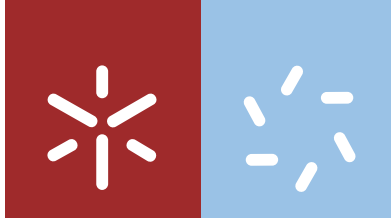




Universidade do Minho
Escola de Ciências

Mariana Barros Nogueira

Novos derivados de imidazole como sensores óticos e sondas para bioimagem: design, síntese, caracterização e desenvolvimento para aplicações



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Mariana Barros Nogueira

Novos derivados de imidazole como sensores óticos e sondas para bioimagem: design, síntese, caracterização e desenvolvimento para aplicações

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho realizado sob orientação da
Professora Doutora Maria Manuela Marques Raposo
e da
Professora Doutora Susana Paula Graça da Costa

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos abaixo indicados.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO
DE QUALQUER PARTE DESTA DISSERTAÇÃO POR UM PERÍODO DE 5 ANOS.

AGRADECIMENTOS

Finalizada esta etapa não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que, direta ou indiretamente, me apoiaram nesta caminhada.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer, de forma especial, à Professora Doutora Manuela Raposo e à Professora Doutora Susana Costa, pela oportunidade concedida para a realização deste projeto, pelo constante apoio, ensinamentos, disponibilidade, paciência, competência exemplar, simpatia e por todo o carinho com que sempre me receberam. O meu eterno obrigada.

O meu muito obrigada à Dra. Vânia Azevedo e à Dra. Elisa Pinto pela prontidão e empenho na realização dos espetros de RMN.

Um obrigada às meninas do Laboratório 40, Raquel, Cátia, Sandra e Ana pelo bom ambiente de trabalho.

Um reconhecimento muito especial ao Professor Doutor Uwe Pischel pelos ensinamentos e pela forma tão generosa como me acolheu no CIQSO (Centro de Investigación en Química Sostenible) na Universidade de Huelva, Espanha, durante a minha estadia ao abrigo do Programa ERASMUS +. À Patrícia Remón, um obrigada, pela paciência, ajuda e simpatia com que me acolheu. Agradeço aos “mis chiquitos” do CIQSO, Anabel, David, Migue, Pillar, Rubén, Susana e Zoe, pela forma tão calorosa como me acolheram ao longo das 10 semanas, pela ajuda e por me darem a conhecer Huelva como ninguém. Estarão para sempre no meu coração.

À Tita, à minha Tita. Pela amizade única e incomparável. Por todos os incentivos e palavras de encorajamento durante todo este caminho. Pela paciência, partilha, carinho, generosidade e conselhos ao longo de todos os anos de amizade. Não existem palavras suficientes. O mais gigante e generoso de todos os obrigadas.

Uma palavra de apreço ao Ezequiel, pela amizade, pela prontidão a dar os melhores conselhos, pelo exemplo e encorajamento dado ao longo de todos estes anos.

Estou grata à Joana, minha irmã de outra mãe, por estar sempre presente, mesmo distante, por ter sempre as melhores palavras, pela alegria contagiante e pelas vivências de toda uma vida.

Um agradecimento enorme à Nuna, pela amizade, ajuda, apoio, carinho, dedicação e pelas palavras sempre tão bondosas e essenciais.

Agradeço também ao Rafael a amizade, paciência e partilhas durante todos estes anos, em especial, nos últimos dois anos.

Um especial agradecimento à Vânia, pela partilha, pela amizade e pelas horas de trabalhos ao longo destes cinco anos de licenciatura e mestrado.

Sendo impossível agradecer e mencionar todos os amigos um por um, para todos eles, um obrigada, por me acompanharem em todas as etapas, por serem tão presentes e por serem peças fundamentais na minha vida.

Por fim, mas não menos importante, agradeço aos meus pais, todo o amor, compreensão, carinho, por tornarem tudo isto possível, pelos valores transmitidos que regem a minha vida e por serem o melhor porto seguro. Agradeço à minha irmã e ao meu cunhado por todo o carinho, constante incentivo e apoio dado ao longo desta etapa. Ao Miguel, agradeço os abraços mais calorosos e o sorriso mais doce do mundo inteiro. A toda a minha família, pela compreensão, tolerância e afeto.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

**Novos derivados de imidazole como sensores óticos e sondas para bioimagem:
design, síntese, caracterização e desenvolvimento para aplicações**

O design e a síntese de novos sensores óticos é uma área de investigação em constante desenvolvimento, uma vez que podem ser utilizados para analisar e quantificar um determinado analito através de alterações nas propriedades óticas, como a cor (sensores colorimétricos) ou a fluorescência (sensores fluorimétricos). Assim sendo, o desenvolvimento de derivados de imidazole substituídos nas posições 2, 4 e 5 como sensores químicos para a deteção de iões tem sido explorado em anos recentes devido à versatilidade da sua síntese e funcionalização e às propriedades de absorção e emissão do sistema heterocíclico.

Este trabalho teve como objetivo a síntese e caracterização de derivados de imidazole substituídos na posição 2 com dois espaçadores/pontes π diferentes (tieno[3,2-*b*]tiofeno e o fenilimidazole) e nas posições 4 e 5 com sistemas aromáticos (fenantreno e benzeno) e heteroaromáticos (fenantrolina, tiofeno e furano), a sua caracterização espectroscópica por RMN de ^1H e ^{13}C , bem como a avaliação da influência da sua estrutura nas propriedades fotofísicas, em acetonitrilo e numa mistura de água/DMSO (95:5). Os fluoróforos sintetizados apresentam emissão na zona do azul e elevados desvios de Stokes pelo que poderão ter potencial aplicação como sondas de fluorescência para bioimagem.

Tendo em vista a sua potencial aplicação como sensores químicos colorimétricos e/ou fluorimétricos, efetuaram-se testes da capacidade sensora. Considerando os resultados obtidos, escolheram-se os iões que provocaram alterações mais acentuadas de fluorescência nas soluções dos derivados de imidazole, tendo-se realizado titulações espectralfluorimétricas para os compostos **3e** e **4a**.

Através da análise dos resultados obtidos, concluiu-se que o composto **4a** era o derivado de imidazole com resultados mais promissores para aplicação como sensor fluorimétrico, em acetonitrilo. Este derivado de imidazole permitiu a deteção de CN^- , F^- , Pb^{2+} e Pd^{2+} , sendo que a interação com o Pd^{2+} foi a que apresentou melhores resultados, uma vez que só foram necessários 9 equivalentes para se observar um *quenching* total da banda de emissão de fluorescência.

Palavras-chave: imidazole; sensores fluorimétricos de catiões; síntese; sondas para bioimagem; tiofeno

**New imidazole derivatives as optical sensors and bioimaging probes:
design, synthesis, characterization and development for applications**

The design and synthesis of new optical sensors is a constantly developing area of research since they can be used to analyse and quantify certain analytes through changes in the optical properties, such as colour (colorimetric sensors), or fluorescence (fluorimetric sensors). Therefore, the development of imidazole derivatives substituted at positions 2, 4 and 5 as chemical sensors for ion detection has been explored in recent years due to their easy synthesis and functionalisation, and the interesting optical properties of the heterocyclic systems.

This work aimed to synthesise and characterize imidazole derivatives substituted at position 2 with two different π -spacers (thieno[3,2-*b*]thiophene and phenylimidazole) and at positions 4 and 5 with aromatic systems (phenanthrene and benzene) and heteroaromatics (phenanthroline, thiophene and furan), their spectroscopic ^1H and ^{13}C NMR characterization, as well as the evaluation of the influence of their structures on photophysical properties, in acetonitrile and a mixture of water/DMSO (95:5). Photophysical characterization was performed using UV-Vis and fluorescence spectroscopy. The synthesized fluorophores show emission in the blue zone and high Stokes shift and may have potential application as fluorescence probes for bioimaging.

Regarding their potential application as colorimetric and/or fluorimetric chemical sensors, sensor capacity tests were carried out. Considering the results obtained, the ions that led to most pronounced fluorescence changes were chosen, and spectrofluorimetric titrations were made for compounds **3e** and **4a**.

After interpretation of the results, it was concluded that compound **4a** was the imidazole derivative with the most promising results for application as a fluorimetric sensor, in acetonitrile. This imidazole derivative allowed the detection of CN^- , F^- , Pb^{2+} and Pd^{2+} , being the Pd^{2+} interaction the one that showed best results, since only 9 equivalents were required to observe a total quenching of the fluorescence emission band.

Keywords: imidazole; fluorimetric cation sensors; synthesis; bioimaging probes; thiophene.

Direitos de Autor e condições de utilização do trabalho por terceiros	ii
Agradecimentos.....	iii
Declaração de Integridade	v
Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Lista de abreviaturas e acrónimos.....	x
Índice de figuras.....	xii
Índice de tabelas	xv
Índice de esquemas.....	xvi
Comunicações em Congressos	xvii
Capítulo 1 – Fundamentos Teóricos.....	2
1. Química supramolecular	2
1.1. Sensores químicos	3
1.1.1. Sensores químicos óticos	4
1.1.2. Design de sensores químicos óticos	4
1.1.3. Sensores químicos colorimétricos.....	5
1.1.4. Sensores químicos fluorimétricos	7
1.2. Derivados de imidazole como sensores químicos óticos	9
1.2.1. Reconhecimento de iões	11
Capítulo 2 - Parte Experimental	21
1. Considerações gerais	21
2. Síntese e caracterização espectroscópica dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d ...	22
2.1. Método geral de síntese.....	22
2.1.1. Derivado de imidazole 3a	22
2.1.2. Derivado de imidazole 3b	23

2.1.3.	Derivado de imidazole 3c	23
2.1.4.	Derivado de imidazole 3d	24
2.1.5.	Derivado de imidazole 3e	25
2.1.6.	Derivado de imidazole 4a	25
2.1.7.	Derivado de imidazole 4d	26
3.	Caracterização fotofísica dos derivados de imidazole 3a-e, 4a e 4d	27
4.	Estudos preliminares da capacidade sensora dos derivados de imidazole 3a-e, 4a e 4d , em ACN e em ACN/ H ₂ O (75:25).....	28
5.	Titulações espectralfluorimétricas do derivado de imidazole 3e em ACN e em ACN/H ₂ O (75:25) e titulações espectralfotométricas do derivado de imidazole 4a em ACN	29
Capítulo 3 – Resultados e Discussão		31
1.	Síntese e caracterização espectralfotométrica dos derivados de imidazole 3a-e, 4a e 4d ...	31
2.	Caracterização fotofísica dos derivados de imidazole 3a-e, 4a e 4d	36
3.	Estudos preliminares da capacidade sensora dos derivados de imidazole 3a-e, 4a e 4d , em ACN e em ACN/H ₂ O (75:25).....	40
3.1.	Estudos preliminares da capacidade sensora dos derivados de imidazole 3a-e, 4a e 4d , em ACN, na presença de aniões	41
3.2.	Estudos preliminares da capacidade sensora do derivado de imidazole 3a-e, 4a e 4d , em ACN, na presença de catiões	45
3.3.	Estudos preliminares da capacidade sensora dos derivados de imidazole 3e e 4a , em ACN/H ₂ O (75:25), na presença de aniões.....	50
3.4.	Estudos preliminares da capacidade sensora do derivado de imidazole 3e e 4a , em ACN/H ₂ O (75:25), na presença de catiões.....	52
4.	Titulações espectralfluorimétricas dos derivados 3e e 4a em ACN e em ACN/H ₂ O (75:25)	53
Capítulo 4 - Conclusão		60
Bibliografia		62

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

Abs	Absorvância
ACN	Acetonitrilo
CHEF	Aumento da intensidade de fluorescência por quelação (do inglês <i>Chelation Enhancement of Fluorescence</i>)
CHEQ	Diminuição da intensidade de fluorescência por quelação (do inglês <i>Chelation Enhancement of Quenching</i>)
d	Dupleto
dd	Duplo duplete
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-<i>d</i>₆	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
ϕ_F	Rendimento quântico relativo de fluorescência
δ	Desvio químico
ϵ	Coeficiente de absorvidade molar
EPLEDs	Díodos emissores de luz pulsada (do inglês, <i>Pulsed Light Emitting Diodes</i>)
equiv	Equivalente
F	Área da curva de fluorescência
ν	Frequência
HMBC	Correlação heteronuclear através de múltiplas ligações (do inglês <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>)
HMQC	Correlação heteronuclear quântica múltipla (do inglês <i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>)
HOMO	Orbital ocupada de maior energia (do inglês <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
I	Intensidade
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento

k_r	Taxa de decaimento radiativo
k_{nr}	Taxa de decaimento não radiativo
λ_{em}	Comprimento de onda de emissão máxima
λ_{max}	Comprimento de onda de absorção máxima
$\Delta\lambda$	Variação do comprimento de onda
l	Percurso ótico
LUMO	Orbital molecular desocupada de menor energia (do inglês <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
m	Multiplete
Me	Metilo
n	Índice de refração
η	Rendimento da reação
p.f.	Ponto de fusão
Ph	Fenilo (do inglês <i>Phenyl</i>)
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Singleto
S₀	Estado fundamental
S₁	Primeiro estado excitado singleto
TCSPC	Contagem de fótons únicos relacionada no tempo (do inglês <i>Time-Correlated Single-Photon Counting</i>)
TLC	Cromatografia em camada fina (do inglês <i>Thin Layer Chromatography</i>)
τ_F	Tempos de vida de fluorescência
u.a.	Unidades arbitrárias
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-visível

Figura 1. Princípio básico do reconhecimento molecular (Figura adaptada da referência 7).	2
Figura 2. Representação esquemática de um sensor químico (Figura adaptada da referência 10).....	3
Figura 3. Representação esquemática de um sensor químico ótico baseado numa unidade de ligação e sinalização e a sua interação com um analito (Figura adaptada da referência 15).	4
Figura 4. Representação esquemática dos principais tipos de abordagem usados no design de sensores químicos óticos (Figura adaptada da referência 19).	5
Figura 5. Representação esquemática de um sensor, onde o reconhecimento do analito leva a uma mudança da cor do sensor (Figura adaptada da referência 18).....	6
Figura 6. Representação esquemática de um sensor, onde o reconhecimento do analito leva a uma mudança da fluorescência do sensor (Figura adaptada da referência 18).	8
Figura 7. Representação esquemática de um sensor (A) com espaçador e (B) integrado (Figura adaptada da referência 24).	9
Figura 8. Estrutura básica do 1Himidazole.....	10
Figura 9. Solução do imidazole 1 , em H ₂ O (pH 7,4)/ACN (90:10), e após a adição de Cu(II)..	13
Figura 10. Estruturas dos compostos 1-3	13
Figura 11. Titulação fluorimétrica do composto 2 em ACN com adição de quantidades crescentes de Cu(II) (Figura adaptada da referência 43).....	14
Figura 12. Estruturas dos compostos 4-7	14
Figura 13. Sensor colorimétrico seletivo de fluoreto e fluorimétrico seletivo de Cu(II), em ACN (Figura adaptada da referência 49).	15
Figura 14. Estruturas dos compostos 8 e 9	16
Figura 15. Espectros de UV-vis do composto 8 , em (A) ACN e (B) ACN/H ₂ O (9:1) na presença de 100 equivalentes de diversos aniões (Figura adaptada da referência 50).	16
Figura 16. Estruturas dos compostos 10-12	16
Figura 17. Alterações de cor do composto 12 , em (A) ACN e (B) ACN/H ₂ O (97:3), observadas na presença de 100 equivalentes de diversos aniões (Figura adaptada da referência 51).....	17
Figura 18. Estruturas dos compostos 13-20	17
Figura 19. Alterações de cor do composto 20 , em ACN/H ₂ O (9:1), observadas na presença de 100 equivalentes de diversos aniões (Figura adaptada da referência 30).	18

Figura 20. (A) Estrutura do composto 21. (B) Esquerda: Emissão sob irradiação a 365 nm de uma solução de etanol do composto na presença de dois equivalentes de Cu(II). Direita: soluções de etanol do composto na presença de um equivalente de Cu(II) e de Ca(II) e na presença de dois equivalentes de Cu(II) (Figura adaptada da referência 52).	18
Figura 21. Estruturas dos compostos 22-24	19
Figura 22. Estrutura do derivado de imidazole 4a	33
Figura 23. Espectro parcial de $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMQC do derivado de imidazole 4a , em DMSO- <i>d</i> ₆	33
Figura 24. Espectro de $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC do derivado de imidazole 4a , em DMSO- <i>d</i> ₆	34
Figura 25. Espectros de (A) absorção e de (B) emissão normalizados relativos aos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d , em ACN.	37
Figura 26. Espectros de (A) absorção e de (B) emissão normalizados relativos aos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d , na mistura de H ₂ O/DMSO (95:5).	38
Figura 27. Soluções com o composto 3a , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	41
Figura 28. Soluções com o composto 3b , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	42
Figura 29. Soluções com o composto 3c , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	42
Figura 30. Soluções com o composto 3d , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	43
Figura 31. Soluções com o composto 3e , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	43
Figura 32. Soluções com o composto 4a , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	44
Figura 33. Soluções com o composto 4d , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	44
Figura 34. Soluções do composto 3a , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	46
Figura 35. Soluções do composto 3b , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	46
Figura 36. Soluções do composto 3c , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	47

Figura 37. Soluções do composto 3d , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	47
Figura 38. Soluções do composto 3e , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	48
Figura 39. Soluções com o composto 4a , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	48
Figura 40. Soluções com o composto 4d , em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	49
Figura 41. Soluções com o composto 3e , em ACN/H ₂ O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.	50
Figura 42. Soluções do composto 4a , em ACN/H ₂ O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.	51
Figura 43. Soluções com o composto 3e , em ACN/H ₂ O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	52
Figura 44. Soluções do composto 4a , em ACN/H ₂ O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos catiões, (A) na presença de luz natural e (B) sob radiação UV a 365 nm.....	52
Figura 45. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole 3e com o catião Hg ²⁺ , em (A) ACN e em (B) ACN/H ₂ O (75:25).	54
Figura 46. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole 3e com o catião Cu ²⁺ , em (A) ACN e em (B) ACN/H ₂ O (75:25).	54
Figura 47. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole 3e com o catião Pd ²⁺ , em (A) ACN e em (B) ACN/H ₂ O (75:25).....	55
Figura 48. Espectro de emissão normalizado da interação do derivado de imidazole 3e com o catião Al ³⁺ , em ACN.....	56
Figura 49. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole 4a com os aniões (A) cianeto e (B) fluoreto, em ACN.	56
Figura 50. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole 4a com os catiões (A) Pd ²⁺ e (B) Pb ²⁺ , em ACN.	57

Tabela 1. Dados experimentais dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d	34
Tabela 2. Dados dos comprimentos de onda de absorção e de emissão, desvio de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, tempos de vida de fluorescência e taxas dos decaimentos radiativos e não radiativos dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d em ACN... 36	36
Tabela 3. Dados dos comprimentos de onda de absorção e de emissão, desvio de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, tempos de vida de fluorescência e taxas dos decaimentos radiativos e não radiativos dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d em H ₂ O/DMSO (95:5).	37
Tabela 4. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora fluorométrica dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d , em soluções de ACN, na presença de aniões.	45
Tabela 5. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora colorimétrica e fluorométrica dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d , em soluções de ACN, na presença de catiões.	49
Tabela 6. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora fluorométrica dos derivados de imidazole 3e e 4a , em soluções de ACN/H ₂ O (75:25), na presença de aniões.	51
Tabela 7. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora colorimétrica e fluorométrica dos derivados de imidazole 3e e 4a , em soluções de ACN/H ₂ O (75:25), na presença de catiões.	53

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Passos do mecanismo da reação de Radziszewski.....	31
Esquema 2. Síntese dos derivados de imidazole 3a-e , 4a e 4d , usando como precursores os aldeídos 1a-b e as dionas 2a-e	32

COMUNICAÇÕES EM CONGRESSOS

Parte dos resultados obtidos durante o desenvolvimento da dissertação foram apresentados como comunicação em formato de poster.

Ramos, N. L. P.; Nogueira, M. B.; Costa, S. P. G.; Raposo, M. M. M. 2,4,5-(Hetero)arylimidazole probe for the selective detection of fluoride anion, P05, *4th Symposium on Medicinal Chemistry of the University of Minho*, 24 de maio 2019, Braga, Portugal.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1. QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

A química supramolecular, ao longo dos últimos 50 anos, tem sofrido um enorme progresso, ramificando-se em diferentes direções tendo desenvolvido as suas próprias subcategorias. O primeiro prémio Nobel atribuído à química supramolecular foi atribuído a Charles Pedersen, Donald J. Cram e Jean-Marie Lehn, em 1987, pela sua investigação em éteres de coroa, carcerandos e criptandos. O segundo prémio Nobel foi atribuído, em 2016, a Jean-Pierre Sauvage, a Sir J. Fraser Stoddart e a Bernard L. Feringa pela introdução e avanço na investigação das máquinas moleculares.^{1,2}

Jean-Marie Lehn definiu a química supramolecular como a “química das montagens moleculares e das ligações intermoleculares”, mas existem outras definições como “a química além da molécula”, “a química da ligação não covalente”, “a química não molecular” ou ainda a “a química do *lego*”.³ A química supramolecular foca-se nas interações não covalentes, como dipolo-dipolo, ligação de hidrogénio, ião-dipolo, forças de van der Waals, coordenação metálica, forças hidrofóbicas e interações π - π entre uma molécula hospedeira (recetor) e uma molécula hóspede (substrato).^{1,4,5}

Atualmente, a química supramolecular é uma área altamente interdisciplinar da química, ciências biológicas e ciências dos materiais.⁶

Considerando um substrato (ião ou molécula), a abordagem supramolecular considera que um recetor apropriado pode ser desenhado quando as propriedades químicas e estruturais são adequadas para o reconhecimento específico do substrato (**Figura 1**).⁷

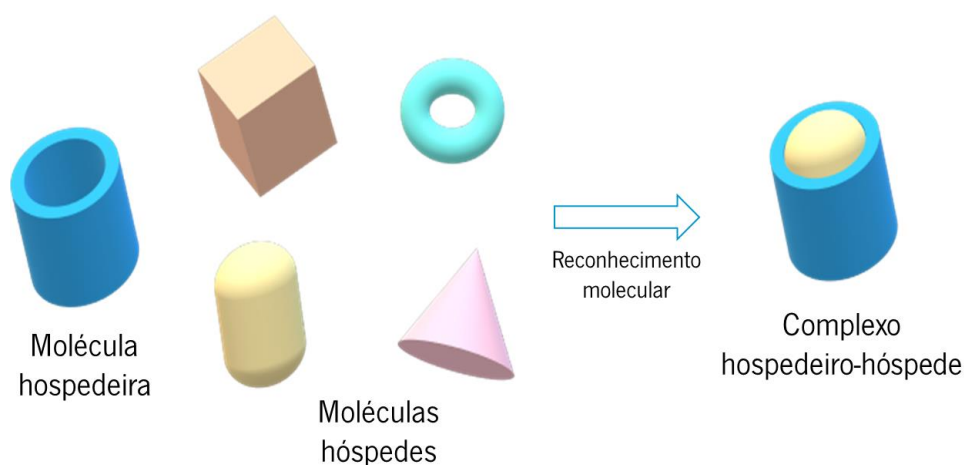


Figura 1. Princípio básico do reconhecimento molecular (Figura adaptada da referência 7).

1.1. SENSORES QUÍMICOS

Um sensor químico é definido como “uma molécula de origem abiótica que sinaliza a presença de matéria ou energia”.⁸ Um sensor químico possui duas funções: reconhecimento e transdução. O recetor liga-se ao substrato e o transdutor expressa o evento de reconhecimento – (**Figura 2**), originando mudanças eletrónicas na molécula hospedeira. Os sensores químicos possuem um papel importante na deteção de espécies químicas em diferentes áreas como o ambiente, em contextos biológicos e medicinais.⁹⁻¹¹

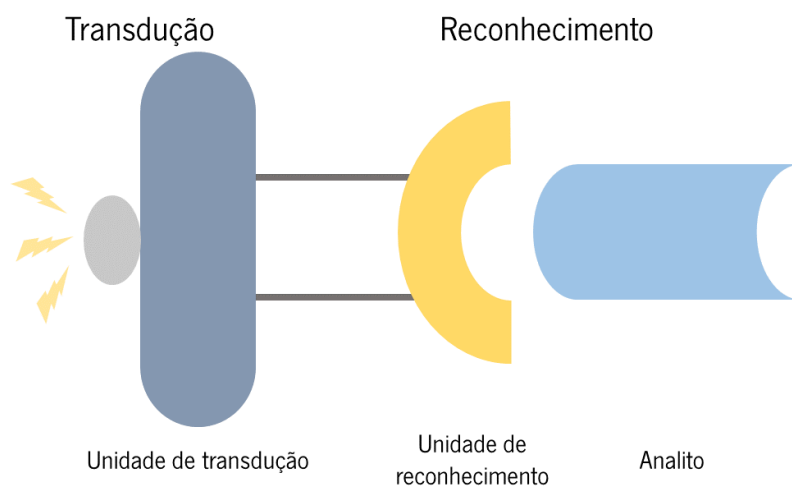


Figura 2. Representação esquemática de um sensor químico (Figura adaptada da referência 10).

Um sensor químico pode ser classificado, tendo em conta o princípio de funcionamento do transdutor, como:¹²

- **óptico** – baseia-se nas suas alterações de absorvância, transmitância, fluorescência, luminescência e dispersão de luz;
- **eletroquímico** – utiliza o efeito eletroquímico entre os analitos e os elétrodos que contém;
- **massa** – depende da carga da massa de adsorção do analito através da modificação especial da superfície do sensor;
- **magnético** – baseia-se nas mudanças das propriedades magnéticas após a adsorção do analito;
- **térmico** – o sinal baseia-se na calorimetria, na taxa de uma reação química ou na adsorção de moléculas que envolve o analito.

1.1.1. SENSORES QUÍMICOS ÓTICOS

O reconhecimento e sinalização de espécies iônicas e de moléculas de complexidade variada é uma das áreas mais estudadas da química supramolecular sendo os sensores óticos e eletroquímicos os mais utilizados. Dentro destas possibilidades, os sensores óticos são muito interessantes uma vez que a instrumentação usada é de baixo custo e bastante acessível, a detecção pode ocorrer a “olho nu” e requer pouca quantidade de amostra.^{13,14}

Este tipo de sensores baseiam-se, essencialmente, nas alterações de cor e/ou de fluorescência. Tendo em conta as unidades de sinalização, cromóforo ou fluoróforo, os sensores podem ser do tipo colorimétrico ou fluorimétrico, respetivamente (**Figura 3**).¹⁵

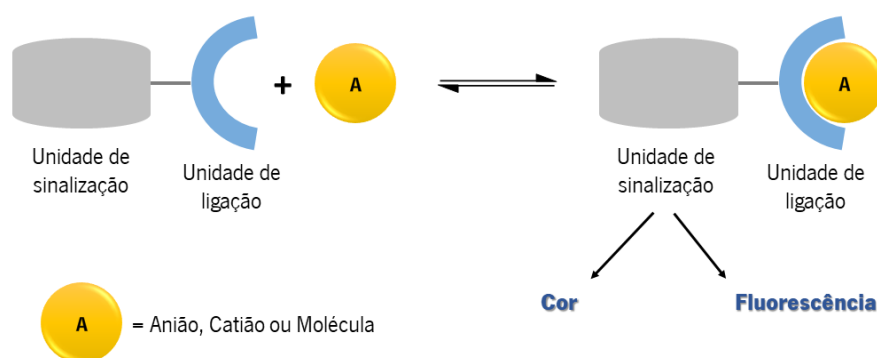


Figura 3. Representação esquemática de um sensor químico ótico baseado numa unidade de ligação e sinalização e a sua interação com um analito (Figura adaptada da referência 15).

1.1.2. DESIGN DE SENSORES QUÍMICOS ÓTICOS

O design do recetor ou da unidade de ligação é um passo crucial no desenvolvimento de sensores químicos.¹⁶ Deste modo, existem aspetos importantes que devem ser considerados na conceção de um sensor químico como a afinidade do analito, a seletividade, o meio no qual a detecção é realizada, o mecanismo de sinalização ótica e a facilidade de síntese.

Existem três paradigmas principais que são utilizados no desenvolvimento de sensores químicos óticos:¹⁷⁻²⁰ (**Figura 4**).

- **Abordagem “unidade de reconhecimento-unidade de sinalização”** – a unidade de sinalização está covalentemente ligada à unidade de reconhecimento

ótico, de tal forma, que a interação de certas espécies induz alterações nas propriedades eletrônicas na unidade de sinalização resultando em mudanças de cor ou de emissão. Esta é a abordagem mais comum no design de sensores químicos (**Figura 4-A**).

- **Abordagem “por deslocamento”** – similar à abordagem anterior, uma vez que também possui uma unidade de sinalização e uma unidade de reconhecimento, sendo que, neste caso, as duas partes formam um complexo de coordenação e não uma ligação covalente. Na presença de um hóspede/analito alvo, há uma reação de deslocamento, ou seja, o local de ligação coordena-se com o analito gerando-se, assim, um sinal ótico por deslocamento da unidade de sinalização (**Figura 4-B**).
- **Abordagem “quimiosimétrica”** – utiliza reações químicas induzidas por analitos que originam mudanças seletivas na fluorescência ou na cor devido à ligação irreversível do analito ao local de ligação (**Figura 4-C**).

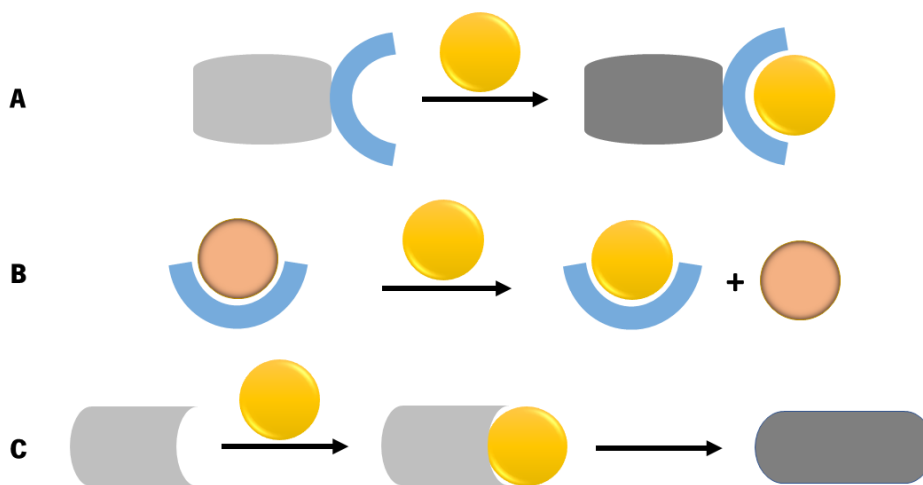


Figura 4. Representação esquemática dos principais tipos de abordagem usados no design de sensores químicos óticos (Figura adaptada da referência 19).

1.1.3. SENSORES QUÍMICOS COLORIMÉTRICOS

Os sensores químicos colorimétricos são uma alternativa aos instrumentos analíticos tradicionais e são bastante atrativos devido à possibilidade de detecção de analitos a “olho nu”.²¹ Este tipo de sensores têm também a vantagem de detecção no local e em tempo real de forma simples e barata, uma vez que não necessitam de qualquer instrumento de detecção ou pré-

tratamento de amostras, podendo fornecer informações qualitativas e quantitativas de espécies iônicas e neutras presentes, por exemplo, em fármacos ou em amostras ambientais.^{11,22,23} Em análises colorimétricas, existem duas mudanças a serem consideradas: uma alteração no comprimento de onda máximo de absorção, que poderá induzir uma alteração de uma cor para outra e, ainda, uma variação da intensidade da absorção num determinado comprimento de onda em que essa cor surge (**Figura 5**).²⁴

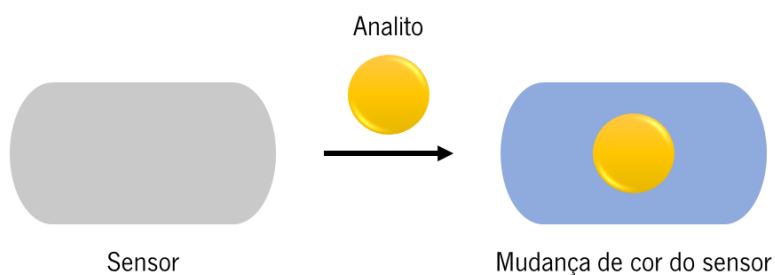


Figura 5. Representação esquemática de um sensor, onde o reconhecimento do analito leva a uma mudança da cor do sensor (Figura adaptada da referência 18).

A cor apresentada pelos compostos orgânicos é devida à absorção de radiação eletromagnética na gama do visível (aproximadamente 400-700 nm) e estando esta propriedade relacionada com a estrutura química do composto. Assim, muitos compostos possuem sistemas de ligações duplas conjugadas, sendo a diferença de energia entre a orbital ocupada de maior energia (HOMO) e a orbital molecular desocupada de menor energia (LUMO) fundamental para determinar a cor de um determinado composto orgânico. Portanto, muitos sistemas conjugados têm diferenças de energia entre a HOMO e a LUMO que correspondem aos comprimentos de onda da luz visível e quanto maior for a extensão do sistema conjugado, menor é a diferença de energia entre o estado fundamental e o estado excitado, o que resulta num desvio batocrômico da banda de absorção. De modo a alterar o comprimento de absorção da banda, podem ser introduzidos nos sistemas conjugados grupos doadores de elétrons (NR_2 , NHR , NH_2 , OH , OR , O , etc.) ou grupos aceptores de elétrons (NO_2 , SO_3 , COOH , CHO , CN , etc.).¹⁸

Um cromóforo do tipo dador-aceitador (*push-pull*), é um sistema conjugado contendo um grupo dador de elétrons e um grupo aceitador de elétrons, no qual pode ser observada uma banda de transferência de carga, correspondente a uma carga eletrônica transferida a partir do grupo dador para o grupo aceitador, geralmente através de um espaçador/ponte π . A interação

do analito com o grupo dador ou aceitador pode afetar a posição da banda de transferência de carga, produzindo uma alteração de cor. Assim, ocorre um desvio batocrômico quando, por exemplo, um catião se liga ao grupo dador, o que conduz a uma destabilização do estado excitado e, por conseguinte, a um desvio da banda de absorção para maiores comprimentos de onda. A interação com o grupo aceitador vai criar o efeito oposto, devido à estabilização do estado excitado e, conseqüentemente, um desvio hipsocrômico da banda de transferência de carga, ocorrendo assim um deslocamento da banda de absorção para menores comprimentos de onda.

De forma a otimizar os deslocamentos batocrômicos surgiram várias estratégias tais como: *i)* o aumento do sistema conjugado através da introdução de cadeias de carbono insaturadas (ou outras); *ii)* introdução de anéis aromáticos e/ou heterocíclicos; *iii)* introdução de grupos dadores ou aceitadores de elétrões em pontos cruciais do sistema e *iv)* alteração da força dos grupos dadores ou dos grupos aceitadores de elétrões.^{14,18}

1.1.4. SENSORES QUÍMICOS FLUORIMÉTRICOS

A evolução da deteção de fluorescência tem sido reconhecida como um campo de investigação essencial e fascinante da química analítica no presente, sendo muito utilizada na física, na ciência dos materiais, na biologia e em medicina como ferramenta de deteção/análise, visualização, investigação de propriedades locais e de diagnóstico.²⁵

O processo de emissão de fluorescência ocorre quando uma molécula absorve radiação e passa para um estado excitado (S_1), sem alteração da sua multiplicidade e os elétrões regressam ao estado fundamental (S_0) através da emissão de fotões. A intensidade de fluorescência diminui exponencialmente com o tempo de vida do estado excitado, que é o tempo médio durante o qual as moléculas permanecem no estado excitado S_1 (10^{-10} - 10^{-7} s) antes de regressarem ao estado fundamental.²⁶

A tecnologia dos sensores fluorescentes tem atraído uma atenção considerável como um tipo de método de sinalização fácil e eficiente para detetar espécies químicas e biológicas, devido à sua simplicidade, versatilidade (podem ser aplicados em meio sólido, líquido ou gasoso) e elevada seletividade e sensibilidade. Os sensores químicos fluorimétricos desempenham um papel fundamental na deteção e quantificação de iões metálicos, aniões, hidratos de carbono,

pH e outras espécies químicas interessantes. Por estas razões, os sensores químicos fluorimétricos são os mais utilizados.^{27,28}

Um sensor químico fluorimétrico pode ser definido como um composto de origem abiótica que complexa reversivelmente um analito com a posterior transdução de sinal fluorescente. Portanto, dois componentes principais são necessários para o design de sensores químicos fluorimétricos: a unidade de sinalização (o fluoróforo) e a unidade de reconhecimento (o recetor - no caso de coordenação a iões, designa-se por ionóforo). Neste tipo de sensores o processo de reconhecimento baseia-se na alteração da fluorescência (**Figura 6**). Estas alterações são originadas pela perturbação causada pelo analito nos processos fotoinduzidos como transferência eletrónica, transferência de carga e/ou transferência de energia. As unidades do fluoróforo e ionóforo estão ligadas de tal forma que a ligação de um ião ao ionóforo provoca mudanças na fluorescência do fluoróforo.^{18,26}

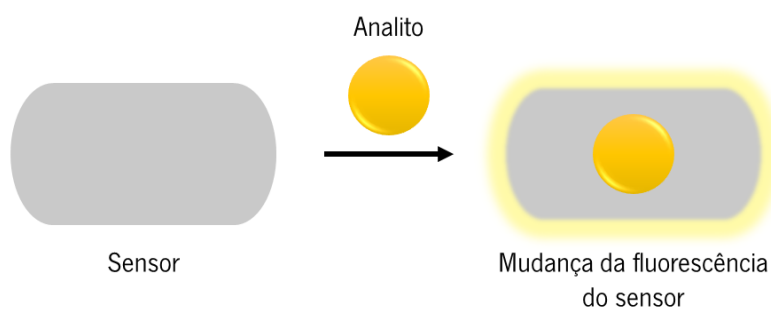


Figura 6. Representação esquemática de um sensor, onde o reconhecimento do analito leva a uma mudança da fluorescência do sensor (Figura adaptada da referência 18).

A maioria dos sensores é baseada em estruturas simples, onde as duas unidades (o recetor e o fluoróforo) estão ligadas através de uma ligação química ou de um espaçador covalente ou ainda integradas em conjunto: por exemplo, o fluoróforo pode conter ambas as unidades na sua estrutura, como está representado esquematicamente na **Figura 7**.^{24,29}

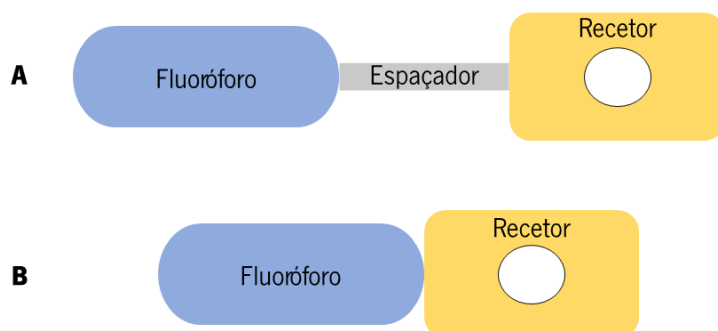


Figura 7. Representação esquemática de um sensor **(A)** com espaçador e **(B)** integrado (Figura adaptada da referência 24).

Os derivados heterocíclicos, podendo funcionar simultaneamente como unidades de reconhecimento e de sinalização, são espécies químicas muito versáteis no design deste tipo de sensores químicos.³⁰⁻³²

Os sensores químicos fluorimétricos dividem-se em três classes.^{24,26}

- **Classe 1** – os fluoróforos sofrem diminuição da intensidade (*quenching*) de fluorescência motivada pela colisão com o analito;
- **Classe 2** – os fluoróforos são capazes de se ligar reversivelmente ao analito. Conforme o analito podem subdividir-se em: agente quelante fluorescente, se se tratar de um ião, ou indicador fluorescente de pH, caso o analito seja H⁺. Após ligação ao analito, pode ocorrer uma diminuição da intensidade de fluorescência (efeito CHEQ, *Chelation Enhancement of Quenching*) ou um aumento da intensidade da fluorescência (efeito CHEF, *Chelation Enhancement of Fluorescence*);
- **Classe 3** – os fluoróforos estão ligados a uma unidade recetora. O analito ligado provoca perturbações de processos fotoinduzidos (como por exemplo transferência eletrónica, transferência de carga, transferência de energia, etc.) que provocam alterações nas propriedades fotofísicas do fluoróforo.

1.2. DERIVADOS DE IMIDAZOLE COMO SENSORES QUÍMICOS ÓTICOS

O estudo dos compostos heterocíclicos teve início no século XIX acompanhando o crescimento da química orgânica.³³ O imidazole, descoberto em 1840, é um heterociclo planar, anfotérico e com elevada polaridade, constituído por um anel de cinco membros contendo três átomos de carbono e dois átomos de nitrogénio nas posições 1 e 3 (**Figura 8**). Este heterociclo

existe em duas formas tautoméricas equivalentes, nas quais o átomo de hidrogénio pode estar localizado num dos dois átomos de nitrogénio. O anel de imidazole tem uma importância relevante entre os compostos heterocíclicos, uma vez que é constituinte de vários compostos com atividade biológica que ocorrem naturalmente, como a adenina, guanina, histamina, biotina, histidina e vitamina B₁₂.³⁴ Derivados sintéticos de imidazole apresentam também diversas aplicações farmacológicas devido à sua atividade analgésica, anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana, antidepressiva, antiviral e anticancerígena. Desde a sua descoberta, a investigação e o desenvolvimento de novos compostos baseados neste heterociclo cresceu rapidamente. Uma das razões que motivam o seu desenvolvimento centra-se no facto de possuir amplas aplicações como agroquímicos, recetores artificiais ou ligandos supramoleculares, entre outras.^{33,35-37}

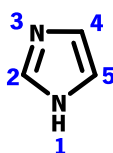


Figura 8. Estrutura básica do 1H-imidazole.

Os derivados de imidazole são valorizados pelas suas propriedades de fluorescência e luminescência, por isso, este heterociclo tem-se tornado cada vez mais importante no campo dos sensores químicos óticos.^{13,17,30-32,34,38,39}

Os derivados de imidazole são conhecidos como grupos de ligação para aniões e a capacidade de coordenação do grupo de imidazole depende da acidez do protão do NH, que poderá ser modulada por substituintes adequados tais como anéis heteroaromáticos com eletrões π que sejam facilmente deslocalizados (tiofeno, pirrole ou furano), ou através da sua funcionalização com grupos retiradores de eletrões.^{13,17,30,39}

Novos tipos de sensores químicos fluorescentes com o núcleo de imidazole e com propriedades fotofísicas desejáveis, como grandes desvios de Stokes, continuam a ser investigados.⁴⁰ Os cromóforos possuindo o núcleo de imidazole têm recebido atenção crescente, devido às suas propriedades óticas distintas e excelentes estabilidades térmicas, tornando-os sistemas versáteis para várias aplicações, tais como sensores óticos e sondas fluorescentes para a deteção de analitos em células *in vivo*.^{13,17,30,32,39}

1.2.1. RECONHECIMENTO DE IÕES

Os iões têm um papel fundamental em várias áreas, nomeadamente, na medicina, no ambiente e na biologia, na medida em que desempenham funções importantes nos seres vivos. Assim sendo, a identificação e quantificação de estes analitos tornou-se importante para a compreensão de certas doenças e para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico.⁴¹

1.2.1.1. Catiões

Os catiões metálicos desempenham um papel importante em vários processos biológicos.^{13,32,41}

O ferro(III) é essencial no crescimento e desenvolvimento dos sistemas vivos e nos processos bioquímicos que ocorrem nas células. A falta de este ião no organismo pode conduzir a várias doenças como anemia, diabetes, hemocromatose, doença de Parkinson e ainda pode estar associada a disfunções no coração, pâncreas e fígado.^{32,33,35,37}

O cobre(II) é o terceiro metal de transição mais abundante e essencial no corpo humano em virtude dos papéis vitais que desempenha em diversos processos biológicos, designadamente na estimulação de células endoteliais sendo necessário para a secreção de vários fatores angiogénicos pelas células tumorais.³¹ No entanto, dadas as extensas aplicações na ciência e na indústria, tornou-se num poluente perigoso para o meio ambiente. Níveis anormais de cobre(II) nos organismos podem causar problemas de saúde sérios, como é o caso do surgimento de doenças neurodegenerativas.⁴²

O paládio(II) possui elevada toxicidade e, por isso, é altamente nocivo para o meio ambiente e saúde humana. É amplamente utilizado em diversos materiais como coroas dentárias, células de combustível e joias. Além disso, é bastante utilizado como catalisador em síntese orgânica.^{32,43,44}

O mercúrio(II) é um poluente global que afeta não só o ecossistema, mas também a saúde humana. A exposição a este metal, mesmo em baixas concentrações, induz doenças digestivas, renais e do sistema endócrino e está, ainda, associado a doenças neurológicas.⁴⁵

Para além dos catiões citados anteriormente, existem outros no ambiente, como é o caso do chumbo(II) e do cádmio(II) e, por isso, é desejável uma deteção precoce destes iões.⁴⁶

1.2.1.2. Aniões

Os aniões também estão envolvidos em processos biológicos importantes, desempenhando várias funções.¹⁸

O fluoreto é um analito muito importante dada a sua importância biológica e medicinal. Este anião é muito utilizado nos cuidados dentários diários e no tratamento da osteoporose.⁴⁷ No entanto, uma exposição excessiva a este anião, pode ter efeitos prejudiciais, como insuficiência renal e defeitos esqueléticos debilitantes.³²

O anião cianeto é conhecido pela sua toxicidade para o ambiente e para os mamíferos, levando a convulsões, perda de consciência e eventual morte. Para além de ser encontrado em muitos alimentos e plantas, o cianeto é industrialmente utilizado na síntese de produtos químicos orgânicos, polímeros, metalurgia e mineração do ouro.³⁰

No grupo de investigação onde decorreu o presente trabalho, existe uma grande experiência na área dos sensores químicos óticos (colorimétricos e fluorimétricos) para a deteção de catiões, como o cobre(II), o paládio(II) entre outros assim como de aniões como o fluoreto e cianeto. Posto isto, apresentam-se a seguir exemplos de derivados de imidazole utilizados como sensores químicos colorimétricos e/ou fluorimétricos na deteção de iões e como sondas de fluorescência para bioimagem, reportados na literatura.^{30-32,42,48-52}

Derivados de imidazole contendo grupos doadores de eletrões, como o tiofeno e o furano, ou grupos aceitadores de eletrões, como é o caso da fenantrolina, foram reportados como sensores químicos para detetar Cu(II). Os cromóforos à base do 2,4,5-triarilimidazole têm recebido atenção crescente devido às suas propriedades óticas. Okda *et al.* refere o derivado de imidazole **1 (Figura 10)** capaz de detetar o Cu(II). A adição de quantidades crescentes de Cu(II) à solução do composto **1 (Figura 9)** em H₂O (pH 7,4)/ACN (90:10), induziu um desvio da banda de absorção para a zona do vermelho, o que foi demonstrado pela alteração da cor da solução de incolor para azul (**Figura 9**). Foi, ainda, observado um *quenching* da fluorescência do composto **1** na presença do Cu(II).³¹



Figura 9. Solução do imidazole **1**, em H₂O (pH 7,4)/ACN (90:10), e após a adição de Cu(II).³¹

Os mesmos autores referem, noutra publicação, dois derivados de imidazole **2** e **3** (**Figura 10**), semelhantes ao descrito anteriormente, que se mostraram seletivos como sensores químicos colorimétricos e fluorimétricos na deteção do cobre(II). O Cu(II) induziu desvios batocrômicos na banda de absorção das soluções de ambos os derivados de imidazole. Além disso, os compostos **2** e **3** (**Figura 10**) apresentaram bandas de emissão intensas que, com a adição do Cu(II), sofrem *quenching* de fluorescência (**Figura 11**). O derivado **2** (**Figura 10**) é solúvel em ACN/H₂O (1:1) e o Cu(II) também induz um desvio batocrômico da banda de absorção da solução deste composto. Adicionalmente, as bandas de emissão do derivado **2** nesta mistura também sofreram uma diminuição da fluorescência na presença do Cu(II).⁴²

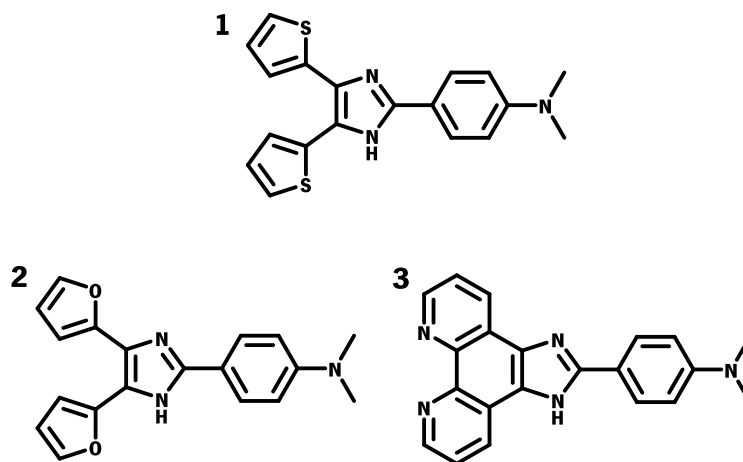


Figura 10. Estruturas dos compostos **1-3**.

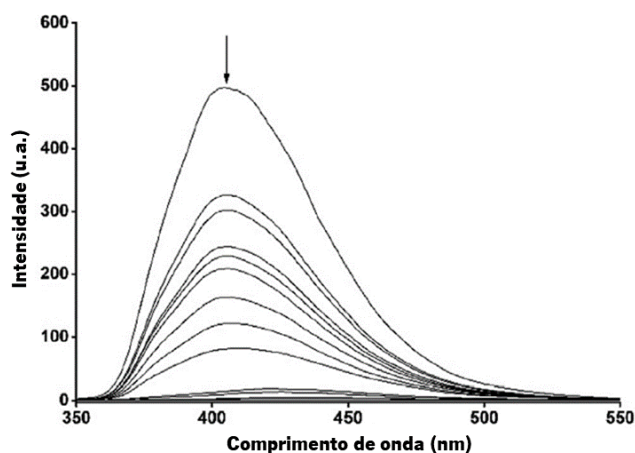


Figura 11. Titulação fluorimétrica do composto **2** em ACN com adição de quantidades crescentes de Cu(II) (Figura adaptada da referência 43).

A funcionalização do núcleo de imidazole nas posições 4 e 5 pelo fenantreno, assim como a introdução de heterociclos fluorescentes, na posição 2 do anel de imidazole, permite criar sítios de ligação para uma variedade de iões através dos átomos doadores dos heterociclos assim como de unidades de sinalização adicionais.

Ferreira *et al.* refere um conjunto de fenantroimidazoles funcionalizados com diferentes espaçadores heterocíclicos que foram avaliados como sensores químicos. A interação dos compostos **4-7** (**Figura 12**) com aniões e catiões em ACN e ACN/H₂O (95:5) mostrou que estes são recetores seletivos para vários aniões (AcO⁻, CN⁻ e F⁻) e catiões (Fe³⁺, Cu²⁺ e Pd²⁺), sendo que o composto **5** (**Figura 12**) mostrou ser o recetor mais sensível para o Fe³⁺ e Cu²⁺. Por outro lado, os compostos **5-7** (**Figura 12**), foram os recetores mais sensíveis para os aniões AcO⁻, CN⁻ e F⁻.³²

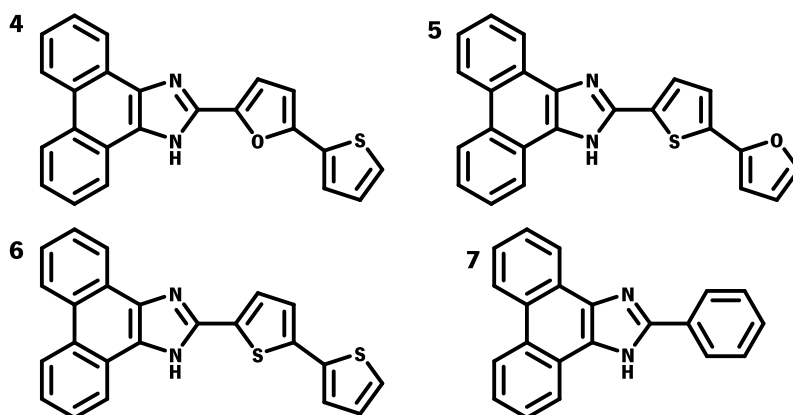


Figura 12. Estruturas dos compostos **4-7**.

Derivados de imidazole contendo sistemas como a antraquinona, originam recetores expandidos mais versáteis, contendo este heterociclo, aumentando a acidez do próton do NH devido à mudança das propriedades eletrônicas dos substituintes do imidazole.

Batista *et al.* reportaram derivados de bitienil-imidazo-antraquinonas como sensores químicos colorimétricos dos cátions Zn(II), Hg(II) e Cu(II), em ACN. O composto representado na **Figura 13**, mostrou uma mudança de cor da solução de cor de rosa para amarelo dourado após a complexação com o Cu(II) e o Hg(II). A complexação com os cátions foi possível após a desprotonação do composto com um excesso do anião fluoreto.⁴⁸



Figura 13. Sensor colorimétrico seletivo de fluoreto e fluorimétrico seletivo de Cu(II), em ACN (Figura adaptada da referência 49).

Os compostos baseados em naftil-imidazo-antraquinonas (**Figura 14**) foram reportados por Batista *et al.* como sensores químicos colorimétricos e fluorimétricos para os aniões F⁻ e CN⁻. As titulações colorimétricas e fluorimétricas revelaram uma maior sensibilidade para os aniões fluoreto e cianeto, mas observou-se um comportamento diferente na fluorescência, uma vez que a antraquinona **8** (**Figura 14**) sofreu um efeito CHEF e a antraquinona **9** (**Figura 14**) sofreu um efeito CHEQ. Quanto ao comportamento colorimétrico, observou-se uma mudança da cor de amarelo para cor de laranja (**Figura 15-A**), depois da adição dos aniões, no composto **8**. Além disso, a adição de um excesso do fluoreto nos dois ligandos resultou numa desprotonação do NH do núcleo de imidazole e a forma fluorescente desprotonada foi utilizada na detecção de íons metálicos como o Cu(II), Pd(II) e Hg(II).⁴⁹

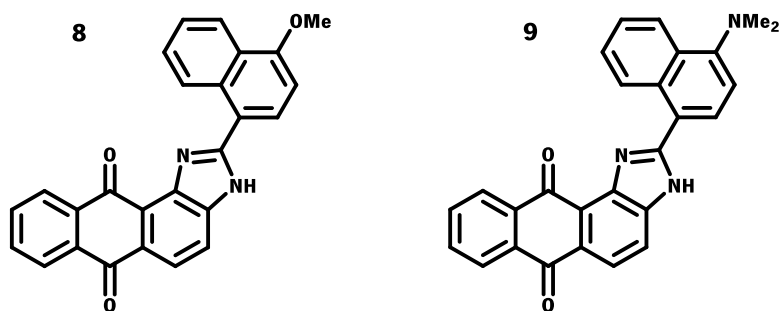


Figura 14. Estruturas dos compostos **8** e **9**.

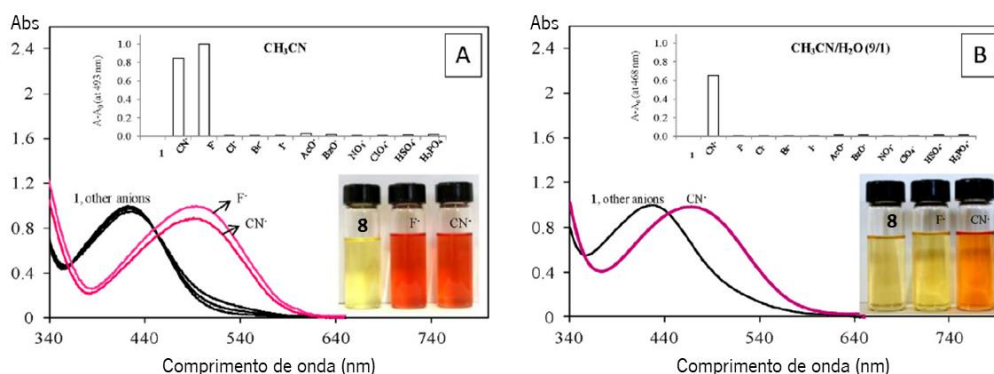


Figura 15. Espectros de UV-vis do composto **8**, em **(A)** ACN e **(B)** ACN/H₂O (9:1) na presença de 100 equivalentes de diversos aniões (Figura adaptada da referência 50).

Batista *et al.* comunicaram três derivados de imidazo-antraquinonas funcionalizadas com os grupos indole e carbazole (**Figura 16**). Após a adição dos aniões fluoreto e cianeto às soluções dos compostos **10-13**, em acetonitrilo, observou-se uma mudança de cor de amarelo para cor de laranja (**Figura 17-A**) e a fluorescência dos compostos **10** e **11** aumentou. Na mistura de ACN/H₂O (97:3), apenas o cianeto revelou uma mudança de cor de amarelo para cor de laranja na solução do composto **12** (**Figura 17-B**).⁵⁰

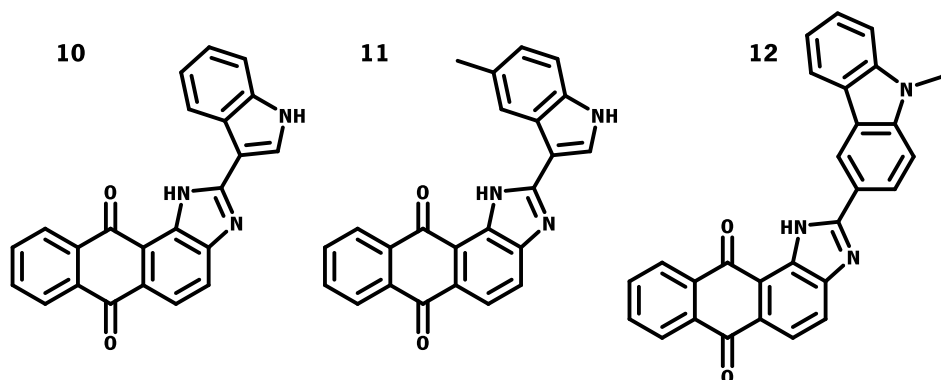


Figura 16. Estruturas dos compostos **10-12**.

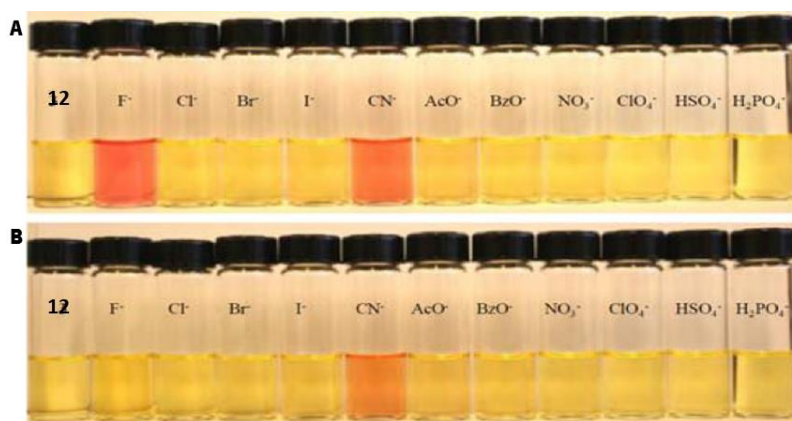


Figura 17. Alterações de cor do composto **12**, em **(A)** ACN e **(B)** ACN/H₂O (97:3), observadas na presença de 100 equivalentes de diversos aniões (Figura adaptada da referência 51).

Batista *et al.* publicaram oito derivados de imidazo-antraquinonas (**Figura 18**) e todos eles exibiram uma boa seletividade para o anião cianeto, em ACN/H₂O (9:1), mostrando uma alteração da cor da solução de amarelo para laranja (**Figura 19**), existindo, também, um *quenching* da fluorescência. Além disso, os sensores químicos **13-20** (**Figura 18**) mostraram uma elevada sensibilidade, uma vez que são capazes de detetar cianeto em concentrações muito baixas (abaixo de 4 μ M).³⁰

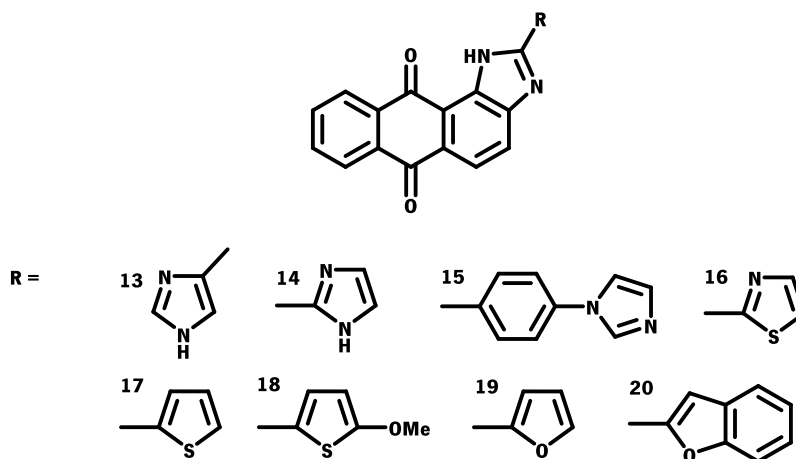


Figura 18. Estruturas dos compostos **13-20**.



Figura 19. Alterações de cor do composto **20**, em ACN/H₂O (9:1), observadas na presença de 100 equivalentes de diversos aniões (Figura adaptada da referência 30).

Os derivados de éter de coroa são amplamente utilizados em sensores químicos, uma vez que possuem uma capacidade única de se coordenarem com cátions metálicos alcalinos devido à alta seletividade e acessibilidade. Além dos metais alcalinos, podem também ser usados na complexação com íons de metais alcalino terrosos e de metais de transição. Por isto, os éteres de coroa ocupam um lugar especial entre os recetores de cátions.⁴³

Oliveira *et al.* reportaram o derivado de éter de coroa **21** com o núcleo de imidazole funcionalizado com o tiofeno, representado na **Figura 20-A**, como sensor colorimétrico de cátions. O composto, em etanol absoluto, revelou capacidade de complexar com os cátions Ca(II), Ni(II), Hg(II) e Cu(II). Uma vez que este ligando pode ser coordenado por 2 íons, foi explorada a formação de espécies heterodinucleares pela adição do Ca(II) seguida da adição de um equivalente de Cu(II), observando-se a variação da cor da solução do complexo de vermelho escuro para cor de laranja (**Figura 20-B**).⁵¹

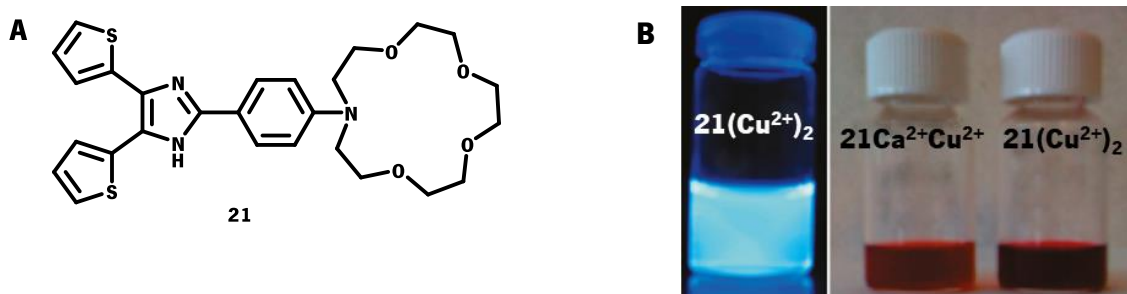


Figura 20. (A) Estrutura do composto **21**. **(B)** Esquerda: Emissão sob irradiação a 365 nm de uma solução de etanol do composto na presença de dois equivalentes de Cu(II). Direita: soluções de etanol do composto na presença de um equivalente de Cu(II) e de Ca(II) e na presença de dois equivalentes de Cu(II) (Figura adaptada da referência 52).

Batista *et al.* reportaram derivados de imidazole funcionalizados com éteres de coroa contendo pontes conjugadas de aritenilo e bitienilo (**Figura 21**), que foram avaliados como sensores químicos fluorimétricos. Todos os derivados sintetizados revelaram capacidade de complexação com Cu(II) e Pd(II). Os sistemas **23** e **24**, também mostraram ser eficientes para detectar aniões, devido a mudanças na emissão após desprotonação do NH pelo íon fluoreto.⁵²

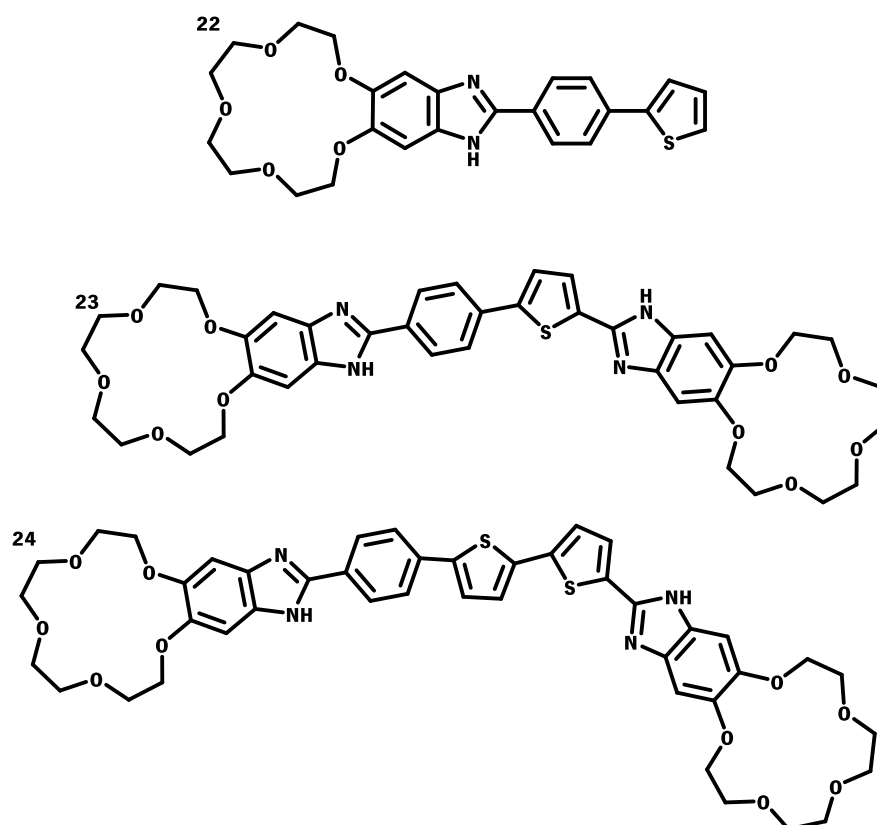


Figura 21. Estruturas dos compostos **22-24**.

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os reagentes e solventes utilizados, disponíveis comercialmente, foram fornecidos pelas marcas Sigma-Aldrich, Acros e Fluka, tendo sido utilizados tal como recebidos.

A cromatografia em camada fina foi efetuada em placas Macherey-Nagel de sílica gel com 0,20 mm de espessura (DC-Fertigfolin ALUGRAM 60F₂₅₄) e o processo de revelação foi com visualização sob luz ultravioleta (λ_{max} 254 e 365 nm) na câmara de luz CN-15LC (Vilber Lourmat).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram obtidos num aparelho Bruker Avance III 400 com uma frequência de operação de 400 MHz e 100,6 MHz, para deteção de ^1H e ^{13}C respetivamente, utilizando o pico de solvente como referência interna. A atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C foi efetuado usando técnicas de correlação heteronuclear bidimensionais HMQC e HMBC. O solvente deuterado utilizado foi o dimetilsulfóxido (DMSO-*d*₆) com um grau de deuturação de 99,9%, contendo 0,1% v/v de tetrametilsilano da marca Sigma-Aldrich.

Os iões utilizados nas titulações espectralfluorimétricas estavam na forma de sais de tetrabutilamónio no caso dos aniões e de perclorato para os catiões, com a exceção do Pd^{2+} e do Li^{2+} , que se encontravam na forma de sais de tetrafluoroborato, tendo sido fornecidos pela Sigma-Aldrich e utilizados tal como recebidos.

Os espectros de absorção no UV-Visível foram obtidos com um espectrofotómetro Cary 50 Conc (Varian) e os espectros de emissão de fluorescência usando um espectrofotómetro Cary Eclipse (Varian). Os tempos de vida foram medidos num aparelho TCSPC Edinburgh Instruments FLS 920.

Os espectros de IV foram obtidos num aparelho ABB FTLA2000, em pastilha de KBr.

Os pontos de fusão foram medidos num aparelho Stuart Scientific Melting Point SMP1.

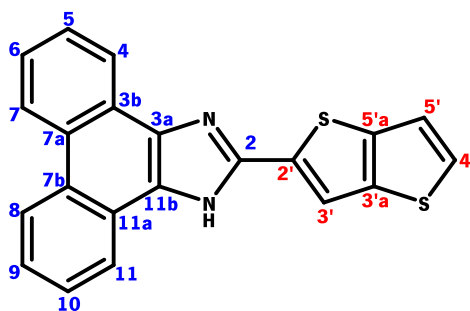
2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESPETROSCÓPICA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE

3a-e, 4a e 4d

2.1. MÉTODO GERAL DE SÍNTESE

O aldeído (1 equiv.), a diona (1 equiv.) e o NH_4OAc (20 equiv.) foram dissolvidos em ácido acético glacial (5 mL) e a mistura reacional ficou em agitação com aquecimento a refluxo durante 3-8 h, sendo a reação monitorizada por TLC. De seguida, a mistura reacional foi arrefecida à temperatura ambiente e adicionou-se acetato de etilo (15 mL) e extraiu-se com água destilada (3×10 mL). Depois de secar a fase orgânica com MgSO_4 anidro, a mistura foi filtrada e o solvente evaporado a pressão reduzida. Os derivados de imidazole puros (**3a-e**, **4a** e **4d**) foram obtidos através da recristalização a partir de acetona e éter de petróleo (40–60 °C).

2.1.1. DERIVADO DE IMIDAZOLE **3a**



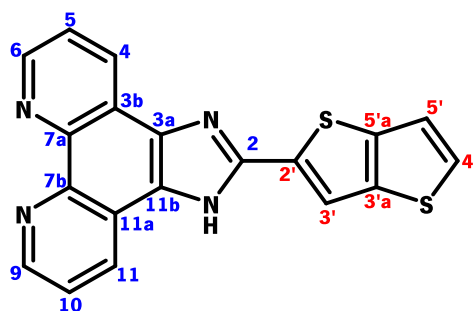
Sólido esverdeado (181 mg; 86%)

$^1\text{H RMN}$ ($\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 7,54$ (d, $J = 5,2$ Hz, H-5'); 7,63 – 7,65 (m, 2H, H-5 e H-10); 7,70 – 7,76 (m, 2H, H-6 e H-9); 7,79 (d, $J = 5,2$ Hz, H-4'); 8,20 (s, 1H, H-3'); 8,44 – 8,53 (m, 2H, H-4 e H-11); 8,82 – 8,88 (m, 2H, H-7 e H-8); 13,72 (s, 1H, NH) ppm.

$^{13}\text{C RMN}$ ($\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 118,11$ (C-3'); 120,31 (C-5'); 121,90 (C-4 e C-11); 122,11 (C-7a e C-7b); 124,01 (C-7 e C-8); 127,47 (C-5 e C-10); 127,24 (C-6 e C-9); 127,60 – 127,82 (C-3a, C-11b, C-3b e C-11a); 129,89 (C-4'); 135,48 (C-2'); 139,47 (C-3'a e C-5'a); 144,93 (C-2) ppm.

IV (KBr): $\nu = 3430$; 3080; 2362; 1656; 1564; 1452; 1362; 1291; 1239; 1198; 1041; 955; 830; 753; 722; 704; 525 cm^{-1} .

2.1.2. DERIVADO DE IMIDAZOLE **3b**



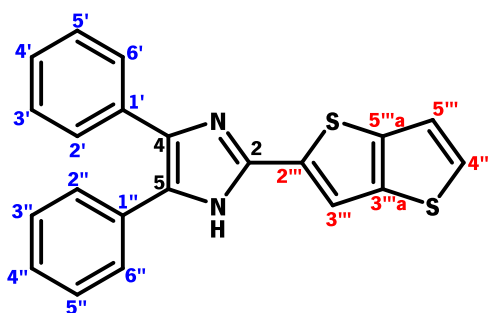
Sólido castanho (175 mg; 83%)

$^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6): δ = 7,52 (d, J = 5,6 Hz, 1H, H-5'); 7,78 – 7,82 (m, 3H, H-4', H-5 e H-10); 8,19 (s, 1H, H-3'); 8,83 – 8,86 (m, 2H, H-4 e H-11); 9,00 – 9,01 (m, 2H, H-6 e H-9) ppm. Não é possível a visualização do sinal do NH.

$^{13}\text{C RMN}$ (DMSO- d_6): δ = 118,44 (C-3'); 120,36 (C-5'); 121,55 (C-3b e C-11a); 123,39 (C-5 e C-10); 129,72 (C-4 e C-11); 130,09 (C-4'); 131,55 (C-3a e C-11b); 135,59 (C-2'); 139,40 (C-5'a); 139,77 (C-3'a); 143,58 (C-7a e C-7b); 146,98 (C-2); 147,83 (C-6 e C-9) ppm.

IV (KBr): ν = 3401; 3075; 2852; 1564; 1478; 1420; 1398; 1349; 1189; 1127; 1075; 1030; 943; 804; 737; 689; 628 cm^{-1} .

2.1.3. DERIVADO DE IMIDAZOLE **3c**



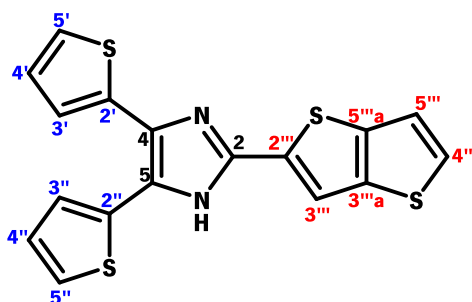
Sólido castanho claro (99 mg; 47%)

$^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6): δ = 7,23 – 7,51 (m, 11H, H-5''' + 2 x 5-Ph), 7,70 (d, J = 5,2 Hz, H-4'''); 7,95 (s, 1H, H-3'''); 12,92 (s, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (DMSO- *d*₆): δ = 116,36 (C-3'''); 120,19 (C-5'''); 126,72-128,76 (2 x Ph); 128,92 (C-4'''); 135,69 (C-2'''); 138,58 (C-3''')a); 139,12 (C-5''')a) 141,51 (C-2) ppm. Não é possível a visualização dos sinais para os carbonos 4 e 5.

IV (KBr): ν = 3399; 3078; 2363; 1706; 1588; 1487; 1446; 1403; 1190; 949; 887; 768; 896 cm⁻¹.

2.1.4. DERIVADO DE IMIDAZOLE **3d**



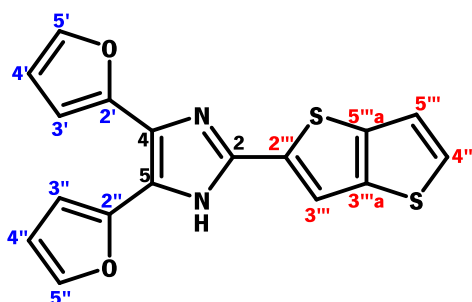
Sólido castanho claro (79 mg; 36%)

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ = 7,04-7,19 (m, 3H, H-4'+H-3'+H-4''); 7,43-7,48 (m, 3H, H-3'''+H-5'+H-5'''); 7,69-7,73 (m, 2H, H-5'''+H-4'''); 7,94 (s, 1H, H-3''') 13,12 (s, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (DMSO-*d*₆): δ = 116,97 (C-3'''); 120,25 (C-5'''); 120,96 (C-4 ou C-5); 123,91 (C-3'); 125,19 (C-3''); 127,59 (C-4'+C-4''); 128,50 (C-5'+C-5''); 129,36 (C-4'''); 130,43 (C-2''); 133,35 (C-4 ou C-5); 134,85 (C-2); 136,76 (C-2'); 138,90 (C-3''')a); 139,14 (C-5''')a); 141,75 (C-2''') ppm.

IV (KBr): ν = 3446; 3106; 2360; 1635; 1596; 1193; 1494; 1402; 946; 886; 845; 818; 697 cm⁻¹.

2.1.5. DERIVADO DE IMIDAZOLE **3e**



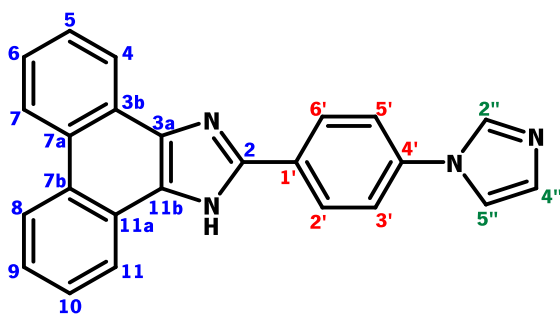
Sólido castanho (99 mg; 50%)

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ = 6,58 – 6,59 (m, 1H, H-4''); 6,67 – 6,68 (m, 1H, H-4'); 6,75 (dd ap, J = 0,4 e 3,2 Hz, 1H, H-3''); 6,97 (d, J = 3,6 Hz, H-3'); 7,47 (dd ap, J = 0,4 e 5,2 Hz, 1H, H-5'''); 7,72 (s, 1H, H-4'''); 7,74 (s, 1H, H-5''); 7,85 (d, J = 1,2 Hz, 1H, H-5'); 8,06 (s, 1H, H-3'''); 13,17 (s, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (DMSO-*d*₆): δ = 107,16 (C-3''); 108,57 (C-3'); 111,48 (C-4''); 112,08 (C-4'); 117,35 (C-3'''); 119,36 (C-4); 120,23 (C-5'''); 129,18 (C-2'''); 129,42 (C-4'''); 134,81 (C-2); 139,00 (C-3'''a); 139,13 (C-5'''a); 142,05 (C-5''); 142,18 (C-5); 142,76 (C-5'); 144,15 (C-2'); 148,75 (C-2'') ppm.

IV (KBr): ν = 3440; 3078; 2923; 2363; 1567; 1406; 1193; 1106; 1083; 1016; 992; 949; 913; 885; 809; 732; 695; 592; 532 cm⁻¹.

2.1.6. DERIVADO DE IMIDAZOLE **4a**



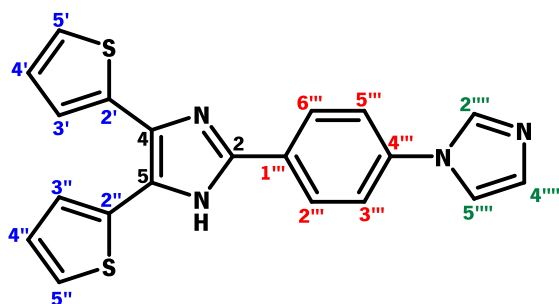
Sólido beije (197 mg; 94%)

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,17 (s, 1H, H-2''), 7,63 (t, J=7,2Hz, 2H, H-5+H-10), 7,74 (t, J=7,6Hz, 2H, H-6+H-9), 7,88-7,92 (m, 3H, H-4''+H-3'+H-5'), 8,41-8,44 (m, 3H, H-5''+H-2'+H-6'), 8,57 (d, J=7,6Hz, 2H, H-4+H-11), 8,84 (d, J=8Hz, 2H, H-7+H-8), 13,53 (s, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (100,6 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 117,88 (C-4''), 120,54 (C-3' e C-5'), 121,98 (C-4 e C-11), 123,97 (C-7 e C-8), 125,40 (C-5 e C-10), 127,19 (C-6 e C-9), 127,55 (C-2' e C-6'), 127,70 (C-3a, C-11b, C-3b e C-11a), 128,71 (C-1'), 130,13 (C-2''), 135,56 (C-5''), 137,28 (C-4'), 148,25 (C-2) ppm. Não é possível a visualização dos carbonos 7a e 7b, uma situação já reportada anteriormente na literatura para outros derivados contendo estes sistemas fundidos.

IV (KBr): ν = 3421; 3137; 2925; 2361; 1704; 1613; 1530; 1499; 1363; 1307; 1276; 1258; 1108; 1061; 962; 839; 756; 732; 651; 523 cm⁻¹.

2.1.7. DERIVADO DE IMIDAZOLE **4d**



Sólido beije (130 mg; 60%)

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ = 7,02 (s largo, 1H, H-4'); 7,13 (s, 1H, H-2'''); 7,18 – 7,22 (m, 2H, H-3' e H-4''); 7,43 (d largo, J = 3,2 Hz, 2H, H-5' e H-3''); 7,70 (d, J = 4,4 Hz, 1H, H-5''); 7,78 – 7,82 (m, 3H, H-3''', H-5''' e H-4'''); 8,14 – 8,16 (m, 2H, H-2''' e H-6'''); 8,35 (s, 1H, H-5''') 12,95 (s, 1H, NH) ppm.

¹³C RMN (DMSO-*d*₆): δ = 117,81 (C-4'''); 120,39 (C-3''' + C-5'''); 121,01 (C-4 ou C-5); 123,61 (C-3'); 124,98 (C-3''); 126,65 (C-2''' + C-6'''); 127,37 (C-5''); 127,56 (C-4''); 127,64 (C-4'); 128,07 (C-1'''); 128,57 (C-5'); 130,04 (C-2'''); 130,64 (C-2''); 133,80 (C-4 ou C-5); 135,47 (C-5'''); 136,77 (C-2'); 137,26 (C-4'''); 144,86 (C-2) ppm.

IV (KBr): ν = 3443; 3125; 2925; 2852; 2363; 1643; 1541; 1511; 1493; 1452; 1410; 1308; 1252; 1214; 1125; 1057; 960; 839; 726; 655 cm⁻¹.

3. CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE **3a-e**, **4a** E **4d**

A caracterização fotofísica dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** foi realizada recorrendo a dois solventes diferentes: acetonitrilo e uma mistura de H₂O/DMSO (95:5). O padrão de fluorescência utilizado foi o sulfato de quinino ($\Phi_f = 0,55$ em 0,05 M H₂SO₄)⁵³ para os compostos **3a-e** e **4a** e para o composto **4d** foi usado o 9,10-difenilantraceno ($\Phi_f = 0,95$ em etanol).³⁹ Estes estudos foram efetuados usando células de quartzo, com um percurso ótico de 1 cm.

Os espetros de absorção das soluções dos compostos em acetonitrilo foram traçados e através dos valores obtidos das absorvâncias máximas, calculou-se, para cada composto, o logaritmo da absorvidade molar, $\log \varepsilon$, recorrendo à Lei de Lambert-Beer (**Equação 1**).

$$\log \varepsilon = \log \frac{Abs}{[composto] \times l} \quad \text{Equação 1}$$

onde, Abs corresponde à absorvância máxima do composto a um dado comprimento de onda; [composto] corresponde à concentração da solução com o composto; l corresponde ao percurso ótico, que neste caso, é igual a 1 cm e, por fim, ε corresponde ao coeficiente de absorvidade molar.

A fluorescência de cada composto ($\Phi_{F_{composto}}$) foi medida num ângulo de 90° em relação à incidência da radiação. O comprimento de onda de excitação usado foi o comprimento de onda de absorção máxima de cada composto, sendo que o padrão foi também excitado em cada um desses comprimentos de onda. Depois de traçado o espetro de emissão, foi registado o comprimento de onda de emissão máxima, λ_{em} , e foi determinada a área correspondente abaixo da curva. O cálculo do rendimento quântico de fluorescência dos derivados sintetizados, foi efetuado através da **equação 2**.

$$\phi_{F_{composto}} = \phi_{F_{padrão}} \frac{Abs_{padrão}}{Abs_{composto}} \times \frac{F_{composto}}{F_{padrão}} \times \frac{n^2_{padrão}}{n^2_{composto}} \quad \text{Equação 2}$$

onde, $\phi_{F_{padrão}}$ representa o rendimento quântico absoluto de fluorescência do padrão utilizado; $Abs_{padrão}$ e $Abs_{composto}$ correspondem às absorvâncias das soluções do padrão e do composto em estudo, nos comprimentos de onda de excitação, respetivamente; $F_{padrão}$ e $F_{composto}$ correspondem às áreas abaixo da curva de fluorescência do padrão e do composto em estudo,

respetivamente; por fim, $n_{\text{padrão}}$ e n_{composto} representam o valor do índice de refração do solvente do padrão e do solvente do composto em análise, respetivamente.

As medições dos tempos de vida foram realizadas através de contagem de fótons únicos relacionada no tempo (*Time-Correlated Single-Photon Counting*, TCSPC), num aparelho Edinburgh Instruments FLS 920, com EPLEDs de pulso de picosegundos (EPLEDs: 334,6 nm, 338,8 nm e 367,40 nm) para excitação próxima ao respetivo máximo de absorção de cada composto.

A análise de deconvolução das curvas de decaimento, com um modelo cinético mono-exponencial, gerou os tempos de vida de fluorescência correspondentes. Para tal, a função da resposta do instrumento foi registada usando uma solução padrão de Ludox de dispersão de luz.

4. ESTUDOS PRELIMINARES DA CAPACIDADE SENSORA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE 3a-e, 4a e 4d, EM ACN E EM ACN/ H₂O (75:25)

Prepararam-se soluções dos compostos sintetizados com concentrações de 100 e 10 μM e dos iões com concentrações de 1×10^{-2} e 1×10^{-3} M, em ACN. Para as soluções de ACN/H₂O, utilizou-se uma proporção de 75% de ACN. De seguida, foram adicionados 50 equivalentes de cada ião a 1 mL de solução de cada composto em ACN e a 3 mL para a mistura de ACN/H₂O (75:25). Estes estudos foram realizados à temperatura ambiente do laboratório.

De modo a verificar, de uma forma preliminar, se existiam variações de cor e de fluorescência, foi feita a visualização das soluções de cada composto com os respetivos iões a “olho nu” e numa câmara de UV-Vis, sob luz ultravioleta de comprimento de onda de 365 nm, respetivamente.

5. TITULAÇÕES ESPETROFLUORIMÉTRICAS DO DERIVADO DE IMIDAZOLE **3e EM ACN E EM ACN/H₂O (75:25) E TITULAÇÕES ESPETROFOTOMÉTRICAS DO DERIVADO DE IMIDAZOLE **4a** EM ACN**

As titulações espectralfluorimétricas e espectralfotométricas foram realizadas à temperatura ambiente utilizando soluções dos compostos **3e** e **4**, em ACN, com concentrações de 100 e 10 μM e soluções dos iões (CN⁻, F⁻, Hg²⁺, Cu²⁺, Pd²⁺, Pd²⁺ e Al³⁺) também em ACN com concentrações que variaram de 1×10^{-2} a 1×10^{-3} M. Adicionaram-se sucessivamente alguns microlitros das soluções de cada um dos iões em análise às soluções dos compostos **3e** e **4a**, tendo sido traçados os espectros correspondentes à absorção e à fluorescência, após cada adição.

CAPÍTULO 3

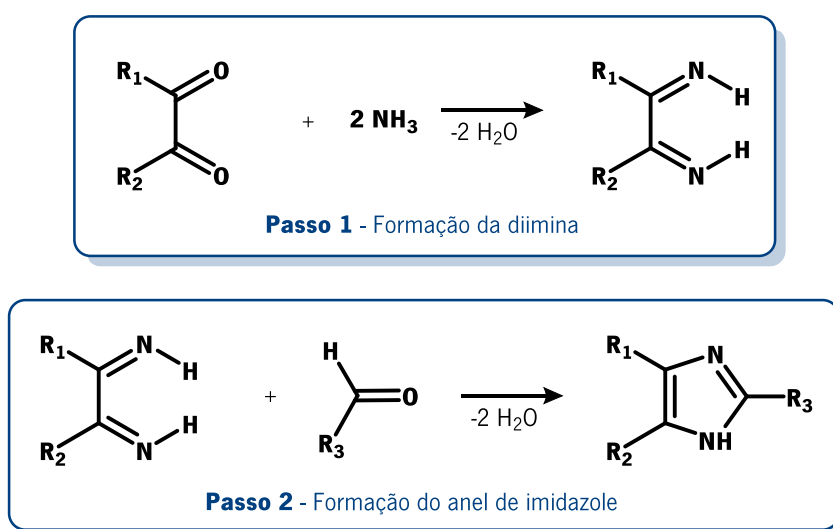
RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESPETROSCÓPICA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE 3a-e, 4a E 4d

Um dos propósitos deste trabalho foi a síntese de derivados heterocíclicos de imidazole substituídos nas posições 4 e 5 por sistemas aromáticos (fenantreno e benzeno) e heteroaromáticos (fenantrolina, tiofeno e furano) e na posição 2 com o tieno[3,2-*b*]tiofeno ou o fenilimidazole.

Os derivados de imidazole possuem diferentes aplicações e as suas propriedades biológicas e farmacológicas são constantemente alvo de estudo e, por isso, foram desenvolvidas diversas estratégias de síntese para a obtenção de estes derivados heterocíclicos. No entanto, muitas das *vias* sintéticas têm inconvenientes, como por exemplo condições reacionais severas, múltiplos passos reacionais, uso de catalisadores metálicos dispendiosos e o uso excessivo de solventes orgânicos. Um dos métodos mais utilizados e mais simples para a obtenção de derivados de imidazole é através da reação de Radziszewski, que envolve a reação de condensação entre um composto dicarbonílico com um aldeído na presença de acetato de amónio (como fonte de amoníaco) e ácido acético.

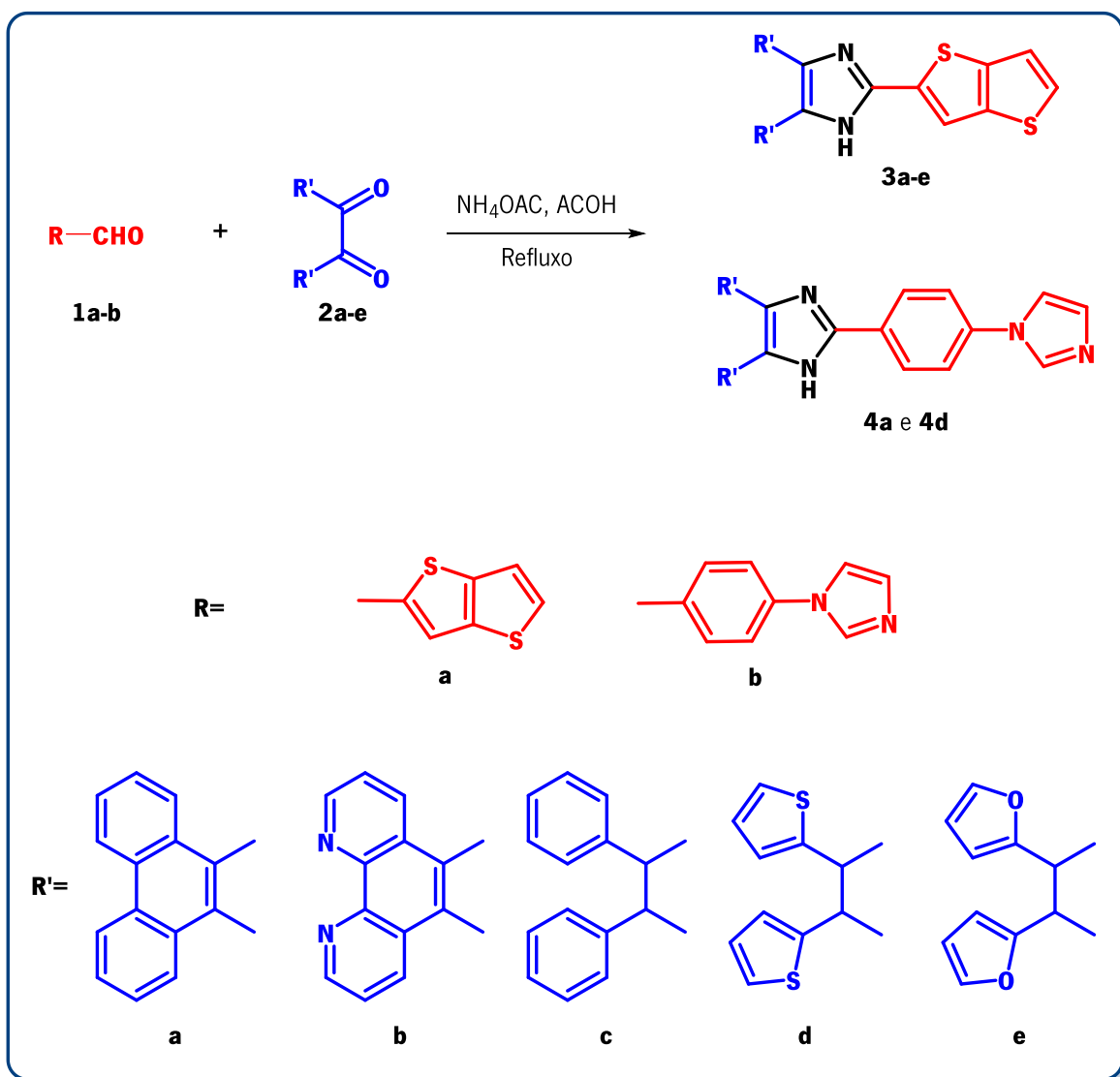
Apesar do mecanismo da reação de Radziszewski não estar bem elucidado, existe uma proposta de mecanismo plausível, considerando que esta reação ocorre em dois passos. No primeiro passo da reação, o composto dicarbonílico reage com duas moléculas de amoníaco originando uma diimina (intermediário da reação) e no segundo passo, a diimina condensa com o aldeído formando o anel de imidazole (**Esquema 1**).^{37,54,55}



Esquema 1. Passos do mecanismo da reação de Radziszewski.⁵⁴

Os derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** foram obtidos por meio de uma reação de Radziszewski, tendo sido utilizadas diferentes dionas precursoras contendo diferentes unidades aromáticas ou heteroaromáticas (fenantreno **2a**, fenantrolina **2b**, benzeno **2c**, tiofeno **2d** e furano **2e**) e dois aldeídos derivados de tienotiofeno **1a** e o fenilimidazole **1b**, na presença de acetato de amônio e ácido acético a refluxo.

Os derivados **3a-e** foram obtidos através da reação do aldeído derivado de tienotiofeno com as dionas **2a-e** e os derivados **4a** e **4d** foram sintetizados por meio da reação do derivado de aldeído de fenilimidazole com as dionas **2a** e **2d**. Os compostos sintetizados foram obtidos na forma pura como sólidos, através de recristalização, com rendimentos compreendidos entre 36 e 94%. As reações foram seguidas por TLC, usando como eluente o diclorometano (**Esquema 2**).



Esquema 2. Síntese dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**, usando como precursores os aldeídos **1a-b** e as dionas **2a-e**.

Após a síntese, os derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , incluindo os espectros de correlação bidimensional $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ (HMQC e HMBC) em $\text{DMSO}-d_6$. Assim sendo, apresentam-se, para o derivado de imidazole **4a** (Figura 22) os espectros de correlação (Figuras 23 e 24), como exemplo. Aquando da interpretação dos espectros, atribuiu-se também para os derivados o desvio químico do próton do NH do imidazole (Tabela 1).

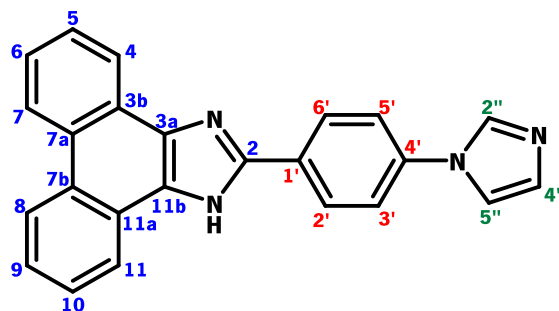


Figura 22. Estrutura do derivado de imidazole **4a**.

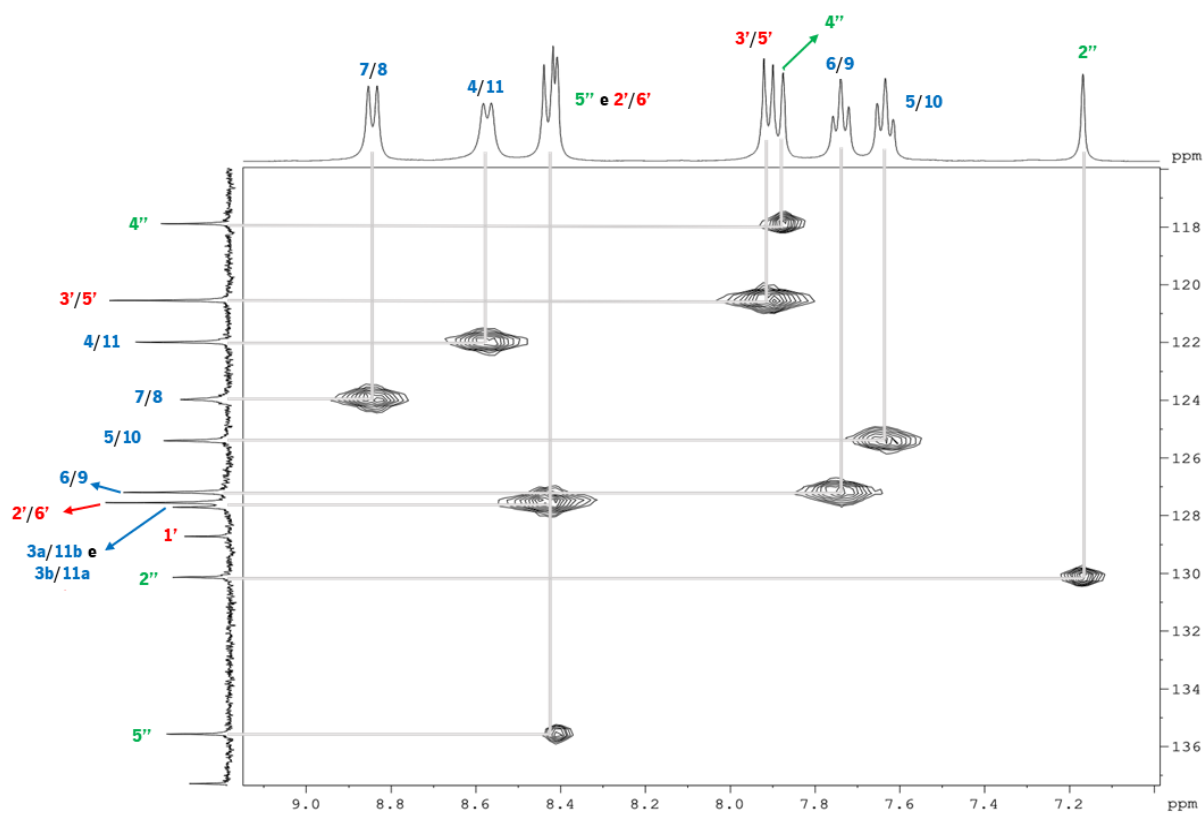


Figura 23. Espectro parcial de $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMQC do derivado de imidazole **4a**, em $\text{DMSO}-d_6$.

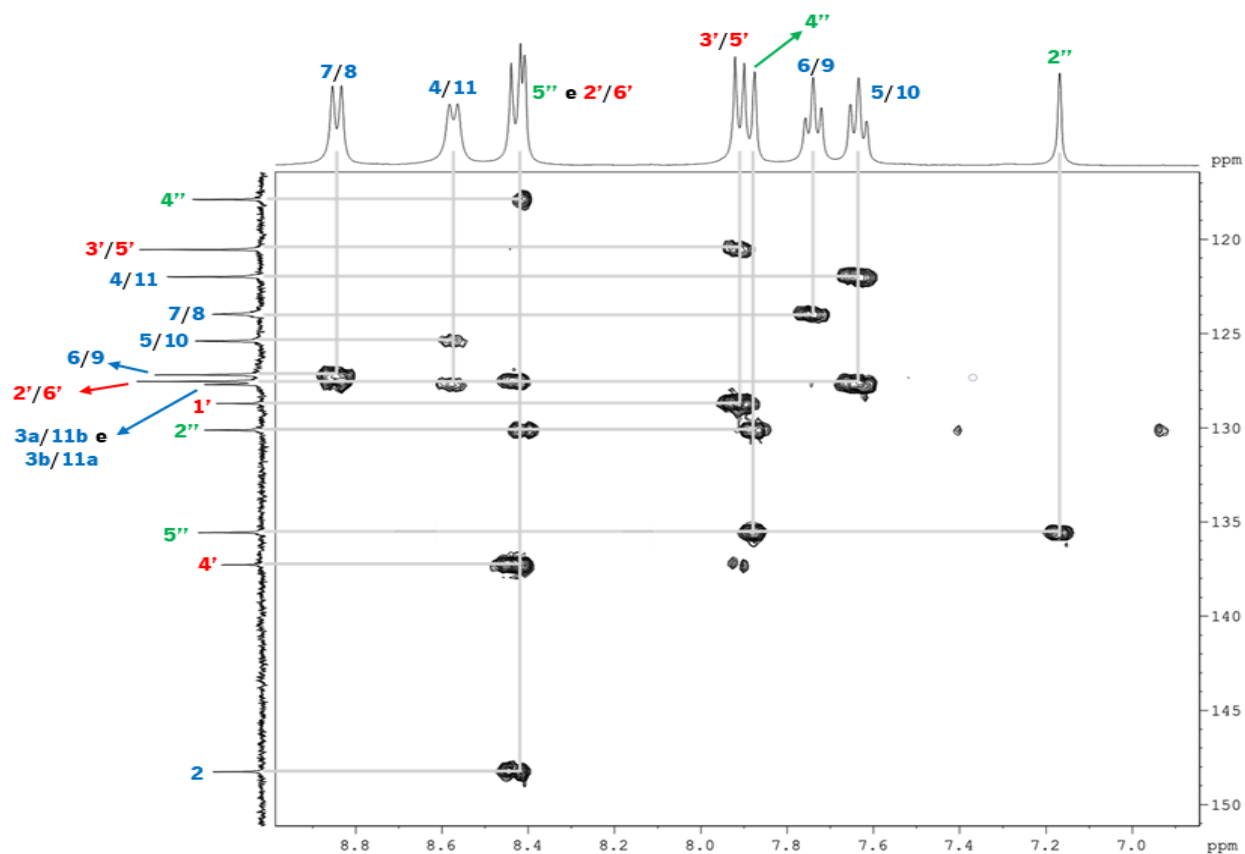


Figura 24. Espectro de $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ HMBC do derivado de imidazole **4a**, em $\text{DMSO-}d_6$.

Para além disso, registaram-se os valores relativos à banda de vibração do NH obtidos através da espectroscopia de IV (em pastilha de KBr) e os valores dos pontos de fusão obtidos para cada derivado de imidazole (**Tabela 1**).

Tabela 1. Dados experimentais dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**.

Composto	η (%)	p.f. ($^{\circ}\text{C}$)	δ_{H} (ppm)	IV ν_{NH} (cm^{-1})
3a	86	>317	13,72	3430
3b	83	>358	-	3401
3c	47	>259	12,92	3399
3d	36	>232	13,12	3446
3e	50	>155	13,17	3440
4a	94	>342	13,53	3443
4d	60	280-282	12,95	3421

Pela análise dos resultados apresentados na **Tabela 1**, verifica-se que se obtiveram rendimentos que variaram de razoáveis a excelentes (36-94%), sendo que o composto **4a** possui o rendimento mais elevado e o composto **3d** obteve-se com o rendimento mais baixo e isto pode dever-se a perdas de composto durante os processos de extração e purificação. Esta possível explicação pode também ser aplicada no caso dos compostos **3c** e **3e**.

Os derivados **3a-e**, **4a** e **4d** foram caracterizados por ^1H e ^{13}C RMN em DMSO-*d*₆. Os espectros de ^1H RMN apresentaram um singleto para o sinal do NH (exceto para o composto **3b**) que variou entre 12,92-13,72 ppm (**Tabela 1**). Com a alteração da ponte π do tienotiofeno **1a** para o fenilimidazole (**1b**), no caso dos compostos **3a** e **4a** ou **3d** e **4d**, verifica-se uma diminuição do desvio químico do próton NH associado ao anel de imidazole. Os derivados **4a** e **4d** possuem o substituinte fenilimidazole e este apresenta um imidazole terminal que é um heterociclo deficiente em elétrons funcionando, assim, como um grupo auxiliar retirador de elétrons. Por outro lado, o sistema fenilimidazole não deverá ser planar nem rígido, pelo que o deslocamento eletrónico através do sistema π -conjugado é menos eficaz. Deste modo, a acidez do próton NH nos sistemas **4a** e **4d** é menor comparativamente aos derivados correspondentes **3a** e **3d**. Comparando os derivados **3a** e **3c**, verifica-se um aumento do desvio químico para o próton do NH para o **3a** uma vez que a acidez deste é maior do que a acidez do composto **3c**, pois, o fenantreno confere uma maior planariedade e rigidez a este sistema, o que faz com que a densidade eletrónica sobre o NH seja menor, então o próton está mais desprotegido. Comparando os valores de desvio químico do NH dos derivados **3d** e **3e**, verificou-se que a substituição do tiofeno pelo furano, leva a um aumento do desvio químico do próton do anel de imidazole como resultado da maior eletronegatividade do oxigénio, ou seja, provoca um aumento da acidez do NH.

Para o derivado **3b**, o próton do NH associado ao núcleo do imidazole não foi visível no espectro de ^1H RMN.

A espectroscopia de IV foi também utilizada para identificar as bandas de vibração do NH típicas dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**, que surgiram entre 3399-3446 cm^{-1} (**Tabela 1**).

2. CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE **3a-e**, **4a** E **4d**

Um dos principais objetivos deste trabalho foi a avaliação das propriedades fotofísicas (absorção e emissão) dos derivados de imidazole (**3a-e**, **4a** e **4d**), de modo a relacionar a estrutura com as propriedades fotofísicas, tendo em vista a potencial aplicação como sensores óticos e/ou sondas para bioimagem.

Os estudos fotofísicos dos compostos sintetizados **3a-e**, **4a** e **4d** foram realizados em soluções de acetonitrilo (ACN) com concentrações de 25, 12,5 e 6,25 μM (e de 1 e 10 μM para o **4a**) e numa mistura de $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ (95:5) com concentrações de 10 e 5 μM . O rendimento quântico de fluorescência dos derivados **3a-e** e **4d** foi calculado utilizando como padrão de fluorescência o sulfato de quinino, numa solução de ácido sulfúrico 0,05 M, cujo rendimento quântico absoluto de fluorescência é de 0,55⁵³. Foi escolhido este padrão uma vez que a sua zona de emissão se encontra entre 400-600 nm coincidindo, assim, com a zona de emissão dos compostos sintetizados. O padrão de fluorescência utilizado para o composto **4a** foi o 9,10-difenilantraceno³⁹, em etanol, do qual o rendimento quântico absoluto de fluorescência é de 0,95 e também possui uma zona de emissão entre 400 e 600 nm, concordante com a zona de emissão do composto.

Nas **tabelas 2** e **3** apresentam-se os resultados obtidos de absorção e emissão, para os compostos **3a-e**, **4a** e **4d**, em ACN e na mistura de $\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ (95:5), respetivamente, assim como nas **Figura 25** e **26**.

Tabela 2. Dados dos comprimentos de onda de absorção e de emissão, desvio de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, tempos de vida de fluorescência e taxas do decaimento radiativo e não radiativo dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** em ACN.

Composto	Absorção		Fluorescência					
	λ_{max} (nm)	log ϵ	λ_{em} (nm)	Desvio de Stokes (nm)	Φ_F	τ_F (ns)	k_r (s^{-1})	k_{nr} (s^{-1})
3a	363	4,6	416	53	0,62	1,31	$5,26 \times 10^7$	$7,11 \times 10^8$
3b	352	4,0	447	95	0,13	6,35	$1,02 \times 10^7$	$1,47 \times 10^8$
3c	342	4,5	412	70	0,52	1,00	$7,54 \times 10^7$	$9,25 \times 10^8$
3d	345	4,6	435	90	0,24	1,08	$6,61 \times 10^7$	$8,60 \times 10^8$
3e	342	4,3	441	99	0,52	1,69	$4,1 \times 10^7$	$5,50 \times 10^8$
4a	331	4,4	394	63	0,24	-	-	-
4d	324	4,5	425	101	0,17	0,55	$1,30 \times 10^8$	$1,69 \times 10^9$

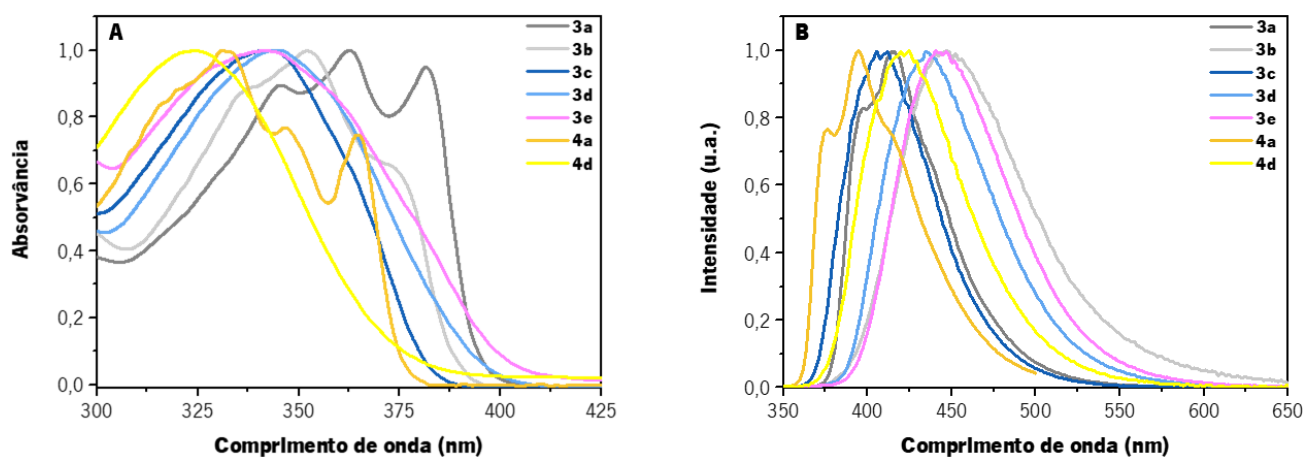


Figura 25. Espectros de **(A)** absorção e de **(B)** emissão normalizados relativos aos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**, em ACN.

Tabela 3. Dados dos comprimentos de onda de absorção e de emissão, desvio de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, tempos de vida de fluorescência e taxas do decaimento radiativo e não radiativo dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** em H₂O/DMSO (95:5).

Composto	Absorção		Fluorescência					
	λ_{\max} (nm)	log ϵ	λ_{em} (nm)	Desvio de Stokes (cm ⁻¹)	Φ_F	τ_F (ns)	k_r (s ⁻¹)	k_{nr} (s ⁻¹)
3a	359	4,2	424	65	0,04	1,62	2,61×10 ⁷	5,91×10 ⁸
3b	333	4,3	-	-	-	-	-	-
3c	342	4,1	412	70	0,27	1,16	2,33×10 ⁸	6,29×10 ⁸
3d	339	4,4	474	135	0,11	0,96	1,14×10 ⁸	9,28×10 ⁸
3e	323	4,4	489	166	0,09	1,96	4,45×10 ⁷	4,66×10 ⁸
4a	343	4,5	411	68	-	-	-	-
4d	322	4,4	435	113	0,17	0,84	2,07×10 ⁸	9,84×10 ⁸

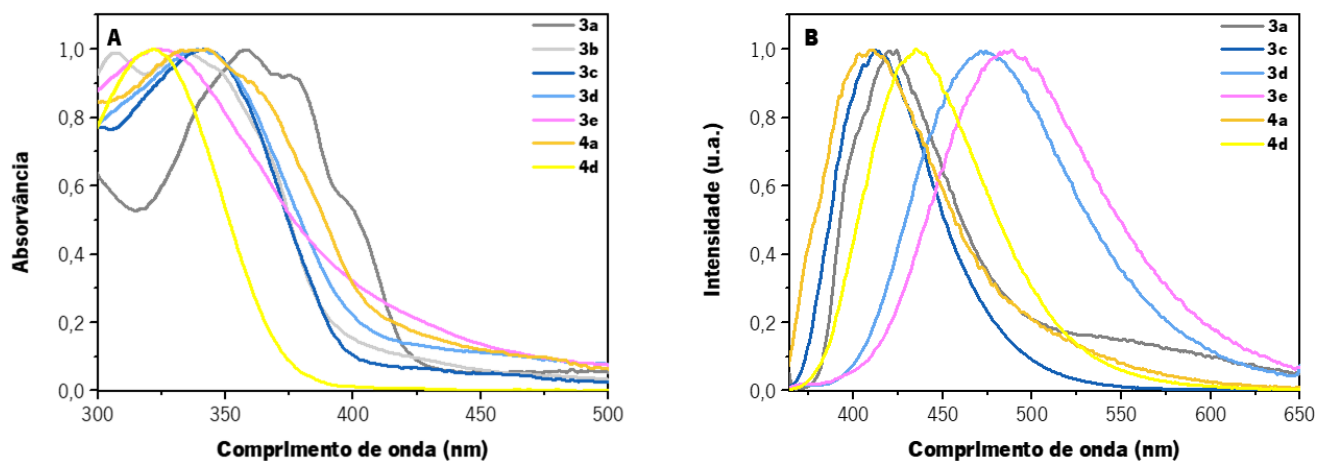


Figura 26. Espectros de absorção **(A)** e de emissão **(B)** normalizados relativos aos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**, na mistura de H₂O/DMSO (95:5).

Pela interpretação dos dados obtidos, verifica-se que os compostos apresentam bandas de absorção intensas ($\log \varepsilon = 4,0-4,6$; ACN) na região espectral compreendida entre 324 e 363 nm (**Figura 25**) ou $\log \varepsilon = 4,1-4,5$; H₂O/DMSO (95:5) na região 322-359 nm (**Figura 26**).

A posição da banda máxima de absorção está dependente da estrutura e do carácter eletrónico dos grupos aromáticos ou heteroaromáticos ligados na posição 4 e 5 do imidazole. Assim sendo, os compostos funcionalizados com o sistema fenantreno **3a** e fenantrolina (**3b**) possuem os comprimentos de onda de absorção máxima mais elevados. Este facto pode ser explicado tendo em conta a maior rigidez e a planariedade de ambos os sistemas originando uma deslocalização eletrónica mais extensa. O derivado **3c**, substituído com o grupo difenilo, apresenta um desvio hipsocrómico comparativamente ao composto **3a**. Os compostos que possuem anéis heteroaromáticos como o tiofeno **3d** e o furano **3e** têm comprimentos de onda de absorção máxima praticamente idênticos em ACN (343 e 342 nm, respetivamente). Comparando os compostos **4a** e **4d**, verifica-se que este último apresenta um desvio hipsocrómico, tal como esperado, devido à menor planariedade e menor número de eletrões do sistema conjugado.

Quando se altera a ponte π , na posição 2 do anel de imidazole, a posição da banda máxima de absorção também sofre alterações, como por exemplo, comparando os compostos **3a** e **4a**, que diferem na ponte π (tienotiofeno e fenilimidazole, respetivamente), o derivado **3a** apresenta um comprimento de onda máximo de absorção superior. Esta evidência pode ser explicada pelo facto de o substituinte tienotiofeno exercer um efeito auxiliar dador de eletrões visto este

heterociclo ser rico em elétrons e adicionalmente apresenta uma estrutura rígida de dois anéis de tiofeno fundidos induzindo uma conjugação eletrônica mais eficaz.

Relativamente aos espectros de emissão, os valores máximos encontram-se na região entre 394 e 447 nm, em ACN e entre 411 e 489 nm, na mistura de H₂O/DMSO (95:5) – **Figuras 25** e **26**. Sendo assim, a maioria dos compostos são fluoróforos na zona do azul.

Os derivados sintetizados apresentaram também desvios de Stokes que variaram entre 53-101 nm, em ACN (**Tabela 2**) e 65-166 nm, em H₂O/DMSO (95:5) (**Tabela 3**). Um grande desvio de Stokes é uma característica interessante para uma sonda fluorescente, uma vez que permite uma separação da luz inerente à matriz e da luz dispersa pela amostra. Devido a ambas as características fotofísicas descritas anteriormente estes derivados de imidazole poderão ter potencial aplicação como sondas de fluorescência para bioimagem.²⁸

No que diz respeito aos rendimentos quânticos de fluorescência, Φ_f , estes variaram entre 0,13 e 0,62, em ACN (**Tabela 2**) e, na mistura de H₂O/DMSO (95:5), variaram entre 0,04 e 0,27 (**Tabela 3**). Em ACN, o composto **3a** apresenta o maior rendimento quântico de fluorescência, provavelmente devido a uma maior planariedade e rigidez do grupo fenantreno. De forma oposta, o composto **3b** possui o menor rendimento quântico de fluorescência devido ao grupo fenantrolina, pois a presença deste heterociclo de nitrogénio deficiente em elétrons leva a uma diminuição da emissão, uma vez que a menor diferença de energia envolvida na transição $n \rightarrow \pi^*$, pode facilitar a passagem ao estado tripleto e, conseqüentemente, diminuir a fluorescência. Em H₂O/DMSO (95:5), o composto **3b** não apresenta fluorescência e o composto **3c** possui um rendimento quântico de fluorescência mais elevado.

Os tempos de vida de fluorescência obtidos para os compostos variaram entre 0,55 e 6,35 ns, em ACN (**Tabela 2**) e entre 0,84 e 1,96 ns, em H₂O/DMSO (95:5) (**Tabela 3**). Os derivados de imidazole **3b** e **3e** apresentam os maiores valores de tempo de vida de fluorescência, em acetonitrilo e H₂O/DMSO (95:5), respetivamente e o composto **4d**, o menor valor em ambos os solventes. Caso não haja fatores de *quenching*, como impurezas ou vestígios de solvente, o rendimento quântico de fluorescência pode ser calculado através da **Equação 3**.

$$\Phi_F = k_r \tau_F \quad \text{Equação 3}$$

onde, k_r corresponde à taxa de decaimento radiativo.

Além disso, com a relação presente na **Equação 4** é possível determinar a taxa de decaimento não radiativo (k_{nr}):

$$\tau_F^{-1} = k_r + k_{nr} \quad \text{Equação 4}$$

Estas duas equações são válidas para um decaimento de emissão monoexponencial, como a fluorescência dos derivados de imidazole sintetizados. Os resultados obtidos através das **Equações 3 e 4** estão apresentados nas **tabelas 2 e 3**.

As taxas calculadas dão a informação sobre a velocidade relativa dos processos de decaimento radiativo e não radiativo, que por sua vez tem uma consequência direta no rendimento quântico – **Equação 5**.

$$\Phi_F = \frac{k_r}{(k_r + k_{nr})} \quad \text{Equação 5}$$

3. ESTUDOS PRELIMINARES DA CAPACIDADE SENSORA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE 3a-e, 4a e 4d, EM ACN E EM ACN/H₂O (75:25)

O segundo objetivo deste trabalho foi a avaliação dos derivados de imidazole **3a-e, 4a e 4d** como sensores químicos óticos de iões. Assim, foi feito um estudo preliminar da interação destes compostos com vários iões de relevância medicinal e ambiental de modo a determinar a sua potencial aplicação como sensores óticos.

Deste modo, para o estudo preliminar da interação dos derivados de imidazole com vários catiões e aniões, prepararam-se soluções de cada composto em ACN com concentração de 10 μ M, assim como soluções em ACN dos vários iões em estudo, H₂PO₄⁻, AcO⁻, NO₃⁻, ClO₄⁻, HSO₄⁻, BzO⁻, Br⁻, CN⁻, I⁻, F⁻ (na forma de sais de tetrabutylamónio) e Ag⁺, K⁺, Li⁺, Hg²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Pb²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Pd²⁺, Fe³⁺, Al³⁺ (na forma de sais de perclorato, excetuando o Pd²⁺ e o Li²⁺, na forma de tetrafluoroborato) com concentração de 1x10⁻² M. De seguida, foram adicionados 50 equivalentes de cada ião às soluções dos compostos previamente preparadas.

3.1. ESTUDOS PRELIMINARES DA CAPACIDADE SENSORA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE **3a-e**, **4a** E **4d**, EM ACN, NA PRESENÇA DE ANIÕES

Foram analisadas as soluções preparadas com os vários compostos **3a-e**, **4a** e **4d** e após a adição de 50 equivalentes dos aniões estudados as soluções foram visualizadas sob luz natural e sob a incidência de radiação ultravioleta (365 nm) (**Figuras 27** a **33**). A partir destes testes preliminares efetuados, observaram-se alterações de cor e de fluorescência consoante o ião que foi adicionado às soluções dos compostos.

Para os derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** não se observaram mudanças de cor após a adição dos aniões (**Figuras 27-A**, **28-A**, **29-A**, **30-A**, **31-A**, **32-A** e **33-A**). Sendo assim, estes compostos não poderão ser usados como sensores colorimétricos de aniões. Por isso, não se realizaram titulações espectrofotométricas posteriores para os compostos em estudo.

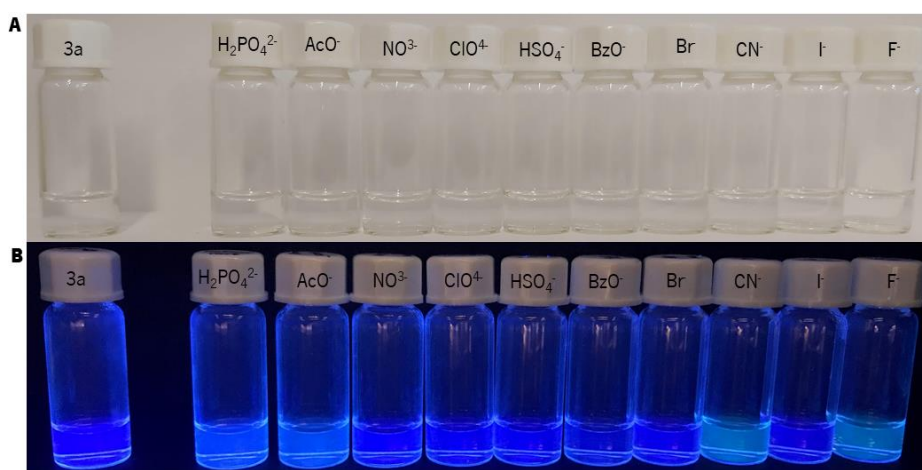


Figura 27. Soluções com o composto **3a**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Após interação do derivado **3a** com os vários aniões em estudo (**Figura 27-B**), verifica-se uma mudança pouco significativa na fluorescência da solução do composto com os iões CN⁻ e F⁻.

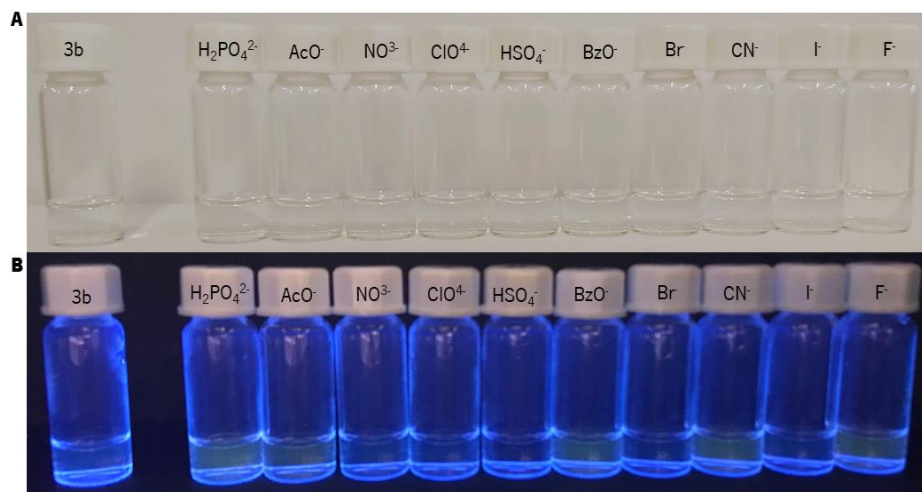


Figura 28. Soluções com o composto **3b**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Observando a **Figura 28-B**, verifica-se uma ligeira alteração da fluorescência relativa à interação do composto **3b** com os aniões $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, AcO^- , BzO^- , CN^- e F^- .

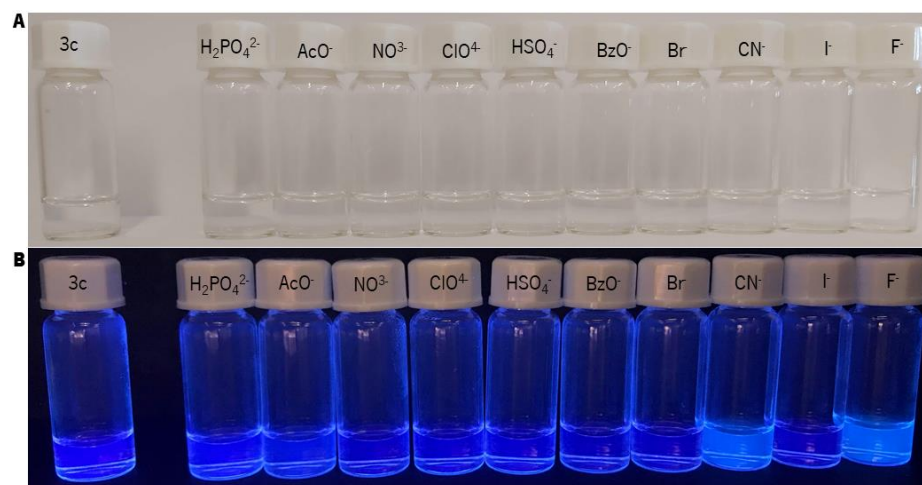


Figura 29. Soluções com o composto **3c**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

No que diz respeito à interação do composto **3c** com os vários aniões (**Figura 29-B**), é visível um aumento pouco acentuado da fluorescência na presença dos iões CN^- e F^- .



Figura 30. Soluções com o composto **3d**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

A interação do anião com o derivado **3d**, originou variações na emissão com os iões AcO^- , CN^- e F^- , provocando uma ligeira mudança na fluorescência (**Figura 30-B**).

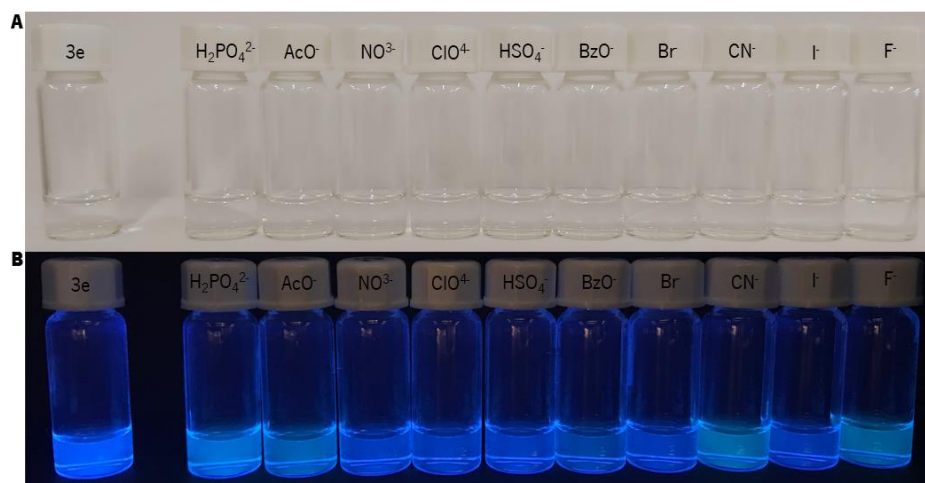


Figura 31. Soluções com o composto **3e**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Relativamente à interação do derivado **3e** com os aniões (**Figura 31-B**), nota-se uma alteração da fluorescência na presença dos aniões $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, AcO^- , BzO^- , CN^- e F^- .

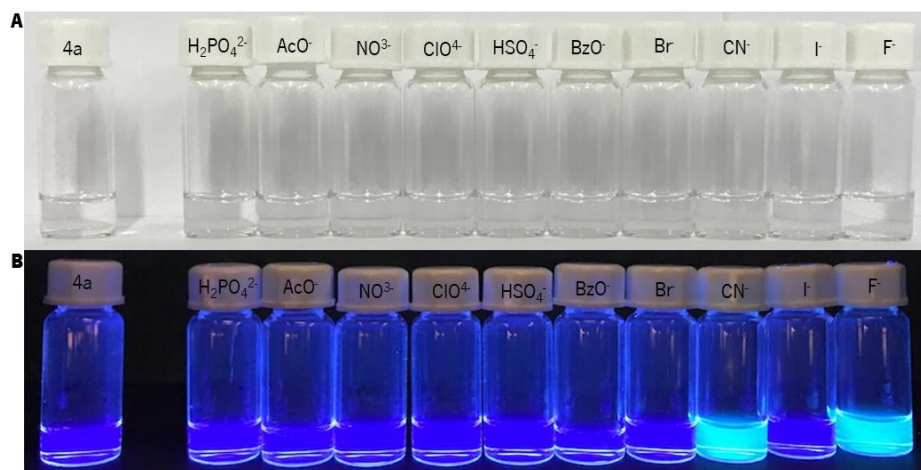


Figura 32. Soluções com o composto **4a**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

A interação do composto **4a** com os aniões em estudo (**Figura 32-B**), originou um aumento acentuado da fluorescência na presença dos iões CN⁻ e F⁻.

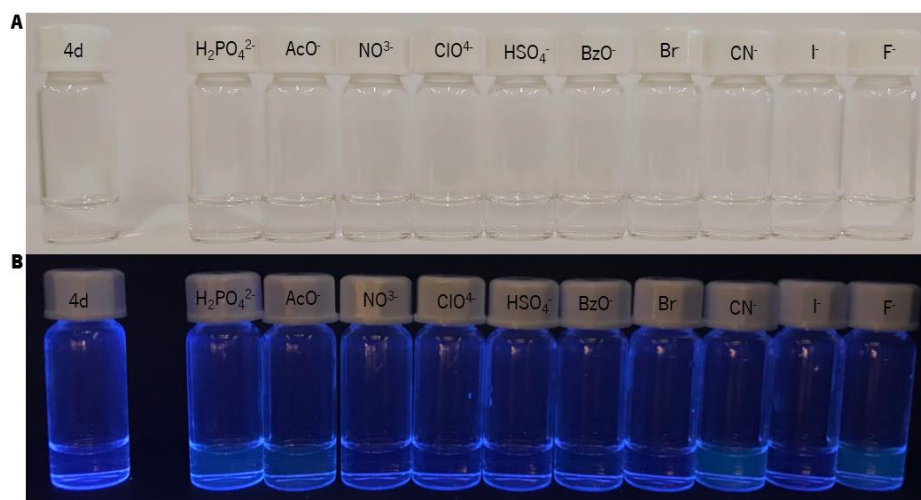


Figura 33. Soluções com o composto **4d**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

A interação dos aniões com o derivado **4d** (**Figura 33-B**), não induziu alterações na fluorescência pelo que este composto não poderá ser usado como sensor fluorimétrico dos aniões em estudo. Assim sendo, optou-se por não realizar estudos posteriores de titulação espectrofluorimétricas para este composto.

Em suma, apresentam-se os resultados obtidos dos testes preliminares da capacidade sensora fluorimétrica, em ACN, para cada um dos compostos sintetizados na presença dos aniões em estudo (**Tabela 4**).

Tabela 4. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora fluorométrica dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**, em soluções de ACN, na presença de aniões.

	H ₂ PO ₄ ⁻	AcO ⁻	NO ₃ ⁻	ClO ₄ ⁻	HSO ₄ ⁻	BzO ⁻	Br ⁻	CN ⁻	I ⁻	F ⁻
3^a	—	—	—	—	—	—	—	★	—	★
3b	★	★	—	—	—	★	—	★	—	★
3c	—	—	—	—	—	—	—	★	—	★
3d	—	—	—	—	—	—	—	★	—	★
3e	—	★	—	—	—	—	—	★	—	★
4^a	—	—	—	—	—	—	—	★	—	★
4d	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(onde: ★ – Sensor fluorimétrico)

Uma vez que o derivado de imidazole **4a** é o que apresenta um maior aumento de fluorescência na presença dos aniões cianeto e fluoreto, escolheu-se este derivado para efetuar estudos posteriores de titulações espectralfluorimétricas.

3.2. ESTUDOS PRELIMINARES DA CAPACIDADE SENSORA DO DERIVADO DE IMIDAZOLE **3a-e**, **4a** E **4d**, EM ACN, NA PRESENÇA DE CATIONES

Foram analisadas as soluções dos derivados **3a-e**, **4a** e **4d**, em ACN, e após a adição de 50 equivalentes de cada um dos aniões estudados as soluções foram visualizadas sob luz natural e sob a incidência de radiação ultravioleta (365 nm) (**Figuras 34 a 40**). A partir destes testes preliminares efetuados, observaram-se alterações de cor e de fluorescência consoante o ião que é adicionado às soluções dos derivados **3a-e**, **4a** e **4d**.

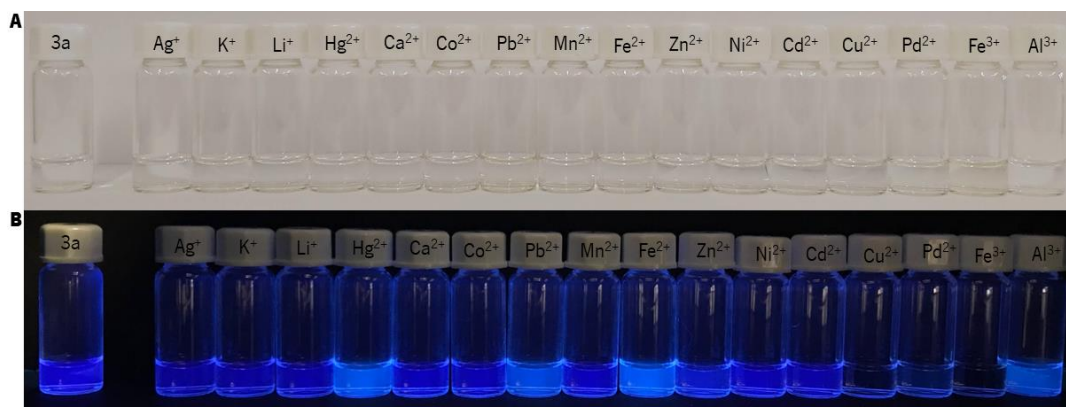


Figura 34. Soluções do composto **3a**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Observando a interação do composto **3a** com os diferentes cátions em estudo, verifica-se uma alteração da cor da solução de incolor para amarelo pálido em presença do íon Fe^{3+} (**Figura 34-A**). Sob a incidência da lâmpada de UV, constata-se um aumento de fluorescência para os íons Hg^{2+} , Pb^{2+} e Fe^{2+} , enquanto que os íons Cu^{2+} , Pd^{2+} e Fe^{3+} originam um *quenching* da fluorescência (**Figura 34-B**).

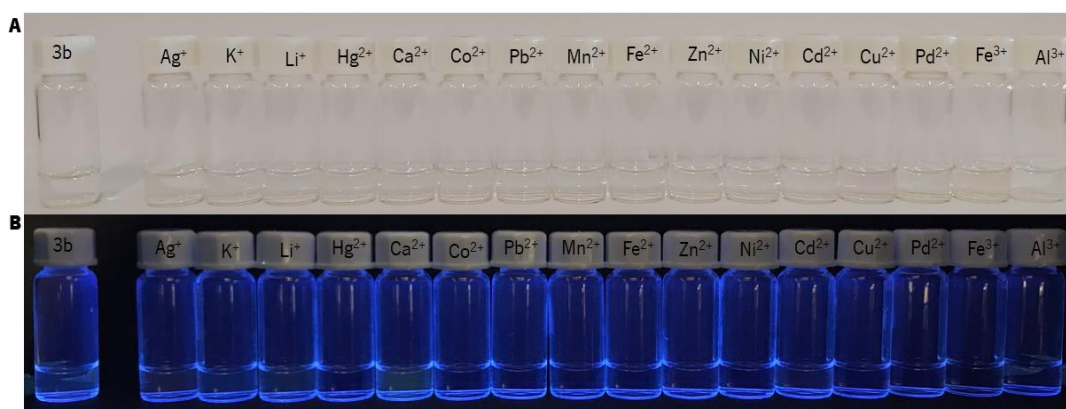


Figura 35. Soluções do composto **3b**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Relativamente ao derivado de imidazole **3b**, observou-se uma pequena alteração da cor da solução de incolor para rosa pálido na presença do íon Cu^{2+} e de incolor para amarelo pálido em presença do íon Fe^{3+} (**Figura 35-A**). No caso da solução do composto **3b** não se observaram alterações significativas na fluorescência na presença dos cátions em estudo (**Figura 35-B**).

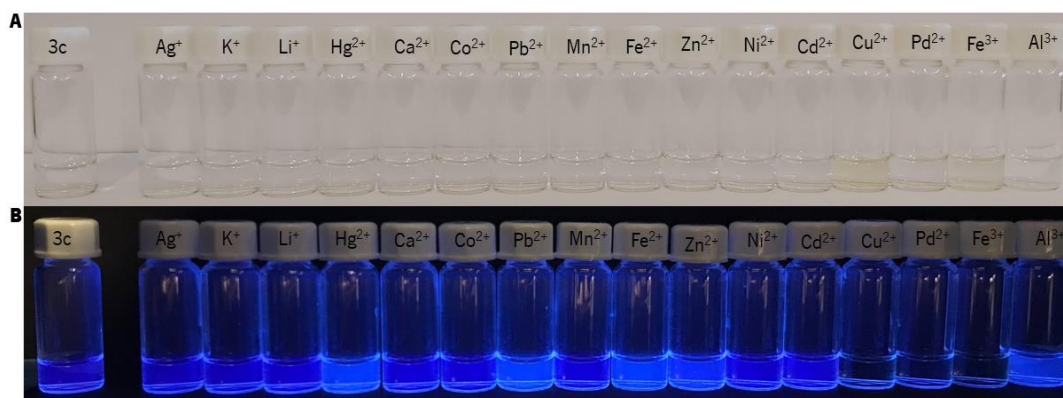


Figura 36. Soluções do composto **3c**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

A interação do composto **3c** com os cátions Cu^{2+} e Fe^{3+} origina uma ligeira mudança de cor da solução de incolor para amarelo pálido (**Figura 36-A**). Para além disso, os iões Hg^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} e Zn^{2+} induzem a um aumento da fluorescência. Por outro lado, os cátions Cu^{2+} , Pd^{2+} e Fe^{3+} originam a um *quenching* de fluorescência (**Figura 36-B**).

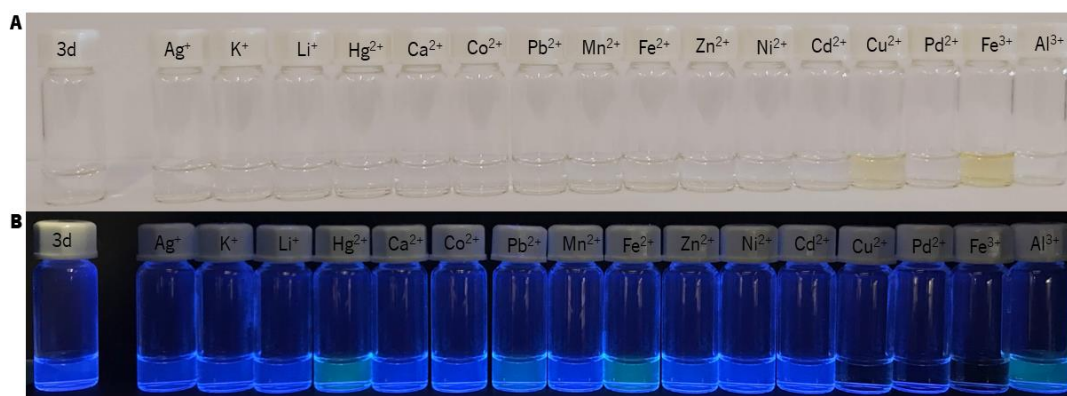


Figura 37. Soluções do composto **3d**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Na presença dos cátions Cu^{2+} e Fe^{3+} , a solução do composto **3d** sofre uma alteração de cor de incolor para amarelo pálido e de incolor para amarelo-alaranjado, respetivamente (**Figura 37-A**). Também se constata que há uma ligeira alteração da fluorescência (de azul para amarelo), em presença dos iões Hg^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} . Por outro lado, observa-se um *quenching* da fluorescência em presença dos cátions Cu^{2+} , Pd^{2+} e Fe^{3+} (**Figura 37-B**).

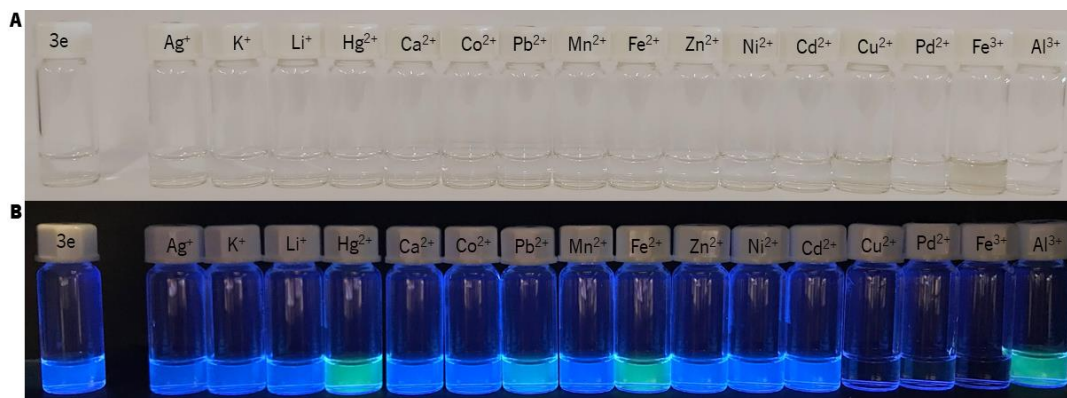


Figura 38. Soluções do composto **3e**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

No que diz respeito à interação dos cátions com o derivado **3e**, verifica-se uma ligeira alteração da cor da solução de incolor para amarelo pálido na presença dos íons Cu^{2+} e Fe^{3+} (**Figura 38-A**). Sob a radiação UV, observa-se um aumento de fluorescência para a solução do composto na presença dos cátions Hg^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} e Al^{3+} . De forma oposta, observa-se um *quenching* da fluorescência para a solução do composto na presença dos íons Cu^{2+} , Pd^{2+} e Fe^{3+} (**Figura 38-B**).



Figura 39. Soluções com o composto **4a**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Analisando a interação dos cátions com o a solução do composto **4a**, observou-se uma ligeira mudança de cor de incolor para amarelo pálido, na presença de Fe^{3+} (**Figura 39-A**). Também se verificou um aumento de fluorescência em presença dos íons Hg^{2+} , Ca^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} e Fe^{2+} , sendo que o aumento mais acentuado da fluorescência na ocorreu na presença do ião Pb^{2+} . Observou-se também um *quenching* da fluorescência na presença dos íons Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} e Pd^{2+} (**Figura 39-B**).

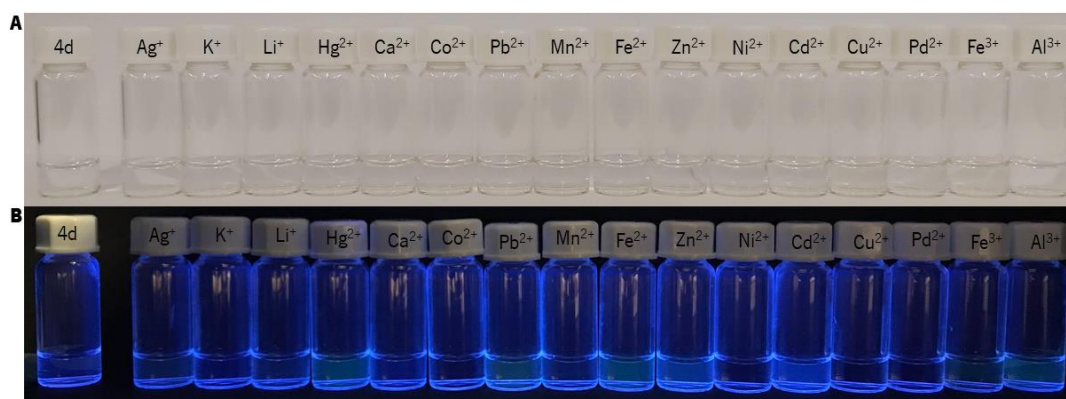


Figura 40. Soluções com o composto **4d**, em ACN, depois da adição de 50 equivalentes dos cátions, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Observando a **Figura 40-A** verificou-se que não existem alterações significativas na solução do composto **4d** na presença dos cátions em estudo. No entanto, os iões Hg^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} e Cd^{2+} originaram um ligeiro aumento da fluorescência, enquanto os iões Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Pd^{2+} e Fe^{3+} induziram a um *quenching* de fluorescência (**Figura 40-B**).

Em resumo, apresentam-se os resultados obtidos a partir dos testes preliminares da capacidade sensora, em ACN, para cada um dos derivados de imidazole sintetizados na presença de cátions (**Tabela 5**).

Tabela 5. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora colorimétrica e fluorométrica dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d**, em soluções de ACN, na presença de cátions.

	Ag^+	K^+	Li^+	Hg^{2+}	Ca^{2+}	Co^{2+}	Pb^{2+}	Mn^{2+}	Fe^{2+}	Zn^{2+}	Ni^{2+}	Cd^{2+}	Cu^{2+}	Pd^{2+}	Fe^{3+}	Al^{3+}
3a	—	—	—	★	—	—	★	—	★	—	—	—	★	★	▲★	—
3b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	▲	—	▲	—
3c	—	—	—	★	—	—	★	—	★	★	—	—	▲★	★	▲★	—
3d	—	—	—	★	—	—	★	—	★	—	—	—	▲★	★	▲★	★
3e	—	—	—	★	—	—	★	—	★	—	—	—	▲★	★	▲★	★
4a	—	—	—	★	★	★	★	★	★	—	★	—	★	★	▲	—
4d	—	—	—	★	—	★	★	—	★	★	★	★	★	★	★	—

(onde: ▲ – Sensor Colorimétrico; ★ – Sensor fluorimétrico)

O derivado de imidazole **3e** apresentou mudanças mais acentuadas para os cátions Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Pd^{2+} e Al^{3+} e, por isso, escolheu-se este derivado e estes cátions para se efetuarem os estudos posteriores de titulações espectralfluorimétricas. Como o composto **4a** apresentou uma maior seletividade para o íon Pb^{2+} , também se escolheu este derivado para realizar titulações espectralfluorimétricas posteriores. Sendo que, também, se escolheu o Pb^{2+} , uma vez que este cátion era um dos que apresentavam *quenching* da fluorescência.

3.3. ESTUDOS PRELIMINARES DA CAPACIDADE SENSORA DOS DERIVADOS DE IMIDAZOLE **3e** E **4a**, EM ACN/ H_2O (75:25), NA PRESENÇA DE ANIÕES

Dado que os compostos **3e** e **4a** exibiram resultados mais evidentes, optou-se por efetuar também um estudo preliminar da capacidade sensora destes derivados numa mistura de acetonitrilo com 25% de água.

Para tal, foram analisadas as soluções com o derivado **3e** e **4a**, em ACN/ H_2O (75:25), com a adição de 50 equivalentes de cada um dos aniões estudados e as soluções foram visualizadas sob luz natural e sob a incidência de radiação ultravioleta (365 nm) (**Figuras 41 e 42**). A partir destes testes preliminares efetuados, observaram-se alterações de cor e de fluorescência consoante o íon que é adicionado às soluções dos compostos **3e** e **4a**.

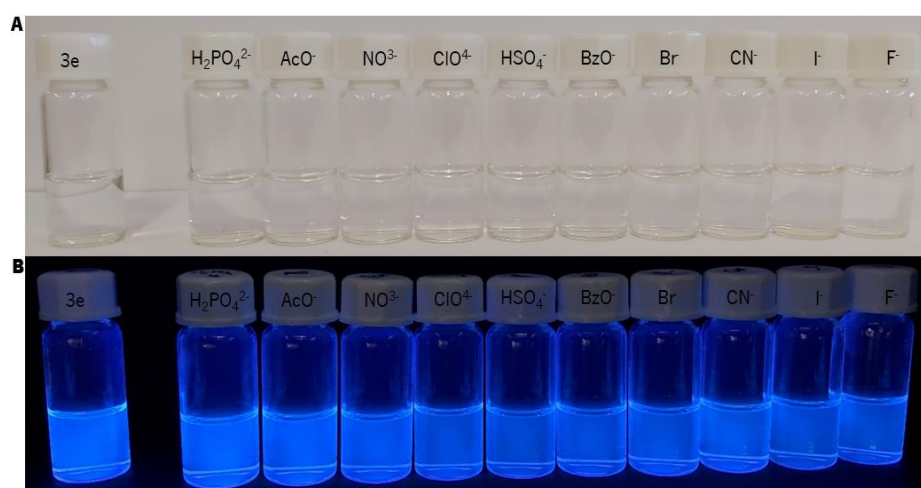


Figura 41. Soluções com o composto **3e**, em ACN/ H_2O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Pela observação da **Figura 41** verificou-se que não houve alteração, da cor da solução do composto **3e** assim como da fluorescência, na presença dos vários aniões em estudo. Posto isto, este derivado não poderá ser usado com sensor químico colorimétrico ou fluorimétrico para aniões na mistura de ACN/H₂O.

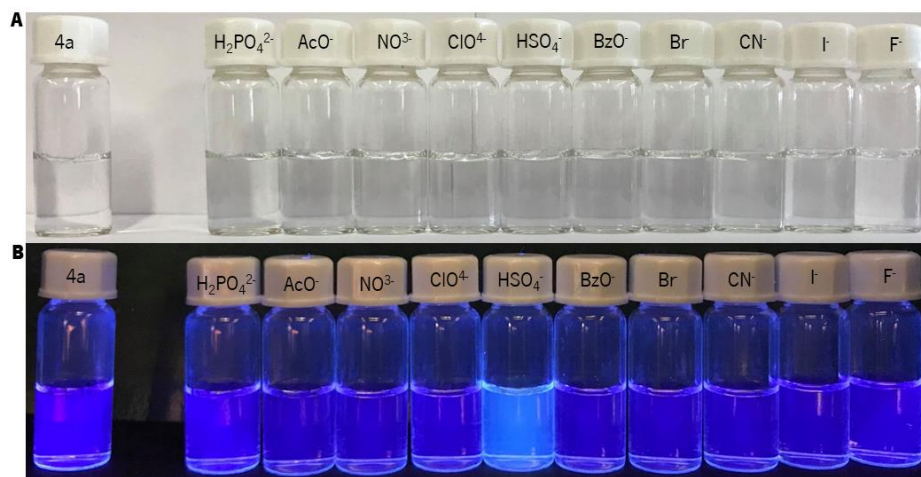


Figura 42. Soluções do composto **4a**, em ACN/H₂O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos aniões, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Relativamente ao derivado **4a**, observou-se de igual modo que não houve alteração da cor da solução após a adição dos aniões (**Figura 42-A**). Sob a radiação UV, observou-se um aumento da fluorescência para o anião HSO₄⁻ (**Figura 42-B**).

Em suma, apresentam-se os resultados obtidos a partir dos testes preliminares da capacidade sensora para cada um dos derivados de imidazole sintetizados, na mistura de ACN/H₂O (75:25), na presença de aniões (**Tabela 6**).

Tabela 6. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora fluorométrica dos derivados de imidazole **3e** e **4a**, em soluções de ACN/H₂O (75:25), na presença de aniões.

	H ₂ PO ₄ ⁻	AcO ⁻	NO ₃ ⁻	ClO ₄ ⁻	HSO ₄ ⁻	BzO ⁻	Br ⁻	CN ⁻	I ⁻	F ⁻
3e	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4^a	—	—	—	—	★	—	—	—	—	—

(onde: ★ – Sensor fluorimétrico)

3.4. ESTUDOS PRELIMINARES DA CAPACIDADE SENSORA DO DERIVADO DE IMIDAZOLE **3e** E **4a**, EM ACN/H₂O (75:25), NA PRESENÇA DE CATIONES

Foram analisadas as soluções dos derivados **3e** e **4a**, em ACN/H₂O (75:25), e após a adição de 50 equivalentes de cada um dos aniões estudados as soluções foram visualizadas sob luz natural e sob a incidência de radiação ultravioleta (365 nm) (**Figuras 43** e **44**). A partir destes testes preliminares efetuados, observaram-se alterações de cor e de fluorescência consoante o ião que é adicionado às soluções dos derivados **3e** e **4a**.

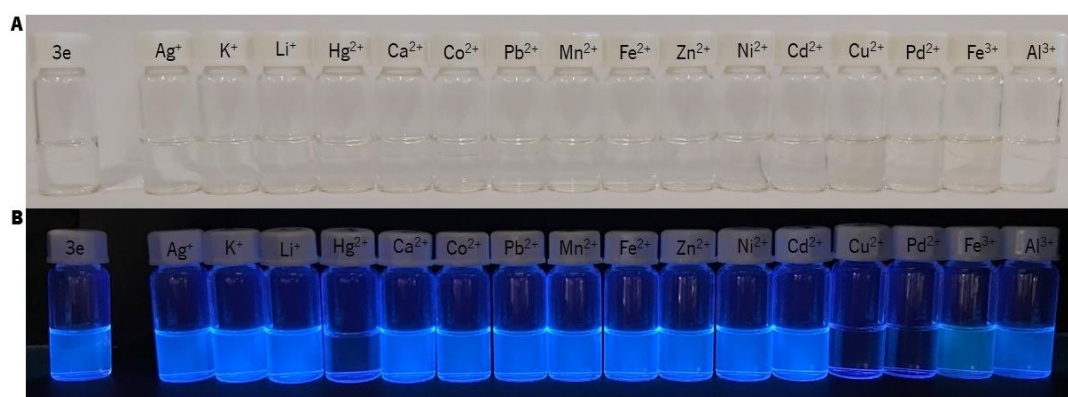


Figura 43. Soluções com o composto **3e**, em ACN/H₂O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos cationes, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Analisando o resultado obtido para os cationes, verifica-se uma ligeira alteração da cor da solução de incolor para amarelo pálido em presença dos iões Cu²⁺ e Fe³⁺ (**Figura 43-A**). Sob a incidência da radiação UV, observa-se um *quenching* de fluorescência em presença dos cationes Hg²⁺, Cu²⁺ e Pd²⁺ e ainda uma pequena alteração da fluorescência na presença do catione Fe³⁺ (**Figura 43-B**).

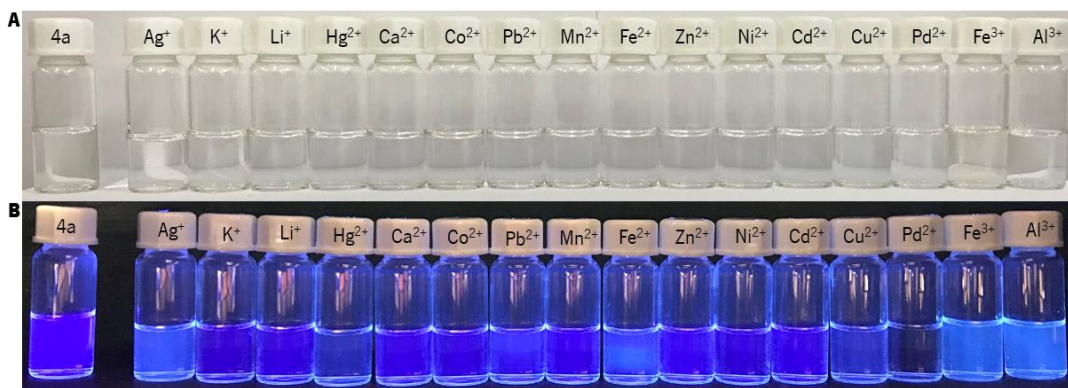


Figura 44. Soluções do composto **4a**, em ACN/H₂O (75:25), depois da adição de 50 equivalentes dos cationes, **(A)** na presença de luz natural e **(B)** sob radiação UV a 365 nm.

Não se observaram alterações de cor da solução do composto **4a** na presença dos cátions em estudo (**Figura 44-A**). No entanto, observou-se um *quenching* da fluorescência para a solução do composto na presença do íon Pd²⁺ (**Figura 44-B**), enquanto que para os restantes cátions não são observáveis alterações evidentes.

Na **Tabela 7**, apresentam-se os resultados obtidos a partir dos testes preliminares da capacidade sensora para cada um dos derivados de imidazole sintetizados, na mistura de ACN/H₂O (75:25), na presença de cátions.

Tabela 7. Resultados do estudo preliminar da capacidade sensora colorimétrica e fluorométrica dos derivados de imidazole **3e** e **4a**, em soluções de ACN/H₂O (75:25), na presença de cátions.

	Ag ⁺	K ⁺	Li ⁺	Hg ²⁺	Ca ²⁺	Co ²⁺	Pb ²⁺	Mn ²⁺	Fe ²⁺	Zn ²⁺	Ni ²⁺	Cd ²⁺	Cu ²⁺	Pd ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺
3e	—	—	—	★	—	—	—	—	—	—	—	—	▲★	★	▲★	—
4a	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	★	—	—

(onde: ▲ – Sensor Colorimétrico; ★ – Sensor fluorométrico)

Tendo em conta os resultados dos testes preliminares, escolheu-se o derivado **3e** e os cátions que apresentavam *quenching* de fluorescência (Hg²⁺, Cu²⁺ e Pd²⁺) para efetuar os estudos posteriores de titulações espectralfluorimétricas.

4. TITULAÇÕES ESPETROFLUORIMÉTRICAS DOS DERIVADOS **3e** E **4a** EM ACN E EM ACN/H₂O (75:25)

Para a realização das titulações espectralfluorimétricas escolheram-se os derivados de imidazole **3e** e **4a**, uma vez que estes compostos apresentavam uma melhor interação com os íões em estudo, levando a variações acentuadas de fluorescência nos testes preliminares.

Consequentemente, efetuaram-se as titulações para o derivado **3e** com os cátions Hg²⁺, Cu²⁺ e Pd²⁺, em ACN e na mistura de ACN/H₂O (75:25) e do Al³⁺ em ACN, para avaliar a sua capacidade sensora (**Figuras 45 a 50**).

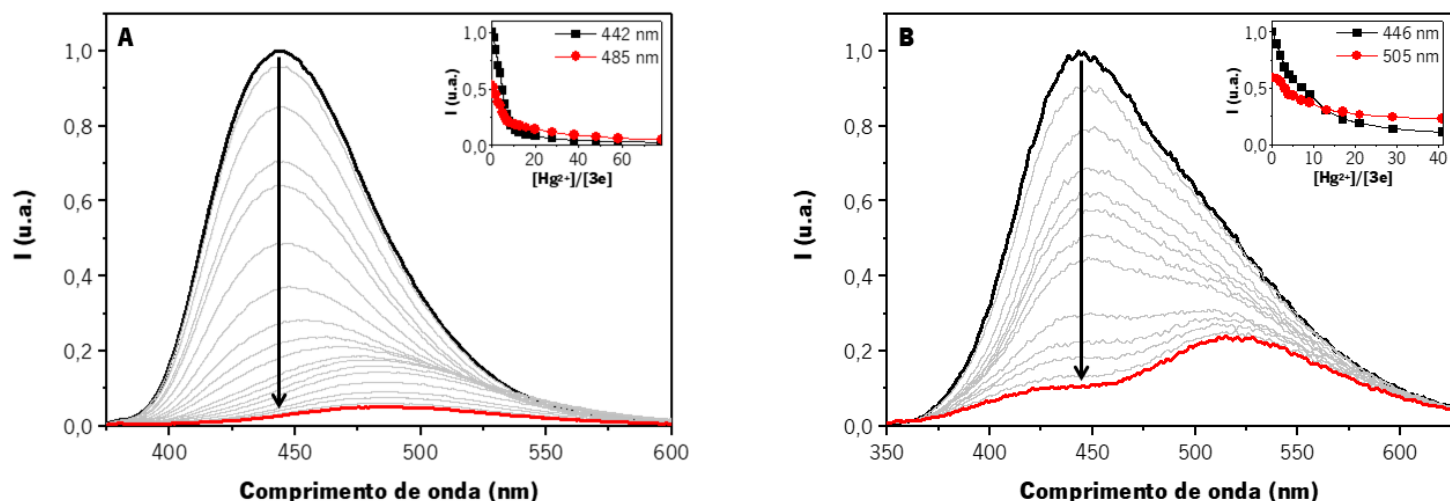


Figura 45. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole **3e** com o cátion Hg^{2+} , em (A) ACN e em (B) ACN/H₂O (75:25).

Observando o espectro de emissão do derivado **3e** com o cátion Hg^{2+} , em ACN, observou-se um *quenching* de aproximadamente 80% utilizando 78 equivalentes do cátion (**Figura 45-A**). Por sua vez, na mistura de ACN/H₂O (75:25), há também uma diminuição da fluorescência com a adição de menos equivalentes (**Figura 45-B**), o que está concordante com os testes preliminares do ligando **3e** com o ião Hg^{2+} (**Figuras 39-B e 43-B**).

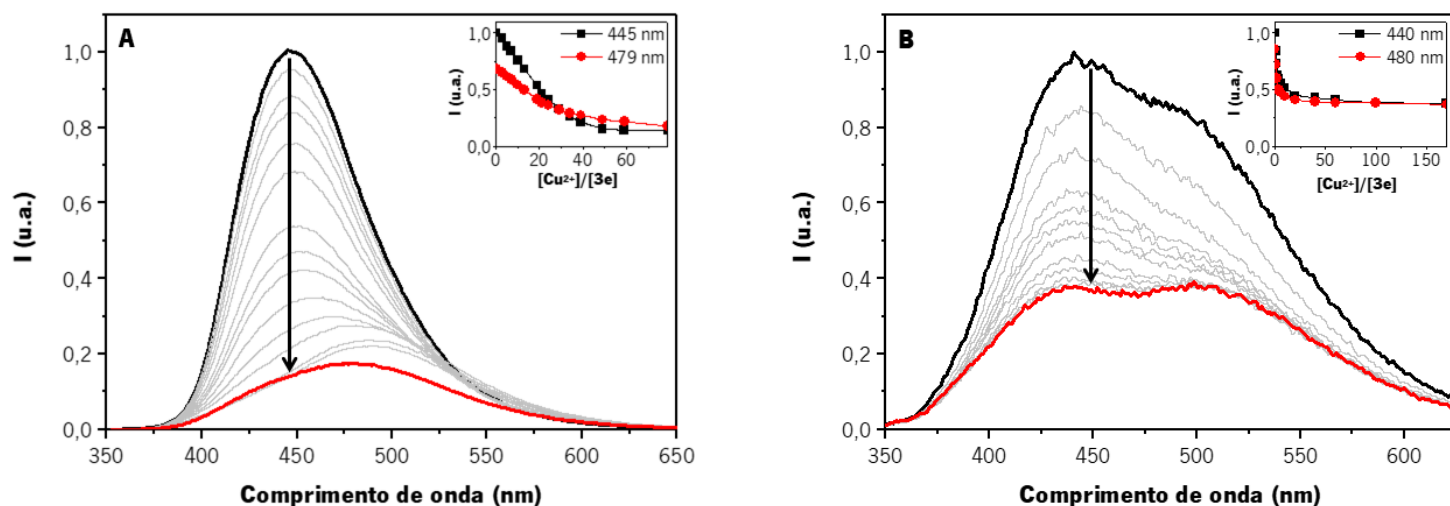


Figura 46. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole **3e** com o cátion Cu^{2+} , em (A) ACN e em (B) ACN/H₂O (75:25).

Com a análise da **Figura 46-A**, verifica-se uma diminuição da fluorescência a 445 nm, um desvio batocrômico da banda de emissão para um comprimento de onda superior ($\Delta\lambda=34$ nm). Relativamente às titulações em ACN/H₂O (75:25), a diminuição da fluorescência não é tão acentuada sendo necessário um maior número de equivalentes, aproximadamente 170 equivalentes (**Figura 46-B**). Devido à sua baixa sensibilidade este composto não poderá ser utilizado como sensor químico de fluorescência para o catião Cu²⁺ em ACN/H₂O (75:25).

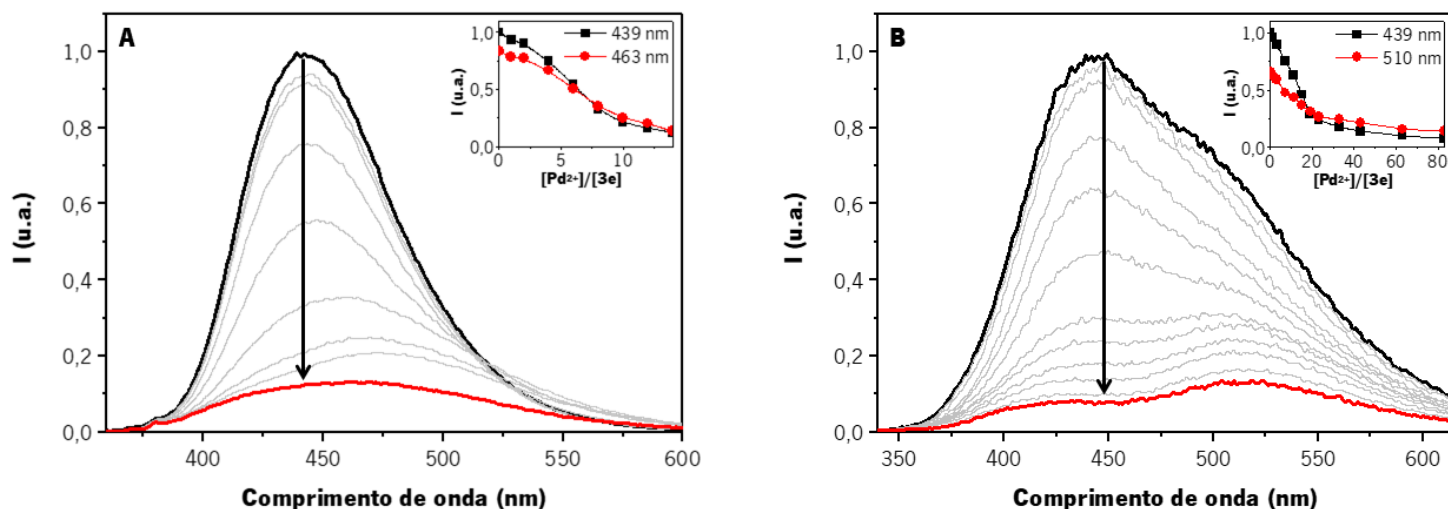


Figura 47. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole **3e** com o catião Pd²⁺, em **(A)** ACN e em **(B)** ACN/H₂O (75:25).

Comparando a **Figura 47-A** com a **Figura 47-B**, é visível a diminuição da fluorescência do derivado **3e** na presença do ião Pd²⁺, como tinha sido observado anteriormente nos testes preliminares efetuados (**Figuras 39-B** e **43-B**). No entanto, quando o solvente é apenas ACN é necessário um número de equivalentes bastante inferior do que quando o composto é estudado numa solução de ACN/H₂O (75:25).

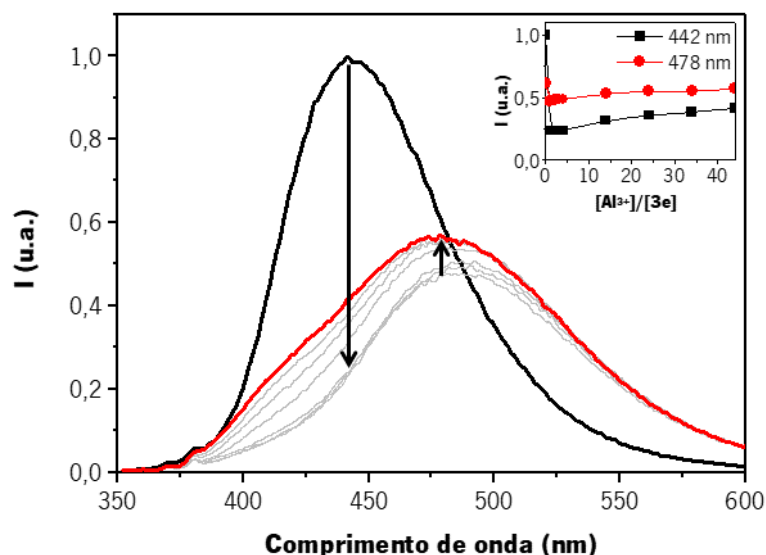


Figura 48. Espectro de emissão normalizado da interação do derivado de imidazole **3e** com o cátion Al^{3+} , em ACN.

Analisando a titulação espectralfluorimétrica (**Figura 48**) efetuada para o derivado de imidazole **3e** na presença do íon Al^{3+} , verifica-se uma diminuição da fluorescência a 442 nm assim que se adiciona o primeiro equivalente, surgindo depois um novo aumento da fluorescência a 478 nm.

De igual modo, avaliaram-se os testes da capacidade sensora para o derivado de imidazole **4a** para os aniões (CN e F) e cátions (Pb^{2+} e Pd^{2+}) e realizaram-se as respetivas titulações espectralfluorimétricas, em ACN, na presença dos aniões e cátions selecionados. (**Figuras 49 e 50**).

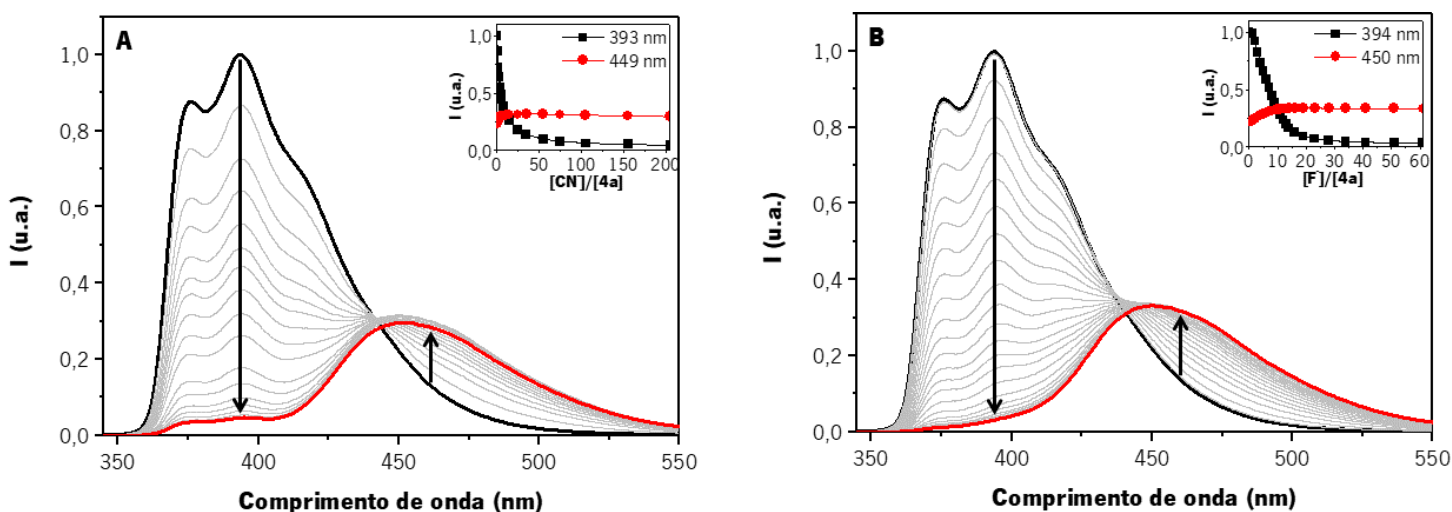


Figura 49. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole **4a** com os aniões **(A)** cianeto e **(B)** fluoreto, em ACN.

Analisando o espectro de emissão do composto **4a** na presença de ião cianeto (**Figura 49-A**), concluiu-se que esta interação provocou um *quenching* da fluorescência acompanhado por um desvio batocrômico do comprimento de onda de emissão ($\Delta\lambda=56$ nm), com o desaparecimento simultâneo da banda a 393 nm e o surgimento de uma nova banda de comprimento de onda máximo de emissão de 449 nm. Este composto não pode ser considerado um sensor químico de fluorescência para o ião CN⁻, uma vez que foi preciso adicionar mais de 200 equivalentes de anião para que se atingisse o patamar na variação da fluorescência.

A interação do ião fluoreto com o ligando **4a** (**Figura 49-B**) teve um comportamento semelhante pois resultou uma diminuição de fluorescência a 394 nm e no aparecimento de uma nova banda a 450 nm. Pela análise dos espectros obtidos durante as titulações conclui-se que desta interação resultou um desvio da banda de emissão para um comprimento de onda superior ($\Delta\lambda=56$ nm). Este composto pode ser considerado um sensor químico mais sensível para o ião fluoreto, uma vez que foram necessários menos equivalentes, cerca de 60, comparativamente ao ião cianeto de modo a originar uma variação da fluorescência.

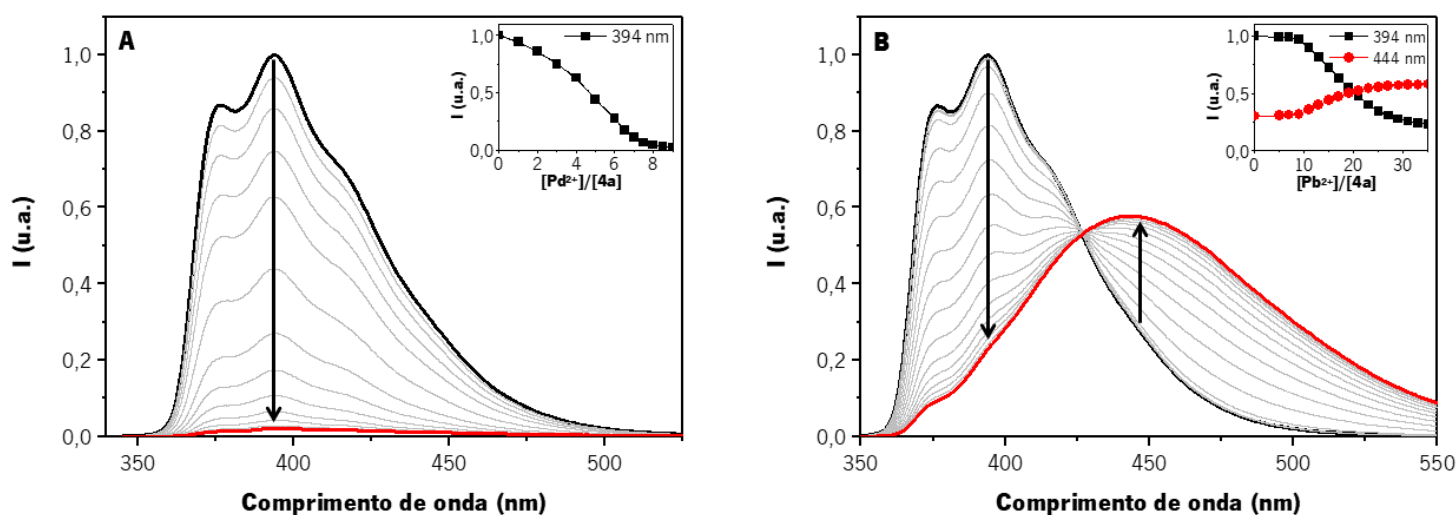


Figura 50. Espectros de emissão normalizados da interação do derivado de imidazole **4a** com os cátions (A) Pd²⁺ e (B) Pb²⁺, em ACN.

Relativamente à interação do ião Pd²⁺ com o ligando **4a**, observou-se anteriormente pelos testes preliminares, que existia um *quenching* da fluorescência (**Figura 39-B**). Este resultado foi comprovado pela titulação espectralfluorimétrica, uma vez que após a adição de 9 equivalentes de paládio, observou-se um *quenching* total da fluorescência (**Figura 50-A**).

Por análise dos resultados do teste preliminar da capacidade sensora para catiões, pode-se concluir que o chumbo(II) era o catião metálico que apresentava um aumento mais acentuado da fluorescência (**Figura 39-B**). Este facto foi comprovado pela titulação espectralfluorimétrica efetuada (**Figura 50-B**). Inicialmente verificou-se uma diminuição da fluorescência na banda de emissão a 394 nm e simultaneamente o aparecimento de uma nova banda a 444 nm ($\Delta\lambda=50$ nm), apresentando um aumento da fluorescência consoante se adicionavam mais equivalentes de Pb^{2+} .

CAPÍTULO 4

CONCLUSÃO

A síntese de novos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** substituídos nas posições 2, 4 e 5 foi conseguida através da reação de Radziszewski entre derivados de aldeídos de tienotiofeno (para a síntese dos derivados de imidazole **3**) e o fenilimidazole (para os derivados de imidazole **4**), e dionas aromáticas. Os rendimentos obtidos para estas sínteses após purificação por recristalização variaram entre 36 e 94%.

O estudo das propriedades fotofísicas dos derivados de imidazole **3a-e**, **4a** e **4d** revelou que a posição das bandas de absorção está dependente da ponte π e da planariedade do sistema conjugado presente no composto. Com a substituição do sistema fenantreno **3a** pelo benzeno **3b**, verificou-se um desvio hipsocrômico no comprimento de onda de absorção máxima, tanto em ACN como em H₂O/DMSO (95:5), devido à maior densidade eletrônica, maior rigidez e planariedade do grupo fenantreno. Os compostos que possuem anéis heteroaromáticos (**3d**, **3e** e **4d**) exibem comprimentos de absorção menores devido à menor planariedade e menor número de elétrons do sistema conjugado. Relativamente aos rendimentos quânticos de fluorescência obtidos para os derivados de imidazole sintetizados, o composto funcionalizado com o sistema fenantreno **3a** apresenta o valor mais elevado, em ACN, ao passo que o composto **3c** possui um rendimento quântico mais elevado em H₂O/DMSO (95:5). No que diz respeito aos tempos de vida, os derivados de imidazole **3b** e **3e** apresentam os maiores valores de tempo de vida de fluorescência, em acetonitrilo e H₂O/DMSO (95:5), respetivamente. Os fluoróforos sintetizados exibem emissão na zona do azul e elevados desvios de Stokes pelo que poderão ter potencial aplicação como sondas de fluorescência para bioimagem.

Depois da análise dos testes preliminares da capacidade sensora para os aniões e catiões selecionados, em ACN e ACN/H₂O (75:25), os derivados **3e** e **4a** revelaram ser os mais interessantes. Assim, realizaram-se titulações espectralfluorimétricas para ambos os derivados em ACN e ACN/H₂O (75:25). As titulações espectralfluorimétricas do composto **3e**, mostraram que este poderia ser utilizado como sensor fluorimétrico do Hg²⁺, Cu²⁺, Pd²⁺ e Al³⁺. No caso das titulações espectralfluorimétricas do composto **4a**, verificou-se que este é um sensor fluorimétrico dos iões CN⁻, F⁻, Pd²⁺ e Pb²⁺, apresentando uma elevada sensibilidade para o catião Pd²⁺, uma vez que o número de equivalentes necessário para obter uma resposta fluorimétrica pronunciada, que neste caso foi um *quenching* total da fluorescência, foi baixo.

Posto isto, conclui-se que a síntese de derivados de imidazole substituídos nas posições 2,4 e 5 do anel de imidazole foi alcançada com sucesso e que alguns derivados apresentaram capacidade de detecção seletiva de iões, podendo ser considerados sensores químicos óticos fluorimétricos. Futuramente serão efetuados estudos em colaboração com uma universidade estrangeira tendo como objetivo a avaliação destes compostos como sondas de fluorescência para células *in vivo*.

- (1) Kolesnichenko, I. V.; Anslyn, E. V. Practical Applications of Supramolecular Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46* (9), 2385–2390. <https://doi.org/10.1039/c7cs00078b>.
- (2) Steed, Jonathan W., Atwood, J. L. *Supramolecular Chemistry*, Second Ed.; John Wiley & Sons, Chichester, 2009. <https://doi.org/10.1002/9780470740880>.
- (3) Steed, J. W.; Atwood, J. L.; Gale, P. A. Definition and Emergence of Supramolecular Chemistry. In *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*; John Wiley & Sons, Chichester, 2012. <https://doi.org/10.1002/9780470661345.smc002>.
- (4) Yeung, M. C.; Yam, V. W. Luminescent Cation Sensors: From Host–Guest Chemistry, Supramolecular Chemistry to Reaction-Based Mechanisms. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (13), 4192–4202. <https://doi.org/10.1039/C4CS00391H>.
- (5) Varshey, D. B.; Sander, J. R. G.; Friscic, T.; MacGillivray, L. R. Supramolecular Interactions. In *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*; John Wiley & Sons, Chichester, 2012. <https://doi.org/10.1002/9780470661345.smc003>.
- (6) You, L.; Zha, D.; Anslyn, E. V. Recent Advances in Supramolecular Analytical Chemistry Using Optical Sensing. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (15), 7840–7892. <https://doi.org/10.1021/cr5005524>.
- (7) Fabbrizzi, L.; Poggi, A. Sensors and Switches from Supramolecular Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24* (3), 197–202. <https://doi.org/10.1039/CS9952400197>.
- (8) Czarnik, A. W. Supramolecular Chemistry, Fluorescence, and Sensing. In *Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition*, American Chemical Society, 1993. <https://doi.org/10.1021/bk-1993-0538.ch001>.
- (9) Chowdhury, S.; Roj, B.; Dutta, A.; Mandal, U. Review on Recent Advances in Metal Ions Sensing Using Different Fluorescent Probes. *J. Fluoresc.* **2018**, *28* (4), 999–1021. <https://doi.org/10.1007/s10895-018-2263-y>.
- (10) Banica, F.-G. *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*; John Wiley & Sons, Chichester, 2012. <https://doi.org/10.1002/9781118354162>.

- (11) Kaur, B.; Kaur, N.; Kumar, S. Colorimetric Metal Ion Sensors – A Comprehensive Review of the Years 2011–2016. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *358*, 13–69. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.12.002>.
- (12) Janata, J. *Principles of Chemical Sensors*, Second Ed.; Springer, New York, 2009. <https://doi.org/10.1007/b136378>.
- (13) Marín-Hernández, C.; Santos-Figueroa, L. E.; Moragues, M. E.; Raposo, M. M. M.; Batista, R. M. F.; Costa, S. P. G.; Pardo, T.; Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. Imidazoanthraquinone Derivatives for the Chromofluorogenic Sensing of Basic Anions and Trivalent Metal Cations. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (22), 10752–10761. <https://doi.org/10.1021/jo501515e>.
- (14) Ferreira, R. C. M. Innovative π -Conjugated Heterocyclic Systems as Optical Chemosensors and Two-Photon Absorbing (TPA) Chromophores: Design, Synthesis, Characterization and Development for Applications. Tese de Doutorado, Universidade do Minho, 2017.
- (15) Kaur, N.; Kumar, S. Colorimetric Metal Ion Sensors. *Tetrahedron* **2011**, *48* (67), 9233–9264. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.09.003>.
- (16) Sharma, H.; Kaur, N.; Singh, A.; Kuwar, A.; Singh, N. Optical Chemosensors for Water Sample Analysis. *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4* (23), 5154–5194. <https://doi.org/10.1039/c6tc00605a>.
- (17) Marín-Hernández, C.; Santos-Figueroa, L. E.; El Sayed, S.; Pardo, T.; Raposo, M. M. M.; Batista, R. M. F.; Costa, S. P. G.; Sancenón, F.; Martínez-Máñez, R. Synthesis and Evaluation of the Chromo-Fluorogenic Recognition Ability of Imidazoquinoline Derivatives toward Ions. *Dyes Pigments* **2015**, *122*, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2015.06.011>.
- (18) Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. Fluorogenic and Chromogenic Chemosensors and Reagents for Anions. *Chem. Rev.* **2003**, *103* (11), 4419–4476. <https://doi.org/10.1021/cr010421e>.

- (19) Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. Chemodosimeters and 3D Inorganic Functionalised Hosts for the Fluoro-Chromogenic Sensing of Anions. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250* (23–24), 3081–3093. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.04.016>.
- (20) Lou, X.; Ou, D.; Li, Q.; Li, Z. An Indirect Approach for Anion Detection: The Displacement Strategy and Its Application. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (68), 8462–8477. <https://doi.org/10.1039/c2cc33158f>.
- (21) Udhayakumari, D. S. N.; Velmathi, S. Colorimetric and Fluorescent Chemosensors for Cu²⁺. A Comprehensive Review from the Year 2013-15. *Anal. Methods* **2017**, *9* (4), 552–578. <https://doi.org/10.1039/C6AY02416E>.
- (22) Zhu, H.; Fan, J.; Wang, B.; Peng, X. Fluorescent, MRI, and Colorimetric Chemical Sensors for the First-Row d-Block Metal Ions. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (13), 4337–4366. <https://doi.org/10.1039/c4cs00285g>.
- (23) Upadhyay, S.; Singh, A.; Sinha, R.; Omer, S.; Negi, K. Colorimetric Chemosensors for d-Metal Ions: A Review in the Past, Present and Future Prospect. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1193*, 89–102. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.05.007>.
- (24) Wang, B.; Anslyn, E. V. *Chemosensors: Principles, Strategies, and Applications*; John Wiley & Sons, Chichester, 2011. <https://doi.org/10.1002/9781118019580>.
- (25) Shree, G. J.; Sivaraman, G.; Siva, A.; Chellappa, D. Anthracene- and Pyrene-Bearing Imidazoles as Turn-on Fluorescent Chemosensor for Aluminum Ion in Living Cells. *Dyes Pigments* **2019**, *163*, 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.11.061>.
- (26) Valeur, B.; Berberan-Santos, M. N. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*; Second Ed.; Wiley-VCH, Weinheim, 2012. <https://doi.org/10.1002/9783527650002>.
- (27) Mao, L.; Liu, Y.; Yang, S.; Li, Y.; Zhang, X.; Wei, Y. Recent Advances and Progress of Fluorescent Bio-/Chemosensors Based on Aggregation-Induced Emission Molecules. *Dyes Pigments* **2019**, *162*, 611–623. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.10.045>.
- (28) 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* (23), 7105–7123. <https://doi.org/10.1039/c7cs00240h>.

- (29) Basabe-Desmonts, L.; Reinhoudt, D. N.; Crego-Calama, M. Design of Fluorescent Materials for Chemical Sensing. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36* (6), 993–1017. <https://doi.org/10.1039/b609548h>.
- (30) Batista, R. M. F.; Costa, S. P. G.; Raposo, M. M. M. Selective Colorimetric and Fluorimetric Detection of Cyanide in Aqueous Solution Using Novel Heterocyclic Imidazo-Anthraquinones. *Sens. Actuators, B Chem.* **2014**, *191*, 791–799. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.030>.
- (31) Okda, H. E.; El Sayed, S.; Otri, I.; Ferreira, R. C. M.; Costa, S. P. G.; Raposo, M. M. M.; Martínez-Máñez, R.; Sancenón, F. A Simple and Easy-to-Prepare Imidazole-Based Probe for the Selective Chromo-Fluorogenic Recognition of Biothiols and Cu(II) in Aqueous Environments. *Dyes Pigments* **2019**, *162*, 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.10.017>.
- (32) Ferreira, R. C. M.; Costa, S. P. G.; Gonçalves, H.; Belsley, M.; Raposo, M. M. M. Fluorescent Phenanthroimidazoles Functionalized with Heterocyclic Spacers: Synthesis, Optical Chemosensory Ability and Two-Photon Absorption (TPA) Properties. *New J. Chem.* **2017**, *41* (21), 12866–12878. <https://doi.org/10.1039/c7nj02113e>.
- (33) Maruthamuthu; Rajam, S.; P. Stella, C. R.; A. G. Dileepan, B.; Ranjith, R.. The Chemistry and Biological Significance of Imidazole, Benzimidazole, Benzoxazole, Tetrazole and Quinazolinone Nucleus. *J. Chem. Pharm. Res.* **2016**, *8* (5), 505–526.
- (34) Babar, R.; Ali, M.; Nawaz, M.; Arif, M. Synthesis and Optical Studies of Y-Shaped Imidazole Derivatives. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol.* **2019**, *217*, 223–236. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.03.043>.
- (35) Zhang, L., Peng, X. M., Damu, G. L., Geng, R. X., & Zhou, C. H. Comprehensive Review in Current Developments of Imidazole-Based Medicinal Chemistry. *Med. Res. Rev.* **2014**, *34* (2), 340–437. <https://doi.org/10.1002/med.21290>.
- (36) Keri, R. S.; Hiremathad, A.; Budagumpi, S.; Nagaraja, B. M. Comprehensive Review in Current Developments of Benzimidazole-Based Medicinal Chemistry. *Chem. Biol. Drug Des.* **2015**, *86* (1), 799–845. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12462>.

- (37) Hossain, M.; Nanda, A. K. A Review on Heterocyclic: Synthesis and Their Application in Medicinal Chemistry of Imidazole Moiety. *Science (80-)*. **2018**, *6* (5), 83–94. <https://doi.org/10.11648/j.sjc.20180605.12>.
- (38) Zhao, B.; Fang, Y.; Ma, M. J.; Deng, Q. G.; Xu, Y.; Wang, L. Y. A New On-Fluorescent Sensor for Ag⁺ Based on Benzimidazole Bearing *Bis*(Ethoxycarbonylmethyl)Amino Groups. *Heterocycl. Commun.* **2015**, *21* (4), 211–214. <https://doi.org/10.1515/hc-2015-0002>.
- (39) Esteves, I. C.; Raposo, M. M. M.; Costa, S. P. G. New 2, 4, 5-Triarylimidazoles Based on a Phenylalanine Core: Synthesis, Photophysical Characterization and Evaluation as fluorimetric Chemosensors for Ion Recognition. *Dyes Pigments* **2016**, *134*, 258–268. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.07.020>.
- (40) Kuzu, B.; Tan, M.; Ekmekci, Z.; Menges, N. A Novel Fluorescent Sensor Based on Imidazole Derivative for Fe³⁺ Ions. *J. Luminescence* **2017**, *192*, 1096–1103. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2017.08.057>.
- (41) Qian, X.; Xu, Z. Fluorescence Imaging of Metal Ions Implicated in Diseases. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44* (14), 4487–4493. <https://doi.org/10.1039/c4cs00292j>.
- (42) Okda, H. E.; El Sayed, S.; Otri, I.; Ferreira, R. C. M.; Costa, S. P. G.; Raposo, M. M. M.; Martínez-Mañez, R.; Sancenón, F. 2,4,5-Triaryl Imidazole Probes for the Selective Chromo-Fluorogenic Detection of Cu(II). Prospective Use of the Cu(II) Complexes for the Optical Recognition of Biothiols. *Polyhedron* **2019**, *170*, 388–394. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.05.055>.
- (43) Batista, R. M. F.; Oliveira, E.; Costa, S. P. G.; Lodeiro, C.; Raposo, M. M. M. (Oligo)Thienyl-Imidazo-Benzocrown Ether Derivatives: Synthesis, Photophysical Studies and Evaluation of Their Chemosensory Properties. *Talanta* **2011**, *85* (5), 2470–2478. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.07.107>.
- (44) Esteves, C. I. C., Ferreira, R. C. M., Raposo, M. M. M., Costa, S. P. G. New Fluoroionophores for Metal Cations Based on Benzo[*d*]Oxazol-5-yl-Alanine Bearing Pyrrole and Imidazole. *Dyes Pigments* **2017**, *151*, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2017.12.040>.

- (45) Ha, E.; Basu, N.; Bose-O'Reilly, S.; Dórea, J. G.; McSorley, E.; Sakamoto, M.; Chan, H. M. Current Progress on Understanding the Impact of Mercury on Human Health. *Environ. Res.* **2017**, *152*, 419–433. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.06.042>.
- (46) Valeur, B.; Leray, I. Design Principles of Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *205* (1), 3–40. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00246-0).
- (47) Busschaert, N.; Caltagirone, C.; Van Rossom, W.; Gale, P. A. Applications of Supramolecular Anion Recognition. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (15), 8038–8155. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00099>.
- (48) Batista, R. M. F.; Oliveira, E.; Costa, S. P. G.; Lodeiro, C.; Raposo, M. M. M. Synthesis and Ion Sensing Properties of New Colorimetric and Fluorimetric Chemosensors Based on Bithienyl-Imidazo-Anthraquinone Chromophores. *Org. Lett.* **2007**, *9* (17), 3201–3204. <https://doi.org/10.1021/ol071029b>.
- (49) Batista, R. M. F.; Costa, S. P. G.; Raposo, M. M. M. Naphthyl-Imidazo-Anthraquinones as Novel Colorimetric and Fluorimetric Chemosensors for Ion Sensing. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2013**, *259*, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2013.03.001>.
- (50) Batista, R. M. F.; Oliveira, E.; Raposo, M. M.; Costa, S. P. G.; Lodeiro, C. Cyanide and Fluoride Colorimetric Sensing by Novel Imidazo-Anthraquinones Functionalised with Indole and Carbazole. *Supramol. Chem.* **2013**, *26* (2), 71–80. <https://doi.org/10.1080/10610278.2013.824082>.
- (51) Oliveira, E.; Baptista, R. M. F.; Costa, S. P. G.; Raposo, M. M. M.; Lodeiro, C. Exploring the Emissive Properties of New Azacrown Compounds Bearing Aryl, Furyl, or Thienyl Moieties: A Special Case of Chelation Enhancement of Fluorescence upon Interaction with Ca^{2+} , Cu^{2+} , or Ni^{2+} . *Inorg. Chem.* **2010**, *49* (23), 10847–10857. <https://doi.org/10.1021/ic101095y>.
- (52) Batista, R. M. F.; Oliveira, E.; Costa, S. P. G.; Lodeiro, C.; Raposo, M. M. M. Imidazo-Benzo-15-Crown-5 Ethers Bearing Arylthienyl and Bithienyl Moieties as Novel Fluorescent Chemosensors for Pd^{2+} and Cu^{2+} . *Tetrahedron* **2011**, *67* (37), 7106–7113. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.06.106>.

- (53) Ohseido, Y.; Saruhashi, K.; Watanabe, H. A New Family of Light-Emissive Symmetric Squarylium Dyes in the Solid State. *Dyes Pigments* **2015**, *122*, 134–138. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2015.06.025>.
- (54) Gelens, E.; Kanter, F. J. J. De; Schmitz, R. F.; Sliedregt, L. A. J. M.; Steen, B. J. Van; Kruse, C. G. Efficient Library Synthesis of Imidazoles Using a Multicomponent Reaction and Microwave Irradiation. *Mol. Divers.* **2006**, *10* (1), 17–22. <https://doi.org/10.1007/s11030-006-8695-3>.
- (55) Atanasova-Stamova, S.; Georgieva, S.; Georgieva, M. Reaction Strategies for Synthesis of Imidazole Derivatives: A Review. *Scr. Sci. Pharm.* **2018**, *5* (2), 7–13. <https://doi.org/10.14748/ssp.v5i2.5483>.