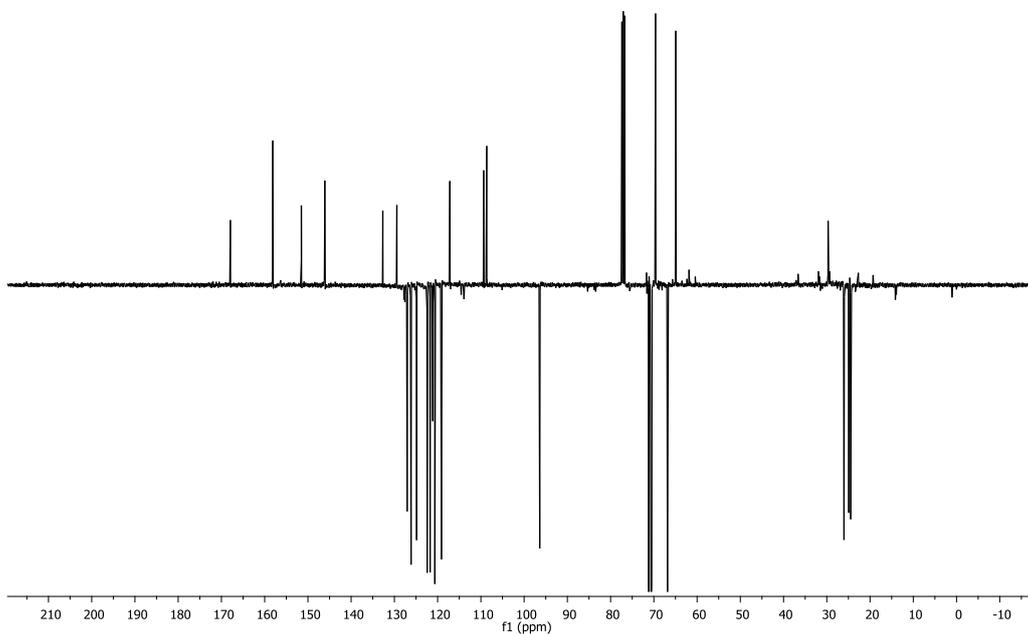
**Figura A47.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **99** em CDCl<sub>3</sub>.



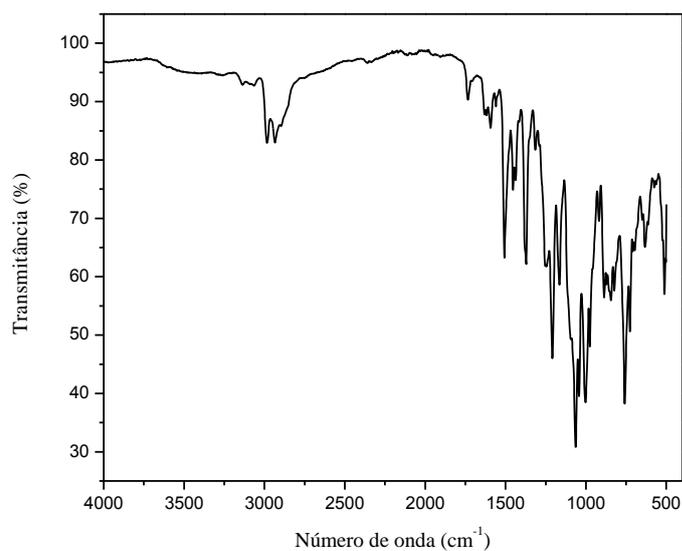
**Figura A48.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **99**.



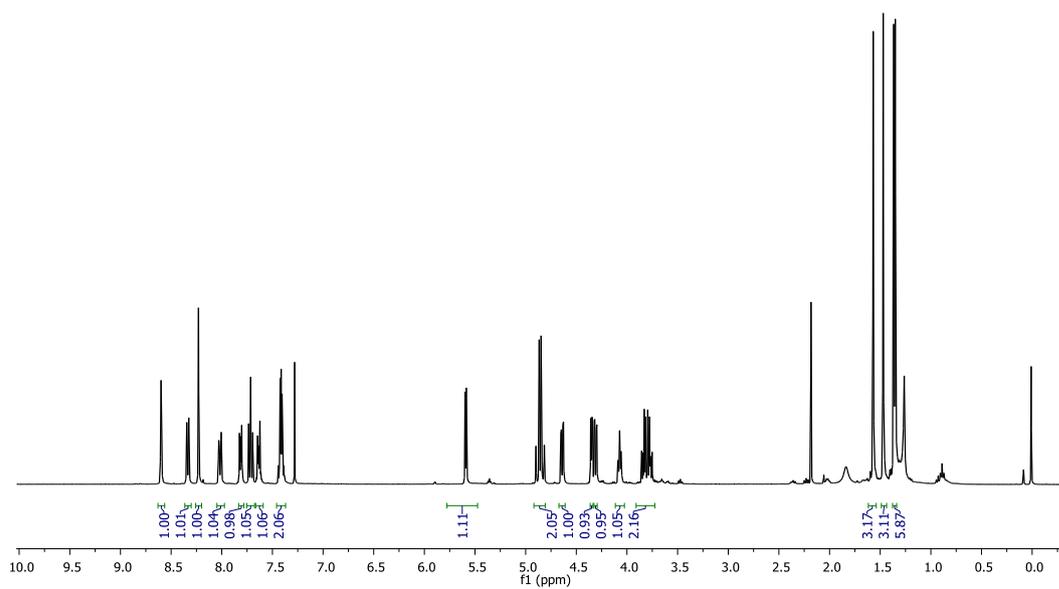
**Figura A49.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **100** em  $\text{CDCl}_3$ .



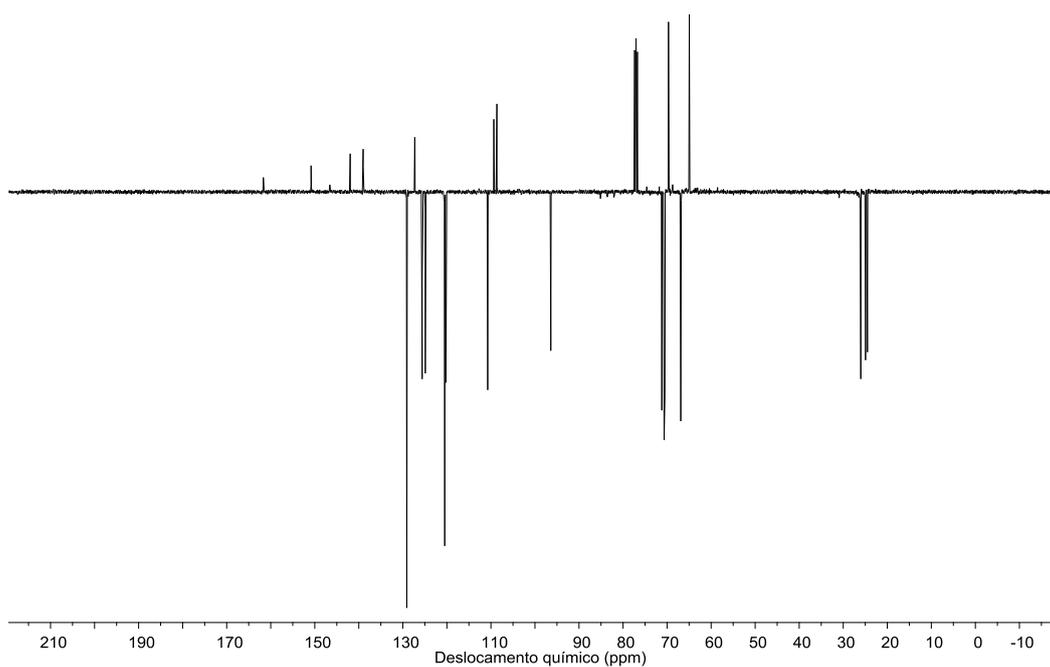
**Figura A50.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **100** em  $\text{CDCl}_3$ .



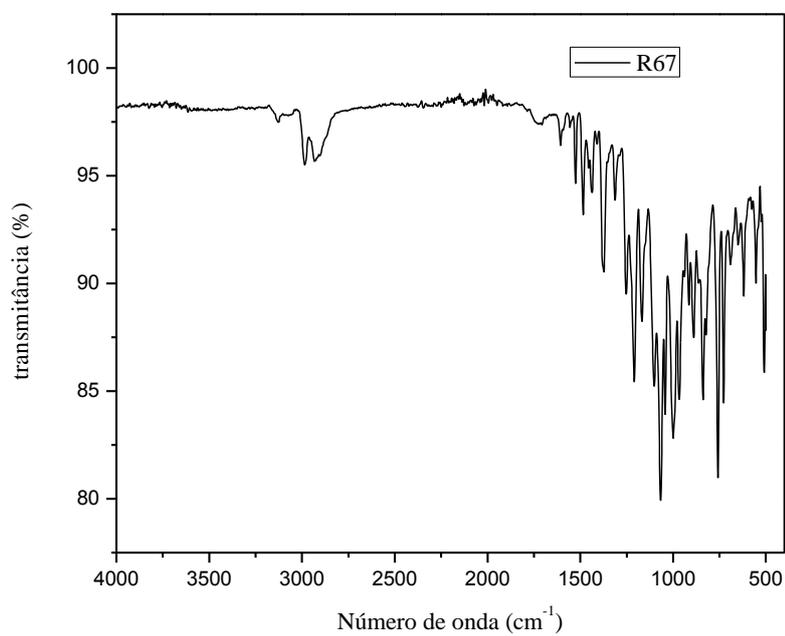
**Figura A51.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **100**.



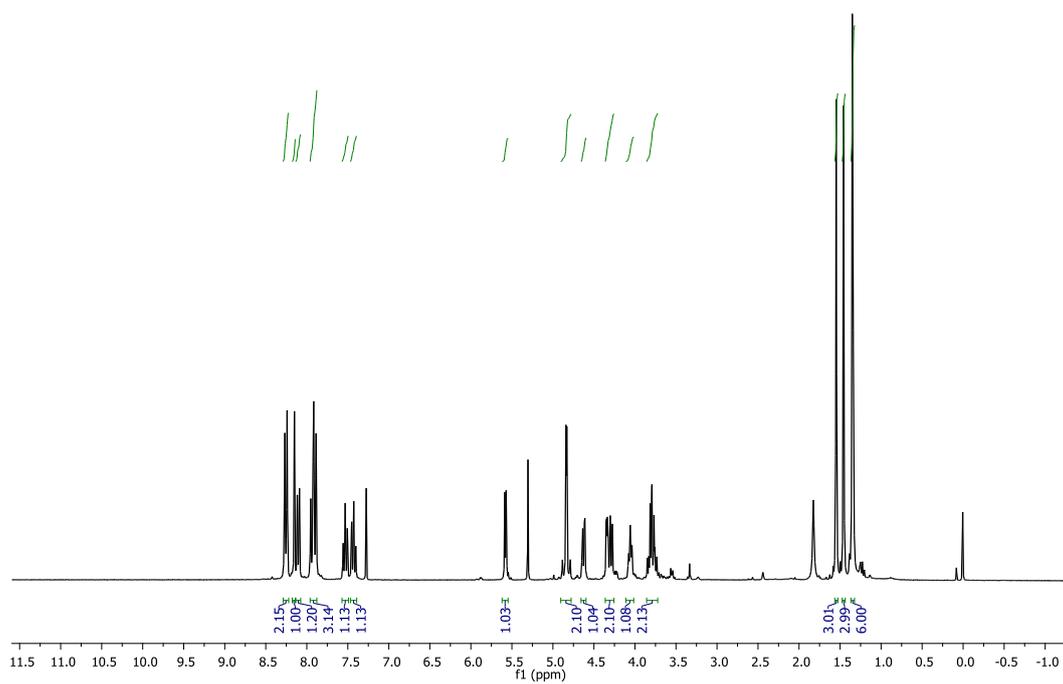
**Figura A52.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **101** em  $\text{CDCl}_3$ .



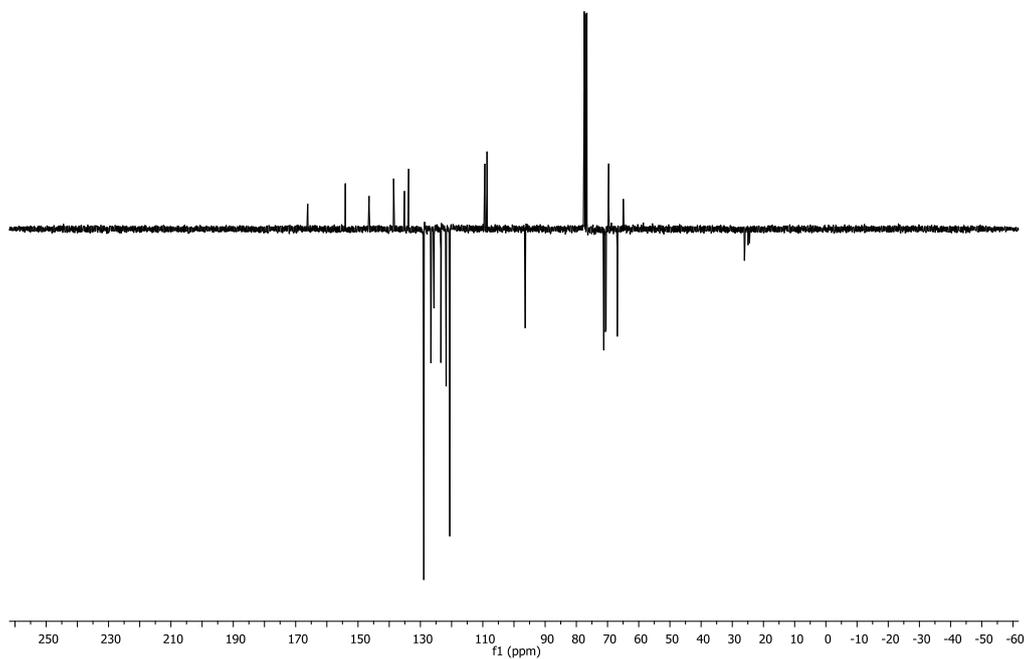
**Figura A53.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **101** em  $\text{CDCl}_3$ .



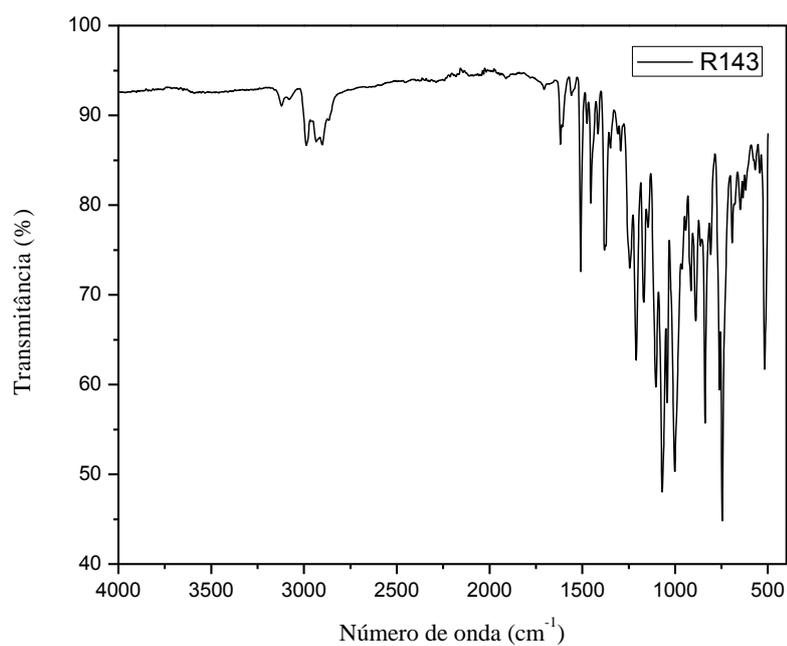
**Figura A54.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **101**.



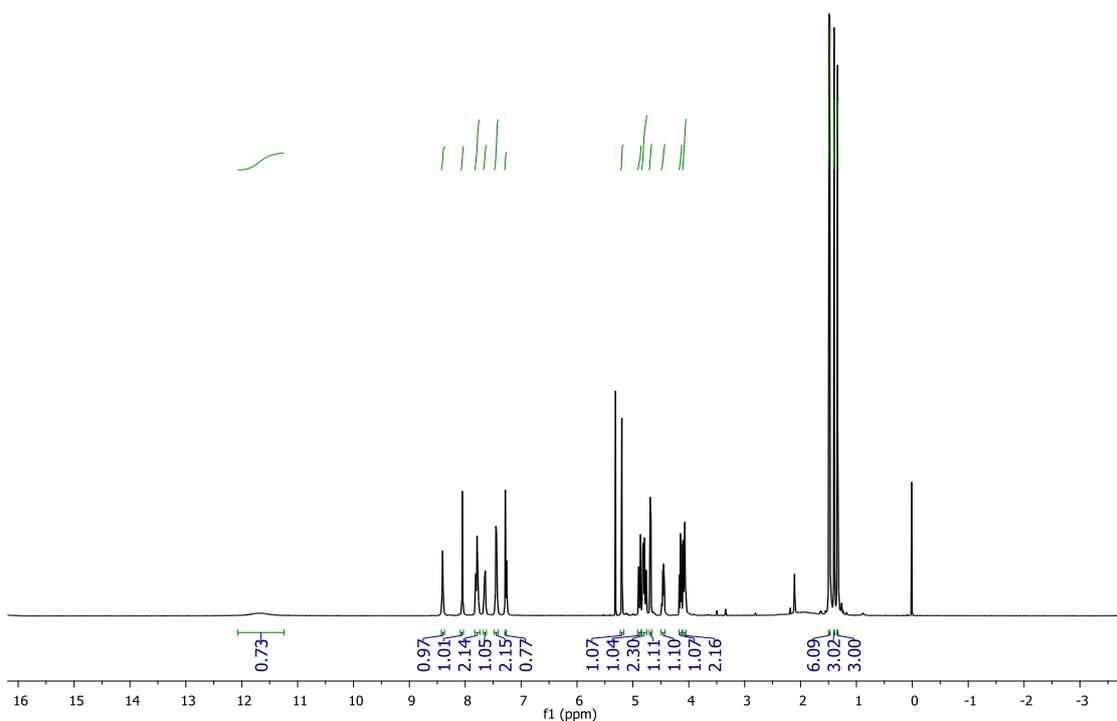
**Figura A55.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **102** em  $\text{CDCl}_3$ .



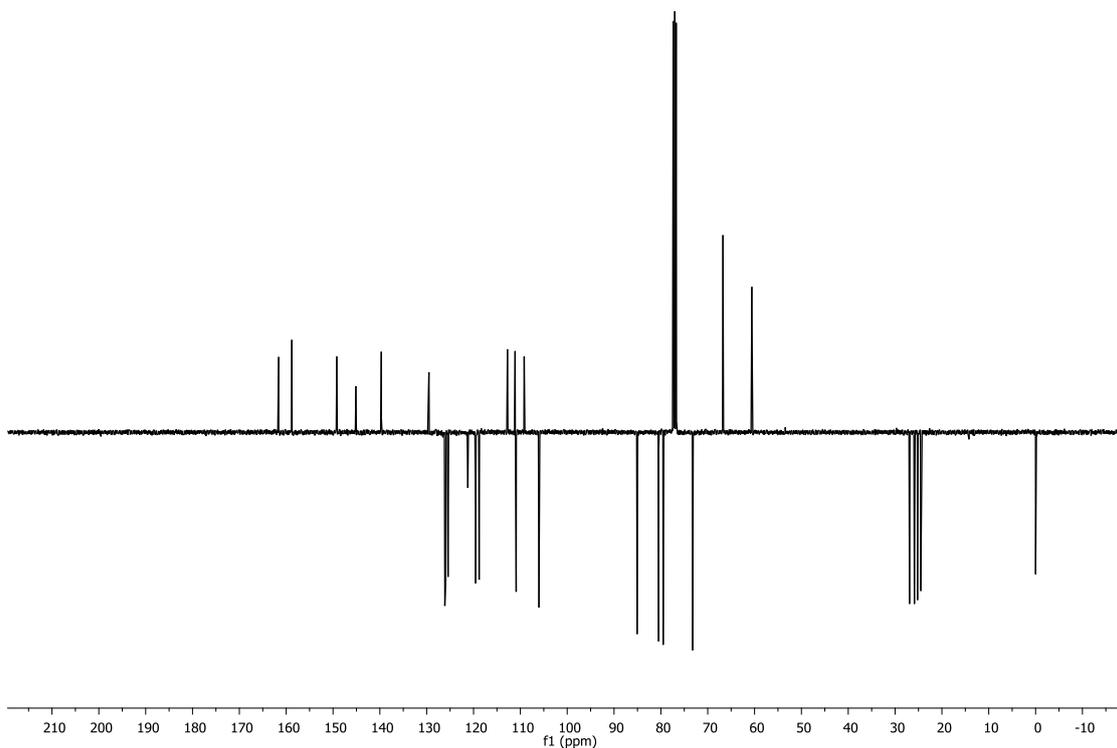
**Figura A56.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **102** em  $\text{CDCl}_3$ .



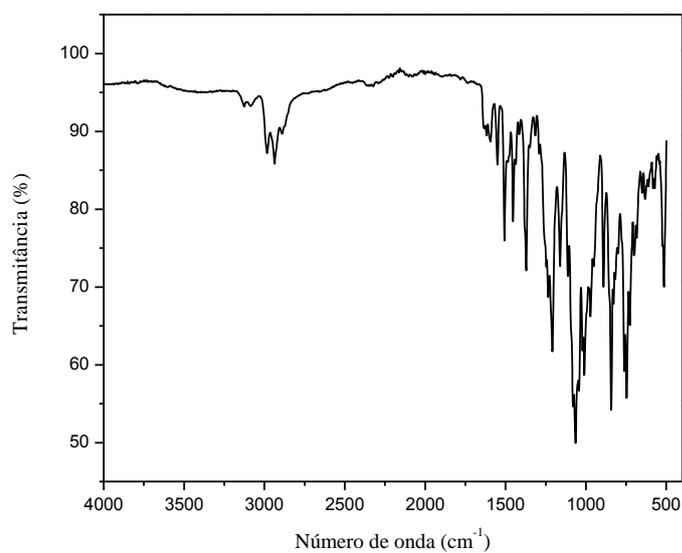
**Figura A57.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **102**.



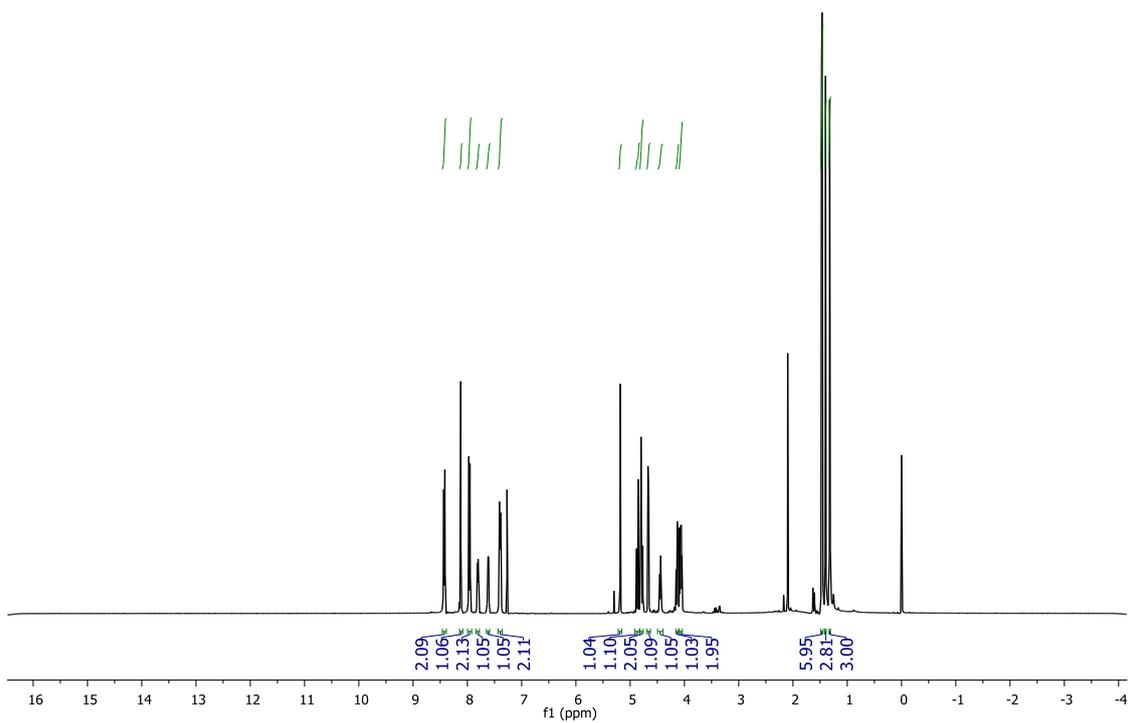
**Figura A58.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **103** em  $\text{CDCl}_3$ .



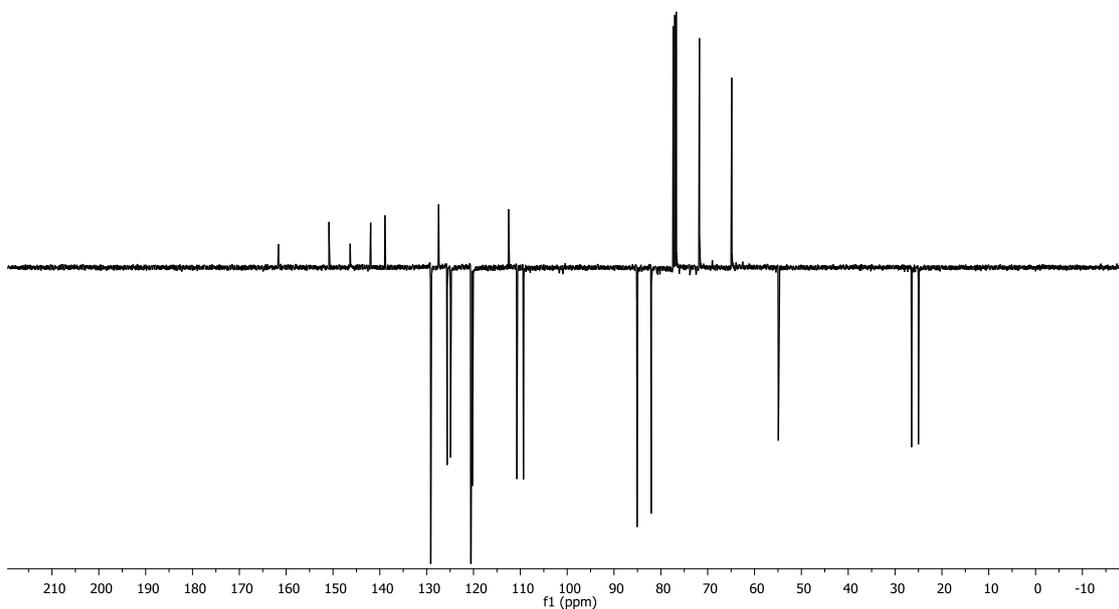
**Figura A59.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **103** em  $\text{CDCl}_3$ .



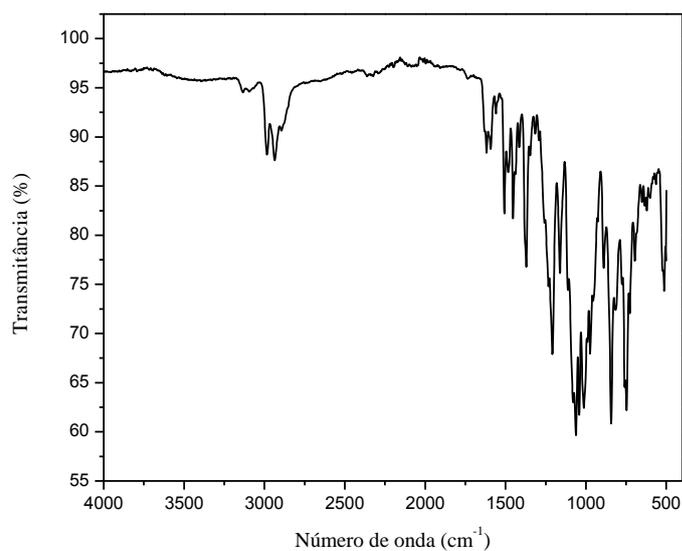
**Figura A60.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **103**.



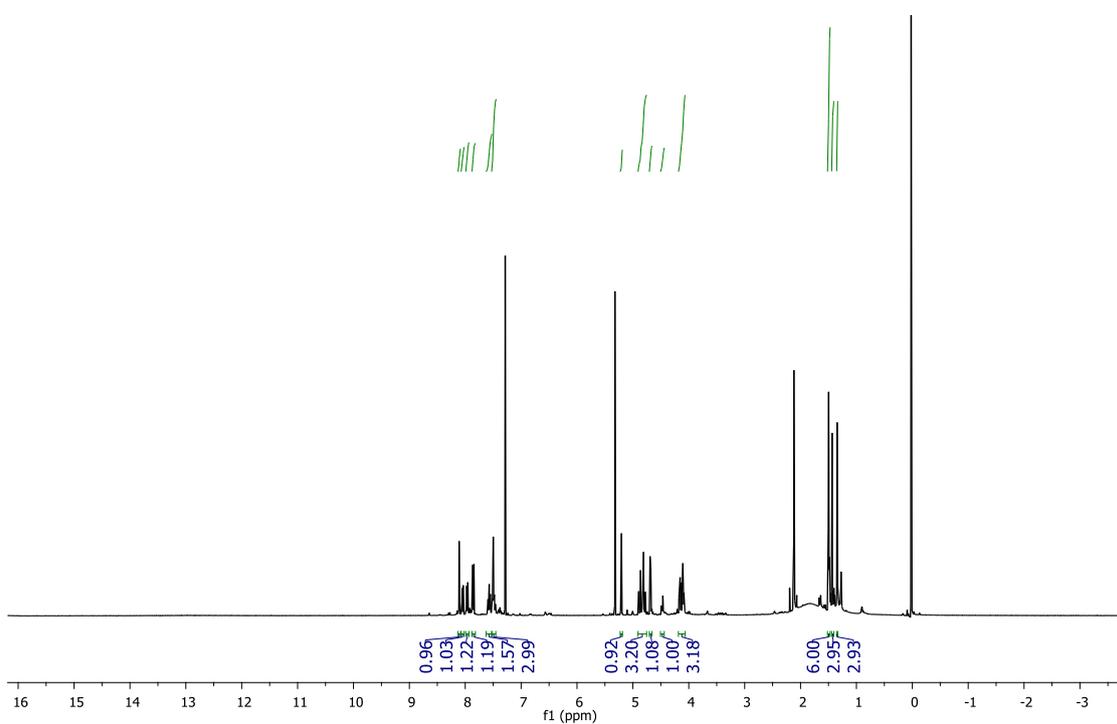
**Figura A61.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **104** em  $\text{CDCl}_3$ .



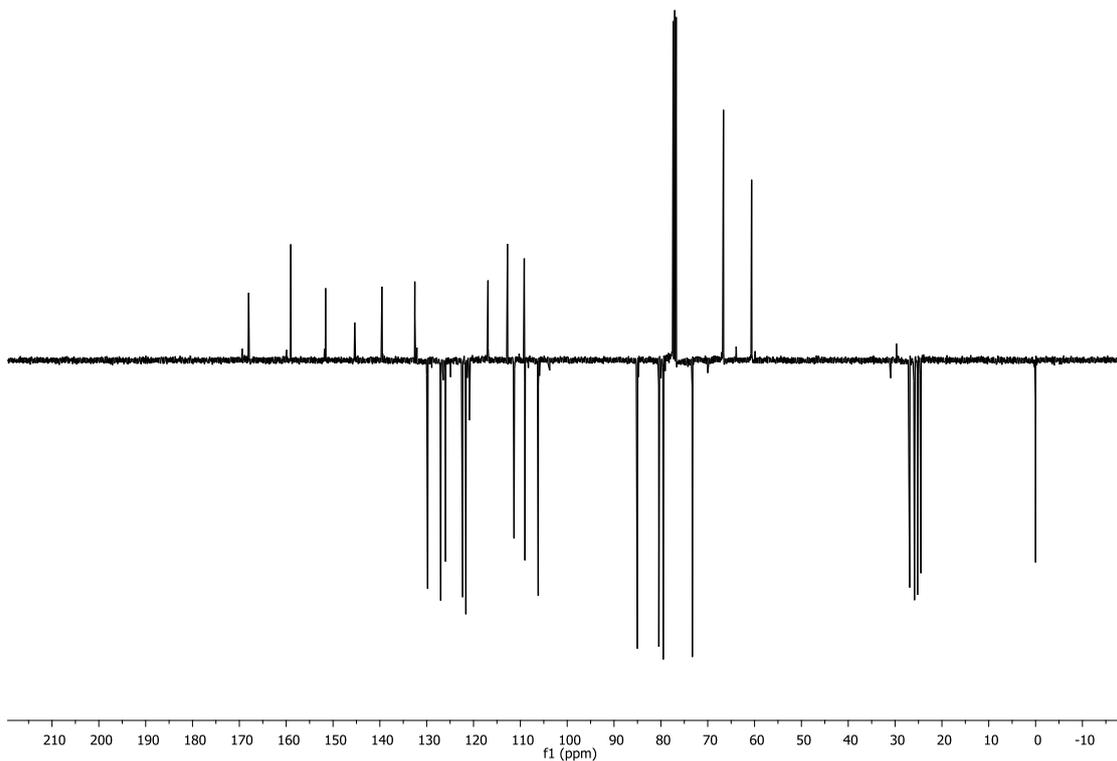
**Figura A62.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **104** em  $\text{CDCl}_3$ .



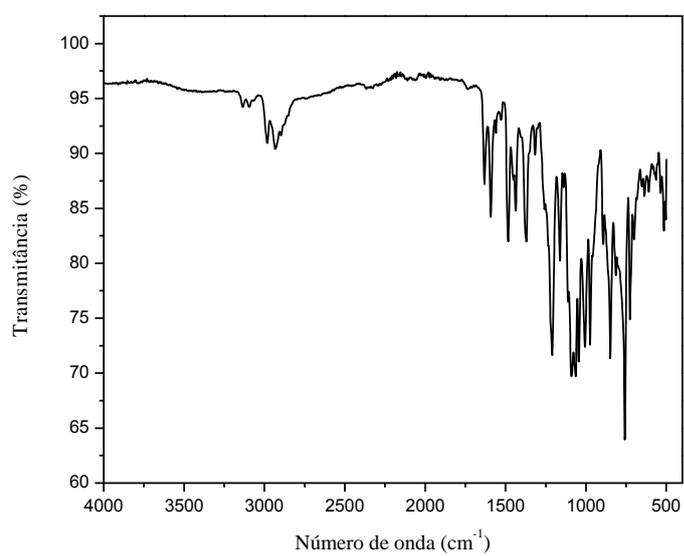
**Figura A63.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **104**.



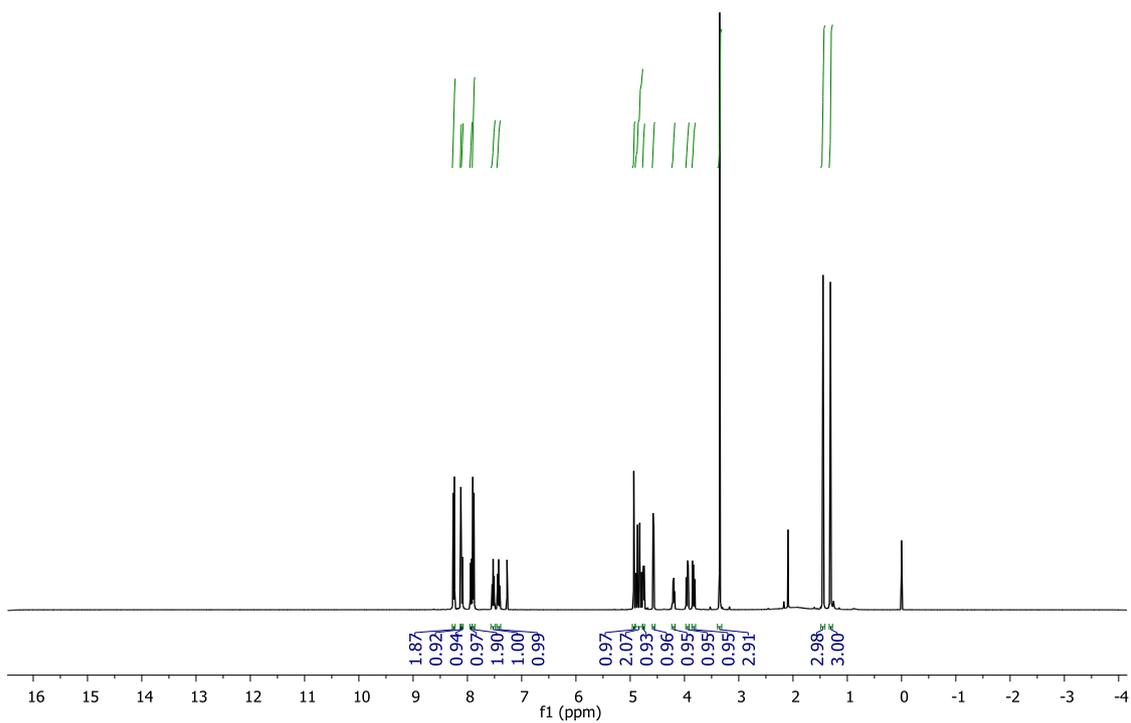
**Figura A64.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **105** em  $\text{CDCl}_3$ .



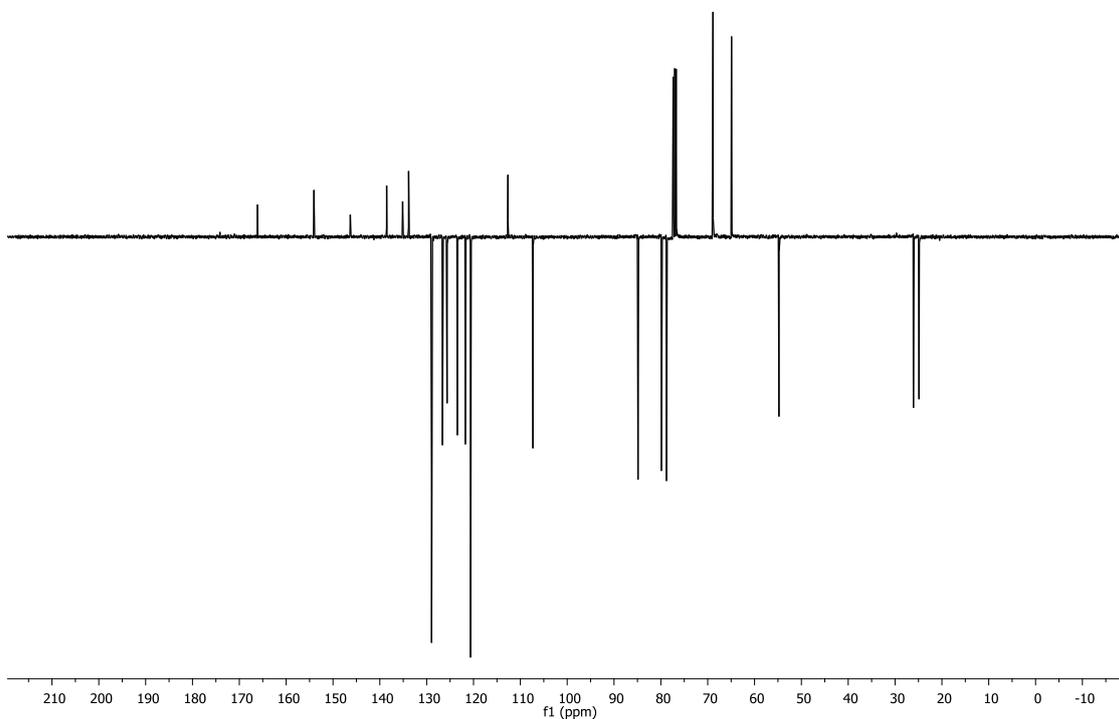
**Figura A65.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **105** em  $\text{CDCl}_3$ .



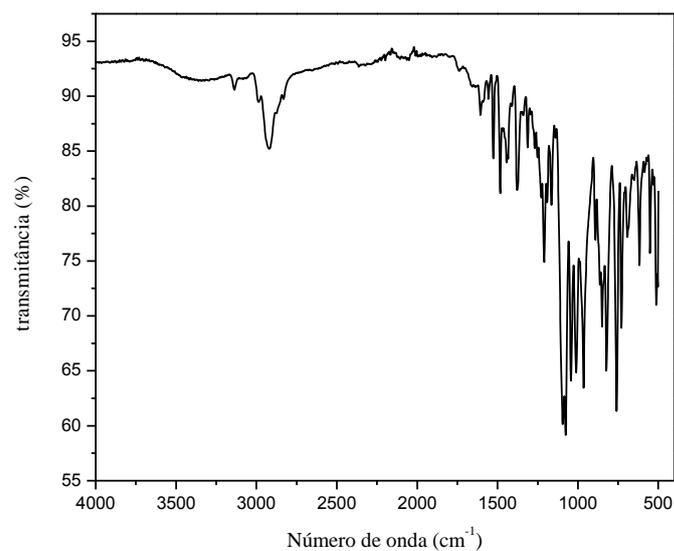
**Figura A66.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **105**.



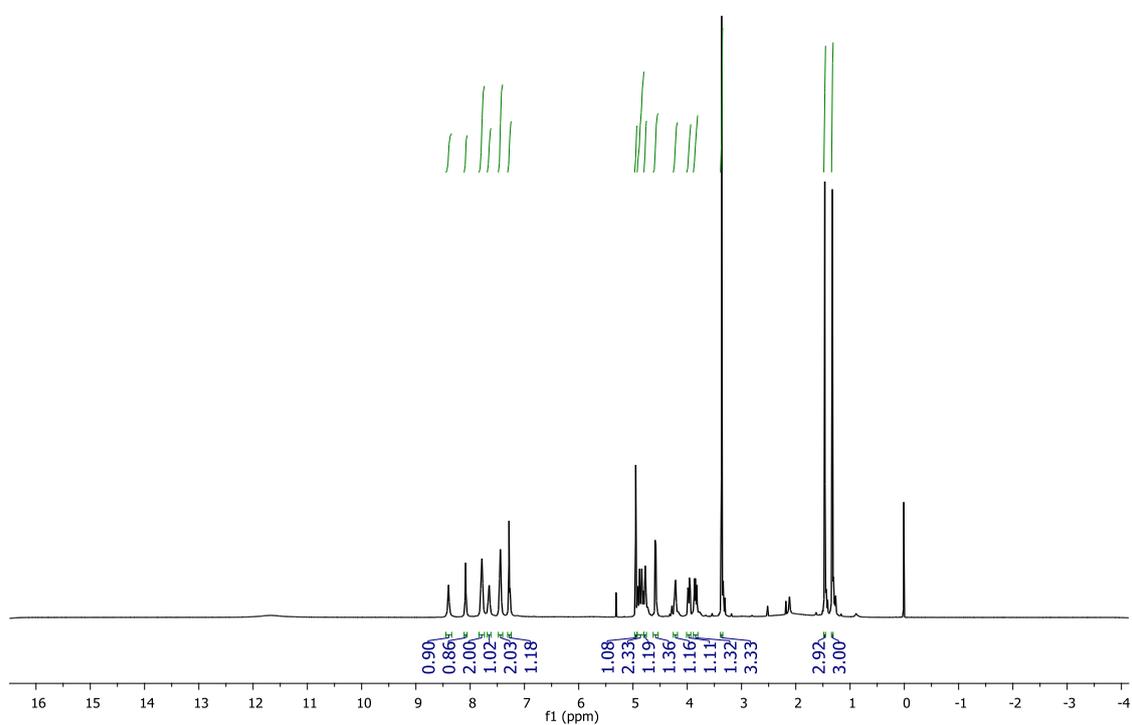
**Figura A67.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **106** em  $\text{CDCl}_3$ .



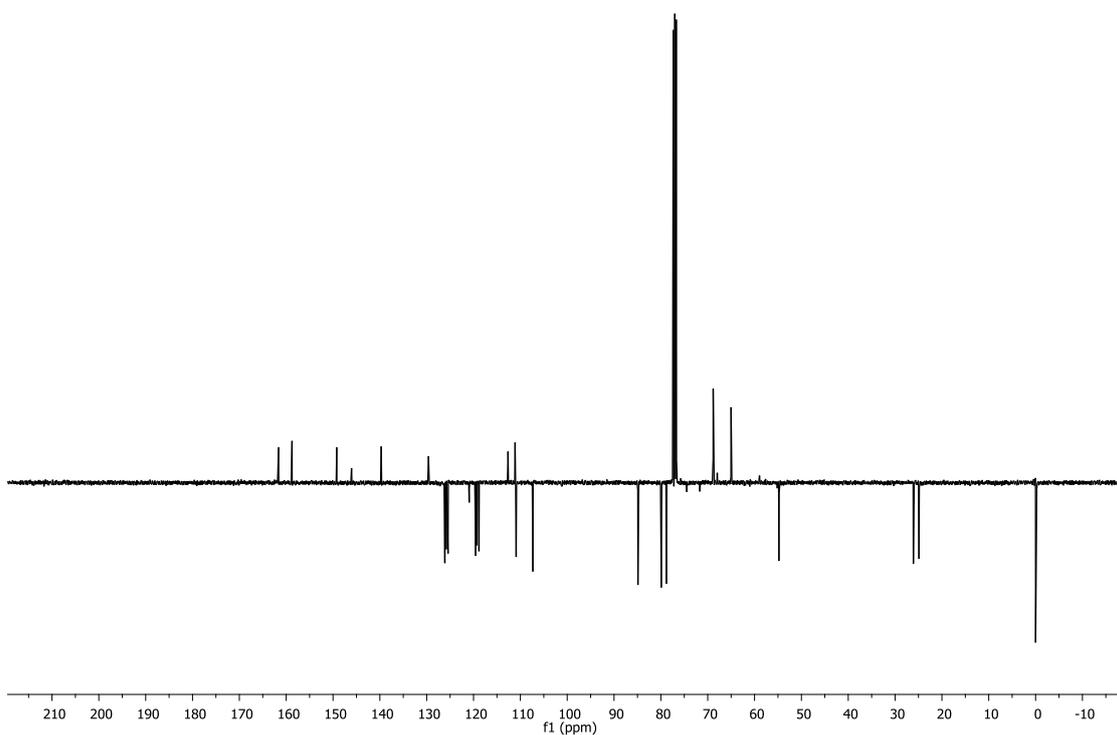
**Figura A 68.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **106** em  $\text{CDCl}_3$ .



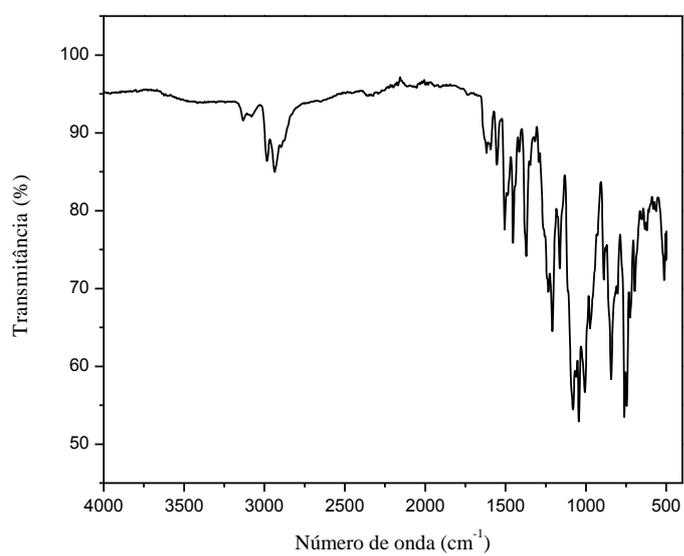
**Figura A69.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **106**.



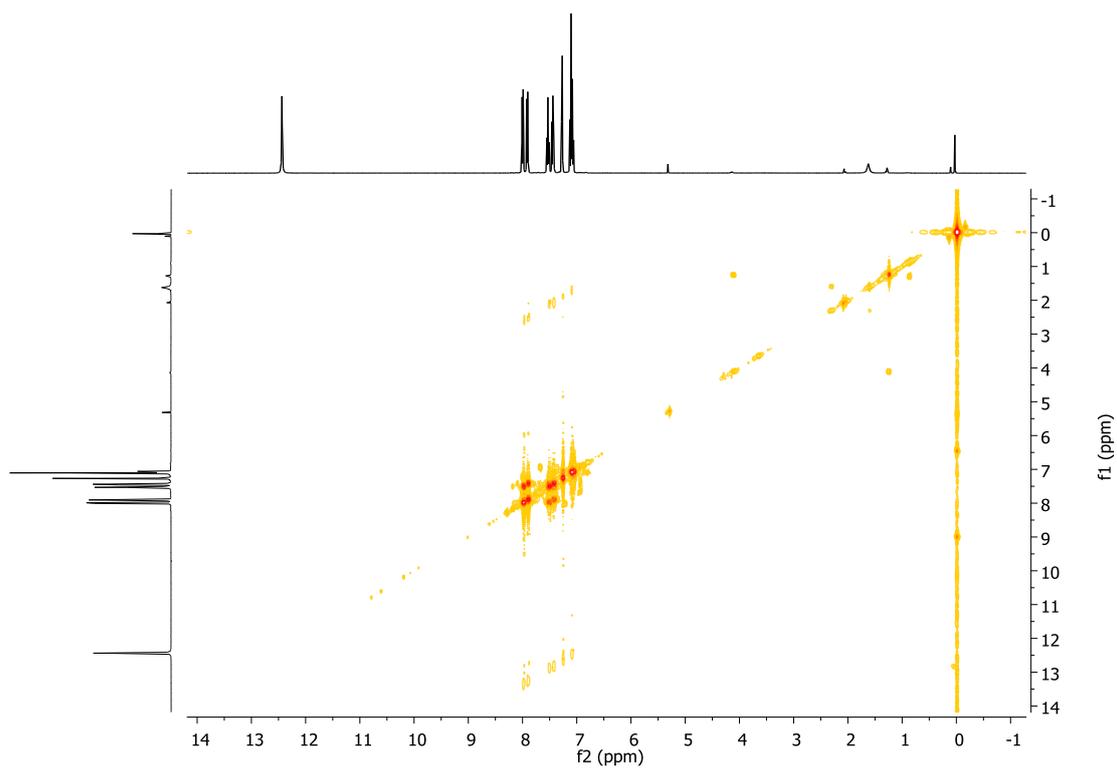
**Figura A70.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) do glicoconjugado **107** em  $\text{CDCl}_3$ .



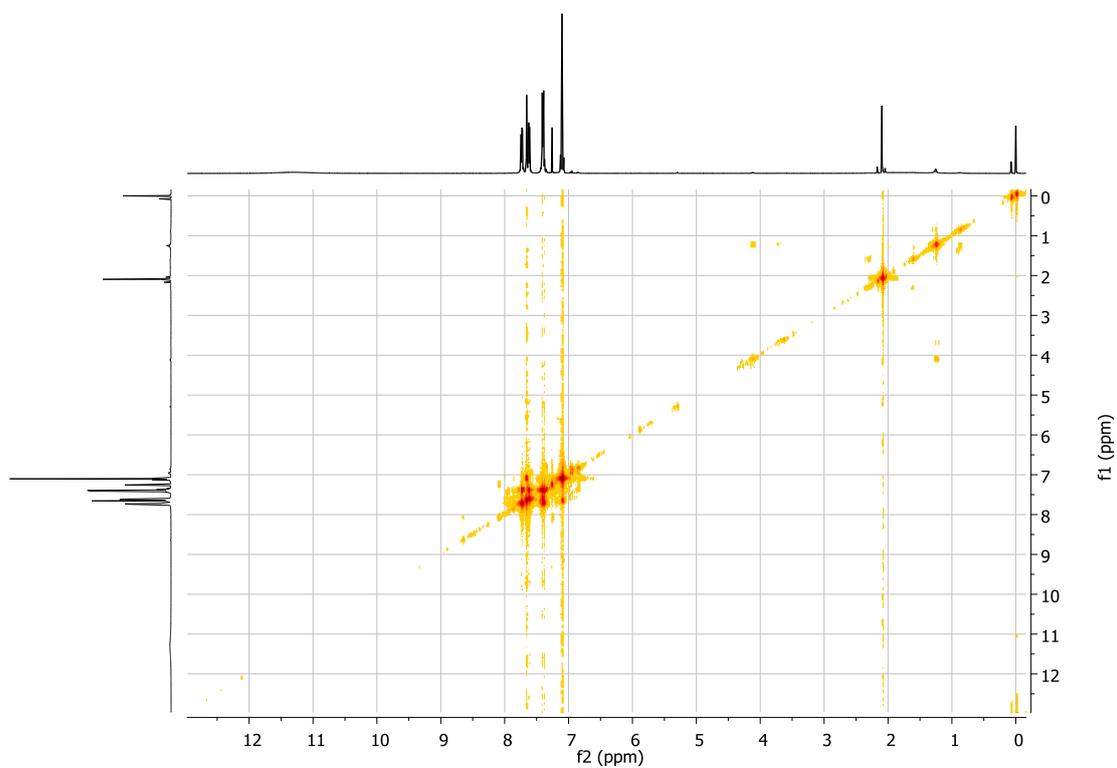
**Figura A71.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT) (101 MHz) do glicoconjugado **107** em  $\text{CDCl}_3$ .



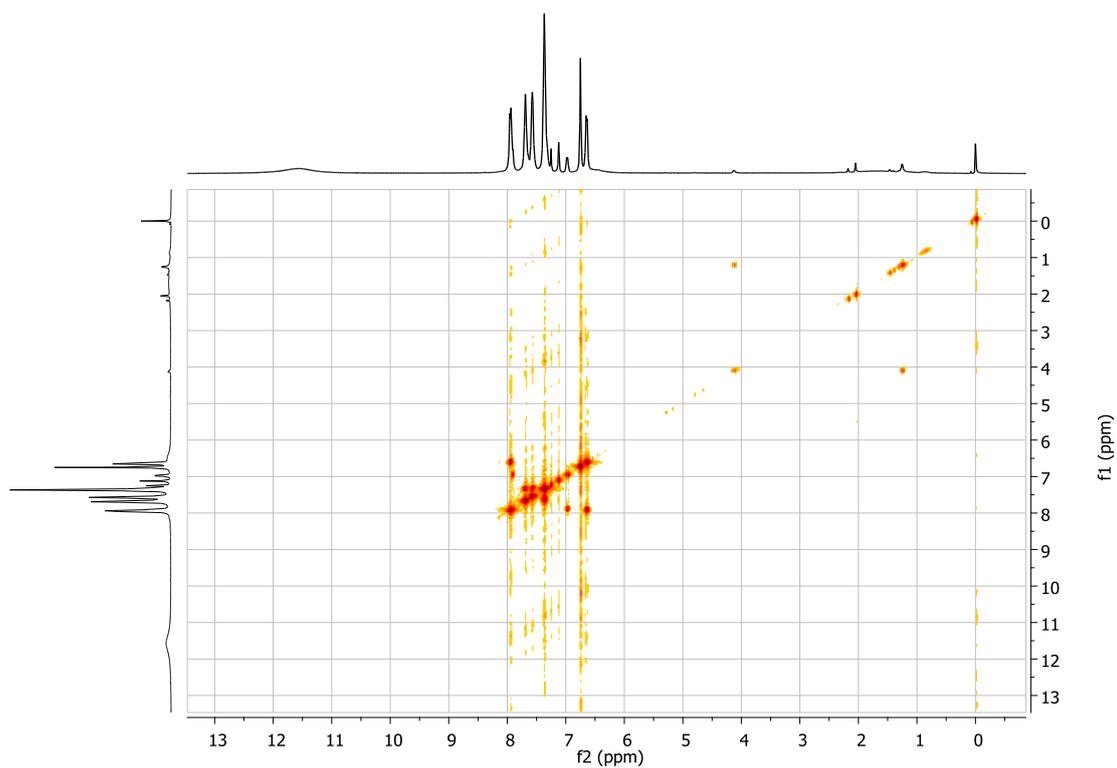
**Figura A72.** Espectro de absorção na região do infravermelho (modo ATR) do glicoconjugado **107**.



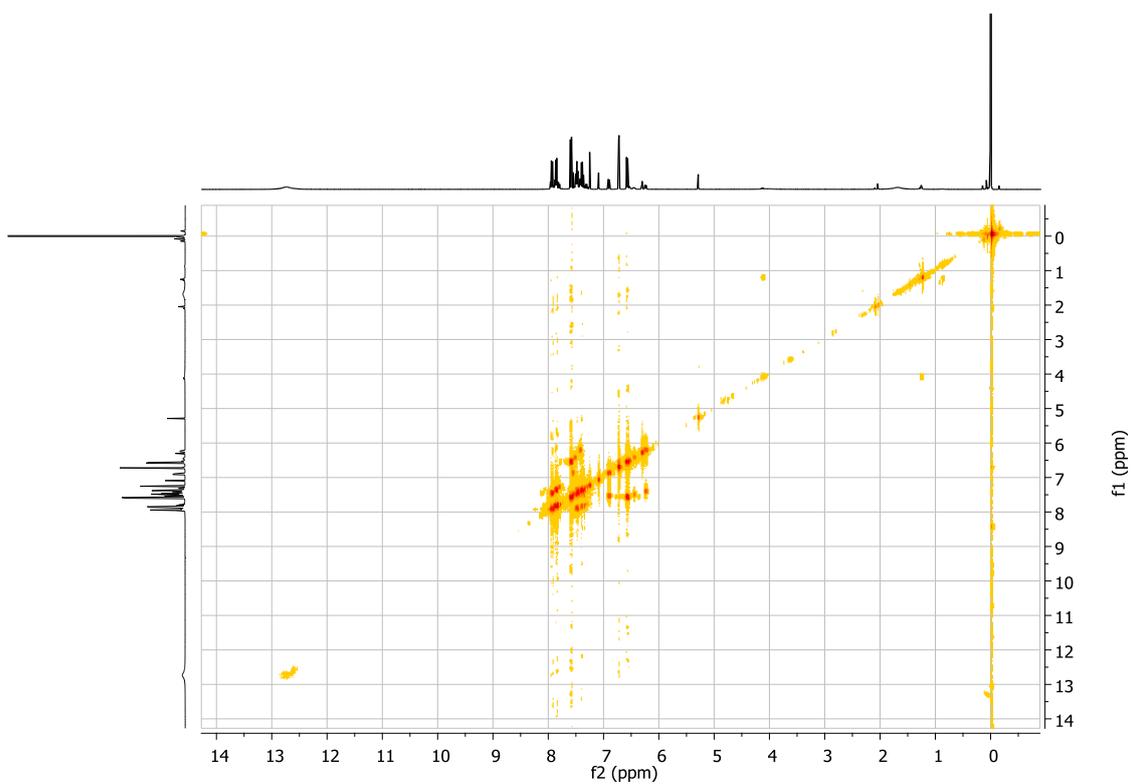
**Figura A73.** Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) da azida **36**.



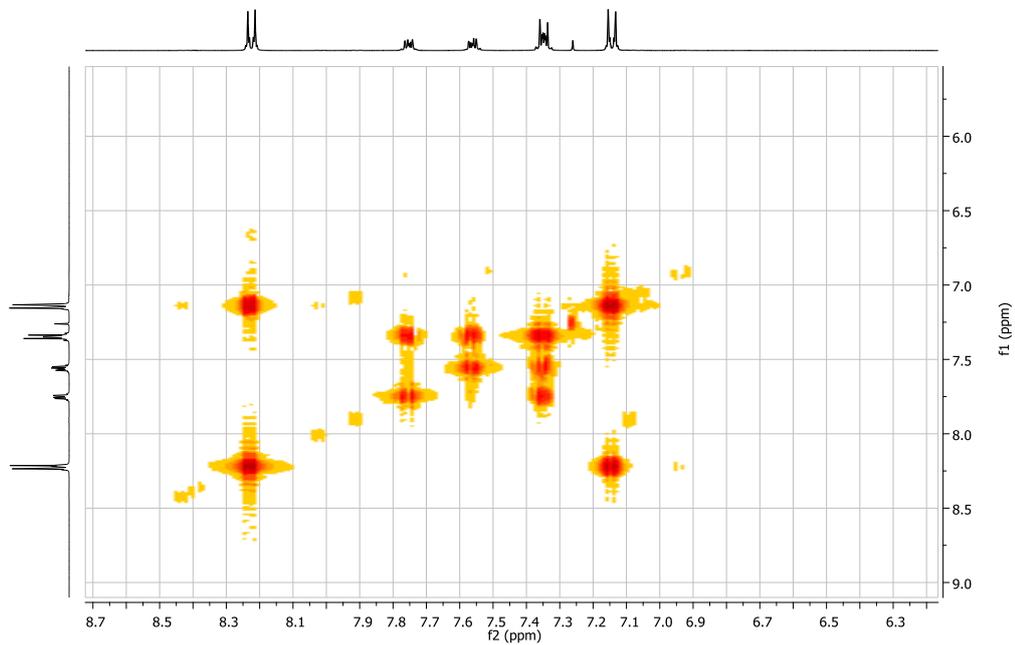
**Figura A74.** Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) da azida **37**.



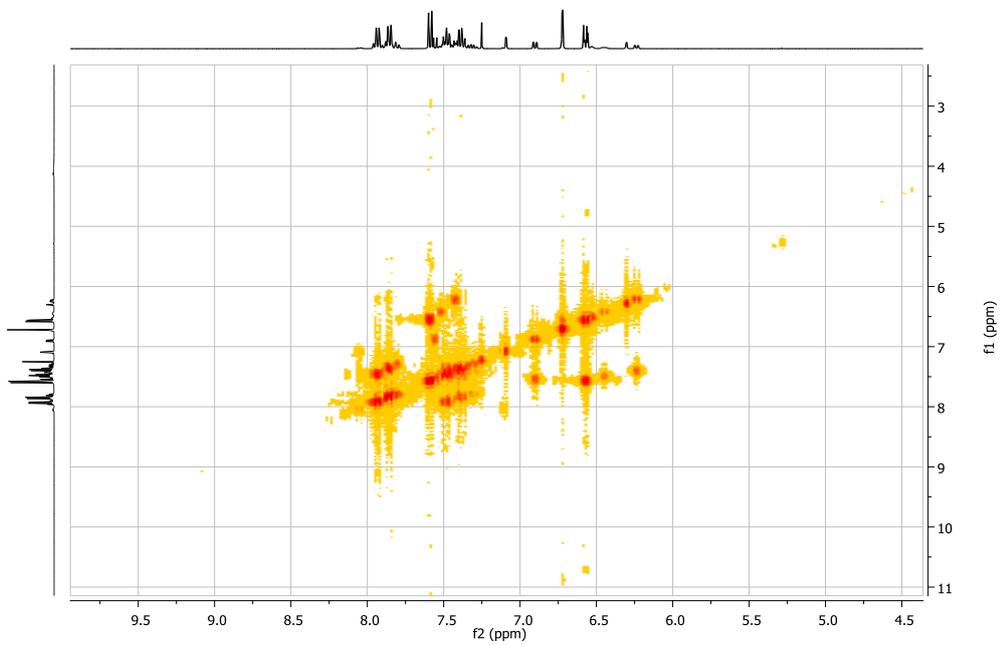
**Figura A75.** Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) da azida **38**.



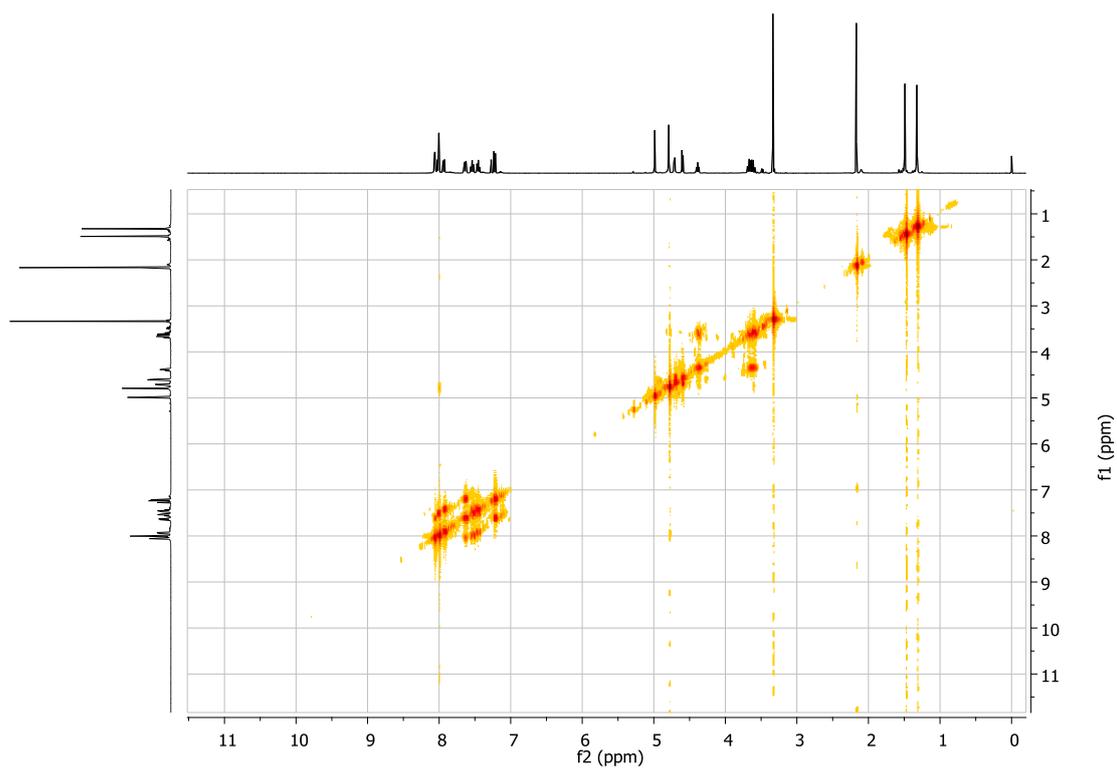
**Figura A76.** Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) da azida **39**.



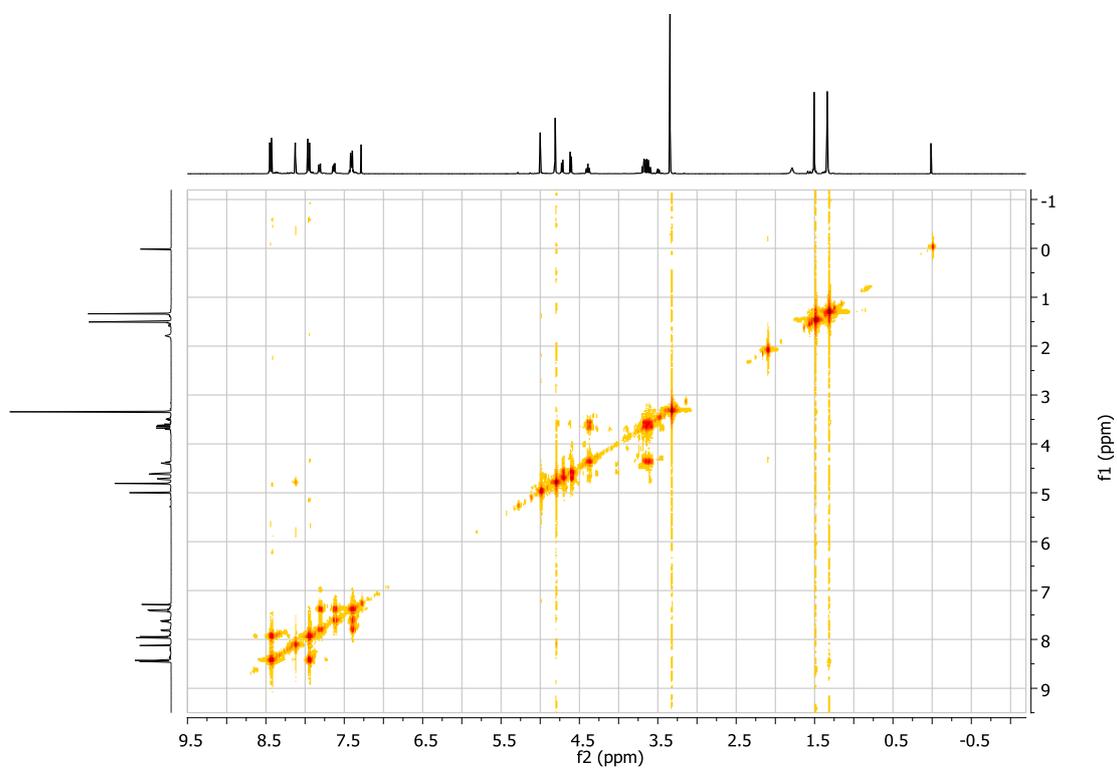
**Figura A77.**Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) da azida **40**.



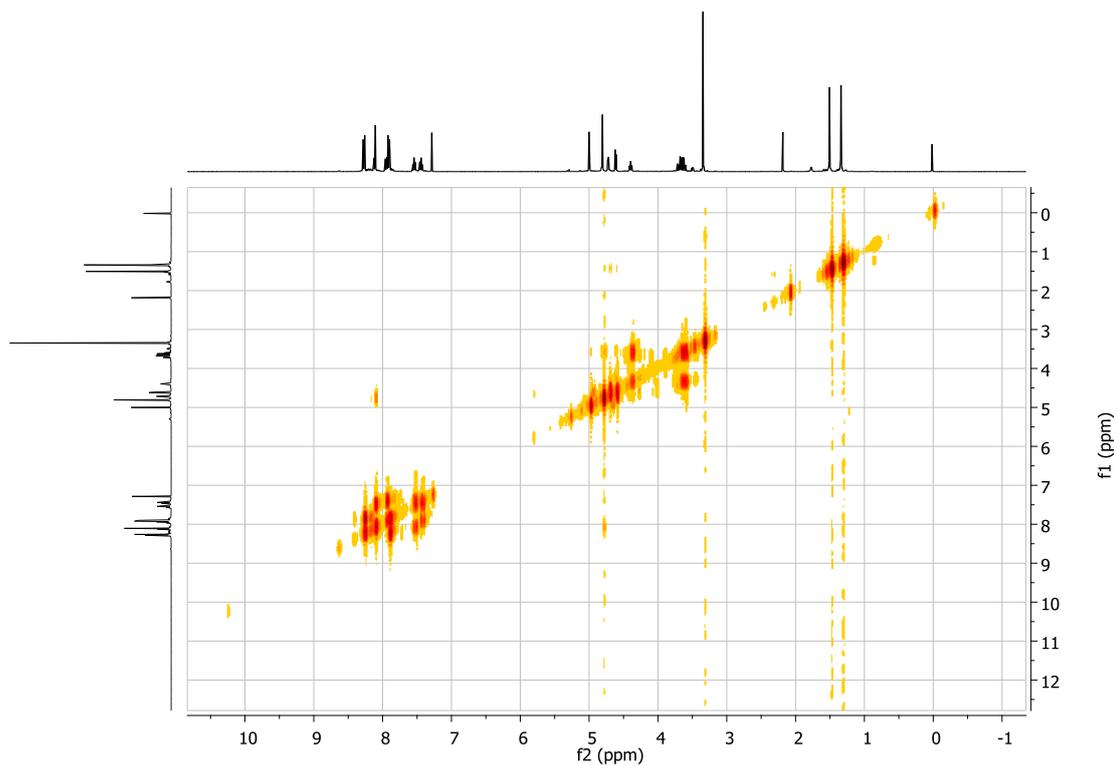
**Figura A78.**Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) da azida **41**.



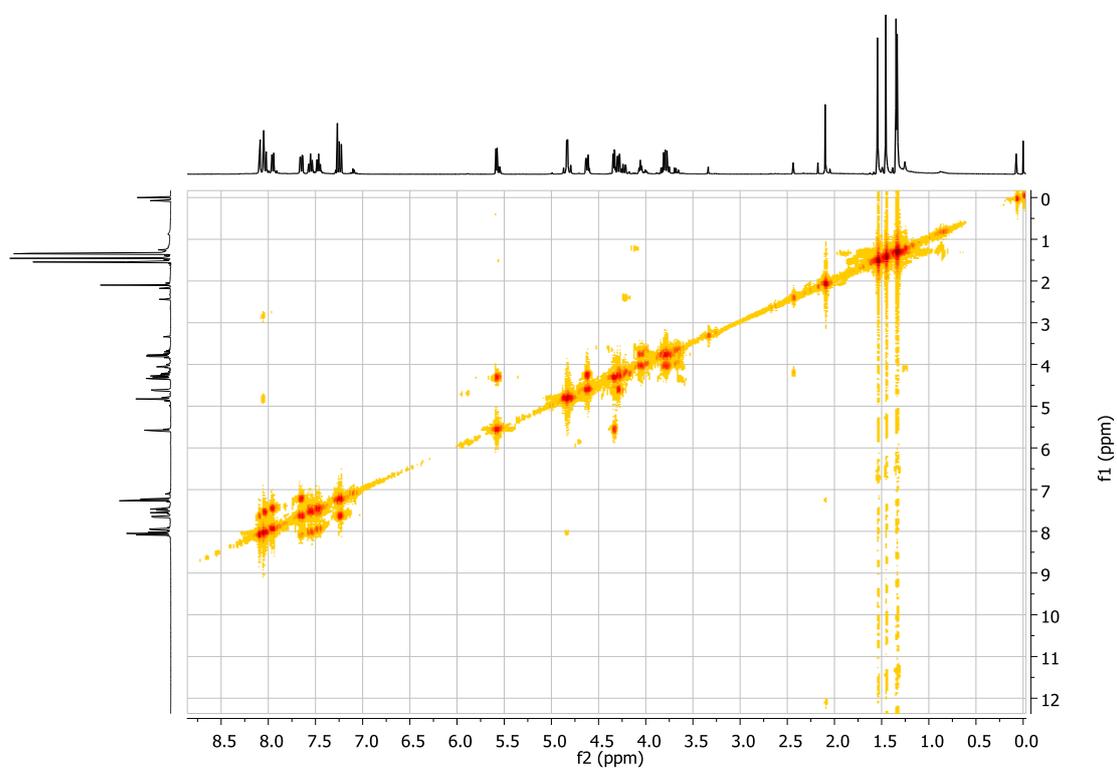
**Figura A79.** Espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **97**.



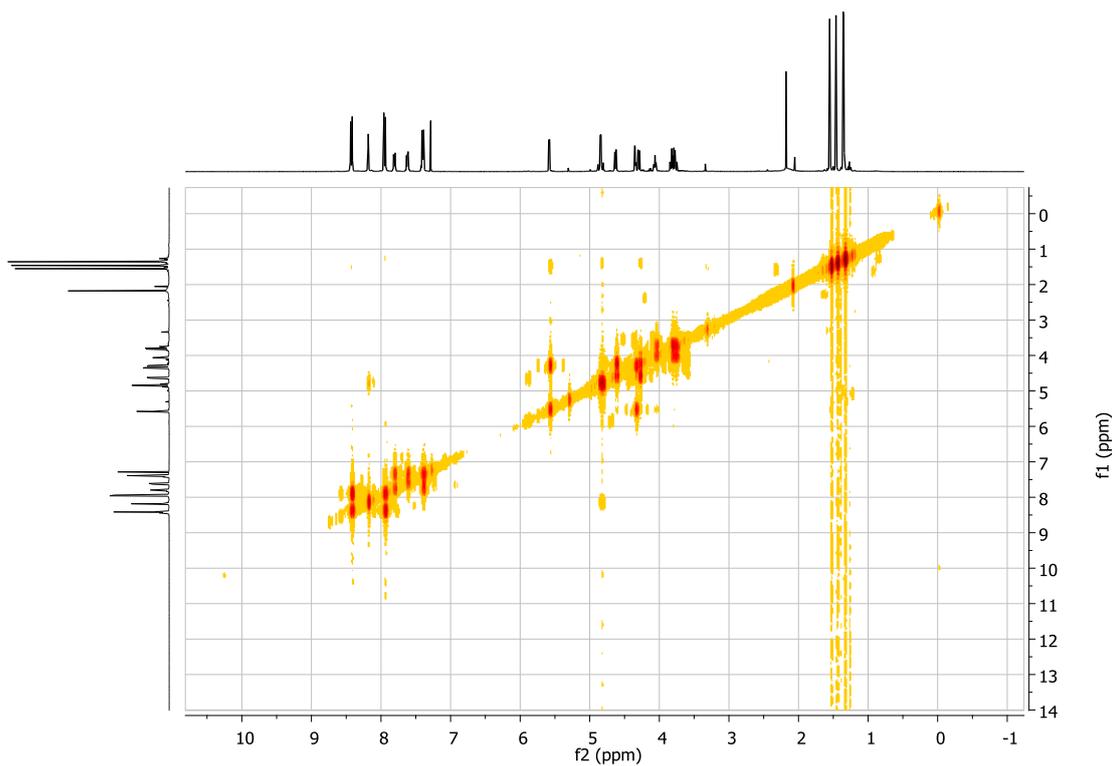
**Figura A80.** Espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **98**.



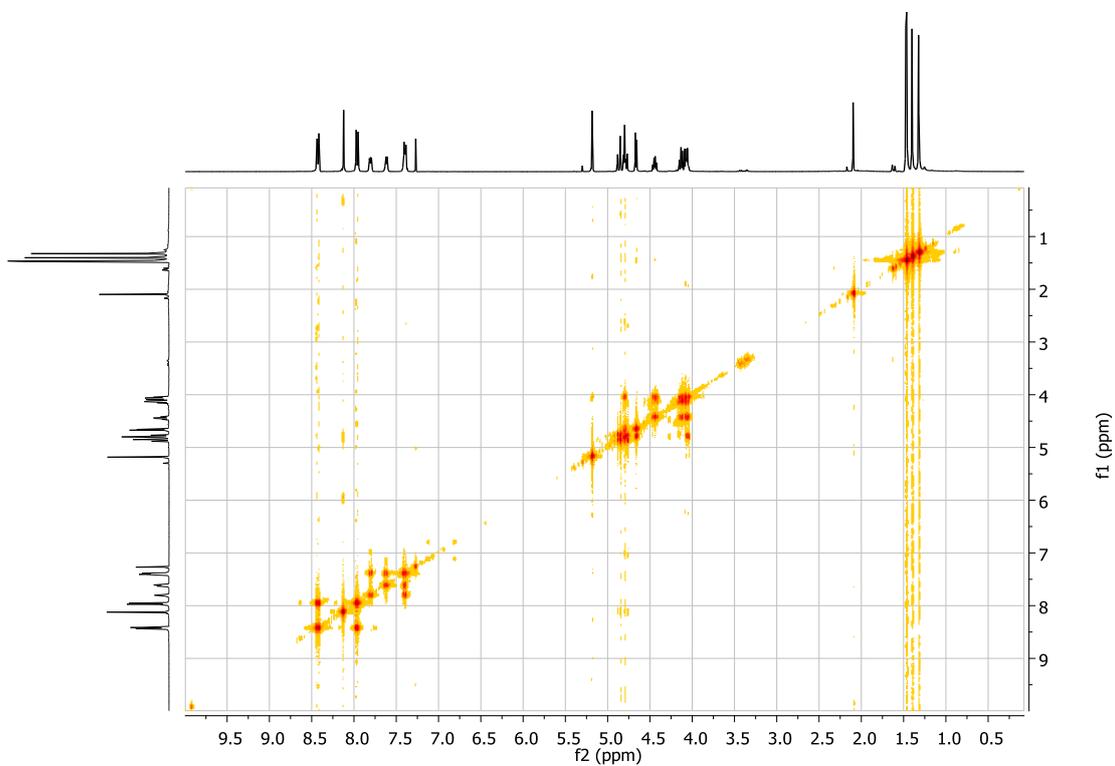
**Figura A81.** Espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **99**.



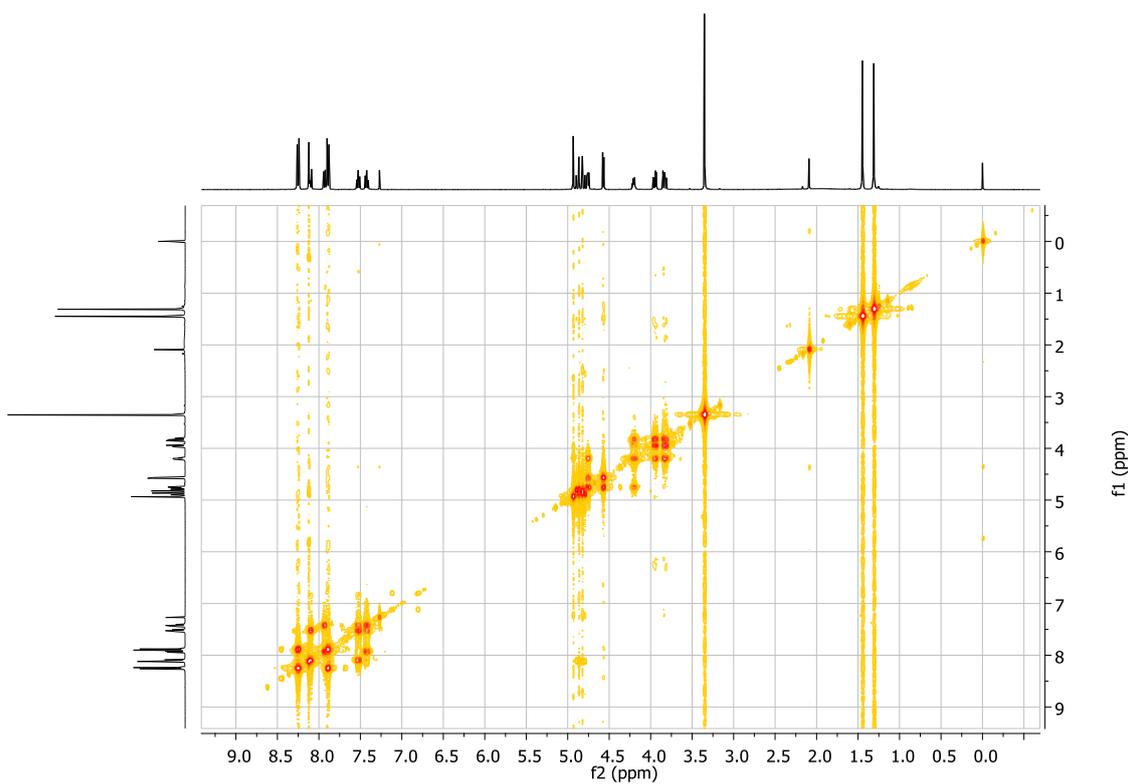
**Figura A82.** Espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **100**.



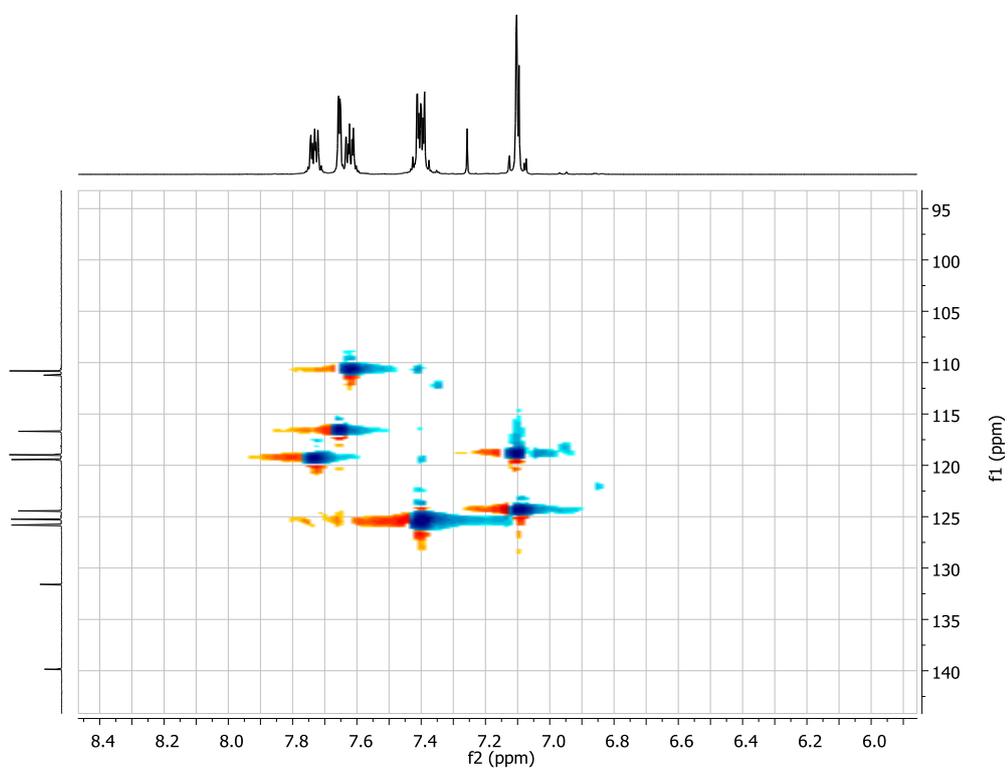
**Figura A83.** Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) do glicoconjugado **101**.



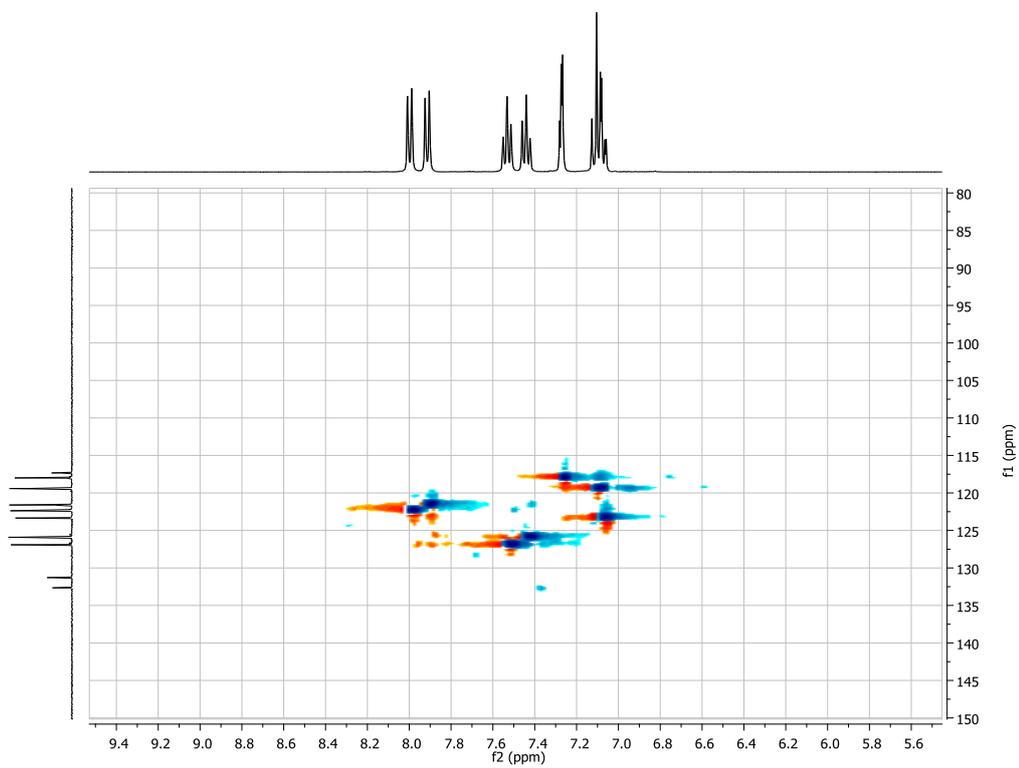
**Figura A84.** Espectro RMN 2D COSY (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) do glicoconjugado **104**.



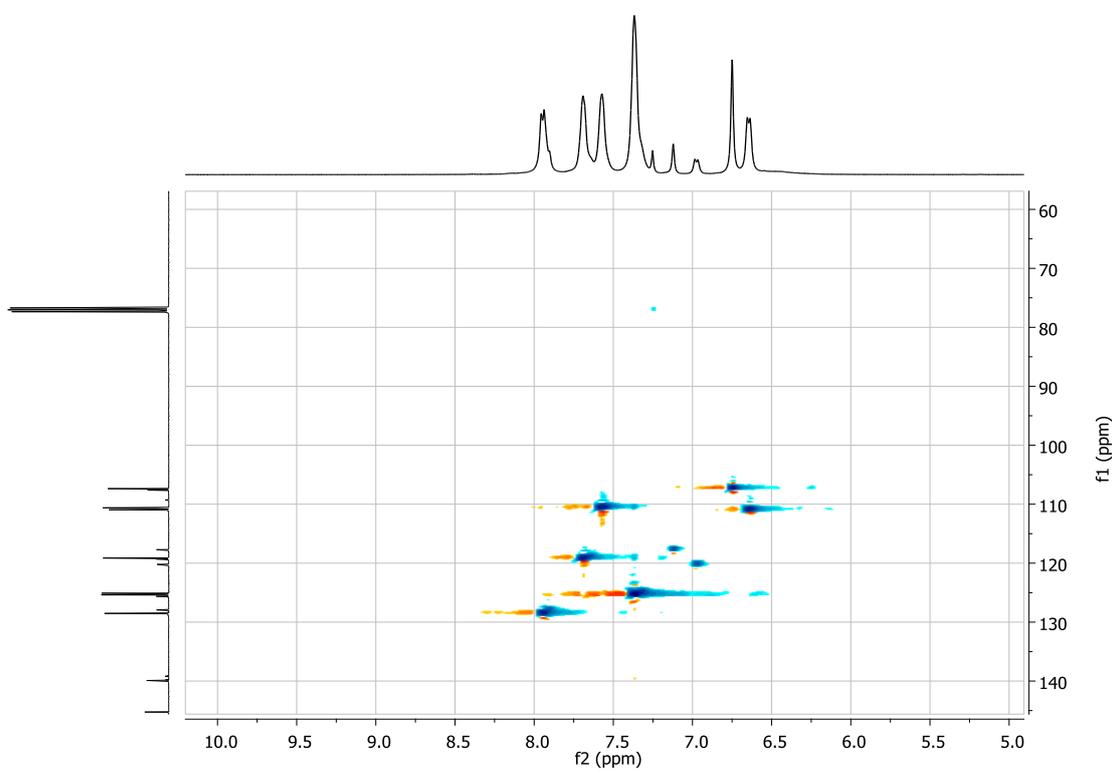
**Figura A85.** Espectro RMN 2D COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do glicoconjugado **106**.



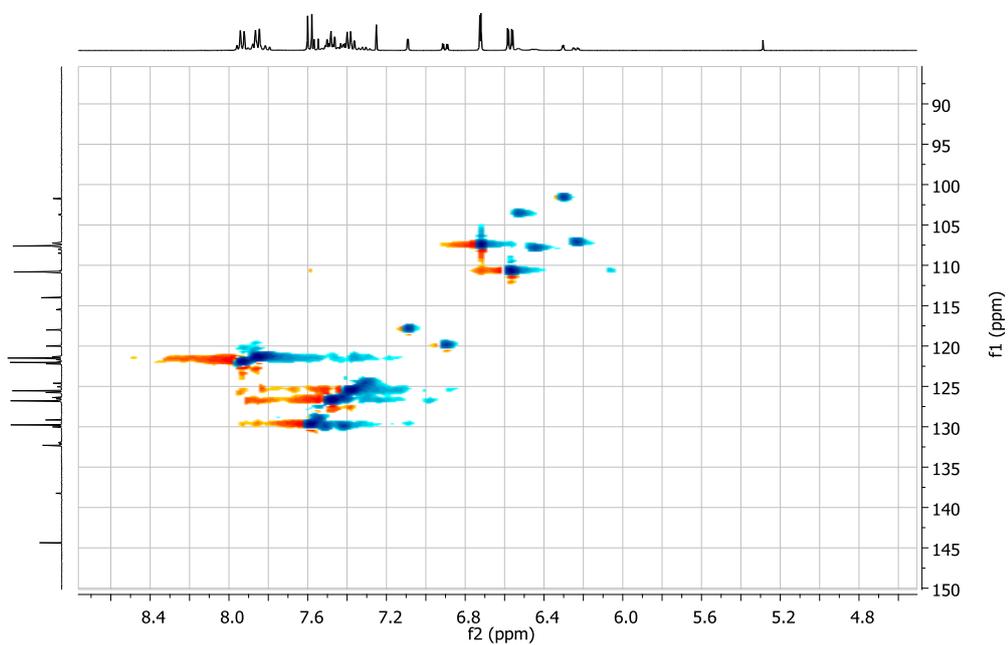
**Figura A86.** Espectro de RMN 2D HSQC da azida **36**.



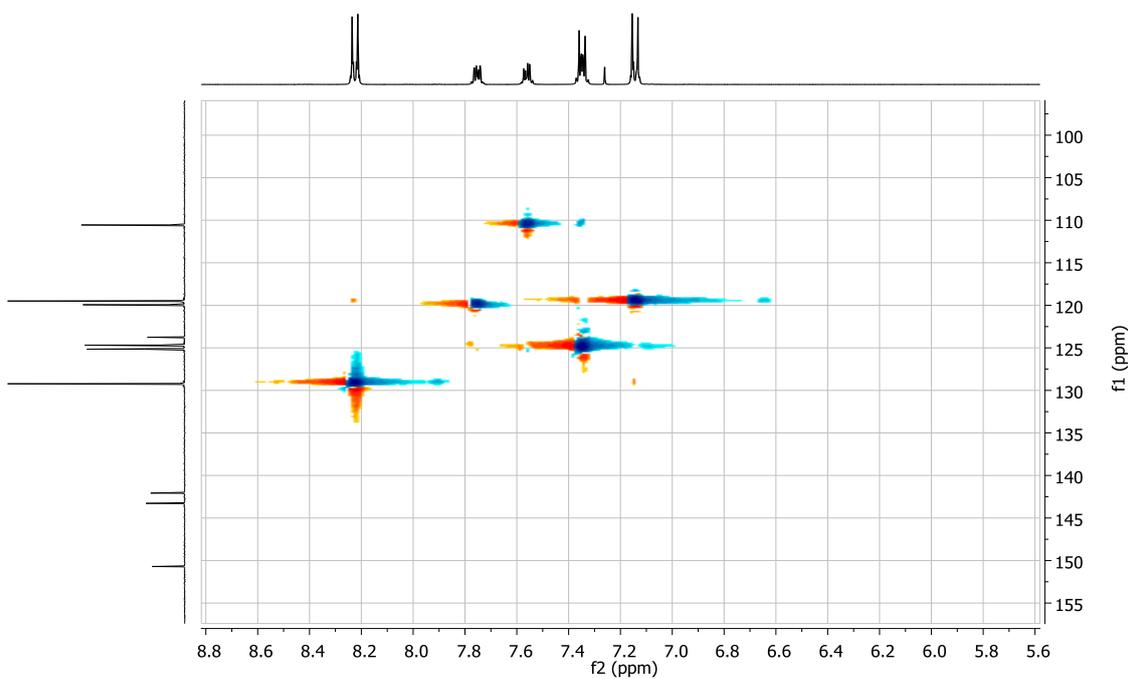
**Figura A87.** Espectro de RMN 2D HSQC da azida **37**.



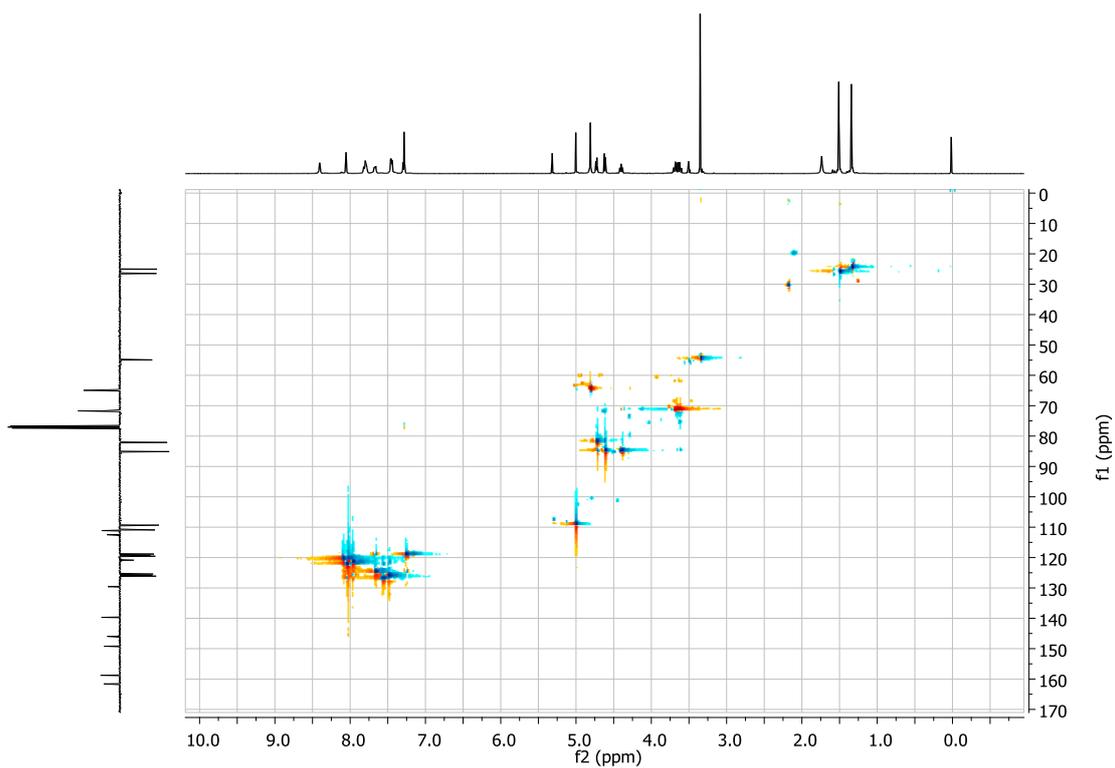
**Figura A88.** Espectro de RMN 2D HSQC da azida **38**.



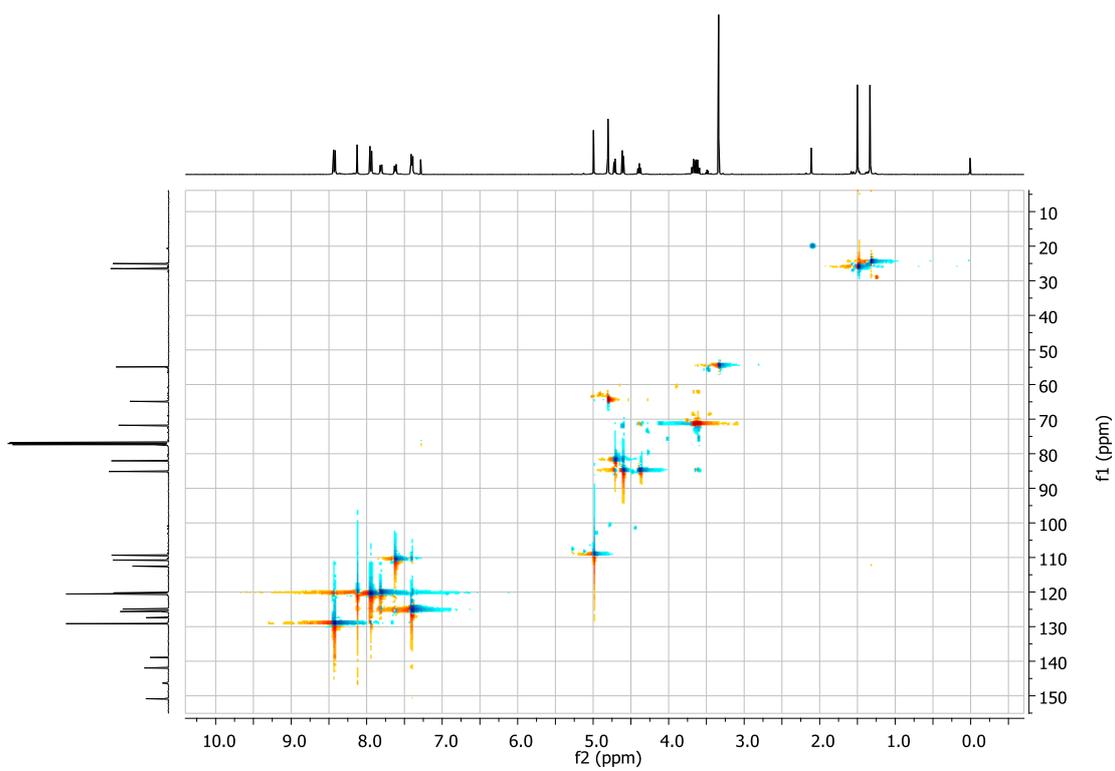
**Figura A89.** Espectro de RMN 2D HSQC da azida **39**.



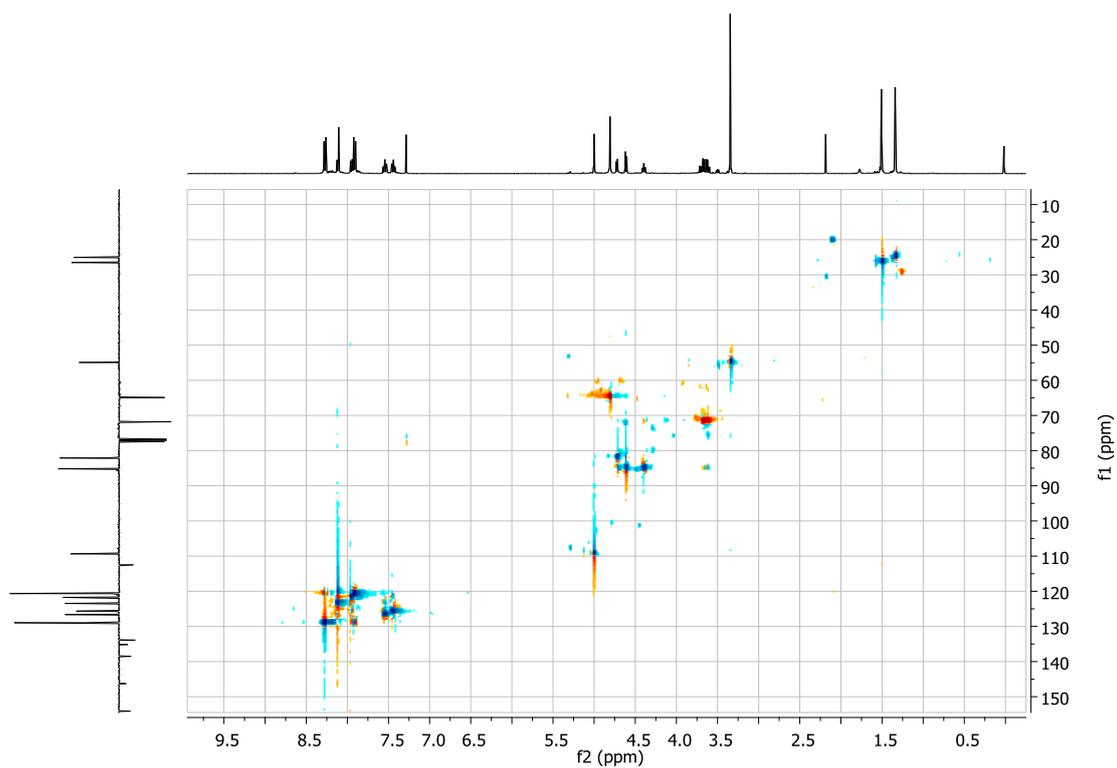
**Figura A90.** Espectro de RMN 2D HSQC da azida **40**.



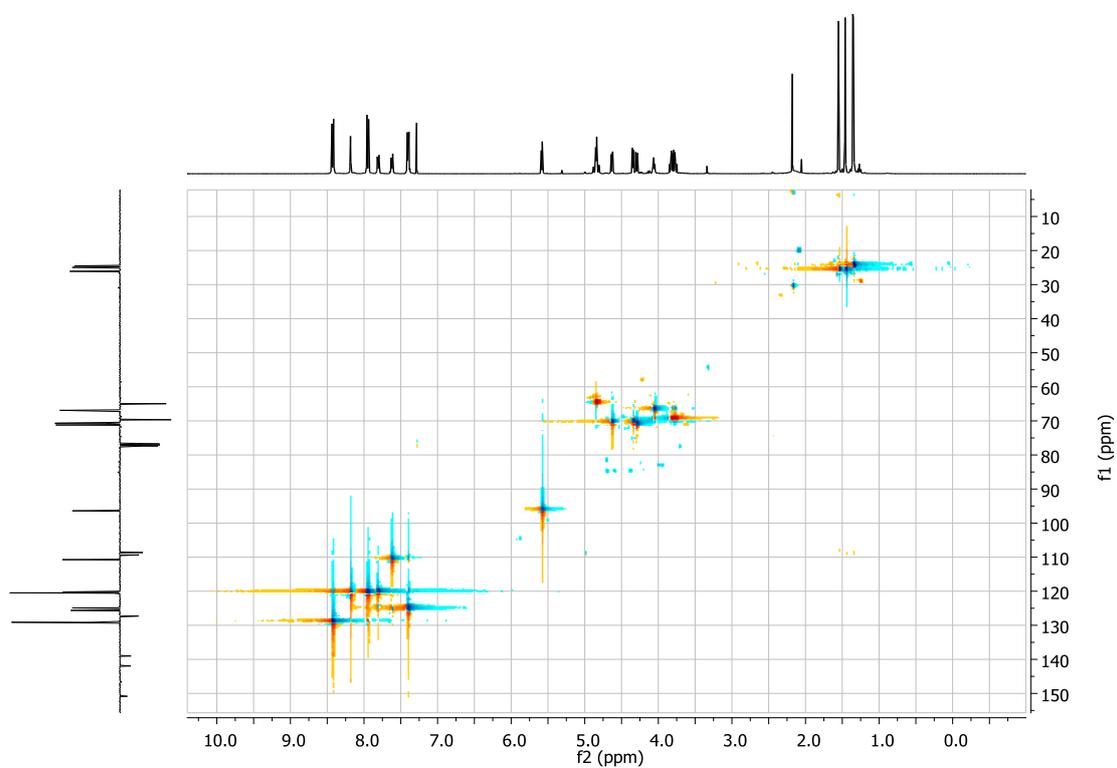
**Figura A91.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **97**.



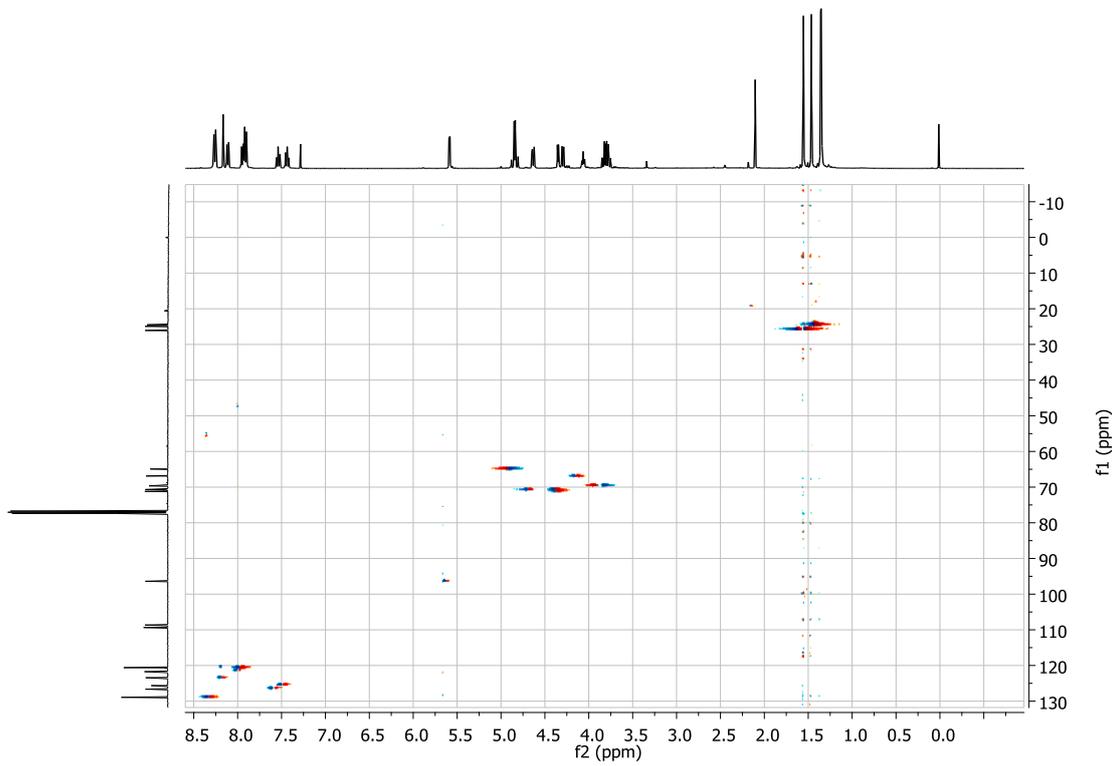
**Figura A92.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **98**.



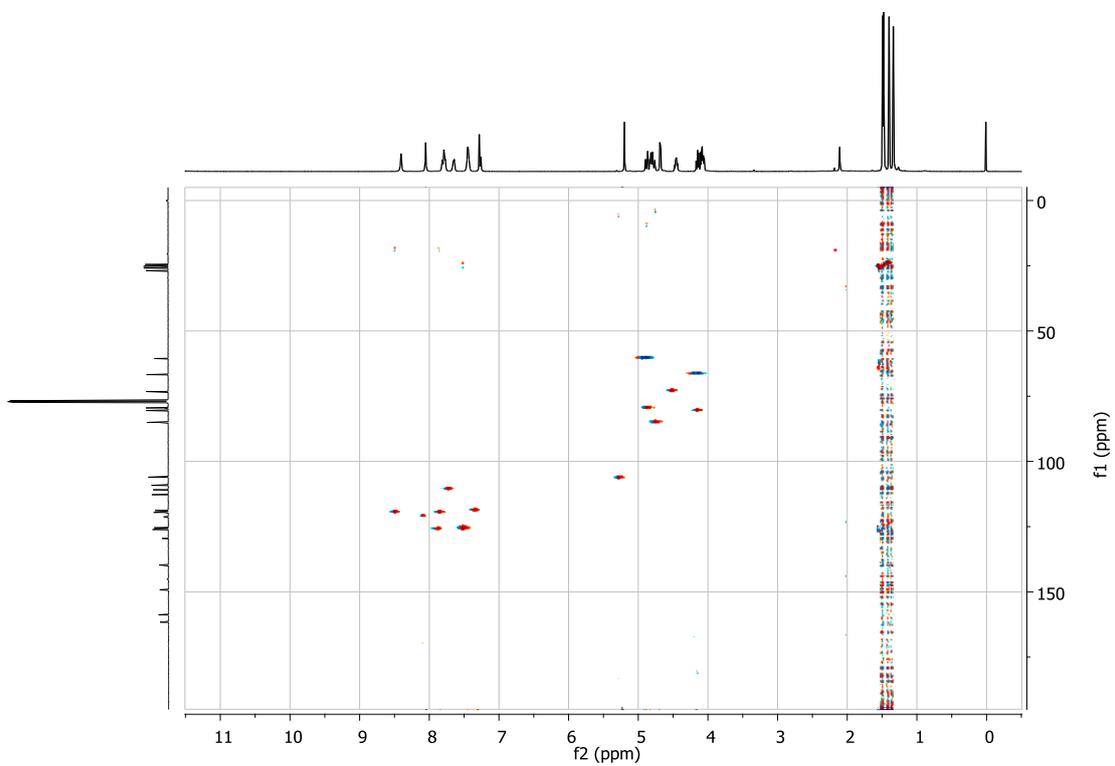
**Figura A93.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **99**.



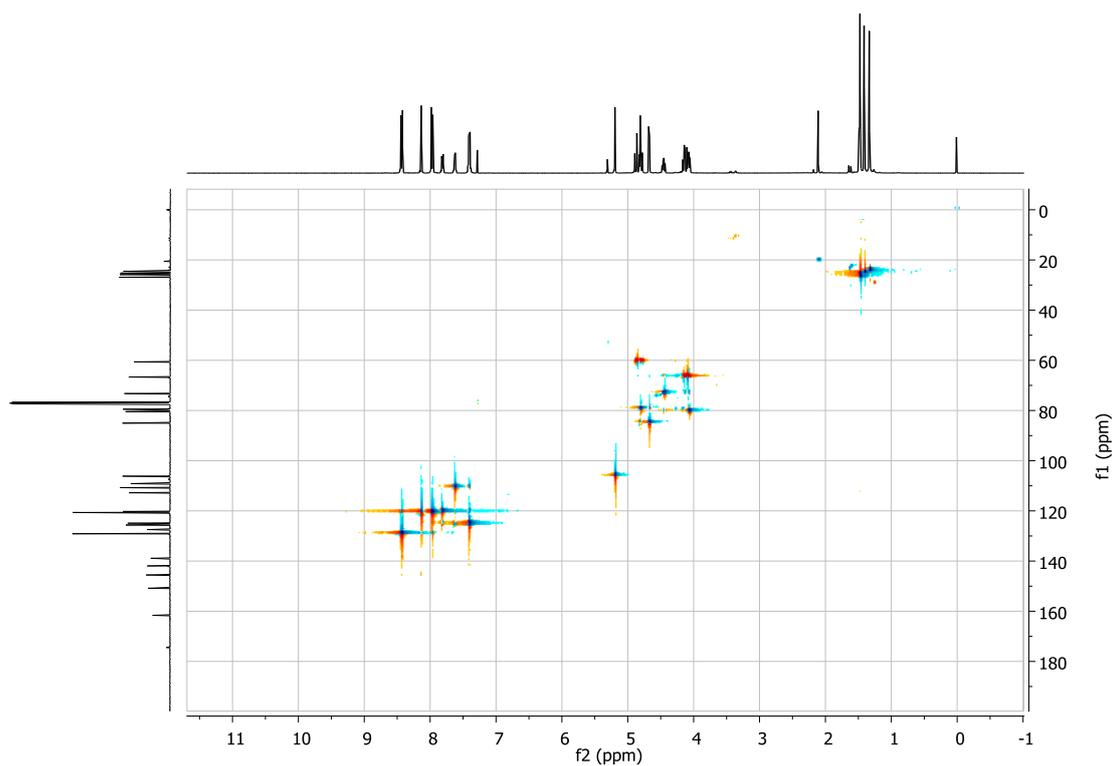
**Figura A94.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **101**.



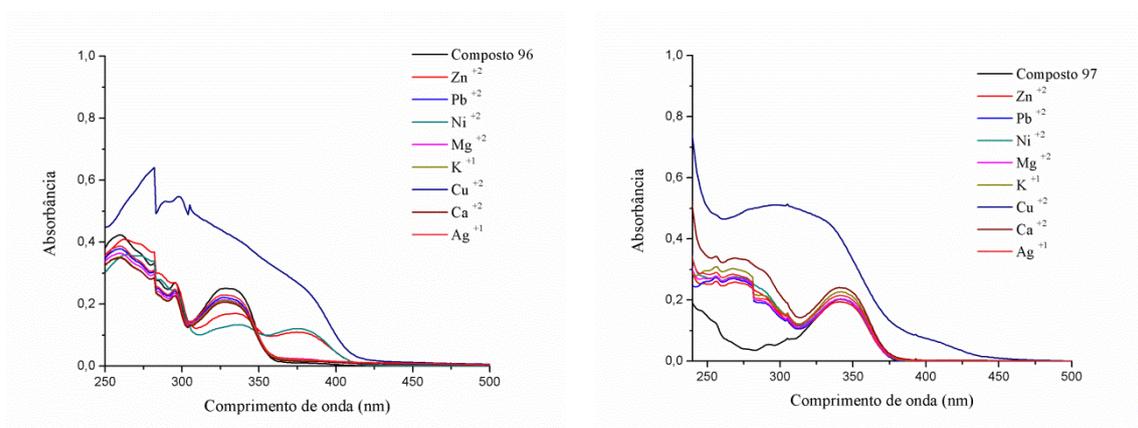
**Figura A95.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **102**.



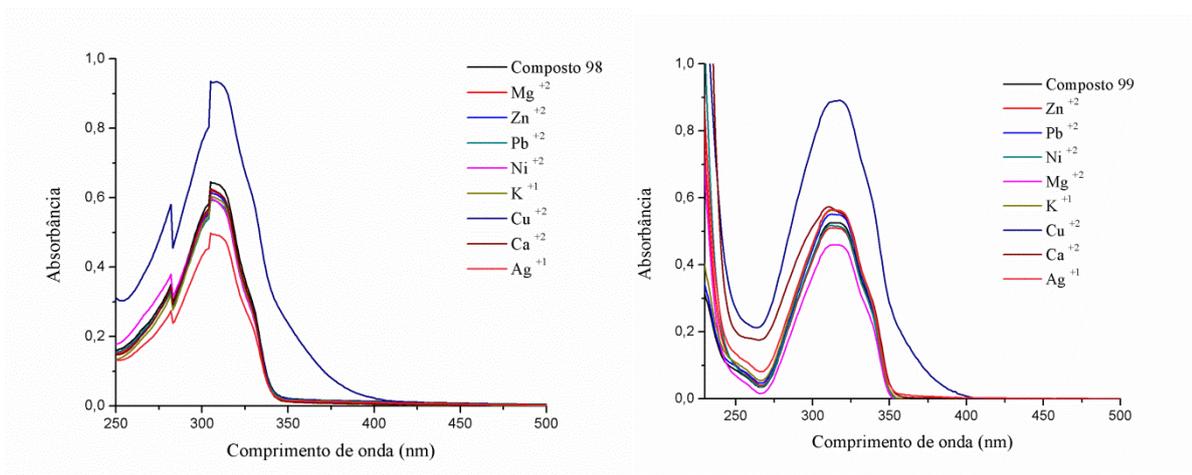
**Figura A96.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **103**.



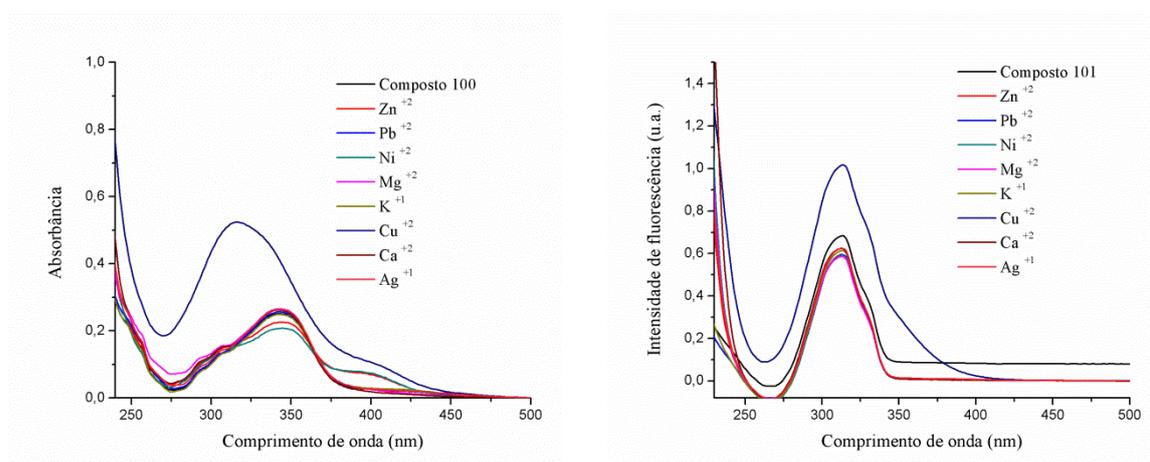
**Figura A97.** Espectro de RMN 2D HSQC do glicoconjugado **104**.



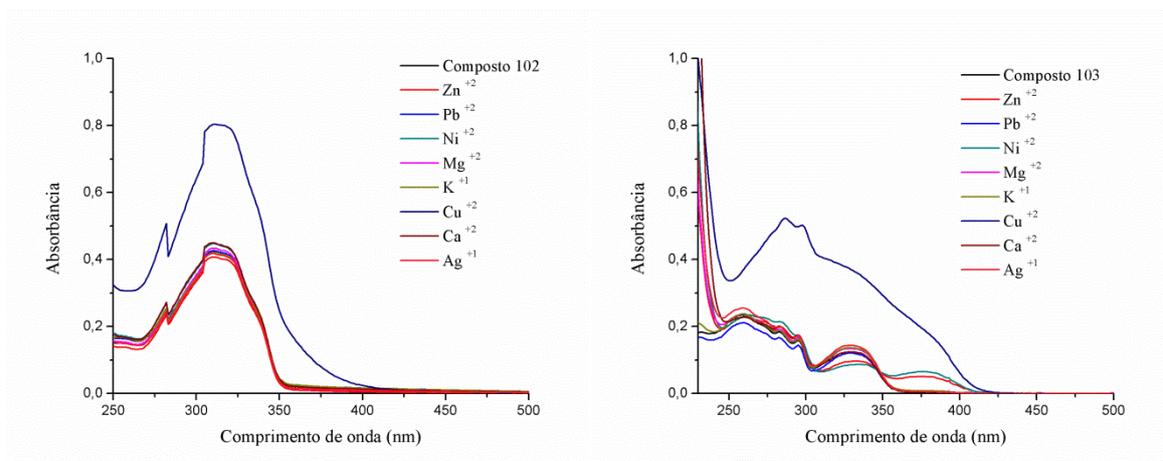
**Figura A98.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **96** e **97**.



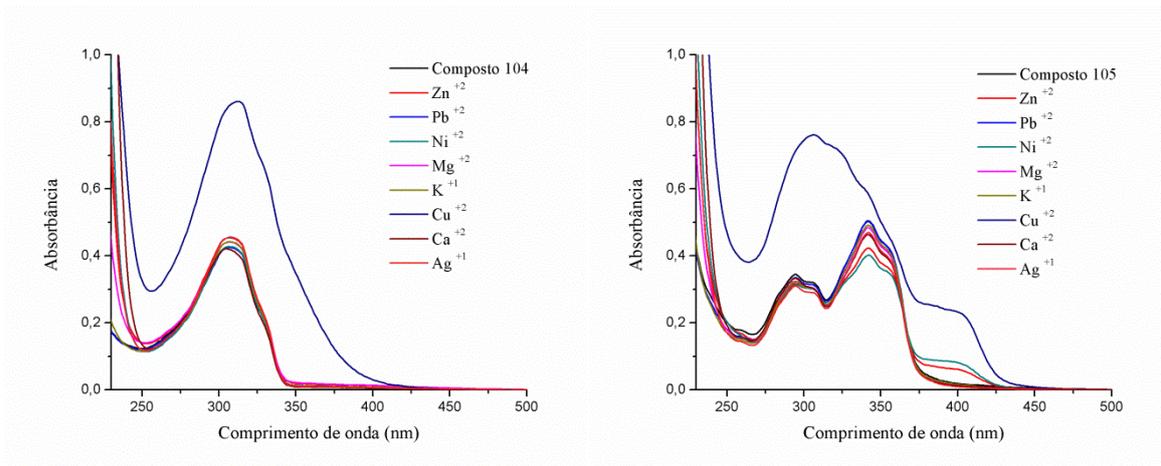
**Figura A99.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **98** e **99**.



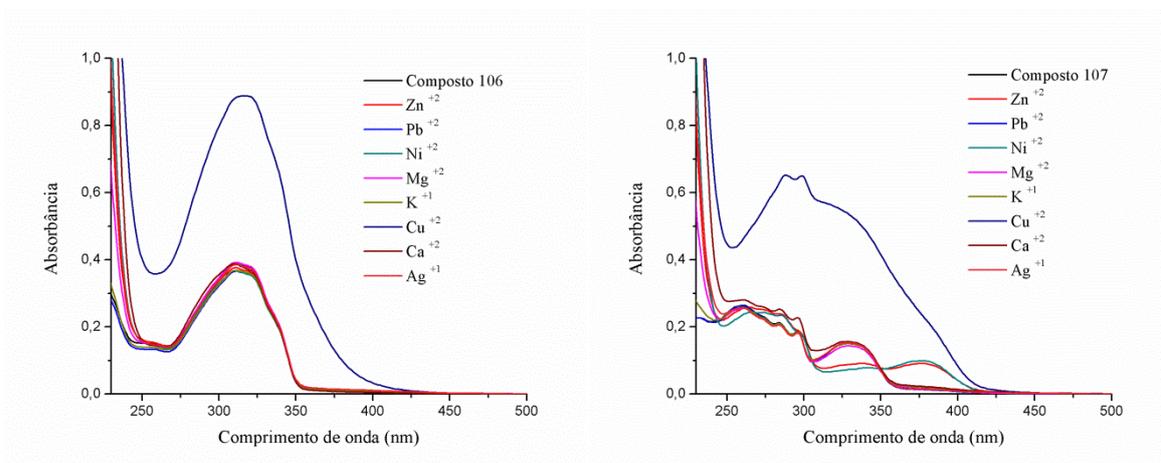
**Figura A100.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **100** e **101**.



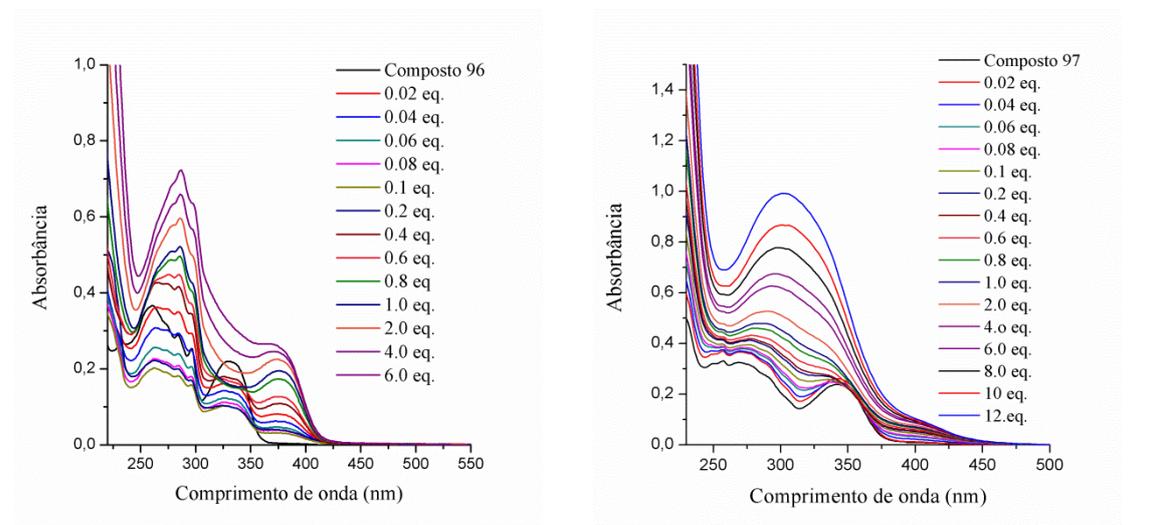
**Figura A101.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **102** e **103**.



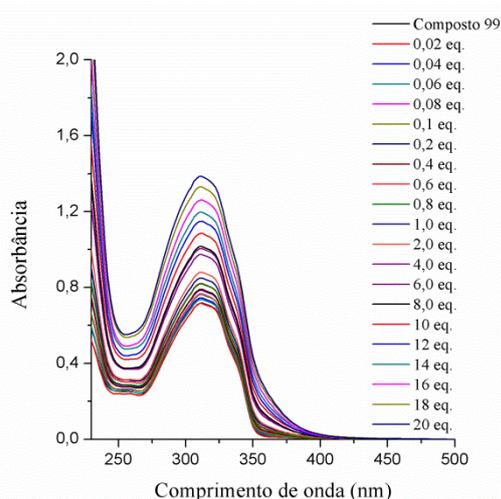
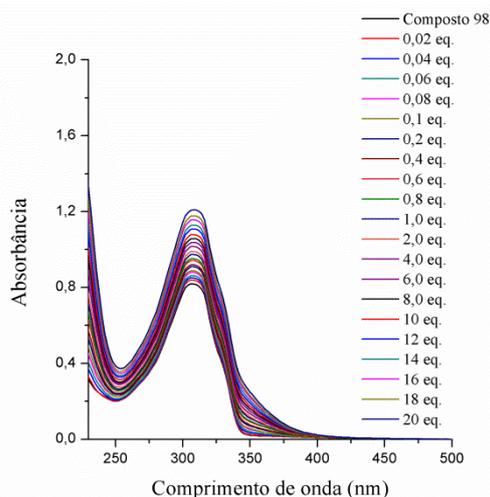
**Figura A102.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **104** e **105**.



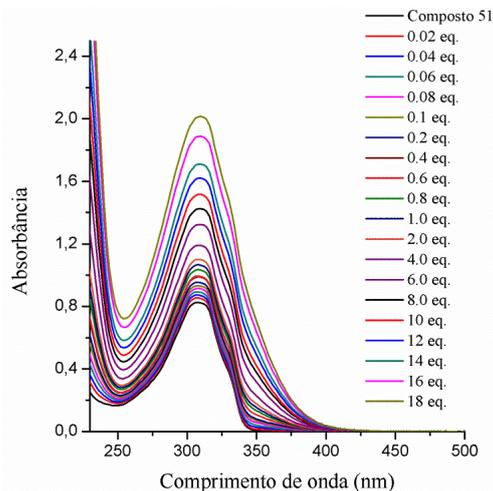
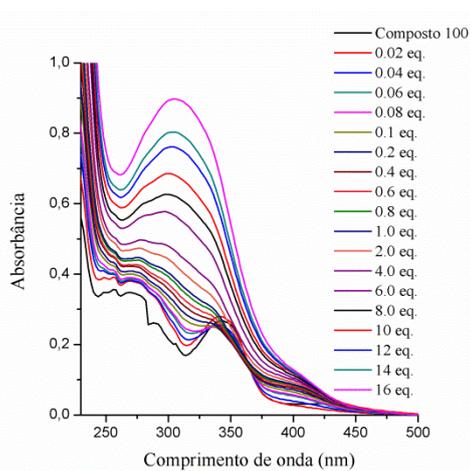
**Figura A103.** Espectros de absorção na região do UV-Vis em solução de diferentes sais de  $\text{NO}_3^-$  (20 equiv.) dos compostos **106** e **107**.



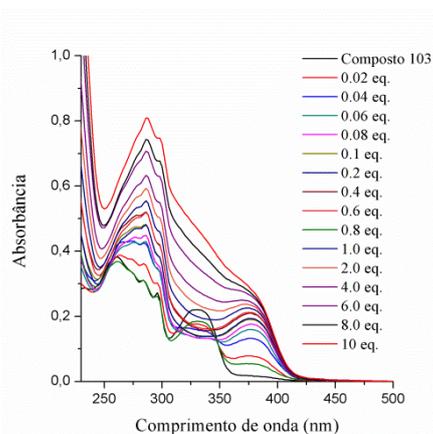
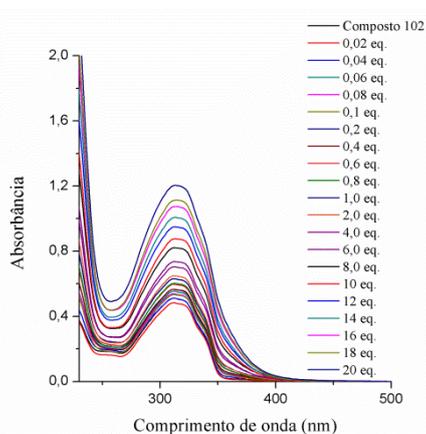
**Figura A104.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **96** e **97** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



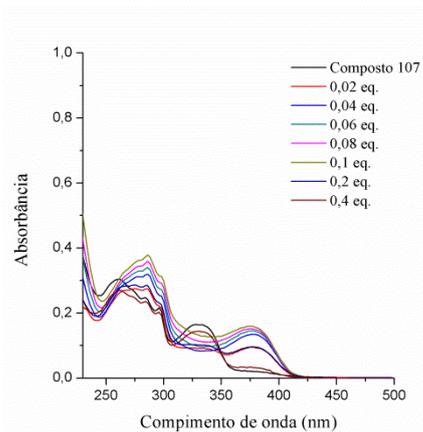
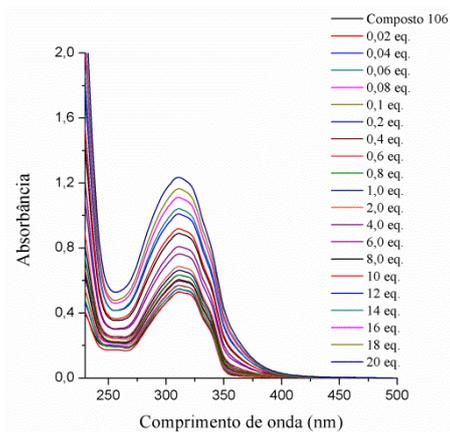
**Figura A105.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **98** e **99** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



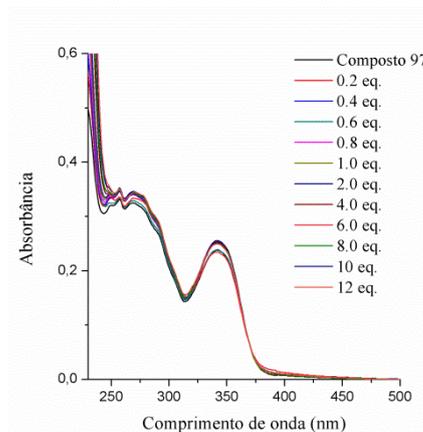
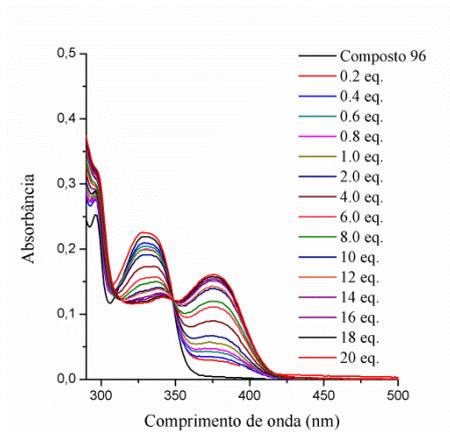
**Figura A106.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **100** e **101** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



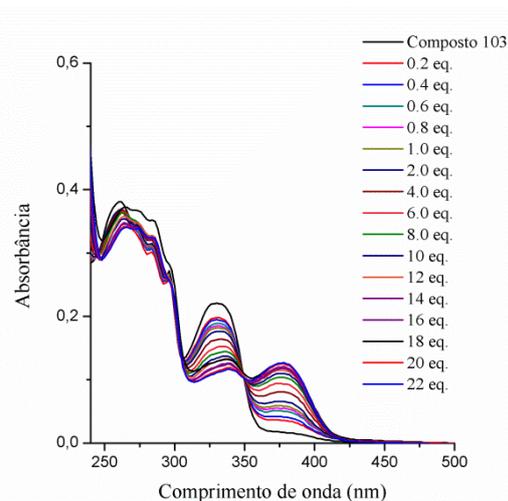
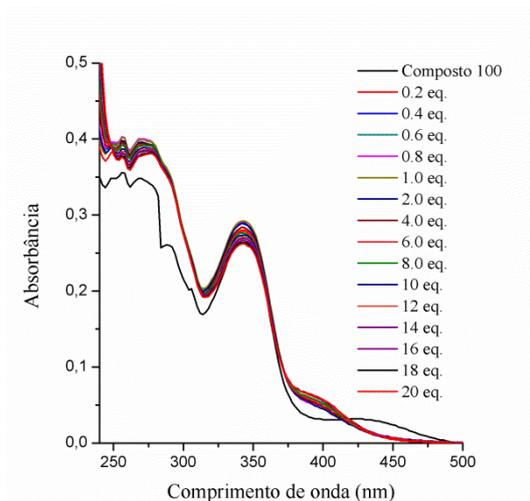
**Figura A107.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **102** e **103** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



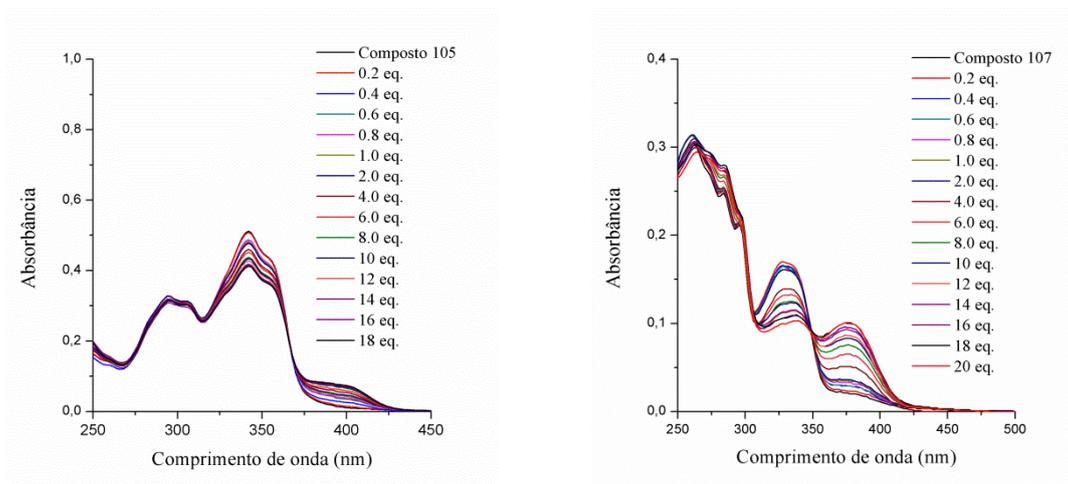
**Figura A108.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **106** e **107** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



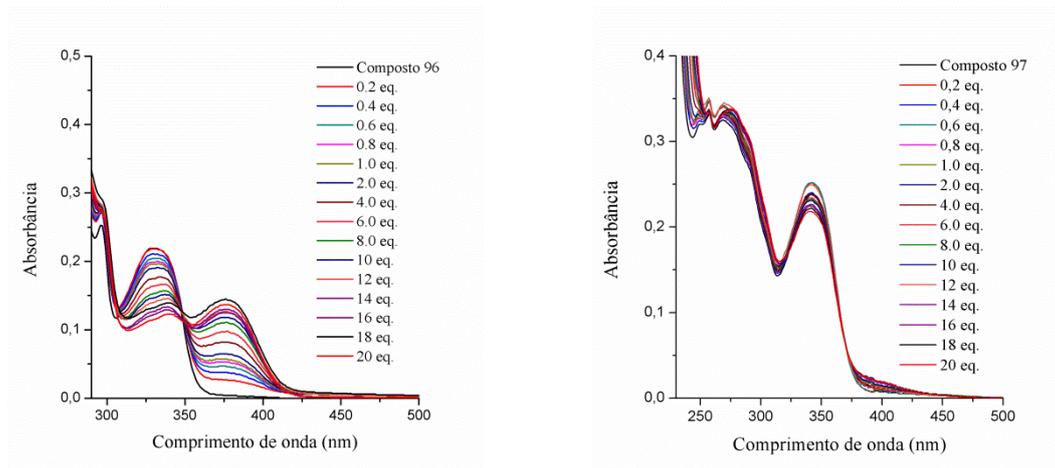
**Figura A109.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **96** e **97** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



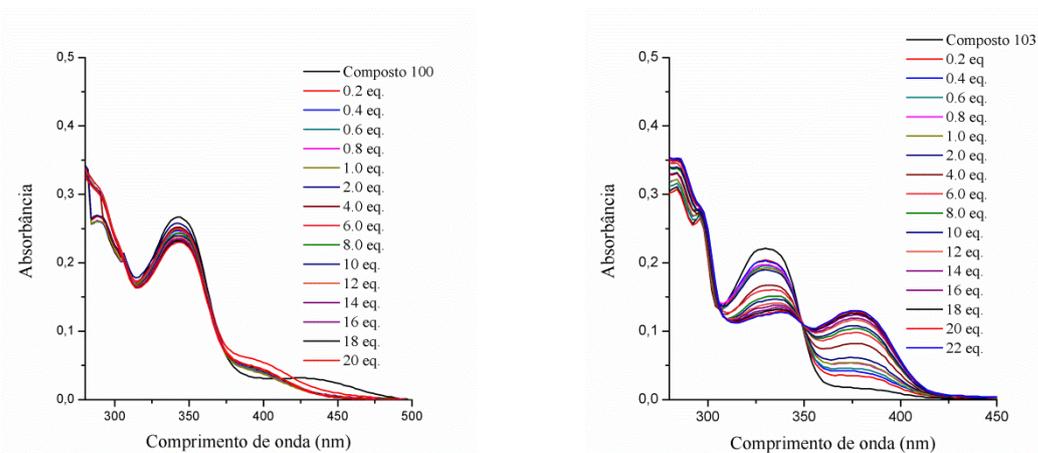
**Figura A110.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **100** e **103** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



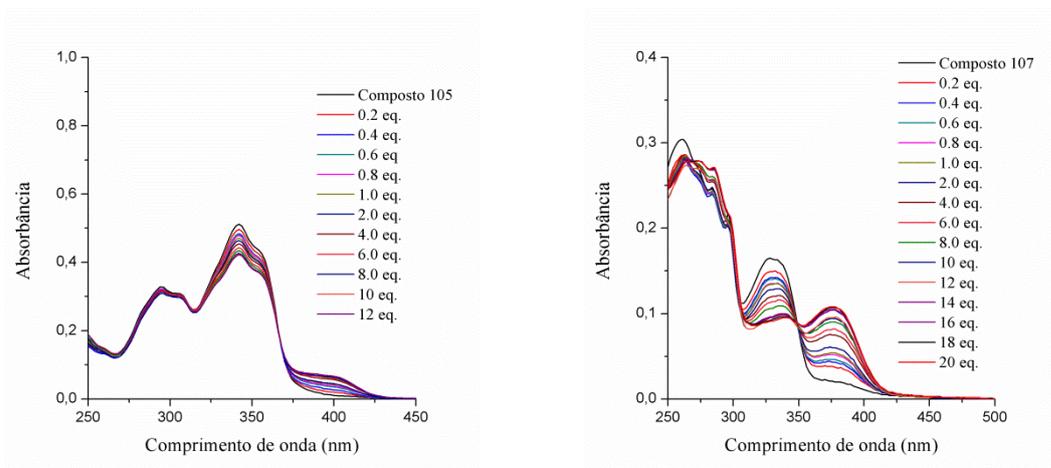
**Figura A111.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **105** e **107** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



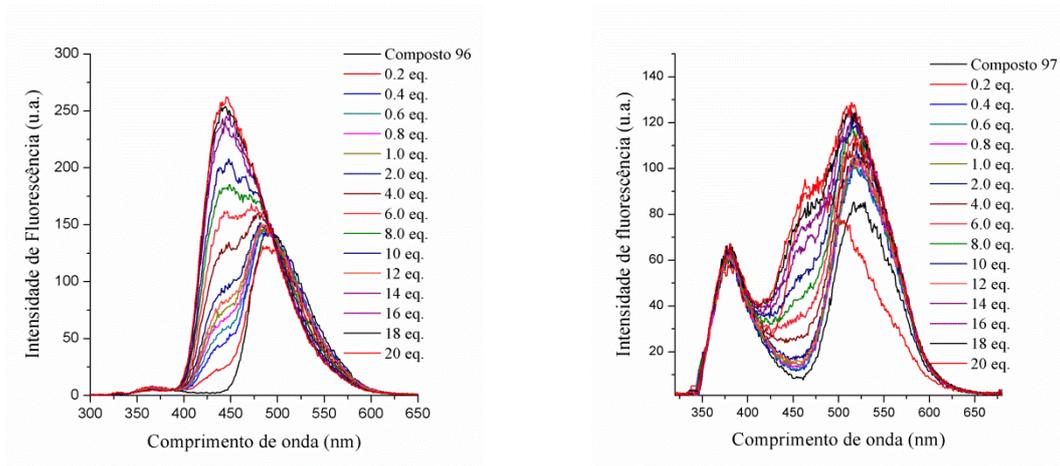
**Figura A112.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **96** e **97** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



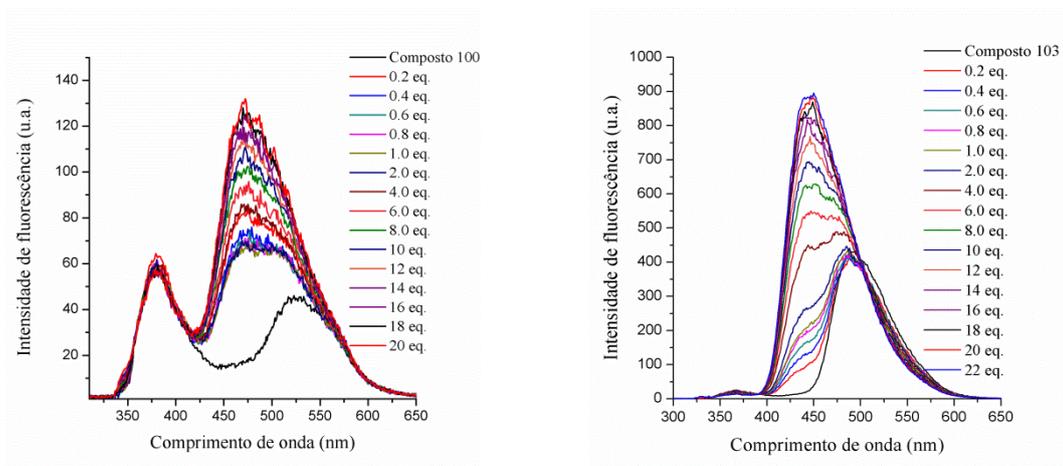
**Figura A113.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **100** e **103** na presença em diferentes equivalentes de  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  em solução de acetonitrila.



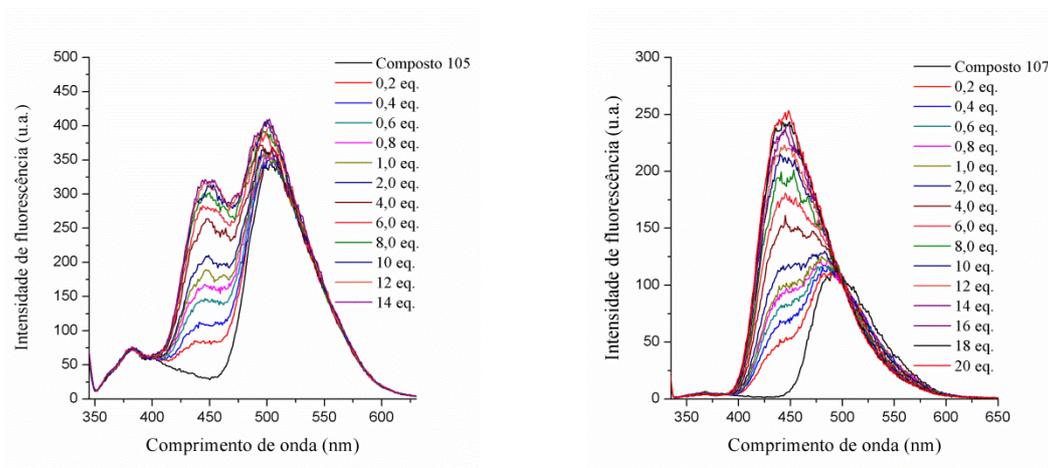
**Figura A114.** Espectros de absorção na região do UV-Vis dos compostos **105** e **107** na presença em diferentes equivalentes de  $Zn(NO_3)_2$  em solução de acetonitrila.



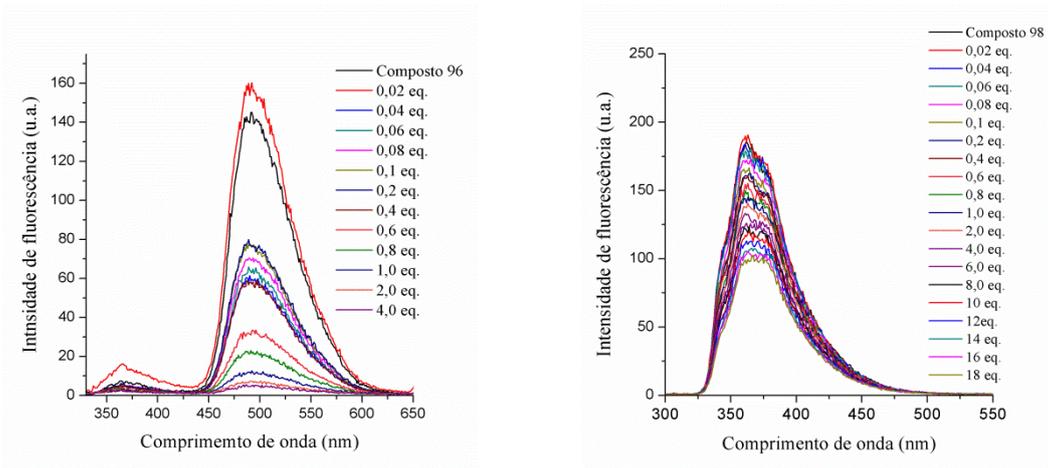
**Figura A115.** Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **96** e **97** na presença em diferentes equivalentes de  $Zn(NO_3)_2$  em solução de acetonitrila.



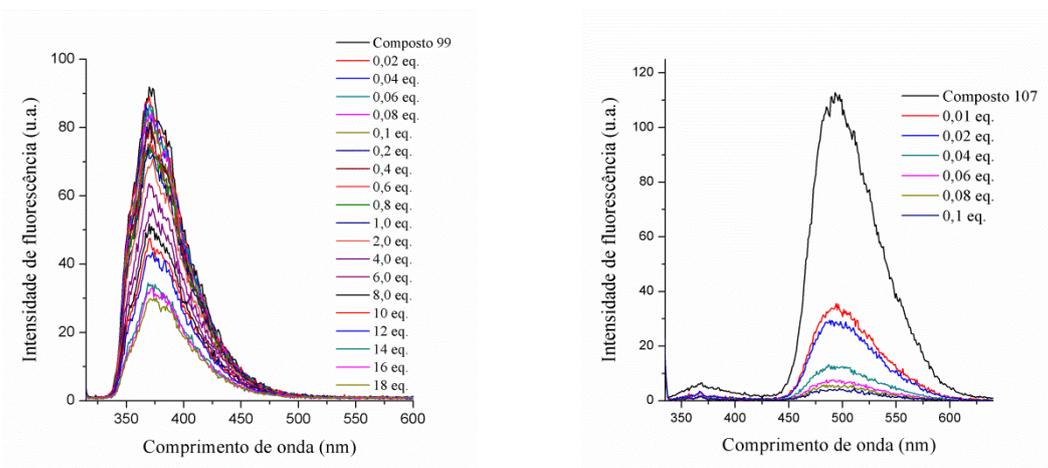
**Figura A116.** Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **100** e **103** na presença em diferentes equivalentes de  $Zn(NO_3)_2$  em solução de acetonitrila.



**Figura A117.** Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **105** e **107** na presença em diferentes equivalentes de  $Zn(NO_3)_2$  em solução de acetonitrila.



**Figura A118.** Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **96** e **98** na presença em diferentes equivalentes de  $Cu(NO_3)_2$  em solução de acetonitrila.



**Figura A119.** Espectros de emissão de fluorescência dos compostos **99** e **107** na presença em diferentes equivalentes de  $Cu(NO_3)_2$  em solução de acetonitrila.