

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

LILIAN CAMARGO DA LUZ

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FORMIL DERIVADOS  
FOTOATIVOS POR TRANSFERÊNCIA PROTÔNICA  
INTRAMOLECULAR NO ESTADO EXCITADO (ESIPT)**

Porto Alegre, agosto de 2024

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

LILIAN CAMARGO DA LUZ

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FORMIL DERIVADOS  
FOTOATIVOS POR TRANSFERÊNCIA PROTÔNICA  
INTRAMOLECULAR NO ESTADO EXCITADO (ESIPT)**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Mestre em Química

Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch  
Orientador

Porto Alegre, agosto de 2024

### CIP - Catalogação na Publicação

DA LUZ, LILIAN  
Síntese e Caracterização de Formil Derivados  
Fotoativos por Transferência Protônica Intramolecular  
no Estado Excitado (ESIPT) / LILIAN DA LUZ. -- 2024.  
208 f.  
Orientador: Fabiano Rodembusch.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de  
Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Síntese orgânica. 2. Fotoquímica orgânica. 3.  
Transferência Protônica. 4. ESIPT. 5. Sensores. I.  
Rodembusch, Fabiano, orient. II. Título.

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (setembro/2022) e (agosto/2024), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob a orientação do Professor Doutor Fabiano Severo Rodembusch. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela banca examinadora.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelas bençãos.

Agradeço aos meus pais, Lourdes e José e aos meus irmãos William e Wilson por todo apoio, suporte, amor e carinho em todos os momentos que precisei.

Agradeço ao meu orientador Fabiano pelos conselhos, oportunidades, compreensão e ajuda durante minha formação, desde a graduação e agora também na pós-graduação. Eu ainda acho que tenho o melhor orientador do mundo e nem sei se mereço tanto.

Aos alunos de iniciação científica Vitor e Vitória por me ajudarem com as sínteses e por me ensinarem coisas que vão além da ciência.

Aos meus amigos companheiros de RU, de café e de fofocas, Camila, Leonardo, Rodrigo e Alex. Obrigada pelas risadas, discussões científicas e pela ajuda nos momentos difíceis. Vocês fizeram todo esse processo ser mais leve.

Ao Alex pelas análises de massas de alta resolução.

Ao Jônatas por me motivar a escrever e por corrigir as versões iniciais deste trabalho.

Ao Leandro pela ajuda com as sínteses e com os espectros. Por me ajudar quando as coisas ficavam confusas. Por sempre me ouvir e me fazer rir com as piadas ruins. E por me ensinar tanto.

Aos colegas do laboratório 210 e a todos colegas e professores do LAMOCA.

Ao CNPq pelo financiamento da minha bolsa e aos demais órgãos de fomento CAPES e FAPERGS.

## RESUMO

Compostos fluorescentes por ESIPT têm atraído grande interesse devido às suas potenciais aplicações. Nos últimos anos, o número de publicações sobre a aplicação de sensores fluorescentes tem aumentado continuamente; contudo, poucos estudos se concentraram na síntese e caracterização destes compostos. Neste contexto, este trabalho apresenta a síntese de compostos fotoativos por ESIPT, especificamente heterociclos benzazólicos hidroxifenil substituídos, obtidos através da metodologia clássica de reação de condensação entre uma amina aromática funcionalizada e um derivado de ácido salicílico. A partir destes precursores, a metodologia de formilação de Duff possibilitou a obtenção de derivados heterociclos benzazólicos mono e bi formilados. Assim, uma série de 12 moléculas foram sintetizadas e caracterizadas. Além disso, preencheu-se uma lacuna da literatura no que se refere à caracterização espectroscópica destes compostos. As estruturas foram elucidadas de forma assertiva através de técnicas de RMN unidimensional como  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e técnicas bidimensionais como, COSY, HSQC e HMBC. A caracterização fotofísica em solução foi realizada para todos os compostos obtidos, através de medidas de absorção na região do UV-Vis, emissão de fluorescência estacionária e resolvida no tempo. Os compostos mostraram características distintas nos processos de absorção e de emissão, influenciados pelo heteroátomo, substituintes e solvente. De uma forma geral, observou-se absorção na região do ultravioleta e do visível e emissão de fluorescência entre as regiões do violeta e o verde. Estas últimas provenientes das formas enol, ceto e/ou aniônicas.

**Palavras-chave:** Benzazola, ESIPT, formil derivados, fluorescência, dupla emissão.

## ABSTRACT

Fluorescent compounds via ESIPT (Excited State Intramolecular Proton Transfer) have garnered significant interest due to their potential applications. In recent years, the number of publications on fluorescent sensors has steadily increased; however, few studies have focused on the synthesis and characterization of these compounds. In this context, our work presents the synthesis of photoactive compounds via ESIPT, specifically substituted hydroxyphenyl benzazolic heterocycles, achieved through the classical condensation reaction between a functionalized aromatic amine and a salicylic acid derivative. Using these precursors, we applied the Duff formylation methodology to obtain mono- and biformylated benzazolic heterocycle derivatives. Consequently, we synthesized and characterized a series of 12 molecules. Additionally, our research addresses a gap in the literature concerning the spectroscopic characterization of these compounds. The structures were elucidated using one-dimensional NMR techniques, such as  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ , and two-dimensional techniques, including COSY, HSQC, and HMBC. Photophysical characterization in solution was conducted for all obtained compounds through absorption measurements in the UV-Vis region, stationary fluorescence emission, and time-resolved emission. The compounds exhibited distinct characteristics in absorption and emission processes, influenced by the heteroatom, substituents, and solvent. Generally, it was observed absorption in the ultraviolet and visible regions and fluorescence emission between the violet and green regions, where the emissions were derived from the enol, keto, and/or anionic forms of the compounds.

**Keywords:** Benzazole, ESIPT, formyl derivatives, fluorescence, dual emission.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura química de diferentes sensores obtidos a partir de derivados benzazólicos formilados via modificação do grupo formil.....	18
<b>Figura 2.</b> Estrutura dos núcleos benzazólicos mais comuns. (Adaptado de Joule et al., <i>Heterocyclic Chemistry</i> . Wiley, <b>2010</b> ). .....	21
<b>Figura 3.</b> Estrutura química de heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazol. ....	21
<b>Figura 4.</b> Exemplo de moléculas com aplicações comerciais que contém o núcleo benzimidazólico. ....	22
<b>Figura 5.</b> Representação dos orbitais na estrutura de uma carbonila (Adaptado de Clayden <i>et al.</i> , <i>Organic Chemistry</i> . Oxford, <b>2012</b> ). .....	25
<b>Figura 6.</b> Diagrama de orbitais moleculares para a carbonila (Imagem: Fleming, I. <i>Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions</i> . Wiley, <b>2009</b> ). .....	26
<b>Figura 7.</b> Curva de energia potencial dos níveis eletrônicos fundamental e excitado e seus respectivos níveis vibracionais. ....	30
<b>Figura 8.</b> Banda de absorção composta por linhas de transições vibracionais e rotacionais. (Adaptado de Owen, T. <i>Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy</i> . Agilent Technologies, <b>2000</b> ). .....	31
<b>Figura 9.</b> Transições eletrônicas entre os orbitais HOMO e LUMO.....	32
<b>Figura 10.</b> Correlação linear entre absorbância e concentração. ....	33
<b>Figura 11.</b> Diagrama de Jablonski (Adaptado de Montalti et al., <i>Handbook of Photochemistry</i> . CRC Press, <b>2006</b> ). .....	34
<b>Figura 12.</b> Deslocamento de Stokes.....	35
<b>Figura 13.</b> Curva de decaimento de fluorescência. (Adaptado de Wardle, B. <i>Principles and Applications of Photochemistry</i> , Wiley, <b>2009</b> ). .....	37
<b>Figura 14.</b> Ciclo de Förster para o processo ESIPT utilizando um núcleo benzazólico como modelo e relacionado com o deslocamento da sua banda de emissão. (Sedgwick et al. <i>Chem. Soc. Rev.</i> , <b>2018</b> ). .....	38
<b>Figura 15.</b> Formas isoméricas (E <sub>I</sub> ) enol-cis, (E <sub>II</sub> ) enol-cis solvatado, (E <sub>III</sub> ) enol-trans e (E <sub>IV</sub> ) enol-trans solvatado. ....	39
<b>Figura 16.</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H (a) e de <sup>13</sup> C (b) do composto <b>3b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz e 100 MHz, respectivamente). .....	44

<b>Figura 17.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de COSY para o composto <b>3b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz).....	45
<b>Figura 18.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HSQC do composto <b>3b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	44
<b>Figura 19.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HMBC do composto <b>3b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	45
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN de (a) <sup>1</sup> H e de (b) <sup>13</sup> C do composto <b>3e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz e 100 MHz, respectivamente).....	46
<b>Figura 21.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de COSY para o composto <b>3e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz).....	47
<b>Figura 22.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HSQC do composto <b>3e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	48
<b>Figura 23.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HMBC do composto <b>3e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	49
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN de (a) <sup>1</sup> H e de (b) <sup>13</sup> C do composto <b>5b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz e 100 MHz, respectivamente).....	50
<b>Figura 25.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de COSY para o composto <b>5b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz).....	51
<b>Figura 26.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HSQC do composto <b>5b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	52
<b>Figura 27.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HMBC do composto <b>5b</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	53
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN de (a) <sup>1</sup> H e de (b) <sup>13</sup> C do composto <b>5e</b> , <i>d</i> <sub>1</sub> = 100 s em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz e 100 MHz, respectivamente).....	54
<b>Figura 29.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de COSY para o composto <b>5e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz).....	55
<b>Figura 30.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HSQC do composto <b>5e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	56
<b>Figura 31.</b> Expansão do mapa de contorno do espectro de HMBC do composto <b>5e</b> em DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> (400 MHz). .....	57
<b>Figura 32.</b> Espectro de massas de alta resolução do composto <b>5d</b> . .....	58
<b>Figura 33.</b> Espectro de massas de alta resolução do composto <b>5e</b> . .....	58
<b>Figura 34.</b> Espectro de massas de alta resolução do composto <b>5f</b> . .....	59
<b>Figura 35.</b> Lei de Lambert-Beer para os compostos benzazólicos <b>3a-3c</b> .....	60

<b>Figura 36.</b> Lei de Lambert-Beer para os compostos benzazólicos <b>3d-3f</b> . .....	61
<b>Figura 37.</b> Lei de Lambert-Beer para os compostos mono formilados <b>5a-5c</b> . .	62
<b>Figura 38.</b> Lei de Lambert-Beer para os compostos bi formilados <b>5d-5f</b> . .....	63
<b>Figura 39.</b> Espectros de absorção dos compostos benzazólicos <b>3a-3f</b> . .....	65
<b>Figura 40.</b> Espectros de absorção dos compostos formilados <b>5a-5f</b> . .....	68
<b>Figura 41.</b> Espectros de emissão de fluorescência dos compostos benzazólicos <b>3a-3f</b> . .....	72
<b>Figura 42.</b> Representação da isomerização <i>cis-trans</i> no estado excitado e suas formas de desativação. (Adaptado de Honda et al.; Bull. Chem. Soc. Jpn., <b>2016</b> ). .....	75
<b>Figura 43.</b> Espectros de emissão de fluorescência dos compostos formilados <b>5a-5f</b> . .....	76
<b>Figura 44.</b> Curvas de decaimento de fluorescência dos compostos benzazólicos <b>3a-3f</b> , onde cinza: IRF, vermelho: ajuste e preto: curva de decaimento. ....	80
<b>Figura 45.</b> Curvas de decaimento de fluorescência dos compostos benzazólico <b>5a-5f</b> , onde cinza: IRF, vermelho: ajuste e preto: curva de decaimento. ....	83

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Evolução nas metodologias de síntese de heterociclos benzazólicos.....	23
<b>Esquema 2.</b> Principais reações para a carbonila (Adaptado Carey et al., <i>Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms</i> . Springer, 2007).....	24
<b>Esquema 3.</b> Proposta de mecanismo para reação de formilação. (Adaptado de Affeldt, 2011).....	27
<b>Esquema 4.</b> Precursores benzazólicos sintetizados ( <b>3a-3f</b> ) e seus respectivos rendimentos.....	41
<b>Esquema 5.</b> Síntese do monoformilados ( <b>5a-5c</b> ) e seus respectivos rendimentos.....	42
<b>Esquema 6.</b> Síntese dos biformilados ( <b>5d-5f</b> ) e seus respectivos rendimentos. ....	43

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores de quantum de energia e o tipo de transição provocada. ...	29
<b>Tabela 2.</b> Dados fotofísicos no estado fundamental dos compostos benzazólicos <b>3a-f</b> em diferentes solventes, onde $\lambda_{\text{abs}}$ é o máximo de absorção (nm), $\epsilon$ é a absorvidade molar ( $\times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).....	66
<b>Tabela 3.</b> Dados fotofísicos no estado fundamental dos compostos formilados <b>5a-f</b> em diferentes solventes, onde $\lambda_{\text{abs}}$ é o comprimento de onda do máximo de absorção (nm), $\epsilon$ é o coeficiente de extinção molar ( $\times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). .....	69
<b>Tabela 4.</b> Dados fotofísicos do estado excitado para as benzazolas metiladas <b>3a-3c</b> , onde $\lambda_{\text{abs}}$ é o comprimento de onda do máximo de absorção (nm), $\epsilon$ é o coeficiente de extinção molar ( $\times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), $\lambda_{\text{em}}$ é o comprimento de onda do máximo de emissão (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (nm) e $\Phi_{\text{F}}$ é o rendimento quântico de fluorescência.....	73
<b>Tabela 5.</b> Dados fotofísicos do estado excitado para as benzazolas não metiladas <b>3d-3f</b> , onde $\lambda_{\text{abs}}$ é o comprimento de onda do máximo de absorção (nm), $\epsilon$ é o coeficiente de extinção molar ( $\times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), $\lambda_{\text{em}}$ é o comprimento de onda do máximo de emissão (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (nm) e $\Phi_{\text{F}}$ é o rendimento quântico de fluorescência. ....	74
<b>Tabela 6.</b> Dados fotofísicos do estado excitado para os compostos mono formilados <b>5a-5c</b> , onde $\lambda_{\text{abs}}$ é o comprimento de onda do máximo de absorção (nm), $\epsilon$ é o coeficiente de extinção molar ( $\times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), $\lambda_{\text{em}}$ é o comprimento de onda do máximo de emissão (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (nm) e $\Phi_{\text{F}}$ é o rendimento quântico de fluorescência. ....	77
<b>Tabela 7.</b> Dados fotofísicos do estado excitado para os compostos biformilados <b>5d-5f</b> , onde $\lambda_{\text{abs}}$ é o comprimento de onda do máximo de absorção (nm), $\epsilon$ é o coeficiente de extinção molar ( $\times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), $\lambda_{\text{em}}$ é o comprimento de onda do máximo de emissão (nm), $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes (nm) e $\Phi_{\text{F}}$ é o rendimento quântico de fluorescência.....	78
<b>Tabela 8.</b> Dados fotofísicos da espectroscopia de emissão de fluorescência dinâmica dos compostos benzazólicos <b>3a-3f</b> , onde $\tau$ é o tempo de vida	

experimental (ns),  $k_r$  ( $\times 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) e  $k_{nr}$  ( $\times 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) são as constantes de decaimento radiativo e não-radiativo e  $\chi^2$  determina a qualidade do ajuste exponencial..... 81

**Tabela 9.** Dados fotofísicos da espectroscopia de emissão de fluorescência dinâmica dos compostos formilados **5a-5f**. onde  $\tau$  é o tempo de vida experimental (ns),  $k_r$  ( $\times 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) and  $k_{nr}$  ( $\times 10^8 \text{ s}^{-1}$ ) são as constantes de decaimento radiativo e não-radiativo e  $\chi^2$  determina a qualidade do ajuste exponencial. .... 84

## SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Abs	Absorção
APF	Ácido polifosfórico
COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$	<i>Correlated Spectroscopy</i>
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
Em	Emissão de fluorescência
ESIPT	<i>Excited State Intramolecular Proton Transfer</i> (em português: Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado)
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> (em português: Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia)
HMBC $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$	<i>Heteronuclear Multiple-Bond Correlation</i> (em português: Correlação Heteronuclear de Ligações Múltiplas)
HSQC $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> (em português: Correlação Quântica Heteronuclear Única)
Hz	Hertz
ICT	<i>Intramolecular Charge Transfer</i> (em português: Transferência de Carga Intramolecular)
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> (em português: Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia)
m	Multiplete
MHz	$10^6$ Hertz
nm	Nanômetro
ns	Nanosegundos
pH	Potencial hidrogeniônico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto

$\text{sl}$	Simpleto largo
$\tau$	Tempo de decaimento de fluorescência experimental
$\epsilon$	Coeficiente de absorvidade molar
$\chi^2$	Chi quadrado
$\delta$	Deslocamento químico
$\Phi$	Rendimento quântico
$\lambda_{\text{Abs}}$	Comprimento de onda do máximo de absorção
$\lambda_{\text{Em}}$	Comprimento de onda do máximo de emissão
$\Delta\lambda_{\text{ST}}$	Deslocamento de Stokes

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	20
2.1 Geral .....	20
2.2 Específico .....	20
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	21
3.1 Heterociclos benzazólicos .....	21
3.2 Síntese de heterociclos benzazólicos utilizando ácido polifosfórico .....	22
3.3 Reatividade de aldeídos .....	24
3.4 Formação de compostos aromáticos .....	26
3.5 Fotofísica.....	28
3.5.1 <i>Absorção de luz</i> .....	28
3.5.2 <i>Emissão de fluorescência</i> .....	33
3.5.3 <i>Rendimento quântico de fluorescência</i> .....	35
3.5.4 <i>Tempo de decaimento de fluorescência</i> .....	36
3.5.5 <i>Transferência protônica intramolecular no estado excitado</i> .....	37
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
4.1 Síntese dos precursores benzazólicos .....	40
4.2 Síntese dos derivados formilados .....	41
4.3 Caracterização espectroscópica.....	43
4.3.1 <i>Ressonância Magnética Nuclear</i> .....	43
4.3.1.1 <i>2-(2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzimidazol</i> .....	44
4.3.1.2 <i>2-(2'-hidroxifenil)benzimidazol</i> .....	46
4.3.1.3 <i>2-(5'-formil-2'-hidroxi-3'-metilfenil)benzimidazol</i> .....	50
4.3.1.4 <i>2-(3',5'-biformil-2'-hidroxifenil) benzimidazol</i> .....	54
4.3.2 <i>Massas de alta resolução</i> .....	58
4.4 Caracterização fotofísica.....	59
4.4.1 <i>Absorção no UV-Vis</i> .....	59
4.4.2 <i>Emissão de fluorescência</i> .....	70
4.4.3 <i>Resolução temporal</i> .....	79
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	85
<b>6. EXPERIMENTAL</b> .....	87

6.1 Materiais e métodos .....	87
6.1.1 Solventes e reagentes .....	87
6.1.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear .....	87
6.1.3 Ponto de fusão .....	87
6.1.4 Espectrometria de massas de alta resolução.....	87
6.1.5 Estudos fotofísicos .....	88
6.2 Síntese e caracterização dos compostos.....	88
6.2.1 Síntese dos precursores benzazólicos.....	88
6.2.2 Síntese dos formilados.....	90

## 1. INTRODUÇÃO

Um sensor fotoativo, geralmente pode ser visualizado a partir da combinação de duas partes, uma porção de reconhecimento e uma sinalizadora, mas que trabalham de maneira sinérgica. A unidade de reconhecimento é a que deverá interagir diretamente com o analito. Por outro lado, a porção sinalizadora, que é a unidade fotoativa, é a que irá sofrer mudanças em suas propriedades fotoquímicas em consequência desta nova interação.<sup>1,2</sup>

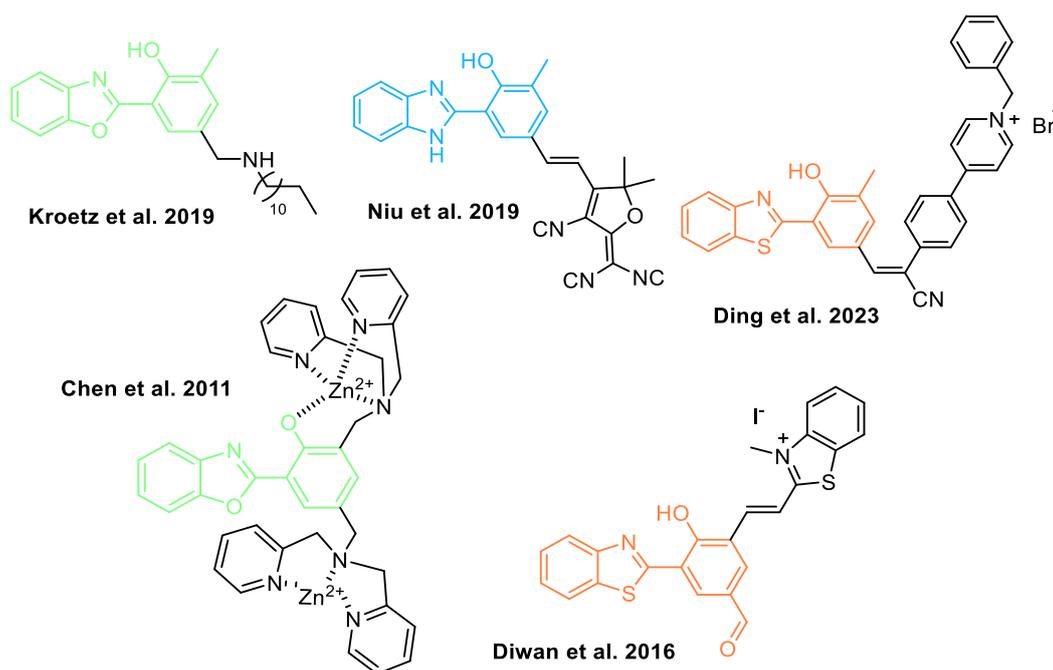
Neste contexto, dentre as diversas estruturas fotoativas existentes, os compostos benzazólicos hidroxifenil substituídos apresentam-se como potenciais unidades sinalizadoras, devido ao processo de ESIPT.<sup>3,4</sup> Estes são conhecidos pelas suas ótimas propriedades fotofísicas<sup>5</sup> como intensa emissão de fluorescência no estado sólido, grande deslocamento de Stokes,<sup>6</sup> elevada estabilidade térmica e fotoquímica.<sup>7-10</sup>

A presença de um grupo formil em um sistema aromático como este em questão, tem por objetivo explorar a sua funcionalidade. Isso facilita o design de novos compostos fluorescentes,<sup>11,12</sup> permitindo por exemplo, o desenvolvimento de estruturas mais seletivas e com melhor solubilidade. Além disso, combina características interessantes de grupos funcionais, ampliando o escopo de aplicação das novas moléculas sintetizadas.<sup>13-17</sup>

A literatura já traz exemplos de sensores fluorescentes obtidos a partir de precursores mono e bi formilados como mostrado na **Figura 1**. Kroetz e colaboradores<sup>18</sup> obtiveram aminas lipofílicas fluorescentes utilizados como marcadores de lipossomas. Niu e colaboradores<sup>19</sup> relatam um novo sensor fluorescente para SO<sub>2</sub>, mais seletivo e sensível que os sensores já existentes obtido a partir de um precursor mono formilado onde a unidade de reconhecimento é um derivado do dihidrofurano. Em 2023 Ding e colaboradores<sup>20</sup> relatam uma sonda fluorescente anfifílica que apresentou excelente biocompatibilidade para marcação de exossomas em células de câncer gástrico.

Chen e colaboradores<sup>21</sup> em 2011 relatam uma sonda fluorescente obtida a partir de um derivado bi formilado em que um complexo binuclear de zinco e

bispiridilmetilamina acaba por impedir o processo ESIPT e suprimir a fluorescência da molécula, mas que na presença de pirofosfato, restabelece o processo de ESIPT tornando o meio fluorescente. Ainda, Diwan e colaboradores<sup>22</sup> em 2016 também relatam um precursor bi formilado que possibilitou a criação de uma combinação entre o mecanismo de ICT e o processo de ESIPT após a inserção de uma unidade benzotiazólica e ainda manter um sítio eletrofílico, ou seja, grupo aldeído livre, para o ataque seletivo de cisteína.



**Figura 1.** Estrutura química de diferentes sensores obtidos a partir de derivados benzazólicos formilados via modificação do grupo formil.

Nesta perspectiva, é claro que o desenvolvimento de sensores fluorescentes baseados no processo de ESIPT continuará a ser desafiador e promissor. A evolução das técnicas de medição, juntamente com propriedades de direcionamento aprimoradas, grupos de reconhecimento eficientes e excelentes propriedades fotofísicas, são fundamentais para o avanço nesta área.<sup>23-27</sup>

Os estudos sobre sensores fluorescentes aplicados a diferentes sistemas envolvem tanto pesquisas teóricas quanto experimentais, além do entendimento de seus mecanismos de ação e aplicabilidade. É necessário realizar estudos cada vez mais abrangentes. O desenvolvimento de pesquisas para entender

melhor o processo ESIPT, que pode ser uma ferramenta poderosa para diversas aplicações, é crucial. Assim, novas pesquisas para aprimorar desde a técnica de espectroscopia de fluorescência até o entendimento estrutural destes sensores são essenciais para produzir mecanismos de detecção mais eficientes.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Síntese e caracterização de heterociclos aromáticos formilados reativos a transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT).

### **2.2 Específico**

I. Síntese dos precursores 2-(2'-hidroxifenil)benzazóis através de uma metodologia previamente estabelecida na literatura.

II. Derivatização a partir da formilação para a obtenção de compostos mono e bi formilados.

III. Realizar um estudo sistemático para a caracterização das estruturas destas moléculas através de experimentos de correlação homonuclear COSY e heteronuclear HMBC e HSQC.

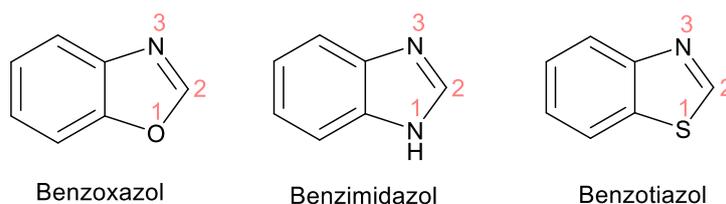
IV. Caracterização fotofísica em solução através de medidas de absorção na região do UV-Vis, emissão de fluorescência estacionária e resolvida no tempo.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Heterociclos benzazólicos

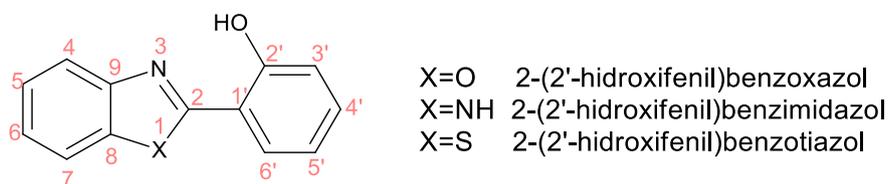
Compostos heterocíclicos são caracterizados por possuírem uma estrutura cíclica, onde pelo menos um dos átomos de carbono é substituído por um heteroátomo, sendo os mais comuns o oxigênio, nitrogênio e o enxofre.<sup>28,29</sup>

Os heterociclos benzazólicos são sistemas bicíclicos nos quais um anel benzênico está fundido a um anel azólico. Como ilustrado na **Figura 2** o anel azólico contém dois heteroátomos, localizados nas posições 1 e 3, sendo o nitrogênio sempre o heteroátomo da posição 3. A variação do heteroátomo na posição 1 resulta em diferentes derivados, os quais, de acordo com o sistema de nomenclatura de Hantzsch-Widman,<sup>29</sup> são comumente chamados de benzoxazóis quando X=O, benzimidazóis quando X=NH e benzotiazóis quando X=S.



**Figura 2.** Estrutura dos núcleos benzazólicos mais comuns. (Adaptado de Joule *et al.*, *Heterocyclic Chemistry*. Wiley, 2010).

Ao introduzir um grupo fenila na posição 2 do anel azólico, mantendo a hidroxila na posição *ortho*, obtemos estruturas do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazol.<sup>30</sup> Como representado na **Figura 3**.



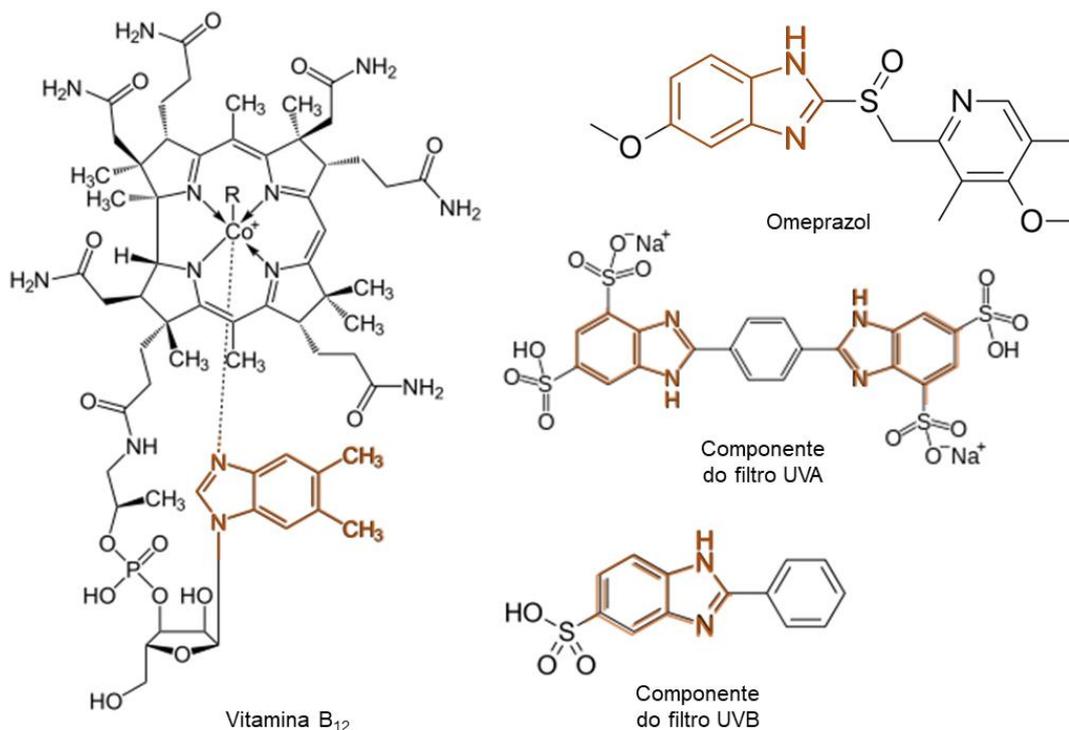
**Figura 3.** Estrutura química de heterociclos do tipo 2-(2'-hidroxifenil)benzazol.

Este tipo de arquitetura, a serem exploradas neste trabalho, são interessantes pois apresentam as condições necessárias para a ocorrência de

transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT). Fluoróforos responsivos ao ESIPT possuem propriedades fotofísicas notáveis como grande deslocamento de Stokes, resultando na redução de fenômenos como auto absorção ou efeito de filtro interno. Isto, por sua vez, intensifica a fluorescência observada deste tipo de fluoróforo. É importante ressaltar que o deslocamento de Stokes não é facilmente alterado por modificações químicas, reafirmando esta característica relevante dos compostos reativos ao ESIPT.<sup>31-36</sup>

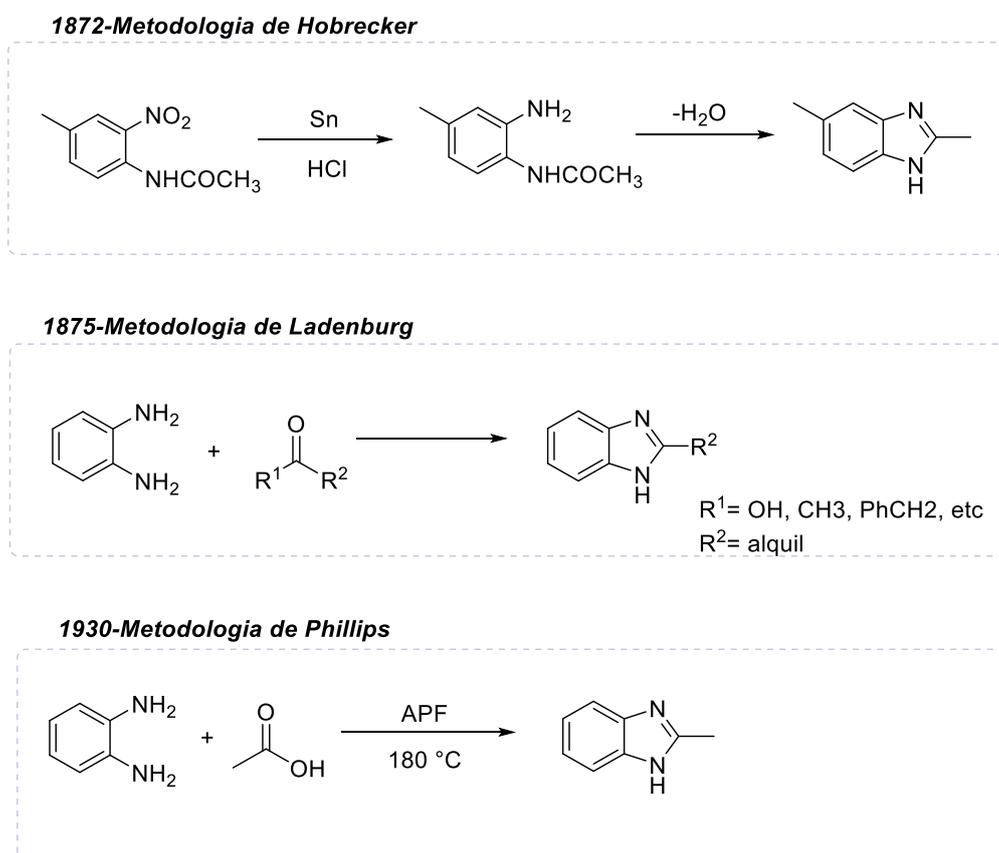
### 3.2 Síntese de heterociclos benzazólicos utilizando ácido polifosfórico

A descoberta, em 1950, de um núcleo benzimidazólico na estrutura da vitamina B<sub>12</sub> despertou o interesse pelo estudo da atividade biológica destes compostos.<sup>37-39</sup> Desde então a versatilidade desse núcleo tem sido amplamente demonstrada. Temos exemplos da presença de um núcleo benzimidazólico compondo a estrutura de moléculas aplicadas como agente anti-ulcerativo, o omeprazol. Outra aplicação comercial de derivados benzimidazólicos é como protetor solar para raios UVA e UVB,<sup>40</sup> como apresentado na **Figura 4**.



**Figura 4.** Exemplo de moléculas com aplicações comerciais que contém o núcleo benzimidazólico.

Em um contexto histórico, como mostrado no **Esquema 1**, o primeiro derivado benzazólico foi preparado em 1872 por Hobrecker, que obteve 2,5-dimetilbenzimidazol pela redução de 2-nitro-4-metilacetanilida, porém com um rendimento muito baixo. Em 1875 o grupo de pesquisa Ladenburg estudou a síntese de derivados de benzimidazol pela condensação entre o-amino anilina e compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas).<sup>41,42</sup> Posteriormente, em meados de 1930, Phillips agregou ainda mais a preparação de Ladenburg adicionando um ácido mineral a reação, o ácido polifosfórico (APF), que atua como solvente, catalisador e agente de condensação.<sup>43-45</sup> Este método permite a obtenção de diversos derivados benzazólicos pela condensação entre uma o-anilina substituída e um ácido carboxílico.<sup>46-48</sup>



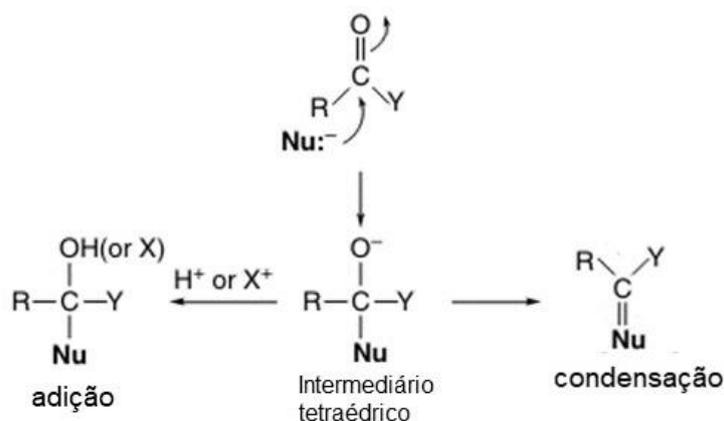
**Esquema 1.** Evolução nas metodologias de síntese de heterociclos benzazólicos.

Esta síntese quase que centenária ainda é um método eficiente para a obtenção de derivados benzazólicos. Muitos métodos foram relatados para a

síntese de benzimidazóis, sendo a maioria deles envolvendo uma reação de condensação, mas tentando aplicar condições reacionais mais brandas e menor tempo de reação, entretanto são economicamente inviáveis.<sup>49,50</sup> Cabe ressaltar que a alta viscosidade, bem como a composição complexa formada no meio reacional com o APF somado ao fato de que a reação ocorre a altas temperaturas dificulta a investigação do mecanismo envolvido na síntese das benzazolas. Existe apenas uma proposta de intermediários formados durante a reação para a formação do benzoxazol relatada por So e Hassen, em 1997, utilizando espectroscopia de RMN de <sup>31</sup>P e de <sup>13</sup>C a 100 °C.<sup>51-53</sup>

### 3.3 Reatividade de aldeídos

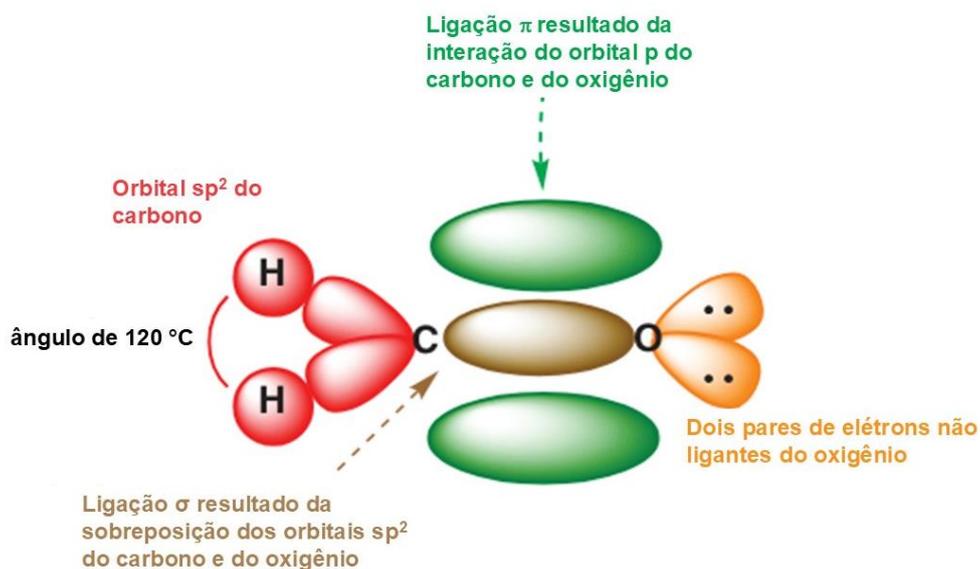
O aldeído é uma função orgânica caracterizada pela presença de uma carbonila (C=O), onde, o carbono fará uma ligação dupla com o oxigênio, uma outra ligação com um átomo de hidrogênio e, outra ligação com outro átomo de carbono. Como apresentado no **Esquema 2**, os aldeídos participam de reações de adição e condensação, e sua reatividade está diretamente ligada ao grupo carbonila.<sup>54</sup>



**Esquema 2.** Principais reações para aldeídos (Adaptado Carey *et al.*, *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*. Springer, **2007**).

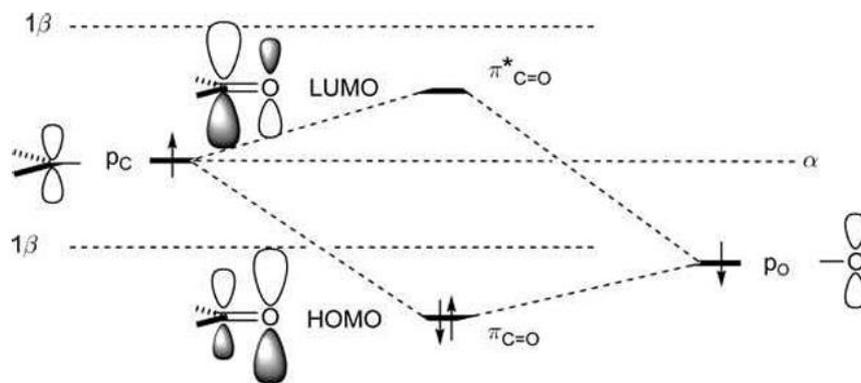
O grupo carbonila é formado por uma ligação dupla entre um carbono e um oxigênio, ambos hibridizados sp<sup>2</sup>. Para melhor entendimento da estrutura do grupo carbonila, deve-se olhar para os orbitais moleculares formados para que esse grupo exista, como representado na **Figura 5**. A ligação σ é consequência

da sobreposição frontal dos orbitais atômicos (OA)  $sp^2$  do carbono e oxigênio. A ligação  $\pi$  forma-se através da interação lateral dos OA p puros do carbono e oxigênio.<sup>55</sup>



**Figura 5.** Representação dos orbitais na estrutura de uma carbonila (Adaptado de Clayden *et al.*, *Organic Chemistry*. Oxford, 2012).

Na **Figura 6** é apresentado o diagrama de orbitais atômicos da carbonila. O orbital  $p_x$  do oxigênio é colocado em um nível um pouco mais abaixo do orbital  $p_x$  do carbono, pois o oxigênio é ligeiramente mais eletronegativo, a energia de um orbital no oxigênio é  $-15,9$  eV enquanto que a do carbono é  $-10,7$  eV. Os dois elétrons da ligação ficam no orbital molecular ligante de maior energia (HOMO), o oxigênio mais eletronegativo e mais próximo ao HOMO é o átomo que terá maior contribuição para este orbital. O orbital antiligante de menor energia (LUMO) fica vazio, mais próximo em energia dos orbitais do carbono sendo este o de maior contribuição.<sup>56</sup>



**Figura 6.** Diagrama de orbitais moleculares para a carbonila (Imagem: Fleming, I. *Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions*. Wiley, 2009).

O LUMO da carbonila é o  $OM_{\pi^*}$ . Este orbital possui maior contribuição do carbono que é, portanto, o átomo eletrofílico. O ataque de um nucleófilo à carbonila ocorre na parte maior do  $OM_{\pi^*}$  (no carbono) e rompe a ligação  $\pi$  C-O. A protonação da carbonila aumenta o seu caráter eletrofílico, pois diminui a energia do LUMO e aumenta a contribuição do carbono nesse orbital. A protonação ocorre no oxigênio através de seus pares de elétrons não compartilhados.

Em muitas reações em grupos carbonila, uma etapa fundamental é a adição de um nucleófilo, que gera um átomo de carbono tetra coordenado. O ataque de um nucleófilo à carbonila ocorre em um ângulo de  $107^\circ$  em relação a ligação dupla C=O. Essa rota é chamada de trajetória de Bürgi-Dunitz,<sup>57</sup> este é o ângulo para a máxima sobreposição entre o HOMO do nucleófilo e o LUMO da C=O e a mínima repulsão do HOMO do nucleófilo com a densidade eletrônica da ligação C=O. O curso geral da reação é então determinado pelo destino deste intermediário tetraédrico. A adição ocorre quando o intermediário tetraédrico segue diretamente para o produto. A condensação ocorre se o oxigênio da carbonila é eliminado e uma ligação dupla é formada.

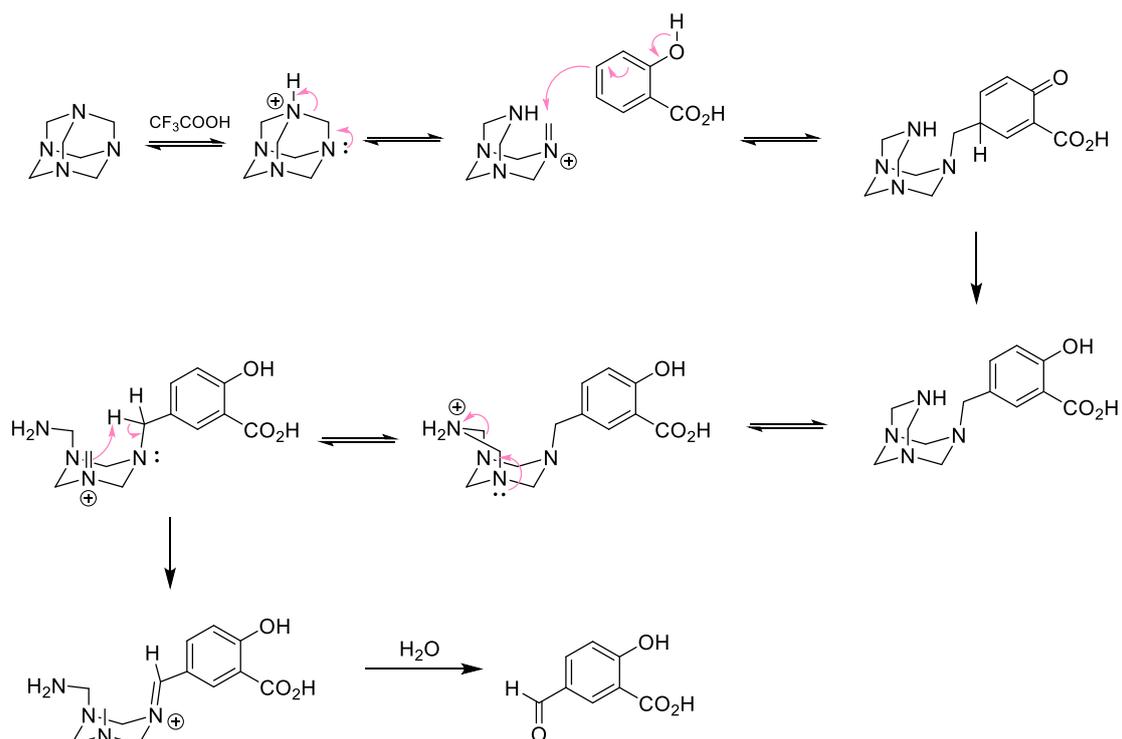
### 3.4 Formilação de compostos aromáticos

A presença de um grupo formil em um sistema aromático atua como ponto central para a funcionalização desses compostos. A formilação clássica de compostos aromáticos é realizada pela reação de Vilsmeier-Haack.<sup>58,59</sup> No

entanto, esse método apresenta várias desvantagens, como o uso de reagentes de difícil manipulação, como o oxiclreto de fósforo ( $\text{POCl}_3$ ), isto também restringe sua aplicação, pois pode levar à degradação de uma parte significativa dos produtos.<sup>60</sup>

A reação de Duff, que utiliza hexametilenotetramina (HMTA) como fonte de formil, é outra abordagem clássica para a formilação de compostos aromáticos em meio fortemente ácido.<sup>61,62</sup> O ácido acético originalmente empregado por Duff foi posteriormente substituído por ácido trifluoroacético (TFA) por Suzuki e Takahashi, oferecendo uma forma mais eficiente de realizar a formilação.<sup>63</sup>

Como representado no **Esquema 4** o mecanismo da reação de formilação inicia com o ataque nucleofílico do ácido salicílico sobre a HMTA ativada e segue com a formação de sucessivos imínios. Após a reação o tratamento se dá adicionando água que irá provocar a hidrólise ácida do imínio final obtendo-se assim o formil derivado desejado.<sup>64</sup>



**Esquema 3.** Proposta de mecanismo para reação de formilação. (Adaptado de Affeldt, 2011).

A presença de um substituinte irá influenciar na reação de substituição do anel aromático. Este trabalho concentra-se na formilação dos derivados de 2-(2'-

hidroxifenil)benzazol. Neste contexto, o grupo hidroxila orientará a reação nas posições *orto* e *para*, devido ao seu efeito eletrônico doador.<sup>65-68</sup>

Como já citado, a presença de um grupo formil oferece possibilidades para futuras alterações estruturais. Além disto, do ponto de vista fotoquímico a introdução de um grupo formil proporciona um aumento expressivo do rendimento quântico de derivados benzazólicos formilados.<sup>69-71</sup>

### 3.5 Fotofísica

#### 3.5.1 Absorção de luz

Quando radiação eletromagnética incide sobre uma molécula pode ocorrer uma transição entre estados energéticos, sendo o estado de menor energia chamado de estado fundamental e o de maior energia o estado excitado. Estas transições podem ser classificadas de acordo com o valor de energia da radiação eletromagnética, onde as principais transições são as eletrônicas, vibracionais e rotacionais.<sup>72</sup>

O quantum de energia que o campo de radiação pode trocar com a matéria é definido pela **Equação 1**. Mas também é comum usar uma quantidade proporcional a E, como a frequência  $\nu$  de radiação ( $s^{-1}$ ) **Equação 2**, ou seu número de onda  $\tilde{\nu} = \nu/c$  ( $cm^{-1}$ ). Ou ainda, expressar a energia em termos do comprimento de onda da luz,  $\lambda = c/\nu$ , geralmente dado em nm ( $10^{-9}$  m).

$$E=h \cdot \nu \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

E: energia (quantum) (J)

h: constante de Planck,  $6,62 \times 10^{-34}$  (J·s)

$\nu$ : frequência (Hz)

$$\nu=c/\lambda \text{ (Equação 2)}$$

Onde:

$\nu$ : frequência (Hz)

c: velocidade da luz no vácuo  $3 \times 10^8$  ( $m \cdot s^{-1}$ )

$\lambda$ : comprimento de onda (nm)

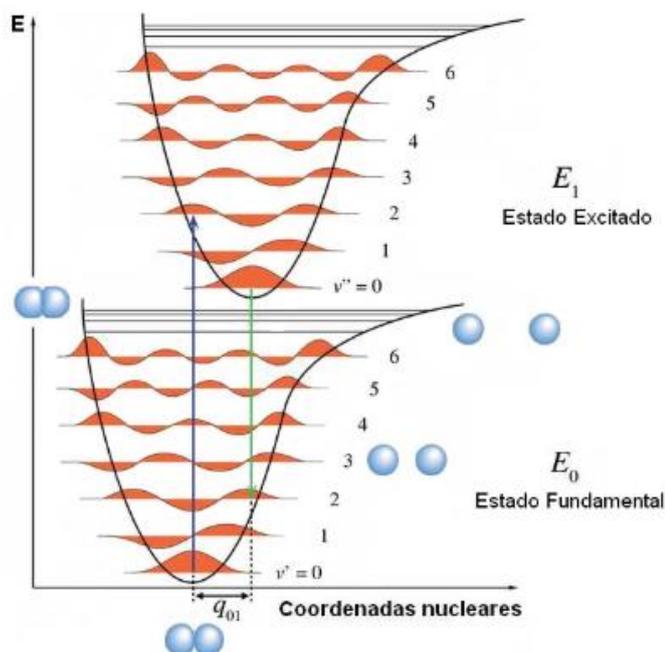
Como para átomos e moléculas somente certos níveis energéticos são permitidos, isto é, a energia é quantizada, então apenas o fóton com a quantidade de energia exata poderá causar a transição entre um estado e outro. Assim o espectro eletromagnético é dividido em níveis de energia, que podem determinar os tipos de transições que irão ocorrer, como explicitado na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Valores de quantum de energia e o tipo de transição provocada.

	$\lambda$ (nm)	$\tilde{\nu}$ (cm <sup>-1</sup> )	$\nu$ (s <sup>-1</sup> )	E (kcal·mol <sup>-1</sup> )	
Ultravioleta	200	50,000	$15 \times 10^{15}$	143,0	Absorção Eletrônica (UV-Vis)
	300	33,333	$1 \times 10^{15}$	95,3	
Visível	400	25,000	$7,5 \times 10^{14}$	71,5	
	500	20,000	$6 \times 10^{14}$	57,2	
	600	16,666	$5 \times 10^{14}$	47,7	
	700	14,286	$4,2 \times 10^{14}$	40,8	
Infravermelho	1,000	10,000	$3 \times 10^{14}$	28,6	Movimento vibracional (FTIR)
	5,000	2,000	$6 \times 10^{13}$	5,8	
	10,000	1,000	$3 \times 10^{13}$	2,9	
Micro-ondas	$10^7$	10	$3 \times 10^{11}$	$3 \times 10^{-2}$	Precessão spin-elétron (EPR)
	$10^9$	0,1	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^{-4}$	
Ondas de rádio	$10^{11}$	0,001	$3 \times 10^7$	$3 \times 10^{-6}$	Precessão nuclear (RMN)

A energia potencial total de uma molécula é a soma da energia eletrônica, energia vibracional e energia rotacional. Porém ao estudar-se a absorção de luz pelas moléculas, que possuem graus de liberdade mais restritos, concentra-se principalmente nas transições entre estados eletrônicos, desconsiderando-se os demais. Devido a grande diferença entre energias eletrônicas, vibracionais e rotacionais, assume-se que estes podem ser tratados separadamente. Esta suposição é conhecida como a aproximação de Born-Oppenheimer.<sup>73</sup>

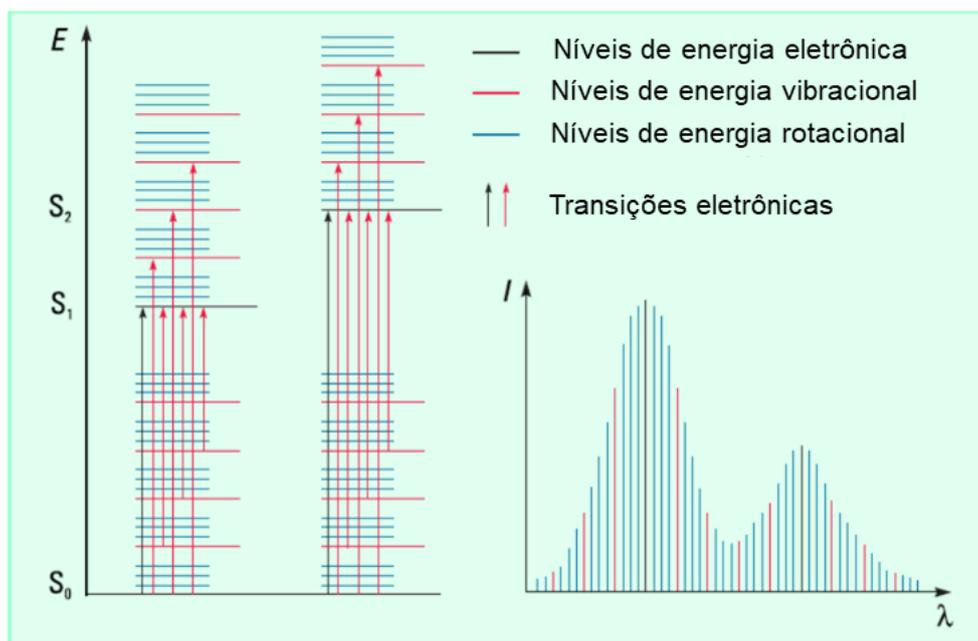
Os níveis eletrônicos são formados por níveis vibracionais e, cada nível de energia vibracional tem uma função de onda associada, cujo quadrado se refere à distância internuclear mais provável para um determinado número quântico vibracional como representado na **Figura 7**.



**Figura 7.** Curva de energia potencial dos níveis eletrônicos fundamental e excitado e seus respectivos níveis vibracionais.

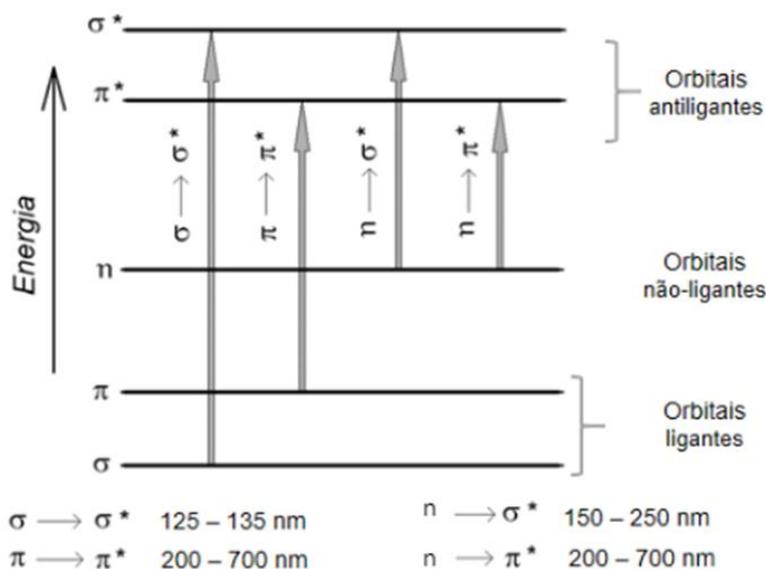
Considerando a grande diferença entre a massa dos núcleos e os elétrons, a transição ocorre muito rapidamente de tal forma que a configuração nuclear permanece inalterada durante o processo. Isso é chamado de princípio de Franck-Condon, e uma consequência disto é que uma transição eletrônica é representada por uma seta vertical, ou seja, ocorre dentro de uma estrutura nuclear “estacionária”. Assim, as transições entre os níveis vibracionais nos estados eletrônicos inferiores e superiores serão mais intensas quando os dois estados tiverem características semelhantes.<sup>74</sup>

Moléculas poliatômicas que possuem um grande número de modos vibracionais de frequências variadas, tem níveis que energia muito próximos, como resultado observamos bandas em um espectro de absorção.<sup>75</sup>



**Figura 8.** Banda de absorção composta por linhas de transições vibracionais e rotacionais. (Adaptado de Owen, T. *Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy*. Agilent Technologies, 2000).

Em moléculas orgânicas comuns as transições observadas envolvem os elétrons  $\sigma$ ,  $n$  e  $\pi$ , onde o HOMO será tido como estado fundamental e o LUMO será o estado de maior energia, como representado na **Figura 9**. A transição do tipo  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ , devido à estabilidade da ligação  $\sigma$ , é uma transição que necessita de uma grande quantidade de energia para que ocorra, aparecendo no ultravioleta distante. A do tipo  $n \rightarrow \sigma^*$  são observadas em compostos saturados contendo átomos com pares de elétrons não-ligantes, como O, N, S e halogênios, são transições proibidas e possuem intensidade moderada. A transição  $n \rightarrow \pi^*$  é usualmente observada em compostos que possuem heteroátomo como parte de um sistema insaturado desde que o par isolado não se sobreponha no espaço ao sistema  $\pi$ , são consideradas sobreposições espacialmente proibidas por simetria de orbital e por isso apresentam baixa intensidade. As transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  apresentam uma intensa absorvidade molar, geralmente são observadas em moléculas com insaturações isoladas.



**Figura 9.** Transições eletrônicas entre os orbitais HOMO e LUMO.

Experimentalmente, a eficiência de absorção é expressa pelo coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ), também chamado de absorvidade molar. Esta é a capacidade de um mol de substância em absorver a luz incidida. Através dele também é possível obter informações importantes a respeito da transição eletrônica observada. Ela é dada pela relação matemática da **Equação 3**. Que foi obtida de forma empírica por Pierre Bouguer em 1729, Johann Heinrich Lambert em 1760 e August Beer em 1852, e é conhecida como lei de Lambert-Beer.

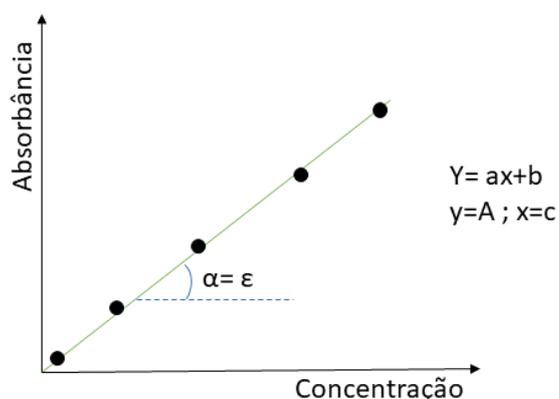
$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ (Equação 3)}$$

Onde:

A: absorvância (nm),  $\epsilon$ : coeficiente de extinção molar ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ), b: comprimento da célula (1,0 cm), c: concentração ( $mol \cdot L^{-1}$ ).

A lei de Lambert-Beer estabelece uma relação linear entre absorvância e concentração, assim o  $\epsilon$  pode ser obtido pelo coeficiente angular da reta, como representado na **Figura 10**. No entanto, podem ocorrer desvios dessa linearidade, pois essa relação é válida somente se a fonte de luz for monocromática e não houver interação entre os centros absorventes. Portanto,

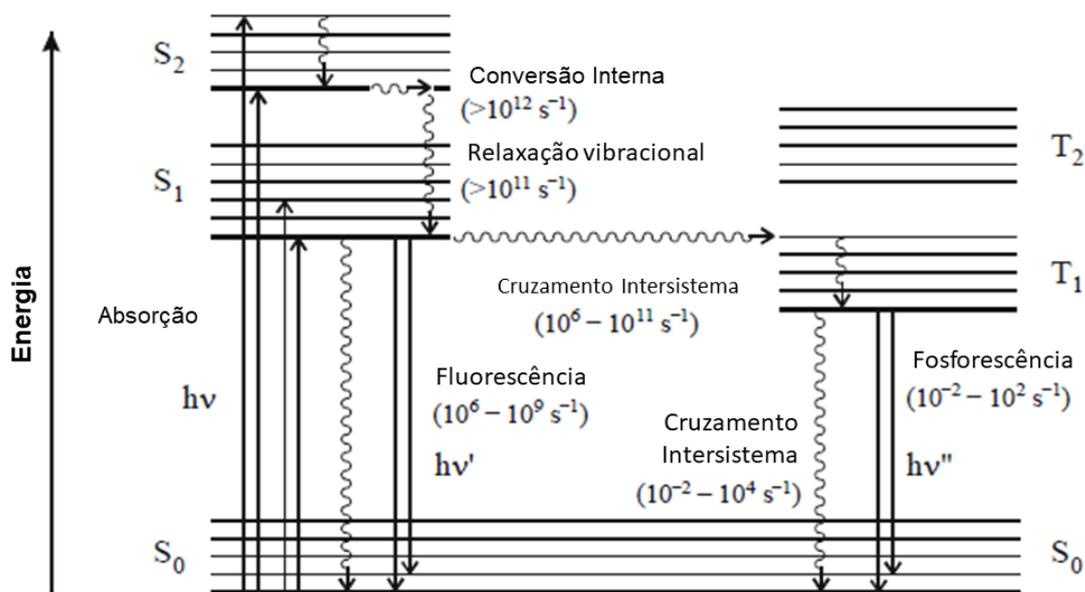
estabelece-se uma concentração máxima de 0,01 M, uma vez que em concentrações mais altas as interações soluto-soluto tornam-se predominantes.<sup>76</sup>



**Figura 10.** Correlação linear entre absorbância e concentração.

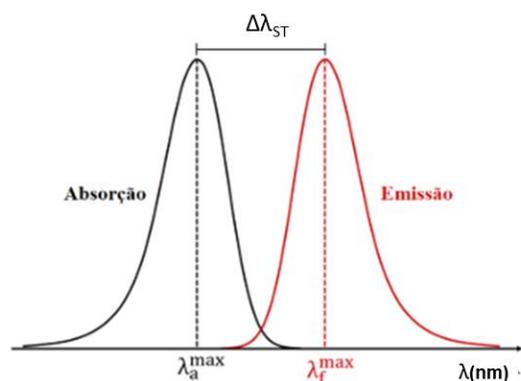
### 3.5.2 Emissão de fluorescência

Após a absorção de um fóton, a molécula atinge um estado excitado e a dissipação dessa energia pode ocorrer através de diferentes processos. Existem os processos não radiativos, onde não há emissão de um fóton, como a conversão interna e relaxação vibracional. E há também os processos radiativos, que envolvem a emissão de um fóton, conhecidos como emissão de fluorescência e fosforescência, conforme ilustrados no diagrama de Jablonski (**Figura 11**).<sup>42</sup>



**Figura 11.** Diagrama de Jablonski (Adaptado de Montalti *et al.*, *Handbook of Photochemistry*. CRC Press, **2006**).

O fóton emitido durante o processo de desativação possui menor energia do que o fóton absorvido. Este efeito, observado pela primeira vez por G.G. Stokes em 1852, é conhecido como a lei de Stokes. A perda de energia do fóton no estado excitado pode ocorrer devido a colisões da molécula com o solvente e também à dissipação de energia durante a relaxação vibracional até o estado vibracional básico do estado eletrônico excitado, conforme a regra de Kasha. Devido à relação inversamente proporcional entre a energia e o comprimento de onda, a banda de emissão geralmente aparece em comprimentos de onda maiores do que a banda de absorção. E a distância entre a banda de absorção e a banda de emissão é conhecida como deslocamento de Stokes ( $\Delta\lambda_{ST}$ ).<sup>77</sup> (Figura 12)



**Figura 12.** Deslocamento de Stokes

### 3.5.3 Rendimento quântico de fluorescência

A fluorescência pode ser quantificada de forma relativa através de uma razão denominada de rendimento quântico ( $\Phi$ ) (**Equação 4**), que por sua vez é dependente das constantes relativas ( $k_i$ ) de desativação (**Equação 5**):

$$(\Phi) = \frac{\text{número de fótons emitidos}}{\text{número de fótons absorvidos}} \quad \text{(Equação 4)}$$

$$(\Phi) = \frac{k_f}{k_f + k_{ph} + k_{ic} + k_{ec} + k_{isc} + k_{pd} + k_d}, \quad \text{(Equação 5)}$$

Onde:

$k_f$ : fluorescência,  $k_{ph}$ : fosforescência,  $k_{ic}$ : conversão interna,  $k_{ec}$ : conversão externa,  $k_{isc}$ : cruzamento entre sistemas,  $k_{pd}$ : pré-dissociação e  $k_d$ : dissociação.

O aumento do rendimento quântico se dá por decréscimo dos fatores que promovem desativação não-radiativa. Substâncias muito fluorescentes são aquelas com os maiores rendimentos quânticos, aproximando-se da unidade.<sup>78,79</sup>

O rendimento quântico é uma propriedade intrínseca de cada molécula fluorescente e pode ser determinado experimentalmente pelo método comparativo desenvolvido por William e colaboradores. Esse método utiliza um padrão bem caracterizado, cujo valor de rendimento quântico é conhecido.<sup>80</sup> Sendo então determinado segundo a **Equação 6**:

$$\Phi_f = \Phi_{ref} \cdot \frac{A_{ref}}{A_f} \cdot \frac{F_f}{F_{ref}} \cdot \frac{n_f^2}{n_{ref}^2}, \text{ (Equação 6)}$$

onde o subscrito *f* refere-se a amostra e o *ref* refere-se ao padrão de referência. A é a absorvância de cada espécie, F é a área da banda de emissão de fluorescência e *n* é o índice de refração do solvente utilizado. Nesta dissertação, embora o rendimento quântico definido na Equação 6 seja relativo, será tratado somente como rendimento quântico.

#### 3.5.4 Tempo de decaimento de fluorescência

Existem duas formas de estudar a emissão de fluorescência, com medidas no estado estacionário e medidas resolvidas no tempo. Medidas no estado estacionário são aquelas em que a amostra é iluminada com um feixe contínuo de luz e o espectro de emissão é então registrado. Já o segundo tipo de medidas, as resolvidas no tempo, é utilizado para medir intensidades e tempos de decaimento de fluorescência. Para estas medidas a amostra é exposta a um pulso de luz, onde o tempo do pulso é necessariamente mais curto que o tempo de decaimento da amostra.

O tempo de decaimento de fluorescência ( $\tau_s$ ) é uma das propriedades mais importantes de uma molécula fluorescente, porque define a janela temporal em que podemos observar o fenômeno dinâmico do sistema. Medidas de decaimento de fluorescência resolvido no tempo envolvem contar o número de fótons que chegam ao estado fundamental dentro um determinado intervalo de tempo após a excitação. Os resultados são armazenados em vários canais, cada canal correspondendo a um intervalo de tempo específico. Quando exibido, os resultados não são contínuos, mas usando um grande número de canais e o resultado se aproxima de uma curva de decaimento exponencial.<sup>81,82</sup>

O tempo de vida de um fóton no estado excitado  $S_1$ , é inversamente proporcional a soma das taxas de desativação não radiativas ( $k_{nr}^S$ ) e das radiativas ( $k_r^S$ ) e é definida pela **Equação 7**:

$$\tau_s = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S} \text{ (Equação 7)}$$

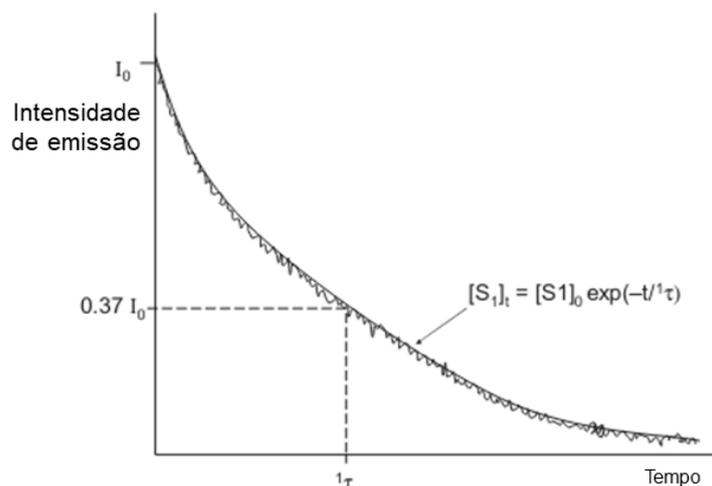
Então, dada uma solução diluída de espécies fluorescentes, um pulso de luz no tempo  $t = 0$  leva certo número de moléculas, ao estado excitado  $S_1$  através da absorção de fótons. Estas moléculas excitadas então retornam ao estado fundamental  $S_0$ , através dos processos radiativos e não radiativos. A taxa de desativação do estado excitado pode ser descrita com a equação diferencial dada pela **Equação 8**:

$$-\frac{d[S_1]}{dt} = (k_r^s + k_{nr}^s)[S_1] \text{ (Equação 8)}$$

Integrando a **Equação 8** obtemos a evolução no tempo do número de moléculas no estado excitado. Deste modo, temos a **Equação 9**:

$$[S_1] = [S]_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \text{ (Equação 9)}$$

Assim a curva de decaimento de fluorescência será uma exponencial e o valor do tempo de decaimento é obtido pelo ajuste exponencial desta curva. Como mostra a **Figura 13**.



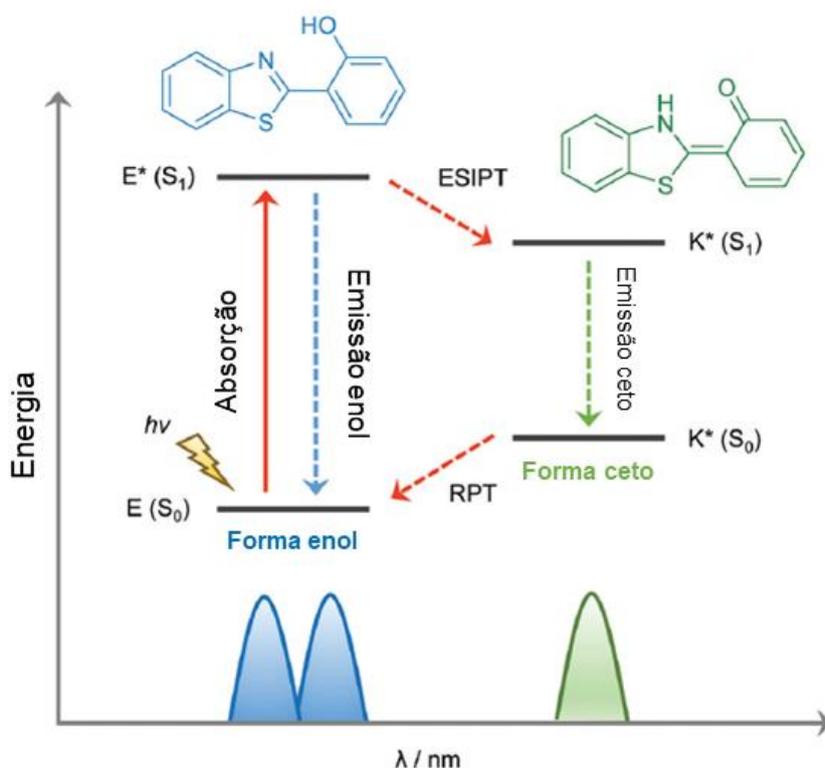
**Figura 13.** Curva de decaimento de fluorescência. (Adaptado de Wardle, B. *Principles and Applications of Photochemistry*, Wiley, **2009**).

### 3.5.5 Transferência protônica intramolecular no estado excitado

A transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT) é um processo fotoquímico que resulta na formação de um tautômero com uma

estrutura eletrônica diferente do confômero inicial no estado fundamental. Esse fenômeno ocorre, entre outros fatores, a partir de uma geometria adequada e uma distância entre o grupo doador e o grupo aceitador de elétrons menor que 2 Å. A força motriz do ESIPT é a redistribuição da densidade eletrônica no estado excitado, onde o grupo doador se torna significativamente mais ácido, e o grupo aceitador se torna mais básico. Dessa forma, a transferência protônica é mais favorecida no estado excitado do que no estado fundamental.<sup>83</sup>

Entre as fotoreações que seguem as superfícies de energia potencial adiabática, o ESIPT evolui de uma dinâmica entre o doador e o aceitador de prótons presentes na mesma estrutura molecular, em um mecanismo formulado pela primeira vez por Förster e Weller.<sup>84</sup> Neste modelo, um ciclo fotoquímico de quatro níveis descreve um processo de fototautomerização, como apresentado na **Figura 14**.

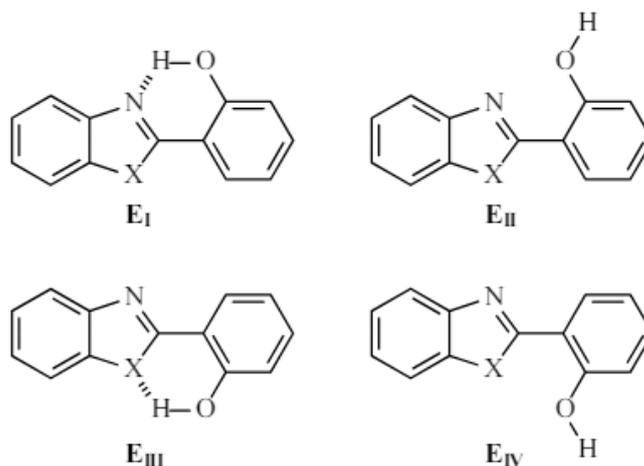


**Figura 14.** Ciclo de Förster para o processo ESIPT utilizando um núcleo benzazólico como modelo e relacionado com o deslocamento da sua banda de emissão. (Sedgwick et al. Chem. Soc. Rev., **2018**).

O confômero enol-*cis* (E) representa a espécie predominante no estado fundamental, com uma forte ligação de hidrogênio intramolecular entre o

hidrogênio fenólico e o átomo de nitrogênio. A excitação dessa molécula gera o enol-*cis* excitado ( $E^*$ ), o qual é sucessivamente convertido no tautômero ceto excitado ( $K^*$ ), através da transferência intramolecular do hidrogênio fenólico para o átomo de nitrogênio. A transferência do próton, a partir deste estado acontece porque o grupo doador de H torna-se mais ácido e o grupo aceptor torna-se mais básico no estado excitado. O tautômero ceto excitado ( $K^*$ ) relaxa emitindo fluorescência, retornando ao seu estado fundamental e a partir deste, o próton retorna ao seu estado inicial regenerando a forma normal ( $E$ ).<sup>85-88</sup>

De maneira geral, o processo de ESIPT é fortemente influenciado pela polaridade do solvente, como representado na **Figura 15**, dependendo do meio em que se encontra a substância, diferentes confôrmeros podem ser estabilizados. Em solventes próticos e/ou polares, existe uma competição entre a transferência do próton intramolecular e a intermolecular com o solvente, enfraquecendo a ligação de hidrogênio intramolecular, possibilitando a estabilização do confôrmero enol-*cis* aberto ( $E_{II}$ ).



**Figura 15.** Formas isoméricas ( $E_I$ ) enol-*cis*, ( $E_{II}$ ) enol-*cis* solvatado, ( $E_{III}$ ) enol-*trans* e ( $E_{IV}$ ) enol-*trans* solvatado.

Em solventes apolares e apróticos, o confôrmero enol-*cis* ( $E_I$ ) representa a espécie predominante no estado fundamental e confôrmeros do tipo enol-*trans* ( $E_{III}$ ) e enol-*trans* aberto ( $E_{IV}$ ) também podem ser estabilizados. Assim, todos estes confôrmeros que apresentam relaxação normal podem competir com o confôrmero enol-*cis* responsável pelo processo de ESIPT. Desta forma, uma dupla emissão de fluorescência pode ser observada em função do solvente.

## 5. CONCLUSÕES

De acordo com metodologias já estabelecidas na literatura foi possível obter 6 compostos benzazólicos, com rendimentos em torno de 50 %. Utilizando-se a metodologia de formilação de Duff obteve-se outros 6 derivados mono e bi formilados com rendimentos acima de 80 %. Todas as estruturas foram elucidadas de forma assertiva através de técnicas de RMN unidimensional como  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  e técnicas bidimensionais como, COSY, HSQC e HMBC, conjunto de resultados ainda inéditos na literatura.

Os estudos fotofísicos em solução mostraram que todos os precursores benzazólicos apresentam máximos de absorção na região de UV-Vis. Também se observou que a polaridade do solvente pouco influenciou na posição dos máximos de absorção. Os valores para o coeficiente de absorvidade molar indicaram transições permitidas do tipo  $\pi-\pi^*$ . Para o estudo fotofísico no estado excitado, os derivados benzoxazol e benzotiazol apresentaram dupla emissão de fluorescência atribuídas a forma enol e ceto formada em decorrência do processo de ESIPT. Os derivados do benzimidazol foram os únicos que apresentaram uma única banda de emissão, sendo esta atribuída a forma ceto. Os valores para o deslocamento de Stokes variaram de 115-190 nm, corroborando com a presença do processo de ESIPT. Os rendimentos quânticos foram bem baixos, conforme esperado para esta classe de compostos. Com os dados de emissão de fluorescência resolvida no tempo observou-se que, para todos os compostos, a taxa de desativação não radiativa é muito maior do que a taxa de desativação radiativa, explicando o baixo rendimento quântico calculado.

A fim de se avaliar o impacto desta substituição nos compostos benzazólicos, também foi realizado um estudo fotofísico para os derivados formilados. O observado foi que os máximos de absorção se encontram na região do UV-Vis, os valores do coeficiente de extinção molar indicam transições permitidas do tipo  $\pi-\pi^*$ . Em particular, para nos solventes etanol e acetonitrila observou-se uma banda deslocada para o vermelho, que foi atribuída a espécie ionizada formada no meio devido ao efeito mesomérico causado pelo grupo aldeído. Para o estado excitado observou-se uma única banda de emissão atribuída a forma ceto. Houve uma leve diminuição nos valores para o deslocamento de Stokes, variando de 115-160 nm, mas nos solventes em que

se formou a espécie ionizada, com máximo de absorção deslocada para o vermelho, houve uma diminuição ainda mais pronunciada com valores abaixo de 100 nm. O rendimento quântico aumentou consideravelmente, exceto para o benzimidazol bi formilado. Os dados para a emissão de fluorescência resolvida no tempo mostram que a taxa de desativação não radiativa ainda é maior que a taxa de radiação radiativa, porém com uma diferença menor. Conforme relatado na literatura a formilação aumenta a barreira para a formação da espécie responsável pela desativação não radiativa.

De uma maneira geral a presença do grupo formil melhorou propriedades fotofísicas das benzazolas como o aumento do rendimento quântico através da diminuição dos mecanismos de desativação não radiativa, resultando em um maior tempo de vida no estado excitado. O deslocamento de Stokes permaneceu com valores significativos, superiores a 100 nm.

Desta forma foi possível a síntese e caracterização de uma série de compostos benzazólicos, utilizando metodologias clássicas e, através deste trabalho foi possível contribuir para a expansão de possibilidades de síntese de sensores fluorescentes.