



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**TESE DE DOUTORADO**

**FLUORÓFOROS BIOATIVOS BASEADOS EM N-HETEROCICLOS  
FUNCIONALIZADOS COM ÁCIDO CARBOXÍLICO: SÍNTESE,  
CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO ÓPTICO E AVALIAÇÃO DA  
ATIVIDADE BIOLÓGICA**

**LIDIANE GOMES DE ARAÚJO**

*SAPIENTIA AEDIFICAT*

João Pessoa – PB

Março de 2025

Lidiane Gomes de Araújo

The logo of the Universidade Federal da Paraíba is centered in the background. It features a blue shield with a white cross and a yellow fleur-de-lis in the center. Above the shield are three lit torches with orange and yellow flames. Below the shield is a blue ribbon with the word 'SAPIENTIA' in yellow. The year '1947' is also visible on the ribbon.

**FLUORÓFOROS BIOATIVOS BASEADOS EM N-HETEROCICLOS  
FUNCIONALIZADOS COM ÁCIDO CARBOXÍLICO: SÍNTESE,  
CARACTERIZAÇÃO, ESTUDO ÓPTICO E AVALIAÇÃO DA  
ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Química da Universidade Federal da Paraíba  
como requisito parcial para obtenção do título de  
Doutor em química.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Cristiano

Coorientador: Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Júnior

João Pessoa – PB

Março de 2025

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

A663f Araújo, Lidianne Gomes de.

Fluoróforos bioativos baseados em N-heterociclos  
funcionalizados com ácido carboxílico : síntese,  
caracterização, estudo óptico e avaliação da atividade  
biológica / Lidianne Gomes de Araújo. - João Pessoa,  
2025.

240 f. : il.

Orientação: Rodrigo Cristiano.

Coorientação: Claudio Gabriel Lima Júnior.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

1. Fluorescência. 2. N-heterociclos. 3. Emissão  
induzida por agregação. 4. Atividade biológica. I.  
Cristiano, Rodrigo. II. Lima Júnior, Claudio Gabriel.  
III. Título.

UFPB/BC

CDU 535.37:54(043)

# **Fluoróforos bioativos baseados em *N*-heterociclos funcionalizados com ácido carboxílico: síntese, caracterização, estudo óptico e avaliação da atividade biológica.**

Trabalho de Tese de Doutorado apresentada pela discente **Lidiane Gomes de Araújo** e aprovada pela Banca Examinadora composta abaixo, realizada no dia 21 de março de 2025.

Documento assinado digitalmente  
 **RODRIGO CRISTIANO**  
Data: 24/03/2025 07:17:15-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Rodrigo Cristiano**  
DQ/UFPB  
Orientador/Presidente

Documento assinado digitalmente  
 **CLAUDIO GABRIEL LIMA JUNIOR**  
Data: 25/03/2025 07:46:27-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior**  
DQ/UFPB  
Co- Orientador

Documento assinado digitalmente  
 **EDUARDO WESTPHAL**  
Data: 24/03/2025 08:15:38-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Eduard Westphal**  
DQ/UFSC-Florianópolis-SC  
Examinador externo

Documento assinado digitalmente  
 **FABIO DA SILVA MIRANDA**  
Data: 24/03/2025 16:28:22-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof. Dr. Fabio da Silva Miranda**  
IQ/UFF-Niterói-RJ  
Examinador externo

Documento assinado digitalmente  
 **ANTONIA LUCIA DE SOUZA**  
Data: 25/03/2025 09:36:38-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Antonia Lúcia de Souza**  
DQ/UFPB  
Examinadora interna

Documento assinado digitalmente  
 **JULIANA ALVES VALE**  
Data: 24/03/2025 19:14:05-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Juliana Alves Vale**  
DQ/UFPB  
Examinadora interna

À minha filha Ayla, que me deu o melhor de todos os títulos, o de mãe. Eu te amo com todo o meu ser.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua infinita graça através da qual me concedeu a salvação eterna, por me dar forças para prosseguir e me abençoar diariamente muito mais do que mereço. A Ele seja dada toda honra e toda glória para todo sempre.

Ao meu esposo Álysson, pela companhia, amor e todos os esforços que faz pela nossa família.

À minha família, minha base, obrigada por todo o apoio em tudo. Agradeço especialmente à minha mãe, Maria Santana, por todos os motivos que não caberiam nesta tese.

Ao meu orientador, professor Dr. Rodrigo Cristiano, pela oportunidade, por todos os ensinamentos, por ter sido sempre presente, ativo e atencioso. Levarei sua criteriosidade para a vida.

Ao meu co-orientador, professor Dr. Claudio Gabriel, pelas parcerias buscadas, contribuições acadêmicas, palavras de ânimo e toda a alegria que transmite para todos.

A todos do LASOM-PB que me acolheram, ajudaram e compartilharam diversos momentos ao longo desses anos, em especial os “fluoróforos” Ashley, Bruno e Rafael. Aqui estendo os agradecimentos as amizades de fora do laboratório, em especial à Emanuela, por tudo que compartilhamos por tantos anos, a Mônica e Sonale.

Aos parceiros da pesquisa: Gutemberg e professor Gerd (LQQC) pelos estudos teóricos; Kelvin, Alcides e professor Wallace (GEAQA) pela ajuda com os equipamentos de UV-vis e fluorímetro; Dominique (BSTR – UFPE) pelas medidas de rendimento quântico em fase sólida; professor Wagner pelo acesso ao Laboratório de Espectroscopia Molecular para uso do UV-vis e para medidas de DLS, e a Renato, Joaldo e Paulo (LQQC) pelas diversas vezes que me ajudaram com esses equipamentos; José Roberto e professora Edeltrudes (Laboratório de Micologia – UFPB) pela atividade antimicrobiana; Jéssica e professora Karen (LQQC) pelos estudos computacionais de *docking molecular*; Yuri e professora Gardênia (Laboratório de Proliferação celular e Câncer – UFPE) pela atividade anticâncer; aos técnicos do LMCA, Evandro e Marcelo, pelas análises de RMN.

À UFPB, ao PPGQ, à CAPES e o INCT-Cimol.

## RESUMO

Este estudo descreve a síntese, caracterização estrutural, óptica e atividade antimicrobiana e anticâncer de compostos de quatro classes: **a)** quinoxalinas (QX): derivados do ácido 2,3-diaril-4-carboxílico, as 6 moléculas obtidas, sendo uma inédita, apresentaram fluorescência no estado sólido e/ou soluções com propriedades de emissão induzida por agregação (AIE) estudadas em misturas de solvente orgânico/água, promovida pelo mecanismo de restrição de movimentos intramoleculares (RIM) e variando devido à presença de longas cadeias aquílicas e grupos alcóxi doadores. Os compostos apresentaram ainda solvatocromismo positivo nos espectros de emissão de fluorescência e o sal de potássio de **QX1** foi um ótimo AIEógeno em mistura de água/THF. A importância do grupo ácido carboxílico foi estudada a partir de espectros de infravermelho (IV) e cálculos teóricos foram realizados considerando os efeitos implícitos do solvente. **b)** quinolinas (QL): sendo 5 inéditos, 8 dos 10 derivados do ácido estilquinolina-4-carboxílico apresentaram interessantes propriedades ópticas variando de acordo com o padrão de substituição desses compostos. O comportamento solvatocrômico foi estudado em 10 solventes com diferentes polaridades e o estudo quantitativo das interações soluto-solvente foi realizado. Compostos O-acetilados apresentaram acidocromismo tanto com adição de ácido na solução de metanol quanto em soluções tamponadas com diferentes valores de pH, tornando-os fortes candidatos a sondas fluorescentes em meio fisiológico. **c)** di-hidroquinolinas (DQ): 2 novos derivados de ácido 1,2-di-hidroquinolina-4-carboxílico foram obtidos por um novo método. Os compostos foram fluorescentes em fase sólida e o estudo de AIE também foi realizado, além da análise em soluções tamponadas com diferentes valores de pH. **d)** pirazinas (PZ): 4 derivados de 1,2-dicianopirazinas foram obtidos rapidamente em reator de micro-ondas e as propriedades ópticas foram bastante semelhantes às das quinoxalinas com o mesmo padrão de substituição, porém com menores valores de rendimento quântico. De todos os compostos avaliados frente a atividade antimicrobiana, a maioria das quinoxalinas e quinolinas apresentaram ótimos resultados, com valores de CIM até menores do que os dos fármacos de referência, com mecanismo de ação estudado através de triagem virtual inversa (IVS) e *docking* molecular.

**Palavras-chave:** N-heterociclos; fluorescência; emissão induzida por agregação; atividade biológica.

## ABSTRACT

This study describes the synthesis, structural and optical characterization, and antimicrobial and anticancer activity of compounds of four classes: **a)** quinoxalines: derivatives of 2,3-diaryl-4-carboxylic acid, the 6 molecules obtained, one of which was new, presented fluorescence in the solid state and/or solutions with AIE properties studied in organic solvent/water mixtures, promoted by the restriction of intramolecular motions (RIM) mechanism and varying due to the presence of long alkyl chains and alkoxy donor groups. The compounds also presented positive solvatochromism in the fluorescence emission spectra and the potassium salt of **QX1** was an excellent AIEogen in water/THF mixture. The importance of the carboxylic acid group was studied from infrared (IR) spectra and theoretical calculations were performed considering the implicit effects of the solvent. **b)** quinolines: 5 of which were new, 8 of the 10 styrylquinoline-4-carboxylic acid derivatives showed interesting optical properties varying according to the substitution pattern of these compounds. The solvatochromic behavior was studied in 10 solvents with different polarities and the quantitative study of the solute-solvent interactions was performed. O-acetylated compounds showed acidochromism both with addition of acid in the methanol solution and in buffered solutions with different pH values, making them strong candidates for fluorescent probes in physiological media. **c)** dihydroquinolines: 2 new derivatives of 1,2-dihydroquinoline-4-carboxylic acid were obtained by a new method. The compounds were fluorescent in solid phase and the AIE study was also performed, in addition to the analysis in buffered solutions with different pH values. **d)** pyrazines: 4 1,2-dicyanopyrazines derivatives were rapidly obtained in a microwave reactor and their optical properties were quite similar to those of quinoxalines with the same substitution pattern, but with lower quantum yield values. Of all the compounds evaluated for antimicrobial activity, most quinoxalines and quinolines showed excellent results, with MIC values even lower than those of the reference drugs, with their mechanism of action studied through inverse virtual screening (IVS) and molecular docking.

**Keywords:** *N*-heterocycles; fluorescence; aggregation-induced emission; biological activity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> – Níveis de energia em orbitais moleculares e transições eletrônicas mais comuns.<br>.....                                                                                                                                                                                                                                                                      | 20 |
| <b>Figura 2</b> – Diagrama de Jablonski.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 22 |
| <b>Figura 3</b> – Estruturas químicas da fenolftaleína e fluoresceína como exemplo de fluorescência induzida pela rigidez do sistema .....                                                                                                                                                                                                                                      | 26 |
| <b>Figura 4</b> – Hexafenilsilol (HPS) <b>1</b> , um dos compostos usados por Chen (2003): a) estrutura molecular b) conformações do monocristal evidenciando as rotações dos grupos fenil.....                                                                                                                                                                                 | 29 |
| <b>Figura 5</b> – Tetrafenileteno (TPE) como um exemplo de AIE pelo RIR .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 30 |
| <b>Figura 6</b> – THBA, um AIEógeno via RIV com formato de concha .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 31 |
| <b>Figura 7</b> – Estrutura do AIEógeno TPA-Pyr-BP [51] .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 33 |
| <b>Figura 8</b> – Estrutura de AIEógeno com TADF empregado como OLED .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 34 |
| <b>Figura 9</b> – Exemplos de moléculas empregadas como sondas biológicas.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 35 |
| <b>Figura 10</b> – Núcleos N-heterocíclicos alvos deste trabalho .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 36 |
| <b>Figura 11</b> – Exemplos de quinoxalinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas ...                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 39 |
| <b>Figura 12</b> - Exemplos de quinolinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas.....                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 41 |
| <b>Figura 13</b> - Exemplos de di-hidroquinolinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas<br>.....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 43 |
| <b>Figura 14</b> – Exemplos de pirazinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas.....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 45 |
| <b>Figura 15</b> – Ilustração do planejamento estrutural das moléculas deste trabalho.....                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 49 |
| <b>Figura 16</b> – Fotografias dos compostos <b>QX1-6</b> sob luz natural (em cima) e sob luz UV de 360 nm (embaixo).....                                                                                                                                                                                                                                                       | 52 |
| <b>Figura 17</b> – Espectros de fotoluminescência no estado sólido ( <b>QX1</b> , $\lambda_{exc.} = 375$ nm; <b>QX2</b> , $\lambda_{exc.} = 380$ nm; <b>QX3</b> , $\lambda_{exc.} = 390$ nm; <b>QX6</b> , $\lambda_{exc.} = 400$ nm); inserção: fotografias dos filmes sólidos de <b>QX1</b> , <b>QX2</b> , <b>QX3</b> e <b>QX6</b> sob irradiação de lâmpada UV a 365 nm ..... | 53 |
| <b>Figura 18</b> – Espectros de absorção e emissão de <b>QX1</b> , <b>QX2</b> , <b>QX3</b> e <b>QX6</b> em diferentes solventes ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc} = \lambda_{abs}$ ).....                                                                                                                                                                                           | 55 |
| <b>Figura 19</b> – Espectros de UV-vis de <b>QX1</b> em misturas de MeCN/H <sub>2</sub> O e <b>QX2-6</b> em misturas de THF/H <sub>2</sub> O .....                                                                                                                                                                                                                              | 59 |
| <b>Figura 20</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>QX1</b> em misturas de MeCN/H <sub>2</sub> O ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc} = \lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>QX1</b> ; (c) fotografia das soluções de <b>QX1</b> sob lâmpada UV (360 nm) .....  | 61 |
| <b>Figura 21</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>QX2</b> em misturas de THF/H <sub>2</sub> O ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc} = \lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo                                                                                                                                          |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>QX2</b> ; (c) fotografia das soluções de <b>QX2</b> sob lâmpada UV (360 nm) .....                                                                                                                                                                                                                                      | 62 |
| <b>Figura 22</b> – Espectros de emissão de <b>QX1</b> em misturas de DMSO/glicerol ( $10^{-5}$ M) com aumento na fração (vol%) de glicerol ( $f_{gli}$ ); inserção: gráfico da intensidade de emissão em função de $f_{gli}$ .....                                                                                                                                          | 63 |
| <b>Figura 23</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>QX3</b> em misturas de THF/H <sub>2</sub> O ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>QX3</b> ; (c) fotografia das soluções de <b>QX3</b> sob lâmpada UV (365 nm) ..... | 64 |
| <b>Figura 24</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>QX4</b> em misturas de THF/H <sub>2</sub> O ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>QX4</b> ; (c) fotografia das soluções de <b>QX4</b> sob lâmpada UV (365 nm) ..... | 65 |
| <b>Figura 25</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>QX5</b> em misturas de THF/H <sub>2</sub> O ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>QX5</b> ; (c) fotografia das soluções de <b>QX5</b> sob lâmpada UV (365 nm) ..... | 65 |
| <b>Figura 26</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>QX6</b> em misturas de THF/H <sub>2</sub> O ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>QX6</b> ; (c) fotografia das soluções de <b>QX6</b> sob lâmpada UV (365 nm) ..... | 66 |
| <b>Figura 27</b> – Espectro de fluorescência dos filmes do composto <b>QX1</b> em MeCN e em MeCN/água; inserção: fotografia dos filmes sob luz UV (365 nm) destacando região de agregados.....                                                                                                                                                                              | 69 |
| <b>Figura 28</b> – (a) Espectro de IV do composto <b>QX1</b> no modo absorbância em diferentes concentrações. Inserção: gráfico da razão entre a absorbância máxima da banda de OH e de C-H em função da concentração; (b) Espectro de IV de <b>QX1</b> no modo transmitância em diferentes concentrações .....                                                             | 70 |
| <b>Figura 29</b> – Espectros de emissão de (a) <b>QX1</b> em MeOH; (b) <b>QX1</b> ; (c) <b>QX2</b> e (d) <b>QX3</b> em THF em suas respectivas formas de ácido carboxílico e sal carboxilato. ( $10^{-5}$ M, $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ).....                                                                                                                       | 72 |
| <b>Figura 30</b> – a) Espectro de fotoluminescência do sal do composto <b>QX1</b> em soluções de água/THF; b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de THF (vol %); c) fotografia das soluções sob lâmpada UV (360 nm).....                                                                               | 73 |
| <b>Figura 31</b> – Estruturas com ângulos de rotação da carbonila e dos grupos 2,3-diaril de <b>QX1</b> em (a) MeCN e (b) água, e <b>QX3</b> em (c) MeCN e (d) água .....                                                                                                                                                                                                   | 74 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 32</b> – Representação 3D das melhores poses para cada complexo estudado, onde o composto <b>QX4</b> é mostrado em verde, o composto <b>QX5</b> em magenta, o ligante PDB em vermelho e os resíduos de aminoácidos em cinza claro.....                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 78  |
| <b>Figura 33</b> – Fotografias das soluções dos compostos <b>QL1-8</b> em diferentes solventes sob lâmpada UV (365 nm) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 84  |
| <b>Figura 34</b> – Espectros de UV-vis dos compostos <b>QL1-8</b> em diferentes solventes .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 85  |
| <b>Figura 35</b> – Espectros de emissão dos compostos <b>QL1-8</b> em diferentes solventes ( $\lambda_{exc}=\lambda_{max. abs.}$ ).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 86  |
| <b>Figura 36</b> – (Esquerda) Função $E_T(30)$ (linha preta, coeficiente de regressão $R^2$ em preto considerando todos os solventes; linha vermelha, $R^2$ em vermelho sem isopropanol e metanol) e (Direita) gráficos de Lippert-Mataga dos compostos da série B .....                                                                                                                                                                                                                                                              | 91  |
| <b>Figura 37</b> – Gráficos de correlação entre propriedades fotofísicas experimentais com os valores previstos obtidos por uma regressão linear multicomponente usando a escala Catalán para os compostos <b>QL</b> estudados .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 93  |
| <b>Figura 38</b> – Espectros emissão de <b>QL4-B</b> em sua forma de sal de potássio em diferentes solventes (THF, metanol e água. $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Inserção: fotografias de frascos contendo as soluções sob irradiação de luz UV (365 nm). .....                                                                                                                                                                                                                                                           | 96  |
| <b>Figura 39</b> – (a) e (c) espectros de UV-vis; (b) e (d) espectros de emissão de soluções de <b>QL4-B</b> e <b>QL5-B</b> , respectivamente, em MeOH ( $10^{-5}$ M) e com adição de 50 $\mu$ L de HCl, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e AcOH. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 98  |
| <b>Figura 40</b> – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (400 MHz) em MeOD do composto <b>QL4-B</b> na forma neutra (embaixo) e na forma protonada (em cima) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 99  |
| <b>Figura 41</b> – Espectros UV-vis de <b>QL4-B</b> em soluções de MeOH registrados em diferentes tempos (a) com irradiação UV e (b) sem irradiação UV (solução mantida no escuro após ter sido irradiada).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 100 |
| <b>Figura 42</b> – Espectros UV-vis de <b>QL4-B</b> em soluções de MeOH com adição de HCl (0,5 M) registrados em diferentes tempos (a) com irradiação UV e (b) sem irradiação UV (solução mantida no escuro após ter sido irradiada).....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 101 |
| <b>Figura 43</b> – (a) Espectros de emissão de <b>QL4-B</b> em soluções de MeOH ( $10^{-5}$ M; $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ) com diferentes valores de pH obtidos pela adição de 50 $\mu$ L de HCl <sub>(aq)</sub> ou KOH <sub>(aq)</sub> em diferentes concentrações; (b) fotografia das soluções sob irradiação de luz UV (365 nm) .                                                                                                                                                                                     | 102 |
| <b>Figura 44</b> – (a) Espectros de emissão de <b>QL4-B</b> em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Uma solução estoque $5 \times 10^{-5}$ M em DMSO foi diluída por soluções tampão 0,01 M correspondentes. As soluções finais continham 5% de DMSO com uma concentração do composto de $5 \times 10^{-5}$ M. Soluções tampão: pH 2 (HCl), pH 4 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 7 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 9 (tampão NH <sub>4</sub> Cl/NH <sub>4</sub> OH), pH 12 |     |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| (NaOH). (b) fotografia das soluções sob luz visível (em cima) e sob uma lâmpada UV com $\lambda_{exc.} = 365 \text{ nm}$ (embaixo) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 103 |
| <b>Figura 45</b> – Representação 3D das posições ideais para cada complexo investigado, com o composto <b>QL3-B</b> representado em verde, <b>QL4-B</b> em amarelo e o ligante PDB em vermelho de DQS de A) <i>S. aureus</i> ; B) <i>S. epidermidis</i> ; C) <i>P. aeruginosa</i> ; e SQS de D) <i>C. albicans</i> ; E) <i>C. tropicalis</i> ; F) <i>A. flavus</i> . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 106 |
| <b>Figura 46</b> – Fotografias dos compostos <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> sob luz natural (em cima) e sob luz UV de 360 nm (embaixo).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 109 |
| <b>Figura 47</b> – Espectros de fotoluminescência no estado sólido de <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ); inserção: fotografias dos filmes sólidos de <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> sob irradiação de lâmpada UV a 365 nm .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 109 |
| <b>Figura 48</b> – Espectros de emissão de (a) <b>DQ1</b> e (b) <b>DQ2</b> em soluções de THF/água ( $6 \times 10^{-5} \text{ M}$ , $\lambda_{exc} = 310 \text{ nm}$ ) nas $f_w$ 0%, 90% e 99%; (c) e (d) fotografia das soluções de <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> , respectivamente, sob lâmpada UV (365 nm) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 111 |
| <b>Figura 49</b> – Espectros de emissão de (a) <b>DQ1</b> e (b) <b>DQ2</b> em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Uma solução estoque $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ em DMSO foi diluída por soluções tampão 0,01 M correspondentes. As soluções finais continham 5% de DMSO com uma concentração de cada composto de $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ . Soluções tampão: pH 2 (HCl), pH 4 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 7 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 9 (tampão $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ ), pH 12 (NaOH). (c) e (d) fotografias das soluções de sob luz <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> , respectivamente ..... | 112 |
| <b>Figura 50</b> – Espectros de fotoluminescência no estado sólido de <b>PZ1</b> e <b>PZ2</b> ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. as.}$ ); inserção: fotografias dos filmes sólidos de <b>PZ1</b> e <b>PZ2</b> sob irradiação de lâmpada UV a 365 nm .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 117 |
| <b>Figura 51</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>PZ1</b> em misturas de THF/ $\text{H}_2\text{O}$ ( $10^{-5} \text{ M}$ , $\lambda_{exc} = \lambda_{max. abs.}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>PZ1</b> (c) fotografia das soluções de <b>PZ1</b> sob lâmpada UV (365 nm) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 118 |
| <b>Figura 52</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>PZ2</b> em misturas de THF/ $\text{H}_2\text{O}$ ( $10^{-5} \text{ M}$ , $\lambda_{exc} = \lambda_{max. abs.}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>PZ2</b> (c) fotografia das soluções de <b>PZ2</b> sob lâmpada UV (365 nm) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 119 |
| <b>Figura 53</b> – (a) Espectros de fluorescência de <b>PZ3</b> em misturas de THF/ $\text{H}_2\text{O}$ ( $10^{-5} \text{ M}$ , $\lambda_{exc} = \lambda_{max. abs.}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de <b>PZ3</b> (c) fotografia das soluções de <b>PZ3</b> sob lâmpada UV (365 nm) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 119 |

**Figura 54** – (a) Espectros de fluorescência de **PZ4** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O (10<sup>-5</sup> M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **PZ4** (c) fotografia das soluções de **PZ4** sob lâmpada UV (365 nm) ..... 120

## LISTA DE ESQUEMAS

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Esquema 1 – Síntese das quinoxalinas (QX1-6)</b> .....                       | 50  |
| <b>Esquema 2 – Síntese das quinolinas (QL1-10)</b> .....                        | 81  |
| <b>Esquema 3 – Síntese das di-hidroquinolinas (DQ1-2)</b> .....                 | 107 |
| <b>Esquema 4 – Mecanismo proposto para obtenção de di-hidroquinolinas</b> ..... | 108 |
| <b>Esquema 5 – Síntese das pirazinas (PZ1-4)</b> .....                          | 115 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 1</b> – Rendimentos isolados de <b>QX1-6</b> pelos métodos I e II .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 50  |
| <b>Tabela 2</b> – Propriedades ópticas dos compostos <b>QX1</b> , <b>QX2</b> , <b>QX3</b> e <b>QX6</b> em diferentes solventes ( $10^{-5}$ M) e no estado sólido ( $\lambda_{exc} = \lambda_{abs}$ ).....                                                                                                                                                                              | 57  |
| <b>Tabela 3</b> – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos <b>QX1-6</b> em misturas de solvente com fração de água (vol %) .....                                                                                                                                                                                                                          | 66  |
| <b>Tabela 4</b> – Valores de MIC (em $\mu\text{g/mL}$ ) dos compostos <b>QX1-6</b> contra diferentes cepas de bactérias e fungos.....                                                                                                                                                                                                                                                  | 75  |
| <b>Tabela 5</b> – Validação obtida para cálculo de redocking (RMSD) e Área sob a Curva (AUC) para curva ROC. ....                                                                                                                                                                                                                                                                      | 77  |
| <b>Tabela 6</b> – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento ( $CI_{50}$ ) em $\mu\text{M}$ e seu intervalo de confiança (IC) dos compostos <b>QX4</b> e <b>QX6</b> nas linhagens K-562, H-1299, HL-60, HCT116 e MRC-6 .....                                                                                                                                                | 80  |
| <b>Tabela 7</b> – Padrões de substituição e resultados para a síntese dos compostos <b>QL1-10</b> . A classificação A-D é baseada no tipo de seu grupo de substituição principal (em negrito).....                                                                                                                                                                                     | 81  |
| <b>Tabela 8</b> – Propriedades ópticas dos compostos <b>QL1-10</b> em diferentes solventes..                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 87  |
| <b>Tabela 9</b> – Coeficientes calculados ( $y_0$ , $C_{SP}$ , $C_{SdP}$ , $C_{SA}$ , and $C_{SB}$ ) <sup>a</sup> , coeficientes de correlação (R), e significância (F) para a análise de regressão multilinear das propriedades fotofísicas de <b>QL1-8</b> ( $v_{abs}$ , $v_{em}$ , and $\Delta v_{st}$ ) <sup>b</sup> , usando parâmetros de solvente de Catalán <sup>c</sup> ..... | 92  |
| <b>Tabela 10</b> – Máximos de absorção e emissão de <b>QL4-B</b> em diferentes soluções aquosas tamponadas.....                                                                                                                                                                                                                                                                        | 103 |
| <b>Tabela 11</b> – Valores de CIM (em $\mu\text{g/mL}$ ) dos compostos <b>QL1-10</b> contra diferentes cepas de bactérias e fungos. ....                                                                                                                                                                                                                                               | 104 |
| <b>Tabela 12</b> – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento ( $CI_{50}$ ) em $\mu\text{M}$ e seu intervalo de confiança (IC) dos compostos <b>QX4</b> e <b>QX6</b> nas linhagens K-562, H-1299, HL-60, HCT116 e MRC-6 .....                                                                                                                                               | 106 |
| <b>Tabela 13</b> – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> em THF ( $10^{-5}$ M) e no estado sólido. ( $\lambda_{exc} = \lambda_{max.abs}$ ) .....                                                                                                                                                                               | 110 |
| <b>Tabela 14</b> – Máximos de absorção e emissão de <b>DQ1</b> e <b>DQ3</b> em diferentes soluções aquosas tamponadas.....                                                                                                                                                                                                                                                             | 113 |

|                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 15</b> – Valores de CIM (em µg/mL) dos compostos <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> contra diferentes cepas de bactérias e fungos. ....                                                                                              | 113 |
| <b>Tabela 16</b> – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento (CI <sub>50</sub> ) em µM e seu intervalo de confiança (IC) dos compostos <b>DQ1</b> e <b>DQ2</b> nas linhagens K-562, H-1299, HL-60, HCT116 e MRC-6 ..... | 114 |
| <b>Tabela 17</b> – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos <b>PZ1-4</b> em misturas de THF/água (vol %, 10 <sup>-5</sup> M) .....                                                                     | 120 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                 |                                                                                                        |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\delta$        | Deslocamento químico                                                                                   |
| $\Delta V_{st}$ | Deslocamento de Stokes                                                                                 |
| $\epsilon$      | Coeficiente de absorvidade molar                                                                       |
| $\lambda_{abs}$ | Comprimento de onda de absorção                                                                        |
| $\lambda_{em}$  | Comprimento de onda de emissão                                                                         |
| $\Phi_F$        | Rendimento quântico de fluorescência                                                                   |
| AcOH            | Ácido acético                                                                                          |
| AIE             | Emissão induzida por agregação (do inglês, <i>Aggregation-Induced Emission</i> )                       |
| AcOEt           | Acetato de etila                                                                                       |
| ACQ             | Supressão causada por agregação (do inglês, <i>Aggregation-Caused Quenching</i> )                      |
| DCM             | Diclorometano                                                                                          |
| DLS             | Espalhamento dinâmico de luz (do inglês, <i>dynamic light scattering</i> )                             |
| DMF             | Dimetilformamida                                                                                       |
| DMSO            | Dimetilsulfóxido                                                                                       |
| DPA             | Difenilantraceno                                                                                       |
| ESIPT           | Transferência intramolecular de prótons no estado excitado                                             |
| $f_{gli}$       | Fração de glicerol                                                                                     |
| $f_{THF}$       | Fração de THF                                                                                          |
| $f_w$           | Fração de água                                                                                         |
| HOMO            | Orbital molecular ocupado de maior energia (do inglês, <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> )     |
| HRMS            | Espectrometria de massas de alta resolução                                                             |
| Hz              | Hertz                                                                                                  |
| IC              | Conversão interna (do inglês, <i>Internal Conversion</i> )                                             |
| ISC             | Cruzamento intersistemas (do inglês, <i>intersystem crossing</i> )                                     |
| ICT             | Transferência de carga intramolecular (do inglês, <i>Intramolecular Charge Transfer</i> )              |
| IV              | Infravermelho                                                                                          |
| J               | Constante de acoplamento                                                                               |
| LUMO            | Orbital molecular desocupado de menor energia (do inglês, <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> ) |
| MeOH            | Metanol                                                                                                |
| MW              | Micro-ondas                                                                                            |
| n               | Índice de refração                                                                                     |
| NRD             | Decaimento não-radiativo (do inglês, <i>non-radiative decay</i> )                                      |
| OFETs           | Transistores orgânicos de efeito de campo (do inglês, <i>Organic Field Effect Transistors</i> )        |
| OLEDs           | Diodos orgânicos emissores de luz (do inglês, <i>Organic Light Emitting Diodes</i> )                   |
| OLETs           | Transistores orgânicos emissores de luz (do inglês, <i>Light Emitting Transistors</i> )                |
| OLs             | Lasers orgânicos (do inglês, <i>Organic Lasers</i> )                                                   |

|                |                                                                                                           |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| OPDs           | Fotodetectores orgânicos (do inglês, <i>Organic Photodetectors</i> )                                      |
| OSCs           | Células solares orgânicas (do inglês, <i>Organic Solar Cells</i> )                                        |
| PDT            | Terapia fotodinâmica (do inglês, <i>Photodynamic Therapy</i> )                                            |
| PET            | Transferência de elétrons fotoinduzida                                                                    |
| pH             | Potencial hidrogeniônico                                                                                  |
| PSs            | Fotossensibilizadores                                                                                     |
| Pyr            | Íon piridínio                                                                                             |
| RIM            | Restrição dos movimentos intermoleculares                                                                 |
| RIR            | Restrição das rotações intramoleculares                                                                   |
| RIV            | Restrição das vibrações intramoleculares                                                                  |
| RMN            | Ressonância Magnética Nuclear                                                                             |
| S              | Singleto                                                                                                  |
| S <sub>0</sub> | Estado singleto fundamental                                                                               |
| S <sub>1</sub> | Primeiro estado singleto excitado                                                                         |
| S <sub>2</sub> | Segundo estado singleto excitado                                                                          |
| T <sub>1</sub> | Primeiro estado tripleto excitado                                                                         |
| TADF           | Fluorescência atrasada ativada termicamente (do inglês, <i>Thermally Activated Delayed Fluorescence</i> ) |
| TICT           | Transferência de carga intramolecular torcida                                                             |
| THF            | Tetrahidrofurano                                                                                          |
| TPA            | Trifenilamina                                                                                             |
| TPE            | Tetrafenileteno                                                                                           |
| TsOH           | Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico                                                                         |
| UV             | Ultravioleta                                                                                              |
| UV-vis         | Espectroscopia na região do ultravioleta e visível                                                        |
| VR             | Relaxamento vibracional                                                                                   |

## SUMÁRIO

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                                                            | 18  |
| <b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>                                                 | 19  |
| 2.1. Introdução à emissão de luz                                                | 19  |
| 2.2. Características estruturais de fluoróforos baseados em moléculas orgânicas | 25  |
| 2.3. Emissão induzida por agregação                                             | 27  |
| 2.4. Propriedades fotofísicas e biológicas de <i>N</i> -heterociclos            | 35  |
| 2.4.1. Quinoxalinas                                                             | 36  |
| 2.4.2. Quinolinas                                                               | 40  |
| 2.4.3. Di-hidroquinolinas                                                       | 42  |
| 2.4.4. Pirazinas                                                                | 43  |
| <b>3. OBJETIVOS</b>                                                             | 46  |
| 3.1. Objetivo geral                                                             | 46  |
| 3.2. Objetivos específicos                                                      | 46  |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>                                               | 48  |
| 4.1. Planejamento estrutural                                                    | 48  |
| 4.2. Quinoxalinas                                                               | 49  |
| 4.2.1. Síntese                                                                  | 49  |
| 4.2.2. Propriedades ópticas                                                     | 51  |
| 4.2.4. Estudo teórico                                                           | 73  |
| 4.2.5. Atividade biológica                                                      | 74  |
| 4.3. Quinolinas                                                                 | 80  |
| 4.3.1. Síntese                                                                  | 80  |
| 4.3.2. Propriedades ópticas                                                     | 82  |
| 4.3.3. Atividade biológica                                                      | 103 |
| 4.4. Di-hidroquinolinas                                                         | 107 |
| 4.4.1. Síntese                                                                  | 107 |
| 4.4.2. Propriedades ópticas                                                     | 109 |
| 4.4.3. Atividade biológica                                                      | 113 |
| 4.5. Pirazinas                                                                  | 114 |
| 4.5.1. Síntese                                                                  | 114 |
| 4.5.2. Propriedades ópticas                                                     | 116 |
| <b>5. CONCLUSÕES</b>                                                            | 122 |
| <b>6. SEÇÃO EXPERIMENTAL</b>                                                    | 123 |
| 6.1. Procedimentos gerais                                                       | 123 |
| 6.2. Sínteses                                                                   | 125 |

|        |                                                                            |     |
|--------|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.2.1. | <i>Quinoxalinas</i> .....                                                  | 125 |
| 6.2.2. | <i>Quinolinas</i> .....                                                    | 128 |
| 6.2.3. | <i>Di-hidroquinolinas</i> .....                                            | 133 |
| 6.2.4. | <i>Pirazinas</i> .....                                                     | 133 |
| 6.3.   | <b>Obtenção de sais</b> .....                                              | 135 |
| 6.4.   | <b>Preparação dos filmes</b> .....                                         | 135 |
| 6.5.   | <b>Preparação de soluções para análises das propriedades ópticas</b> ..... | 135 |
| 6.6.   | <b>Rendimento quântico relativo</b> .....                                  | 135 |
| 6.7.   | <b>Atividade biológica</b> .....                                           | 136 |
| 6.7.1. | <i>Atividade antimicrobiana</i> .....                                      | 136 |
| 6.7.2. | <i>Atividade anticâncer</i> .....                                          | 141 |
| 7.     | <b>REFERÊNCIAS</b> .....                                                   | 142 |

## 1. INTRODUÇÃO

Moléculas orgânicas fluorescentes vêm atraindo o interesse acadêmico e industrial há dezenas de anos por apresentarem diversas propriedades favoráveis, como excelente especificidade, boa sensibilidade, ampla faixa linear de análise e facilidade de manuseio, fatores que favorecem o uso desses materiais no âmbito da ciência biológica e da química utilizando esses compostos em solução.[1]

Muitos desses compostos tornam-se ainda mais atrativos quando agregam, além de propriedades fotofísicas interessantes, aplicações nos meios biológicos, como em imagem celular, [2,3] sistemas de liberação de medicamentos,[4] e podendo até mesmo serem usados no desenvolvimento de novos medicamentos quando apresentam algum tipo de atividade biológica, como atividade antimicrobiana,[5] atividade antioxidante,[6] anticâncer,[7] entre outras.

Nesse contexto, a busca por protocolos de síntese simples e eficientes se faz necessária. Para isso, é imprescindível adotar uma abordagem de design racional de moléculas, na qual sejam consideradas as propriedades requeridas em função das características estruturais das moléculas. Sendo assim, a síntese de moléculas pequenas surge como uma excelente estratégia para se obter materiais multifuncionais, facilmente sintetizáveis e com vantagens para aplicações nos meios biológicos como mínima perturbação nas funções nativas do alvo, alta sensibilidade e tempo de resposta rápido. [8,9]

Os compostos heterocíclicos desempenham um papel muito importante na química medicinal, onde muitos dos medicamentos disponíveis contêm anéis heterocíclicos. Além disso, a presença de heteroátomos em moléculas aromáticas leva a modificações eletrônicas que impactam nas propriedades fotofísicas das mesmas.

Dentre os compostos heterocíclicos, os *N*-heterociclos constituem uma classe de extrema importância na química orgânica e em especial na química medicinal por possuírem propriedades fisiológicas e farmacológicas, ganhando espaço na indústria farmacêutica, onde mais de 75% dos medicamentos aprovados pelo FDA e atualmente disponíveis no mercado contêm *N*-heterociclos em suas estruturas. [10]

Além disso, por possuírem características como poder aceitar ou doar prontamente um próton, atuar como doador ou receptor de elétrons dependendo dos substituintes em sistemas aromáticos, e poder facilmente estabelecer diversos tipos de interações intermoleculares, os *N*-heterociclos vêm sendo amplamente estudados e utilizados a partir de suas propriedades fotofísicas. [11]

Diante do exposto, o presente trabalho busca a obtenção, caracterização, estudos ópticos e de atividade biológica de novos materiais orgânicos derivados de *N*-heterociclos como quinoxalinas, quinolinas, di-hidroquinolinas e pirazinas, projetados racionalmente para apresentarem propriedades luminescentes interessantes de forma a serem candidatos para aplicações em meios fisiológicos, e que apresentem bioatividade.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

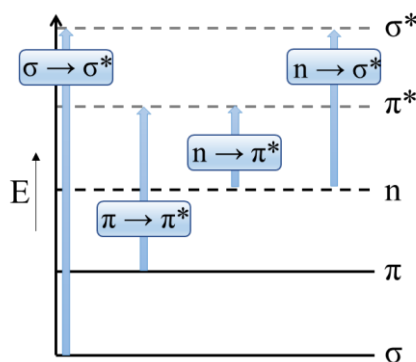
### 2.1. Introdução à emissão de luz

Uma molécula em seu estado fundamental, ou seja, estado de mais baixa energia, pode ser incidida por uma radiação eletromagnética que a faz passar para um estado excitado, de energia mais alta. A radiação absorvida pela molécula tem energia igual à diferença entre esses estados, ou seja, a fotoexcitação só ocorre em comprimentos de onda específicos e esse processo é chamado de transição eletrônica. Em situações experimentais e análise de dados, como por exemplo nas espectroscopias de absorção e de fluorescência, a transição eletrônica mais provável de acontecer é a que ocorre do orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO – do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) para o orbital molecular não ocupado de menor energia (LUMO – do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). [12,13]

Os orbitais  $\sigma$  (correspondente às ligações  $\sigma$ ) geralmente são os orbitais ocupados de menor energia, enquanto os orbitais  $\pi$  ficam em níveis um pouco mais altos de energia. Já os pares de elétrons isolados ( $n$ ) apresentam valores de energia ainda mais altos. Os orbitais que geralmente estão desocupados, também chamados de antiligantes ( $\pi^*$  e  $\sigma^*$ ) são aqueles de maior energia.[12] Assim, dependendo do tipo de orbital ( $\sigma$ ,  $\pi$  ou  $n$ ), será necessária uma energia diferente para que ocorra a fotoexcitação. Por exemplo, como o orbital  $\sigma$  tem menor energia, ou seja, os elétrons

são mais atraídos pelo núcleo, para que haja a transição do tipo  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  é necessária uma radiação de maior energia, ou seja, com menor comprimento de onda (entre 200 e 100 nm), que é o que ocorre com os hidrocarbonetos saturados.[13] As transições do tipo  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  são as mais estudadas, pois são as que geram propriedades fotofísicas de transição próximas ao comprimento de onda do visível, que são ainda mais interessantes quando apresentam a característica de transferência de carga, o que pode levar ao aumento do momento de dipolo da molécula quando a mesma está no estado excitado.[14]

**Figura 1** – Níveis de energia em orbitais moleculares e transições eletrônicas mais comuns.



Fonte: Adaptado da ref. [15]

A maioria das moléculas de uma amostra ocupa o estado vibracional de mais baixa energia à temperatura ambiente, mas ao ser excitada, podem alcançar qualquer subnível vibracional associado a um estado eletrônico resultando em diferentes energias absorvidas, que irão depender da estrutura da molécula.[14] O padrão de absorção do UV-Vis das moléculas é altamente dependente desses movimentos vibracionais e rotacionais que as moléculas sofrem em solução, uma vez que esses movimentos alteram de forma momentânea e discreta os níveis energéticos da molécula, o que pode fazer com que a energia esperada para uma transição sofra flutuações. Esse conjunto de movimentos vibracionais e rotacionais com os efeitos do solvente nos níveis energéticos da molécula faz com que os espectros de absorção no UV-Vis apresentem bandas largas ao invés de picos finos.[12]

Após a absorção de fótons e consequente excitação da molécula, esse estado excitado geralmente apresenta tempos de vida bastante curtos ( $\sim 10^{-15}$  s), havendo uma tendência dessa espécie de sofrer fenômenos de relaxação que a faça retornar para o estado fundamental. Esses fenômenos, que são as vias de relaxação (ou

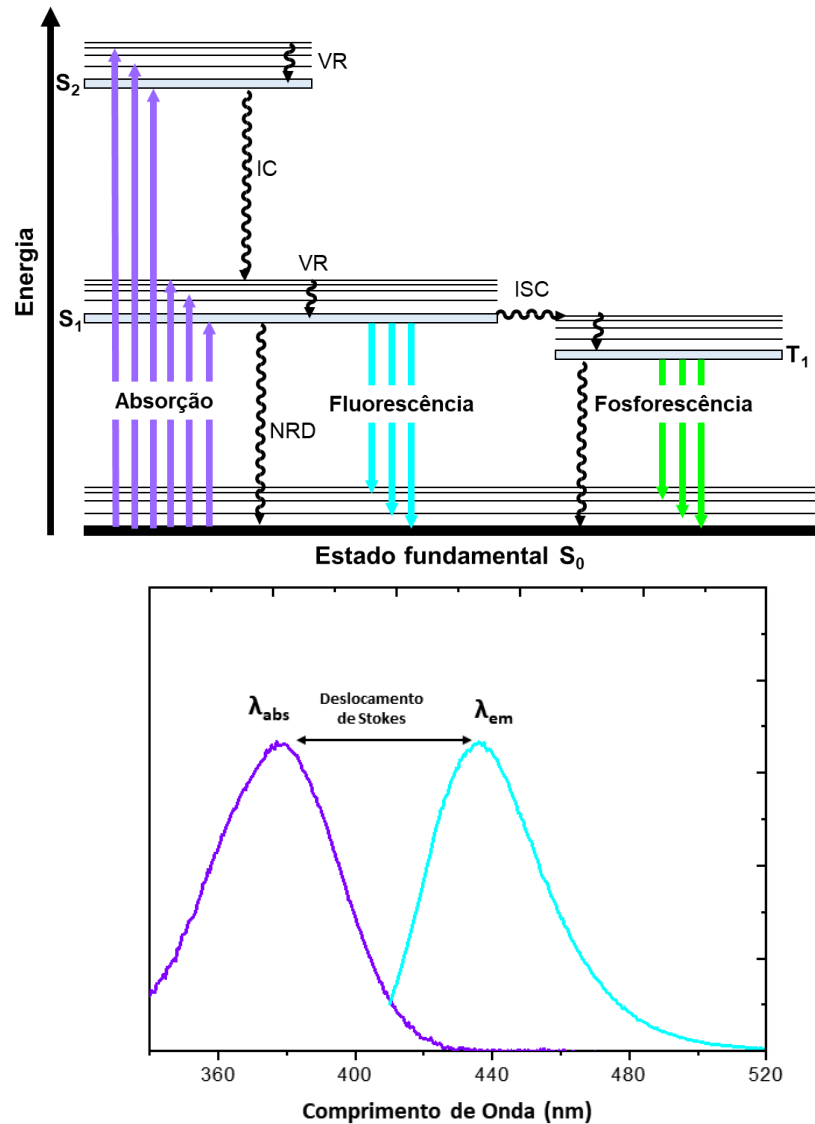
decaimento), são classificadas como radiativas ou não-radiativas. Nas radiativas, há envolvimento de emissão de fóton para o retorno ao estado fundamental, ou seja, átomos ou moléculas podem emitir luz quando os elétrons que estão no estado excitado decaem radiativamente para o estado fundamental.[12–14] Nas não-radiativas, a molécula excitada perde energia por outras vias, onde não há emissão de luz, como por exemplo na conversão interna e no cruzamento intersistemas, explicados adiante.

No Diagrama de Jablonski (Figura 2) são mostrados os processos que podem ocorrer relacionados à absorção e emissão de luz por uma molécula, tais como: absorção de fóton, conversão interna, fluorescência, cruzamento intersistema, fosforescência, transições do tipo tripleto-triplete, etc. Os estados do tipo singleto (S) são:  $S_0$  representando o estado fundamental e  $S_1$  e  $S_2$  os estados singletos excitados.

Para cada nível eletrônico existem os níveis vibracionais onde as moléculas podem estar, e quando as moléculas são excitadas para esses estados eletrônicos as mesmas rapidamente perdem qualquer excesso de energia vibracional e relaxam para o nível de mais baixa energia daquele estado eletrônico, e esse processo não radiativo é conhecido como relaxação vibracional (VR). Outra transição não radiativa é a conversão interna (IC), que ocorre entre dois estados eletrônicos de mesma multiplicidade de spins. Este processo é seguido por uma relaxação vibracional em direção ao nível vibracional mais baixo do estado eletrônico final, ou seja, após a molécula ser excitada para um nível de energia maior que o nível vibracional mais baixo do primeiro estado eletrônico, a relaxação vibracional (e conversão interna, se o estado excitado singleto for maior que  $S_1$ ) leva a molécula excitada para o nível vibracional 0 do estado singleto  $S_1$ . [13]

Após a absorção de luz em  $\lambda_{abs}$ , uma molécula atinge inicialmente um estado excitado singleto ( $S_1$ ,  $S_2$ , etc.). Normalmente, uma molécula excitada perderá rapidamente energia devido à reorganização do solvente em torno do dipolo induzido do estado excitado e relaxará para o primeiro estado excitado singleto ( $S_1$ ). A partir do estado  $S_1$ , uma molécula relaxa de volta ao estado fundamental ( $S_0$ ) e emite um fóton de comprimento de onda  $\lambda_{em}$  em um processo conhecido como fluorescência.

**Figura 2 – Diagrama de Jablonski**



| Processo                      | Transição                                  | Escala de tempo (segundos) |
|-------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------|
| Absorção                      | $S_0 \rightarrow S_1, S_2$                 | $10^{-15}$                 |
| Relaxamento Vibracional (VR)  | $S_2 \rightarrow S_2, S_1 \rightarrow S_1$ | $10^{-12} \sim 10^{-10}$   |
| Conversão Interna (IC)        | $S_1, S_2 \rightarrow S_0$                 | $10^{-14} \sim 10^{-10}$   |
| Fluorescência (ISC)           | $S_1 \rightarrow S_0$                      | $10^{-9} \sim 10^{-7}$     |
| Cruzamento Intersistemas      | $S_1 \rightarrow T_1$                      | $10^{-10} \sim 10^{-8}$    |
| Dcaimento Não-Radiativo (NRD) | $S_1 \rightarrow S_0$                      | $10^{-7} \sim 10^{-5}$     |
| Fosforescência                | $T_1 \rightarrow S_0$                      | $10^{-3} \sim 10^2$        |
| Dcaimento Não-Radiativo (NRD) | $T_1 \rightarrow S_0$                      | $10^{-3} \sim 10^2$        |

Fonte: Adaptado da ref. [13]

O cruzamento intersistema (ISC) é uma transição não radiativa entre dois níveis vibracionais isoenergéticos pertencentes a estados eletrônicos de diferentes multiplicidades. Já a fosforescência ocorre devido a transição  $T_1 \rightarrow S_0$ , que

normalmente é uma transição proibida, mas pode ser observada devido ao acoplamento spin-órbita. O tempo de vida do estado tripleto pode ser longo o suficiente para se observar a fosforescência em uma escala de tempo de até segundos, minutos ou mais. O espectro de fosforescência está localizado em comprimentos de onda maiores que o espectro de fluorescência, porque a energia do nível vibracional mais baixo do estado tripleto  $T_1$  é menor que a do estado singleto  $S_1$ . [13]

Dessa forma, temos que, visualmente, a principal diferença entre a emissão de luz por fluorescência ou fosforescência se dá pelo tempo de emissão após cessar a absorção, embora essa observação visual possa levar a engano, pois há casos onde a diferença de energia entre  $S_1$  e  $T_1$  é pequena e o tempo de vida em  $T_1$  é longo o suficiente para ocorrer um ICS reverso  $S_1 \leftarrow T_1$ , o que resulta em emissão de fluorescência, porém com tempo de decaimento bem maior, e esse processo é chamado de fluorescência retardada termicamente ativada (TADF, do inglês, *Thermally Activated Delayed Fluorescence*).

Em síntese, o processo de emissão de luz pode ser classificado, de uma forma geral, em fluorescência e fosforescência. A diferença marcante entre os processos é indicada pelo número quântico de spin: na fluorescência, ocorre a emissão de um fóton durante uma transição entre estados com mesmo número quântico de spin, enquanto, na fosforescência, a transição ocorre entre estados com números quânticos de spin diferentes. Como consequência, o processo de fluorescência possui um tempo de vida curto (cerca de  $10^{-8}$  a  $10^{-4}$  s), enquanto a fosforescência apresenta um tempo de vida mais longo ( $10^{-4}$  a  $10^2$  s), após a excitação. [16]

As características fotofísicas dos fluoróforos incluem o máximo de absorção ( $\lambda_{abs}$ ); o máximo de emissão ( $\lambda_{em}$ ); o coeficiente de absortividade molar ( $\epsilon$ ); e o rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_F$ ).

Apesar de as energias nas transições 0-0 geralmente serem as mesmas, o espectro de fluorescência é localizado em comprimentos de onda maiores do que o de absorção, pois há perda de energia no estado excitado por relaxação vibracional. Assim, sendo o comprimento de onda de emissão maior do que o de absorção, chama-se de deslocamento de Stokes essa diferença, dado em número de onda ( $\text{cm}^{-1}$

<sup>1</sup>), seguindo a Equação 1. [13] Onde o número de onda é o inverso do comprimento de onda ( $1/\lambda$ ).

$$\Delta\bar{\nu} = \bar{\nu}_a - \bar{\nu}_f$$

**(Equação 1)**

Onde  $\bar{\nu}_a$  e  $\bar{\nu}_f$  correspondem aos números de onda de absorção e de emissão de fluorescência, respectivamente.

O processo de fluorescência tem sua eficiência medida pelo rendimento quântico. Por definição, o rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_F$ ) expressa a proporção de moléculas excitadas que se desativam emitindo um fóton de fluorescência. Ou seja, é a razão entre o número de fótons emitidos e o número de fótons absorvidos por unidade de tempo, como mostrado na Equação 2.[17]

$$\Phi_F = \frac{n^\circ \text{ de fótons emitidos}}{n^\circ \text{ de fótons absorvidos}}$$

**(Equação 2)**

Para medir o rendimento quântico absoluto de uma amostra é necessário um equipamento específico, pois se trata de uma medida criteriosa onde é necessário saber com precisão a quantidade de luz excitante recebida pela amostra. Geralmente, essa medida é feita utilizando um espectrômetro de fluorescência com uma esfera integradora. No entanto, é possível obter o rendimento quântico relativo utilizando uma substância com rendimento quântico conhecido, um padrão de fluorescência. As substâncias mais usadas como padrão são: sulfato de quinina, fluoresceína, difenilantraceno (DPA), rhodamina B, entre outros. O padrão deve ser escolhido com base nos comprimentos de onda de absorção, excitação e emissão da amostra, que devem ser próximos aos do padrão. Assim, o rendimento quântico de uma amostra desconhecida é relacionado com a de um padrão pela Equação 3.[17]

$$\Phi_{F(amostra)} = \Phi_{F(padrão)} \cdot \frac{n_{(amostra)}^2}{n_{(padrão)}^2} \cdot \frac{\text{Área}_{(amostra)}}{\text{Área}_{(padrão)}} \cdot \frac{1 - 10^{-Abs_{(padrão)}}}{1 - 10^{-Abs_{(amostra)}}}$$

**(Equação 3)**

Onde  $\Phi_{F(padrão)}$  é o rendimento quântico de fluorescência do padrão utilizado;  $n_{(amostra)}^2$  e  $n_{(padrão)}^2$  correspondem aos índices de refração dos solventes utilizado

nas soluções da amostra e do padrão, respectivamente;  $\text{Área}_{(\text{amostra})}$  e  $\text{Área}_{(\text{padrão})}$  são os valores de integração da área do espectro de emissão da fluorescência da amostra e do padrão, respectivamente;  $\text{Abs}_{(\text{amostra})}$  e  $\text{Abs}_{(\text{padrão})}$  são os valores de absorbância da amostra e do padrão, respectivamente, no comprimento de onda de excitação.

## **2.2. Características estruturais de fluoróforos baseados em moléculas orgânicas**

As características de fluorescência das moléculas orgânicas dependem fortemente da natureza e das estruturas químicas dessas espécies emissoras. Uma vez que as transições eletrônicas que mais comumente resultam em emissão de luz são as que envolvem os orbitais  $\pi$ - $\pi^*$ , como visto no item anterior, é importante que a molécula seja altamente conjugada para que seja fluorescente. Por isso, embora alguns compostos alifáticos altamente insaturados possam emitir fluorescência, a maioria dos fluoróforos são moléculas aromáticas.[18]

De modo geral, um aumento na extensão do sistema de elétrons  $\pi$ , ou seja, o grau de conjugação, leva a uma mudança dos espectros de absorção e fluorescência para comprimentos de onda mais longos. Um exemplo disso é a série de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos composta por naftaleno, antraceno, tetraceno (naftaleno) e pentaceno, os quais possuem bandas de emissão em aproximadamente 310, 375, 470 e 585 nm, e emitindo fluorescência no ultravioleta, violeta, verde e vermelho, respectivamente.[13]

A presença de substituintes leva a modificações nos padrões de absorção, emissão e rendimento quântico das moléculas. Embora não se possa generalizar, é conhecido que normalmente grupos doadores de elétrons (como  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OR}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHR}$ ,  $-\text{NR}_2$ ) aumentam o coeficiente de absorção molar, levam a bandas de emissão mais amplas e não estruturadas, induzem um caráter de transferência de carga intramolecular (ICT) significativo e tornam as características de absorção e emissão dependentes do pH, podendo levar a aumento de fluorescência.[13]

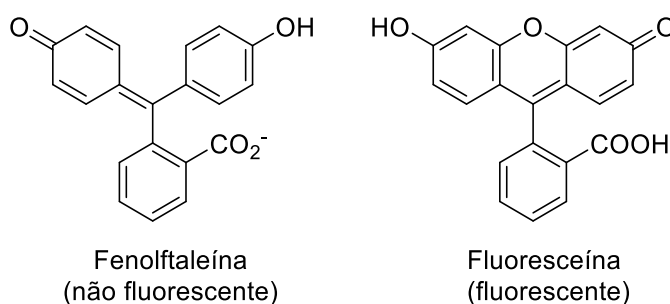
Por outro lado, grupos retiradores de elétrons (como carbonilas e  $-\text{NO}_2$ ) tendem a diminuir ou inibir completamente a emissão de fluorescência devido a banda de menor energia no estado excitado ser a  $n$ - $\pi^*$ , que tende a sofrer desativação não

radiativa por ISC. A presença de átomos pesados como bromo e iodo também causam esse efeito. Entretanto, compostos carbonílicos que possuem banda  $\pi$ - $\pi^*$  apresentam luminescência extremamente dependente da polaridade do solvente, com emissão intensa em solventes polares e fraca em solventes apolares. [13]

No caso de heterociclos, apesar de terem banda de mais baixa energia  $n$ - $\pi^*$  que leva à fraca emissão, a utilização de solventes polares e doadores de ligação de hidrogênio faz com que a transição de mais baixa energia se torne de caráter  $\pi$ - $\pi^*$ , aumentando o rendimento quântico de fluorescência desses compostos. Assim, as propriedades de fluorescência dos heterociclos são fortemente dependentes do solvente utilizado. [13]

Outro fator importante para a fluorescência é a rigidez molecular, pois leva à restrição da liberdade vibracional, minimizando significativamente os relaxamentos vibracionais, aumentando a fluorescência. Um exemplo clássico de fluorescência induzida pela rigidez do sistema é encontrado no par fenolftaleína-fluoresceína (Figura 3). Na fluoresceína, há a presença de uma ponte de oxigênio entre dois anéis, tornando-a altamente fluorescente.

**Figura 3** – Estruturas químicas da fenolftaleína e fluoresceína como exemplo de fluorescência induzida pela rigidez do sistema



Fonte: adaptado de [13]

Nesse contexto, para o design estrutural de moléculas pequenas fortemente emissivas, a chave é a presença de porções doadoras e aceitadoras de elétrons  $\pi$ , provocando um efeito “*push-pull*” cuja excitação envolva ICT. [19] Além disso, modulações nos substituintes podem ser pensadas para provocar melhora no rendimento quântico de fluorescência e até mesmo a solubilidade dos compostos em água, favorecendo as aplicações em meios biológicos. [20]

Os estudos de materiais fluorescentes em soluções têm fornecido grandes contribuições para a compreensão fundamental dos processos de luminescência a nível molecular. Contudo, as conclusões obtidas dos dados das soluções diluídas normalmente não podem ser estendidos para soluções concentradas, estado sólido ou estado agregado, pois nessas condições muitos luminóforos orgânicos apresentam comportamentos de emissão de luz muito diferentes das soluções diluídas.[21]

Sistemas fotorresponsivos que utilizam fluorescência como sinais de saída são um dos sistemas mais amplamente estudados por causa de seu método de detecção simples, resposta visível e oportuna, e alta sensibilidade. Nos estados agregado, sólido, ou soluções concentradas, entretanto, esses sistemas geralmente sofrem de enfraquecimento/extinção de fluorescência e fotodegradação devido ao fenômeno ACQ (supressão causada por agregação, do inglês, *aggregation-caused quenching*).[22]

Esse fenômeno ACQ é bastante comum, pois a maioria dos luminóforos orgânicos convencionais geralmente possuem núcleos aromáticos ou heteroaromáticos planares com boa mobilidade de carga, e uma vez que eles se agregam, as moléculas que estão localizadas nas imediações e os anéis aromáticos dos luminóforos adjacentes experimentam intensas interações intermoleculares de empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , [23] o que favorece o ACQ. [1,21] Assim, quando se quer obter materiais com eficiência de fluorescência em agregados ou em fase sólida é necessário fazer um planejamento estrutural molecular afim de se vencer o desafio do ACQ.

### **2.3. Emissão induzida por agregação**

O conceito de emissão induzida por agregação (AIE, do inglês, *aggregation-induced emission*) foi estabelecido em 2001 quando um grupo de pesquisadores observou que moléculas derivadas de pentafenilsilol com restrição de rotações intramoleculares apresentou comportamento oposto ao ACQ, não emitindo luz em solução, mas emitindo fortemente no estado agregado.[24]

Assim, o fenômeno AIE, por ser o oposto do ACQ, se tornou uma abordagem poderosa para quando o objetivo é a obtenção de materiais emissivos em estado sólido ou agregados, o que desde então gerou grandes esforços da comunidade

científica para decifrar seus mecanismos, visto que a compreensão profunda do mecanismo microscópico inerente à AIE pode abrir caminho para o design de novos AIEógenos e conseqüentemente para o desenvolvimento e exploração de suas aplicações tecnológicas em vários campos.[1,23,25]

Em compostos orgânicos que formam agregados, existem várias possibilidades de interações intermoleculares, tais como  $\pi$ - $\pi$ , cátion- $\pi$ , ânion- $\pi^+$ , dipolo-dipolo, íon-dipolo, ligação de hidrogênio, ligação de halogênio, ligação de  $\pi$ -halogênio, etc., e a natureza de tais forças varia de eletrostática, dispersão, troca (repulsão) a indução (polarização).[25] Essas interações podem alterar as estruturas geométricas e eletrônicas moleculares e afetar as vias de dissipação de energia do estado excitado, que é complicada e dependente do sistema.[26] Assim, compreender as interações intra e intermoleculares é de fundamental importância para a elucidação do fenômeno AIE.

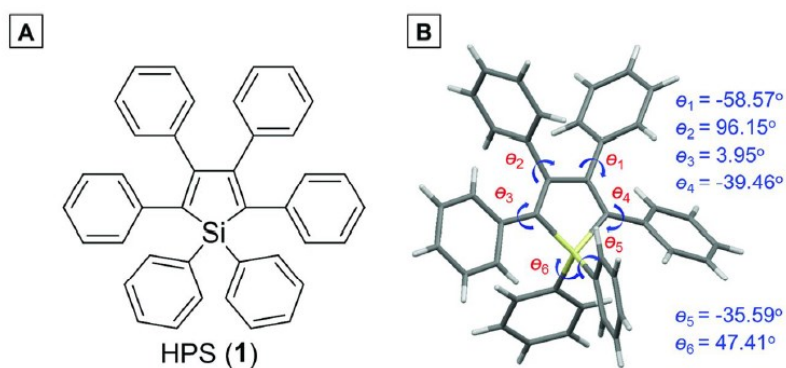
Nesse contexto, a formação de agregados do tipo J (empacotamento “cabeça-cauda”, diferente dos H-agregados que se empacotam “face a face”), no qual o momento dipolar de transição é aumentado devido à superposição quântica em fase, foi considerado como a principal causa para o aumento da luminescência de fase sólida por um longo período de tempo. No entanto, não pode explicar efetivamente os fenômenos da maioria dos luminógenos com AIE que foram sendo sintetizados, dos quais o acoplamento excitônico intermolecular é geralmente muito mais fraco do que o acoplamento intramolecular elétron-vibração. Assim, a fase quântica intermolecular plausível liderada pela agregação será prejudicada devido aos movimentos intramoleculares flexíveis nestes AIEógenos.[27]

A partir de então, uma variedade de explicações foram propostas como mecanismos de AIE para diferentes sistemas orgânicos, tais como: restrição da rotação intramolecular (RIR), [24,28] restrição de movimento intermolecular (RIM),[29] bloqueio de decaimento por canais não radiativos,[30] a restrição do processo de isomerização E/Z,[31] a transferência intramolecular de prótons no estado excitado,[32] o bloqueio do acesso ao estado escuro via isomerização,[33] acesso restrito à interseção cônica,[34] emissão induzida por acoplamento vibrônico Herzberg-Tell,[35] entre outros.

De um modo geral, os principais fenômenos/mecanismos de promoção de AIE consistem na minimização de perdas de energia não radiativa, que é consequência do enrijecimento da estrutura química que bloqueia vibrações ou torções intramoleculares responsáveis por ativar canais de relaxação não radiativos do estado excitado, fazendo da molécula uma espécie não emissiva.

A primeira proposta de mecanismo para controlar o decaimento não radiativo foi baseada no modelo de restrição de rotação intramolecular (RIR, do inglês *Restriction of the Intramolecular Rotation*),[36] onde uma série de derivados de silol não apresentaram emissão quando solubilizados em solventes comuns, mas ao adicionar solventes pobres, as moléculas de silol se agregaram e passaram ser emissores com rendimentos quânticos de fotoluminescência aumentados em até 2 ordens de magnitude, e essa emissão ainda foi aumentada quando foi aumentada a viscosidade e diminuída a temperatura das soluções, sugerindo assim que a emissão induzida por agregação é causada pelas rotações intramoleculares restritas dos anéis aromáticos periféricos sobre os eixos das ligações simples ligadas aos núcleos centrais do silol, como ilustrado na Figura 4. Com o RIR, o empilhamento  $\pi$ - $\pi$  é evitado, fazendo com que as moléculas decaiam por meio de canais radiativos.[29]

**Figura 4** – Hexafenilsilol (HPS) **1**, um dos compostos usados por Chen (2003): a) estrutura molecular b) conformações do monocristal evidenciando as rotações dos grupos fenil.

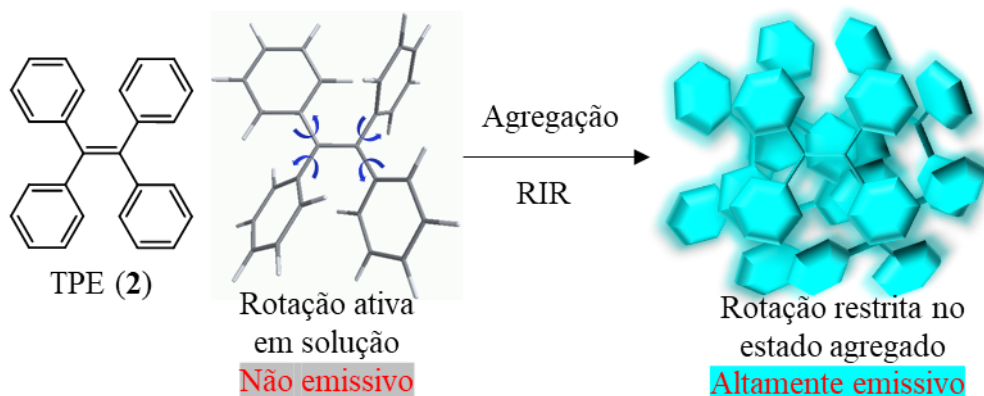


Fonte: Reproduzido da ref. [37] com permissão

Outro exemplo explicado pelo RIR é o tetrafenileteno (TPE, **2**).[38] No TPE, quatro anéis fenílicos estão ligados a uma haste de eteno central por meio de ligações simples (Figura 5). Os anéis de fenil têm grande liberdade para girar ou torcer contra o eixo de eteno. As moléculas isoladas de TPE em uma solução diluída podem sofrer rotações intramoleculares ativas, que servem como um canal de relaxamento

para os estados excitados decaírem não radiativamente para o estado fundamental. No estado agregado, no entanto, as rotações intramoleculares são restritas devido à restrição física envolvida causada pelo não-solvente, que bloqueia o canal de relaxamento sem radiação e abre a via de decaimento radiativo.

**Figura 5** – Tetrafenileteno (TPE) como um exemplo de AIE pelo RIR



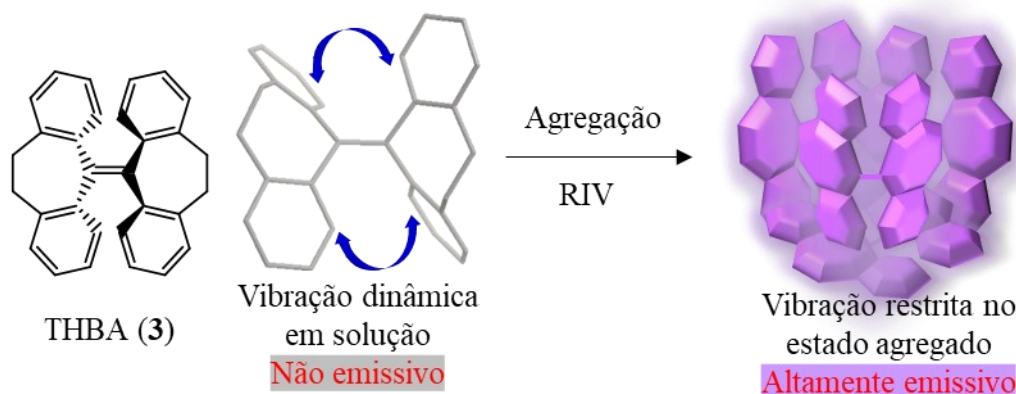
Fonte: Adaptado da ref. [38] com permissão

No caso específico do TPE, houve uma preocupação acerca da possibilidade de quebra da dupla ligação etilênica central pela irradiação UV, onde poderia gerar outro tipo de rotação após ser excitado, a rotação da ligação dupla aberta, o que causaria uma isomerização E/Z caso os anéis de TPE sejam substituídos por diferentes grupos. Dessa forma, outro mecanismo que explicasse AIE deveria ser a restrição dessa isomerização. No entanto, um estudo verificou a ocorrência de isomerização E/Z nas soluções diluídas de AIEógenos com núcleo de TPE por espectroscopia de RMN usando procedimentos experimentais elaborados e chegaram à conclusão de que o papel desempenhado pela isomerização é bem menor do que as rotações intramoleculares no processo de extinção de fluorescência.[37,39]

O modelo RIR foi capaz de explicar AIE observado em muitos sistemas moleculares. No entanto, novas moléculas com AIE e que não possuem rotores foram sintetizadas. Para esses sistemas, o efeito AIE não pode ser explicado apenas através do mecanismo RIR proposto e, portanto, outros parâmetros ou fatores precisam ser considerados.

No caso da molécula do 10,10',11,11'-tetrahydro-5,5'-bidibenzo[a,d][7]anulênideno (THBA, **3**), não há nenhum elemento rotatório, no entanto ela mostrou AIE.[23,29,40] Essa molécula pode ser vista como composta de duas partes flexíveis, em cada uma das quais dois anéis fenílicos são conectados de forma curvada em relação ao núcleo central. Estas duas partes são não coplanares entre si e a molécula inteira adota uma conformação *anti* (Figura 6). Essa flexibilidade permite que os anéis fenílicos do THBA se dobrem ou vibrem dinamicamente em solução, o que é uma via de relaxamento não radiativa. Após a formação de agregados, devido à restrição física associada à limitação de espaço, as vibrações intramoleculares tornam-se restritas. Como resultado, o caminho sem radiação é bloqueado e o canal de decaimento radiativo é aberto, o que torna o THBA emissivo no estado agregado. Dessa forma, tem-se que no estado agregado essa vibração é restrita, causando AIE por um outro tipo de mecanismo: RIV (do inglês, *Restriction of the Intramolecular Vibrations*).

**Figura 6** – THBA, um AIEógeno via RIV com formato de concha



Fonte: Adaptado da ref. [38] com permissão

Após a compreensão dos mecanismos RIR e RIV, Mei e colaboradores[38] concluíram em 2014 que com base nos dados experimentais e simulações teóricas relatadas na literatura, a RIR e a RIV são as principais causas para os fenômenos de AIE observados nos sistemas luminogênicos em forma de hélice e em forma de concha, respectivamente. Por isso, resolveu juntar os dois mecanismos em um: a restrição de movimentos intramoleculares (RIM, do inglês, *Restriction of the Intramolecular Motions*), que dessa forma representaria mecanisticamente todos os sistemas AIE desenvolvidos até aquele momento.

A partir de então o mecanismo RIM tem sido amplamente aceito como o mecanismo de AIE e pode ser simplesmente descrito da seguinte forma: em solução ou no estado monodisperso, o movimento intramolecular ativo (incluindo rotação e vibração) aumenta os canais de decaimento não radiativos para extinguir a emissão, enquanto no estado agregado, os canais de decaimento não radiativos são bloqueados devido à restrição do movimento intramolecular, levando a emissão aprimorada. Seguindo o mecanismo RIM, qualquer manipulação que possa restringir o movimento intramolecular de AIEógenos teoricamente pode levar a uma emissão mais forte.[41]

Vale salientar que o efeito AIE se dá quando um composto não emissivo se torna emissivo após a agregação, mas quando o composto já é emissivo e a agregação induz a um aumento na emissão de luz, o efeito é denominado AIEE (aumento da emissão induzido por agregação, do inglês *Aggregation-Induced Enhanced Emission*).[23] Entretanto, em muitos casos, apenas o termo AIE é utilizado para representar os dois efeitos.

Uma grande variedade de AIEógenos heteroaromáticos vem sendo explorada e desenvolvida em novos materiais inteligentes pelo fato de serem suscetíveis a estímulos externos, como força mecânica, mudança de temperatura, variação de pH, vapor tóxico e irradiação fotônica.[23]

Em princípio, os materiais com AIE podem ser usados sempre que um processo RIM estiver envolvido. Dessa forma, nas duas últimas décadas, os materiais com AIE encontraram uma grande variedade de aplicações de alta tecnologia, tais como sensores químicos,[42,43] dispositivos eletro-ópticos,[44,45] aplicações biomédicas,[46–49] e farmacológicas.[2] Exemplificaremos aqui alguns AIEógenos com aplicações conhecidas.

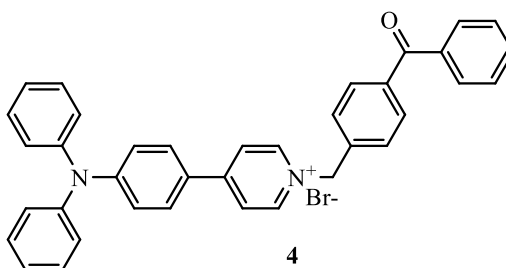
Como sensores químicos, os AIEógenos apresentam vantagens exclusivas a serem aplicadas com base em princípios de detecção, tais como: (A) auto-montagem com analitos para formar agregados altamente emissivos através de várias interações não covalentes, incluindo eletrostática, ligações de hidrogênio, Van der Waals e interações metal-ligante; (B) conjugação de AIEógenos com ligantes de direcionamento para reconhecer analitos e ativar a fluorescência por RIM; (C) reação com enzimas ou espécies químicas específicas para clivar ligantes promotores de

dissolução e diminuir a solubilidade para formar agregados; (D) interrupção dos processos de extinção fotofísica, tais como transferência de elétrons fotoinduzida (PET), transferência de carga intramolecular (ICT) e processos de transferência de energia. Esses diferentes princípios de detecção também podem ser integrados sinergicamente em um único sensor.[50]

Nesse contexto, diversos tipos sensores químicos já vêm sendo desenvolvidos para aplicações em detecção de íons, detecção de pH, detecção de gás, detecção de explosivos, detecção de peróxido, detecção de espécies perigosas, visualização de impressões digitais, reconhecimento quiral, avaliação de viscosidade, sondagem de conformação, monitoramento de automontagem e visualização de morfologia.[23]

Um exemplo de AIEógeno heteroaromático com propriedade mecanocrômica ultrasensível foi obtido.[51] O composto apresenta um doador de elétrons com estrutura torcida, a trifetilamina (TEA) e um forte aceitador de elétrons, o íon piridínio (Pyr), com isso, o material mostra uma elevada interação D-A de elétrons e comportamento de ICT. Além disso, foi adicionada uma unidade de benzofenona (BP), que já era conhecida como sensibilizador em estudos fotoquímicos por apresentar boa absorção de luz UV e bom rendimento quântico. Assim, a junção das unidades TEA-Pyr-BP resultou em um AIEógeno com diferentes cores de emissão variando com a forma (verde, amarelo e laranja, para forma de cristais, amorfa e solução, respectivamente), tendo assim os estados de agregação podendo ser controlados por estímulos externos de moagem, contato com vapor de solvente, cristalização e por ultrassom, o que favorece que o **TEA-Pyr-BP** seja usado como um corante mecanoluminescente. Por apresentar as características citadas, o material (**4**, Figura 7) foi empregado com sucesso nas áreas de detecção de pressão, detecção de danos na superfície de materiais sólidos, registro de informações de impressões digitais e materiais regraváveis.

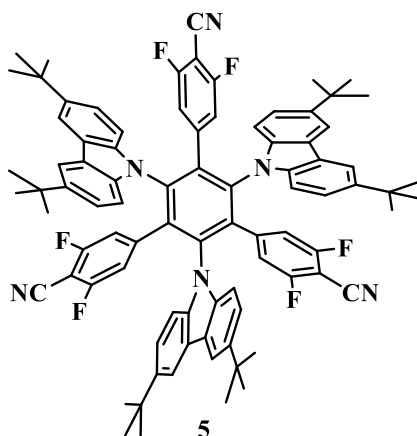
**Figura 7** – Estrutura do AIEógeno TEA-Pyr-BP [51]



Fonte: Reproduzido da ref. [51]

Um exemplo interessante de OLED foi fabricado empregando um AIEógeno com TADF, o composto **5** (Figura 8), emitindo luz azul-celeste com alto rendimento quântico de fotoluminescência ( $\sim 0,76$ ), alto brilho acima de  $5200 \text{ cdm}^{-2}$  e eficiência quântica externa de até 21,0% (o que representa a eficiência recorde de eletroluminescência entre os dispositivos azul ou azul-celeste não dopados baseados em processo de solução).[52] E esses resultados foram alcançados graças ao design estrutural apresentando ICT tanto espacial (por causa da estrutura altamente torcida) quanto por ligação (molécula contendo três unidades como doadoras e três aceitadoras) nas quais di-*tert*-butilcarbazol, benzeno e difluorocianobenzeno atuam como doadores de elétrons, uma ponte  $\pi$  e um aceitador de elétrons, respectivamente.

**Figura 8** – Estrutura de AIEógeno com TADF empregado como OLED



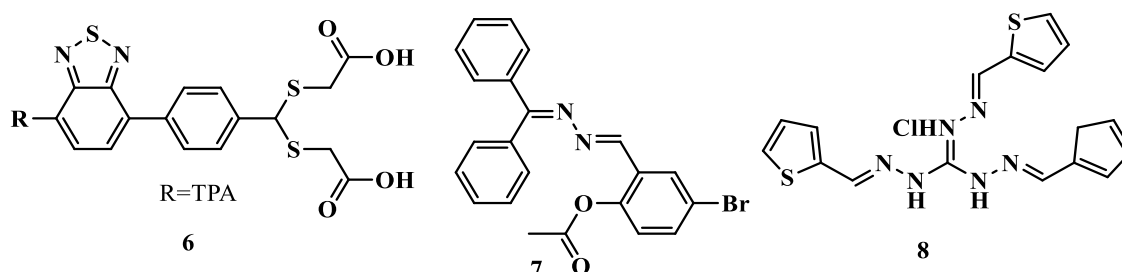
Fonte: Reproduzido da ref. [52]

No contexto das aplicações biomédicas, O conceito de AIE abriu novas oportunidades em muitos campos de pesquisa. Motivados pelas características únicas dos fluorógenos AIE, durante as duas últimas décadas, muitas sondas moleculares e sondas de nanopartículas foram desenvolvidas para detecção, imagem e aplicações teranósticas por meio de imagens de fluorescência, imagem fotoacústica e terapia fotodinâmica/fototérmica guiada por imagem, com excelente desempenho superando as sondas fluorescentes convencionais.[46]

Um exemplo de sonda fluorescente é o TBTS **6** (molécula contendo TPA, benzotiadiazol e ditioacetal, mostrado na Figura 9), que é uma sonda emissora no vermelho, usada na detecção de íons  $\text{Hg}^{2+}$  em células vivas, que ao reagir com o mercúrio, sofre hidrólise da unidade ditioacetal formando o grupo aldeído, que torna a

molécula emissora.[53] Outra sonda fluorescente desenvolvida foi com base em difenilmetano, hidrazina e metanoato de fenila **7**, uma azina, para detecção da enzima lipase como forma de se ter melhor sensibilidade e especificidade no diagnóstico de pancreatite aguda. O grupo éster sofre hidrólise pela PPL (lipase pancreática suína) e então passa a emitir fluorescência por meio do mecanismo de AIE e ESIPT (transferência intramolecular de prótons de estado excitado).[54] TAT, uma base de Schiff baseada em tiofeno integrado com triaminoguanidina **8** foi usada como sonda fluorescente para reconhecimento sensível e quantitativa de câncer de próstata, onde átomos de nitrogênio e enxofre coordenam com  $\text{Zn}^{2+}$  como o passo inicial e quelam com citrato no passo seguinte, e a formação do complexo TAT- $\text{Zn}^{2+}$  induziu a uma fluorescência dependente da concentração de  $\text{Zn}^{2+}$  desviada para o vermelho a 507 nm, enquanto a quelação de TAT- $\text{Zn}^{2+}$  com citrato levou a uma banda de emissão em 692 nm via mecanismo AIE.[55]

**Figura 9** – Exemplos de moléculas empregadas como sondas biológicas



Fonte: Elaboração própria

## 2.4. Propriedades fotofísicas e biológicas de N-heterociclos

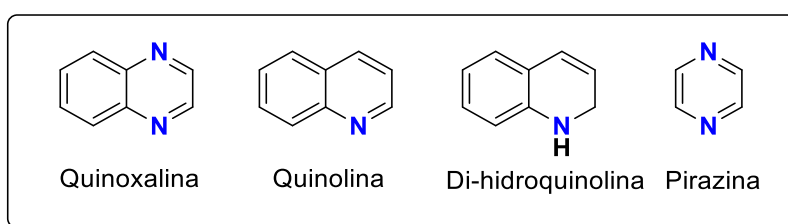
Compostos orgânicos heterociclos contendo nitrogênio formam uma classe única de grande importância nos ramos de aplicações da química orgânica, com uma quantidade significativa de pesquisa dedicada ao desenvolvimento de novas moléculas para diversos fins. Muitos compostos N-heterocíclicos são amplamente distribuídos na natureza, possuem propriedades fisiológicas e farmacológicas e são constituintes de muitas moléculas biologicamente importantes, incluindo muitas vitaminas, ácidos nucleicos, produtos farmacêuticos, antibióticos, corantes e agroquímicos, entre muitos outros.[56]

Graças as suas características estruturais que lhe conferem possibilidades de doação ou recepção de prótons e contribuição em interações intra e intermoleculares, esses compostos apresentam propriedades fotofísicas interessantes que podem ser utilizadas em diversas aplicações, como por exemplo em quimiossensores, exibindo mudanças visíveis de cor e/ou aumento/extinção de fluorescência com alta sensibilidade, seletividade e capacidade de detecção. [11]

Os *N*-heterociclos vêm sendo amplamente aplicados no campo da química medicinal devido ao fato de que os medicamentos contendo essas moléculas apresentam vantagens como fácil preparação, baixa toxicidade, menos efeitos adversos, alta biodisponibilidade, menor resistência aos medicamentos, boa biocompatibilidade, etc., e possuem propriedades biológicas altamente promissoras, como anticâncer, anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antituberculose, antidiabética, antioxidante, anti-HIV e outras propriedades medicinais. [57]

Nesse contexto, serão apresentados a seguir os *N*-heterociclos que serão alvo de estudo no presente trabalho, a saber: quinoxalinas, quinolinas, di-hidroquinolinas e pirazinas (Figura 10), bem como um breve relato de suas propriedades ópticas e biológicas já relatadas na literatura.

**Figura 10** – Núcleos *N*-heterocíclicos alvos deste trabalho



Fonte: Elaboração própria

#### 2.4.1. Quinoxalinas

Dentre os diversos tipos de *N*-heterociclos, moléculas contendo unidades de quinoxalina têm se mostrado interessantes como ponto de partida, inclusive, para esses materiais que apresentem AIE, uma vez que possui forte luminescência que é facilmente modulada pela natureza diferente dos substituintes, considerada um centro aceitador de elétrons em sistemas do tipo *push-pull* e em complexos de ICT, além da

possibilidade de formar estruturas globulares onde há bastante impedimento de rotação das ligações – requisito do mecanismo RIM – especialmente de substituintes volumosos nas posições 2 e 3.[58] Além disso, alta polaridade deste centro se expressa por mudanças solvatocrômicas pronunciadas em sua banda de banda de emissão, ampliando suas aplicações.[59]

Alguns exemplos de destaque da literatura de moléculas luminescentes eficientes em contendo quinoxalina para as mais variadas aplicações são mostradas na Figura 11. Os compostos **9a-c** são exemplos de derivados de 1,2,5-tiadiazolquinoxalina como sítio aceitador de elétrons e fenotiazina como doadora de elétrons que foi com sucesso empregado como fluoróforo de AIE em técnica de imagem biológica, com grande potencial para emprego em detecção tumoral por imagem *in vivo*. [60]

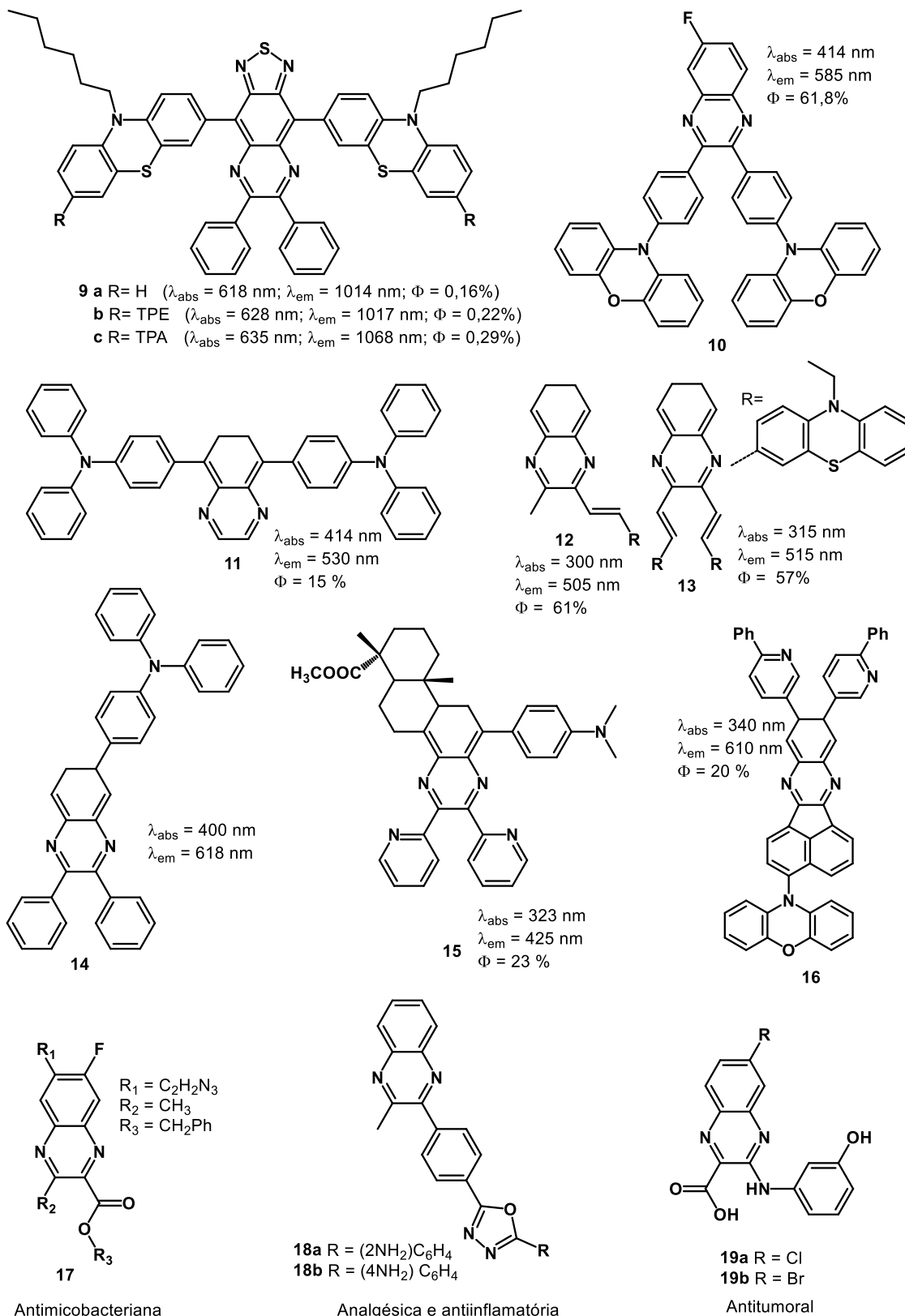
O composto **10** é um derivado de quinoxalina contendo fenoxazina e flúor. Este é um ótimo exemplo de integração de características de AIE com TADF para emprego em OLEDs de alta performance.[61] Outro AIEógeno relatado foi projetado usando quinoxalina como grupo retirador de elétrons e TPA como unidade doadora de elétrons, o TQT (**11**) com estrutura D-A-D, que apresentou polimorfismo, mecanoluminescência e características eletroluminescentes.[62]

Os compostos **12**, **13** e **14** apresentaram as mesmas propriedades que **11**, porém a unidade doadora de elétrons em **12** e **13** foi a fenotiazina,[63] e em **14** foi TPA,[64] sendo a porção quinoxalina a retiradora de elétrons, promovendo a ICT em ambos. O composto **15** é um AIEógeno altamente sensível como uma sonda para detecção de  $Hg^{2+}$  contendo a fração quinoxalina que foi projetada com base no ácido diterpeno desidroabiético.[65] Por fim, **16** é um AIEógeno que contém fenoxazina como doador e apresentou TADF com emissão no vermelho e ótimo rendimento quântico.[66]

Em relação à atividade biológica, temos como exemplo o composto **17**, que exibiu excelente atividade antimicobacteriana em um modelo de macrófago infectado por *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb.*), sendo capaz de perturbar a integridade da membrana e perturbar a homeostase energética em *M.tb.* [67]. Os compostos **18a** e **18b** foram relatados como potentes agentes analgésicos e antiinflamatórios, tendo sido testados em animais com resultados encorajadores. [68] Já os compostos **19a** e **19b** apresentaram forte inibição de Pim-1 e Pim-2 quinases e também foram avaliados quanto à inibição do crescimento celular usando linhagens de células humanas de

leucemia mieloide aguda e câncer colorretal, onde exibiram atividade antitumoral promissora. [69] Para além desses exemplos, muitas outras quinoxalinas já foram relatadas com atividades antimicrobiana, antitubercular, antiviral, antifúngica, antiprotozoário, antiparasitária, entre outras. [70,71]

**Figura 11** – Exemplos de quinoxalinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas



Fonte: Elaboração própria

#### 2.4.2. Quinolinas

Outro heterociclo interessante é o núcleo quinolina, que tem sido utilizado na obtenção de fluoróforos graças à amplitude de cores nos espectros de emissão e à sintonização dessas cores variando os padrões de substituição e alongamento do sistema conjugado aromático.[72–75] As quinolinas podem ser obtidas, dentre outros métodos, pelas reações de Pfitzinger [76] e Knoevenagel. [77] Esse núcleo apresenta propriedades de doação de elétrons, grande seletividade, alto rendimento quântico, solubilidade em água, propriedades espectrais interessantes com altos valores de deslocamento de Stokes, além de toxicidade tolerável em bioimagem,[78] o que tem favorecido o uso desses fluoróforos para aplicações biológicas. [79,80]

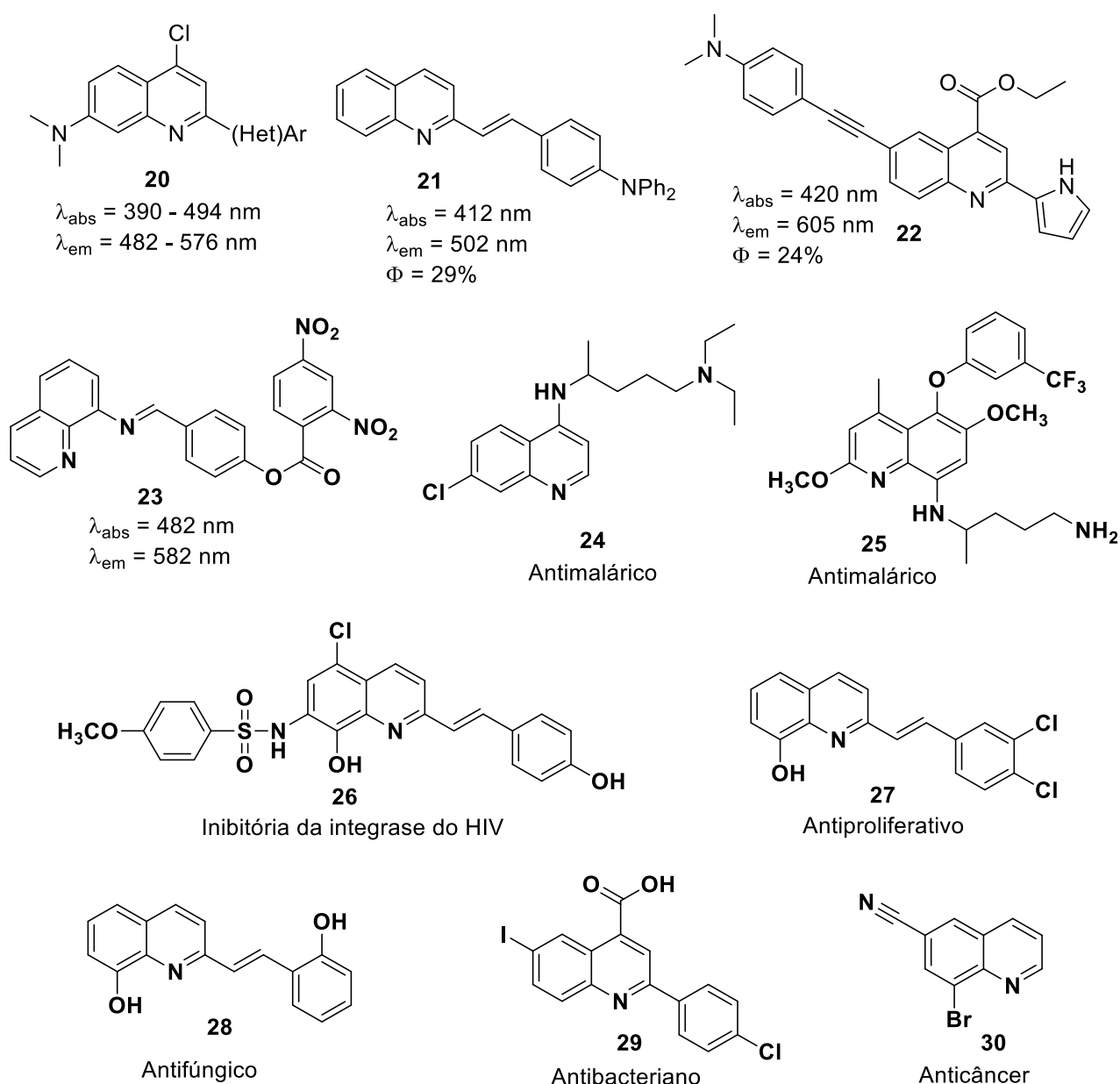
Recentemente, Z. Guo e colaboradores [81] descreveram o núcleo de quinolina-malonitrila como blocos de construção bem-sucedidos para o projeto de novos compostos luminescentes com emissão aprimorada quando ocorre agregação de moléculas (AIE).[21] Apesar das interessantes propriedades fotofísicas das quinolinas, este heterociclo é pouco explorado como sonda fluorescente devido aos desafios sintéticos envolvidos. Para resolver este problema, Jun *et. al.* [82] relataram um projeto racional de estruturas ajustáveis de núcleos baseados em quinolina (representados por **20**) para imagens de células vivas, embora a síntese exigisse  $\text{POCl}_3$  severo e caro acoplamento de Pd.

Dentre vários outros exemplos, o composto **21** além apresentar solvatocromismo, tem resposta sensível à adição de ácido [73]; o composto **22** exibiu forte solvatocromismo, sensibilidade à voltagem e ainda foi capaz de penetrar nas membranas celulares de células neurais de camundongo e marcou principalmente o citosol e a organela com uma fluorescência verde brilhante [74]; **23** foi aplicado como sonda altamente sensível para detecção de hidrazina por processos de ICT e AIE e foi usado no monitoramento da liberação *in situ* de hidrazina como um metabólito de um medicamento em células HeLa vivas [78].

As quinolinas constituem uma importante classe de heterociclos conhecidas na literatura por apresentarem diferentes tipos de atividades biológicas e farmacológicas. Assim, além de estar presente em diversos produtos naturais, já foram estabelecidos diversos protocolos de síntese deste anel com o objetivo de obtenção de novos medicamentos, tais como a cloroquina (**24**) e a tafenoquina (**25**). [83–86]

Moléculas quinolínicas com conjugação  $\pi$  estendida pelo grupo estiril têm uma conformação plana e rígida, e podem interagir com a membrana celular durante o transporte passivo devido à sua estrutura e natureza lipofílica, como é o caso do composto **26**, uma estirilquinolina que inibe a integrase do HIV [87]. Outro exemplo é o composto **27**, que tem um efeito antiproliferativo independente do p53.[88] Outras quinolinas bioativas são os compostos **28** com forte atividade antifúngica contra *Candida albicans*, [89] **29** foi antibacteriano contra *S. aureus* [90] e **30** apresentou atividade anticâncer. [91]

**Figura 12** - Exemplos de quinolinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas



Fonte: Elaboração própria

### 2.4.3. Di-hidroquinolinas

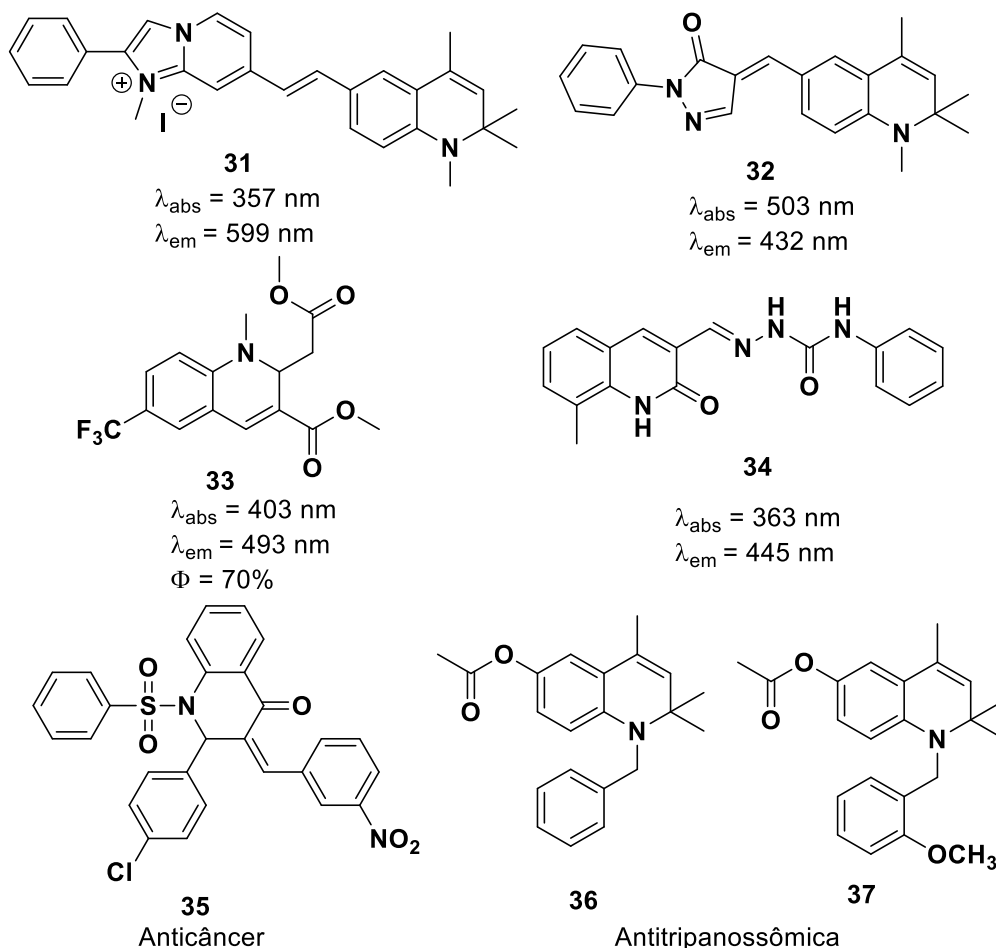
As dihidroquinolinas são compostos com o núcleo quinolínico porém com a diferença de que a estrutura não é completamente conjugada, podendo o nitrogênio quinolínico ser hidrogenado ou substituído. Como há menos conjugação, para que essas moléculas tenham propriedades luminescentes, é necessário racionalizar estruturas com aumento da porção aromática e grupos doadores e retiradores de elétrons, o que atualmente ainda é bem escasso na literatura. Ainda assim, alguns exemplos de fluoróforos contendo o centro di-hidroquinolina serão mostrados a seguir.

Vijay e colaboradores relataram quimiossensores para detecção de íons  $\text{Fe}^{3+}$ , o composto **31**, [92] e para detecção de hidrato de hidrazina em meio aquoso e hidrazina gasosa, o composto **32**, [93] ambos altamente sensíveis com mudanças de cor observáveis “a olho nu” devido às alterações nos espectros de absorção como também através de espectroscopia de fluorescência.

O composto **33** apresenta solvatocromismo com deslocamento batocrômico com o aumento da polaridade do solvente, e quando os grupos ésteres são hidrolizados a ácidos carboxílicos, o produto é emissivo tanto na fase sólida quanto em água sem a presença de nenhum co-solvente com variação na emissão dependente do pH. [94] O composto **34** foi utilizado como sonda fluorescente para a detecção seletiva de ácido aspártico em solução aquosa, células vivas *in vitro* de câncer de mama humano e *in vivo* de *C. elegans*. [95]

Já em relação a propriedades biológicas, assim como as quinolinas aromáticas, as diidroquinolinas são bastante promissoras, porém a maioria das diidroquinolinas com atividade biológica relatadas na literatura são as conhecidas como quinolonas ou quinolinonas, que são diidroquinolinas contendo uma carbonila ligada ao heterociclo, como o composto **35**, que apresentou grande potencial anticâncer. [96] Dentre os poucos exemplos de diidroquinolinas sem a presença de carbonila no heterociclo, destacam-se os compostos **36** e **37** que apresentaram atividade antitripanossômica.[97,98]

**Figura 13** - Exemplos de di-hidroquinolinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas



Fonte: Elaboração própria

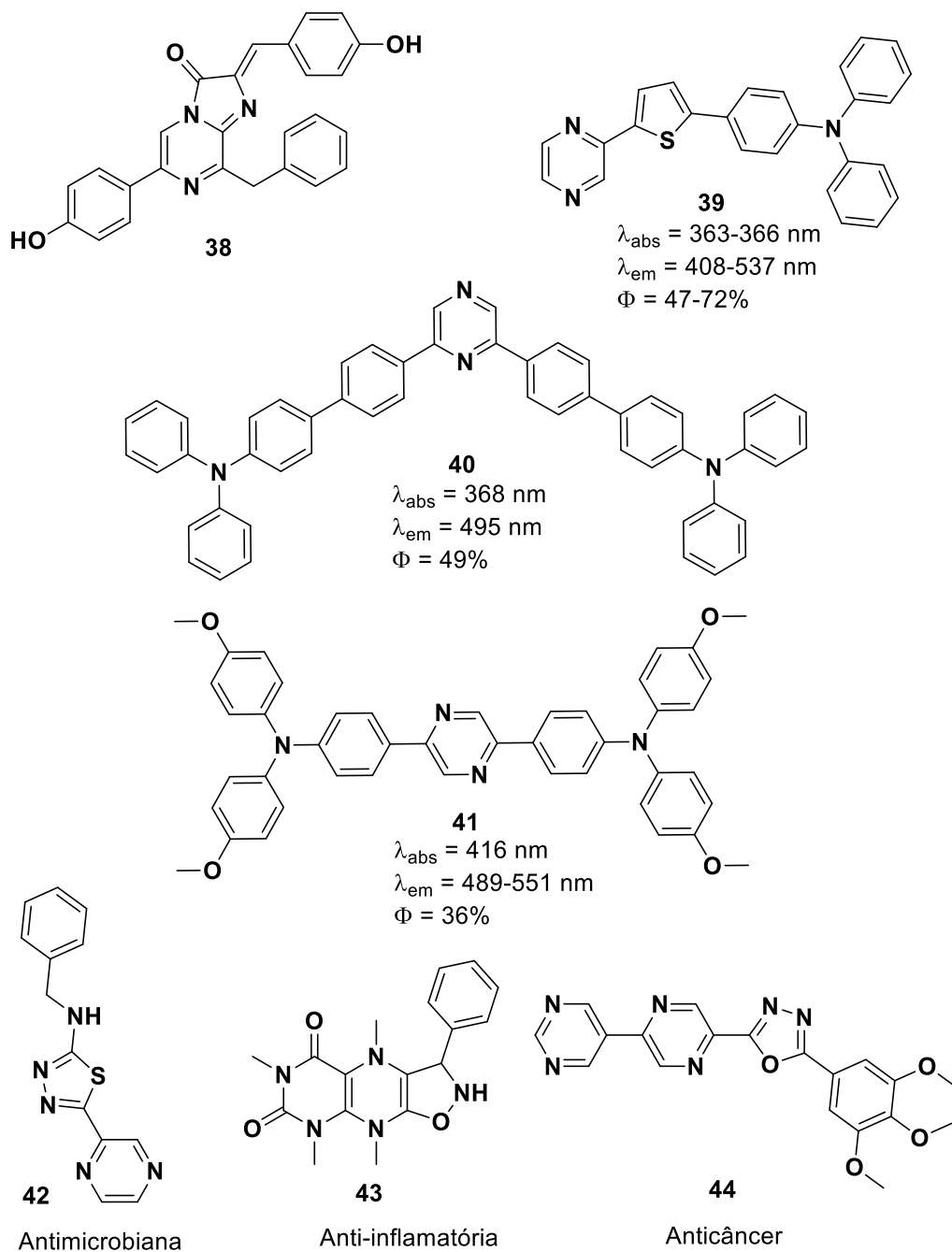
#### 2.4.4. Pirazinas

As pirazinas estão entre os compostos heterocíclicos mais amplamente conhecidos, que podem ser isolados de fontes naturais ou produzidos sinteticamente, tendo como principal método as reações de condensação de  $\alpha$ -dicetonas com diaminas vicinais, assim como as quinoxalinas.[99] Muitas pirazinas substituídas são produzidas naturalmente e são amplamente distribuídas em plantas, animais, incluindo organismos marinhos, como por exemplo a desidrocelenterazina (**38**) que é responsável pela bioluminescência da lula vaga-lume (*Watasenia scintillans*). [100] Além disso, esses compostos heterocíclicos têm tido grande importância nos ramos de perfumarias, indústrias alimentícias e farmacêuticas. [101]

O núcleo da pirazina, assim como o da quinoxalina, possui forte caráter de deficiência de elétrons e é comumente conectada com extensões de conjugação  $\pi$  em sistemas *push-pull* favorecendo a ICT e modulando suas propriedades ópticas. É o caso do composto **39**, que possuindo TPA como grupo doador de elétrons, foi altamente emissivo e foi usado como sensor para detecção de vários nitroexplosivos, amônia e diferentes aminas alifáticas.[102] **40** também apresentou propriedades fotofísicas muito interessantes incluindo solvatocromismo, com deslocamento batocrômico muito pronunciado com o aumento da polaridade do solvente (de 408 a 537 nm, de hexano para DMF), acidocromismo na presença de ácido trifluoroacético (TFA), e ainda comportamento de AIE responsável pela emissão em fase sólida. [103]

Moléculas contendo o núcleo pirazina também já foram utilizadas em bioimagem, como o composto **41**, uma sonda fluorescente que se liga seletivamente à proteína transportadora de membrana de células HeLa vivas em imagens de citoplasma. [104] Além disso, as pirazinas são conhecidas por apresentarem diversos tipos de atividades biológicas, como antimicrobiana (**42**, [105]), anti-inflamatória (**43**, [106]), anticâncer (**44**, [107]), entre outras. [108]

**Figura 14** – Exemplos de pirazinas com propriedades luminescentes e/ou biológicas



Fonte: Elaboração própria

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Planejar, desenvolver e avaliar metodologias de síntese adequadas para obtenção de materiais orgânicos moleculares com funcionalidades desejáveis tais quais relacionadas às propriedades luminescentes e atividades biológicas desses materiais.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Sintetizar compostos derivados de quinoxalina, quinolina, di-hidroquinolina e pirazina contendo características estruturais que possibilitem propriedades luminescentes e atividade biológica;
- Realizar a completa caracterização estrutural dos compostos obtidos utilizando as técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , de absorção na região do infravermelho (IV), e espectrometria de massas;
- Avaliar as propriedades ópticas dos compostos em solução e, quando possível, em fase sólida utilizando as espectroscopias de UV-vis e fluorescência determinando-se os seus respectivos perfis de absorção e emissão;
- Estudar perfis solvatocrômicos a partir da caracterização fotofísica de soluções diluídas dos compostos em diferentes solventes orgânicos;
- Analisar as propriedades luminescentes por AIE ou AIEE utilizando misturas de THF/água com aumento gradativo na porcentagem em volume de água a fim de aumentar a agregação das moléculas em soluções diluídas;
- Verificar a influência da viscosidade no efeito de AIE utilizando misturas de DMSO/glicerol com aumento gradativo na porcentagem de glicerol;
- Obter sais de ácidos carboxílicos sintetizados e analisar suas propriedades fotofísicas e de AIE, comparando com o comportamento das moléculas contendo o grupo ácido;
- Identificar a formação de ligação de hidrogênio de ácido carboxílico a partir do estudo dos espectros de IV obtidos de pastilhas do composto em KBr em diferentes concentrações;

- Estudar efeito de acidocromismo através da adição de ácido às soluções em solvente orgânico e também o comportamento em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs;
- Avaliar a atividade antimicrobiana e anticâncer dos compostos sintetizados;
- Utilizar ferramentas de modelagem molecular para sugerir possíveis mecanismos de ação das moléculas com maior atividade antibacteriana.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Planejamento estrutural

As moléculas-alvo deste trabalho são derivadas de quatro classes de moléculas: quinoxalinas, quinolinas, diidroquinolinas e pirazinas. Para isso, elas foram projetadas de forma a conter como unidade central um *N*-heterociclo atuando como sítio principal de fluorescência e porção aceitadora de elétrons, considerando também a possibilidade de atividade biológica que esses núcleos oferecem.

As moléculas também deverão conter uma extensão da porção aromática, que se dará pela inserção de grupos arila nas posições 2 e 3 do *N*-heterociclo, uma vez que o impedimento de rotação molecular intramolecular, devido à proximidade dos hidrogênios dos dois anéis benzênicos, torna o sistema não coplanar, tornando os compostos em potenciais AIEógenos via mecanismo RIM. A exceção será nas quinolinas, onde a extensão aromática será o grupo estiril na posição 2, obtendo-se moléculas planas para análises em diferentes solventes incluindo água, para possíveis aplicações em meio fisiológico.

Ligados às extensões aromáticas, as moléculas terão diferentes grupos substituintes, os quais serão adicionados com a função de modular a capacidade de ICT dos compostos provocando alterações nas propriedades fotofísicas a serem estudadas como também em busca de maiores potenciais ativos biológicos. Esses substituintes serão desde doadores de elétrons como –OH e –OR a retiradores como NO<sub>2</sub>. No caso dos grupos alcóxilas –OR, serão modificados também os tamanhos das cadeias, promovendo aumento de densidade de cadeia lateral para alterar tanto a solubilidade nos diferentes solventes orgânicos, como também o próprio empacotamento molecular nas fases condensada e sólida, e, conseqüentemente, alterar também suas propriedades.

Os compostos deverão conter ainda, ligado ao *N*-heterociclo, um grupo passível de ligação de hidrogênio, tal qual o ácido carboxílico, considerando tanto a possibilidade de formação de dímeros nos agregados (no caso de compostos com AIE) quanto a influência da ligação de hidrogênio entre o composto e solventes

polares, facilitando a solvatação em meios aquosos, seja na forma de ácido ou do respectivo sal formado em meio aquoso básico, possibilitando o uso na investigação de processos em meios biológicos, como sondas para bioimagem. A Figura 15 mostra uma ilustração desse planejamento estrutural.

**Figura 15** – Ilustração do planejamento estrutural das moléculas deste trabalho



Fonte: Elaboração própria

## 4.2. Quinoxalinas

### 4.2.1. Síntese

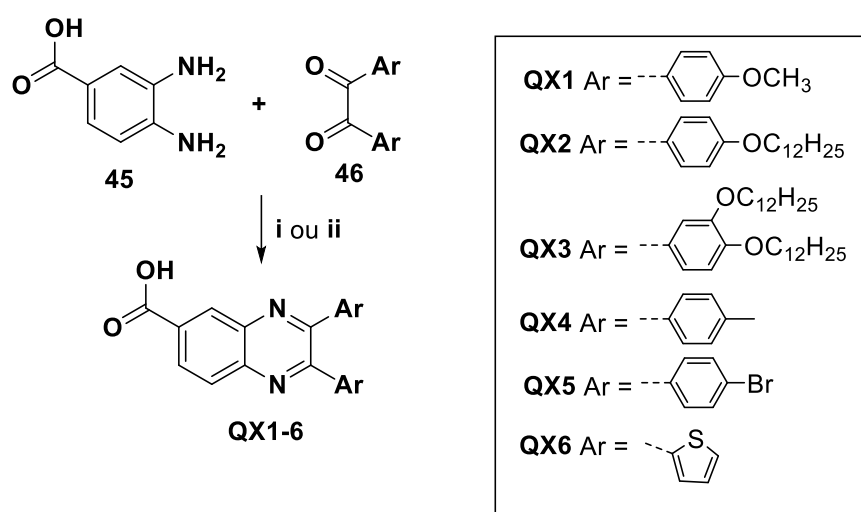
Os compostos finais foram preparados de acordo com o Esquema 1. A reação de condensação entre o ácido 3,4-diaminobenzóico e a respectiva 1,2-dicetona foi realizada sob duas condições diferentes para os compostos **QX1** e **QX4-6**. i) utilizando ácido acético como solvente sob refluxo durante 3h e ii) utilizando metanol como solvente e ácido *p*-toluenossulfônico como catalisador durante 10min em um equipamento de micro-ondas (MW). Os compostos **QX2** e **QX3** foram obtidos apenas pelo método i sendo que **QX3** estava disponível a partir estudos anteriores do laboratório e **QX2** é um composto inédito.[109]

Os rendimentos obtidos são mostrados na Tabela 1 e as estruturas químicas de todos os compostos foram completamente caracterizadas por espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , IV e HRMS, com os respectivos espectros mostrados nos apêndices.

Ambos os métodos foram eficientes para a obtenção dos compostos finais. Entretanto, o método ii apresenta a vantagem de menor tempo reacional promovido pelo MW, que já é conhecido por ser uma ferramenta sintética rápida, permitindo a

síntese eficiente de diversas moléculas.[110] Inclusive foi realizada a síntese de **QX1** em MW utilizando AcOH como solvente e a reação se completou em apenas 5 minutos com rendimento de 90%. Contudo, a substituição do AcOH por MeOH facilita a purificação dos compostos, uma vez que é comum a presença de pico residual de AcOH nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  desses compostos mesmo após recristalização.

**Esquema 1 – Síntese das quinoxalinas (QX1-6)**



i: AcOH, refluxo 3h; ii: MeOH,  $\text{TsOH}_{\text{cat}}$ , MW 10min

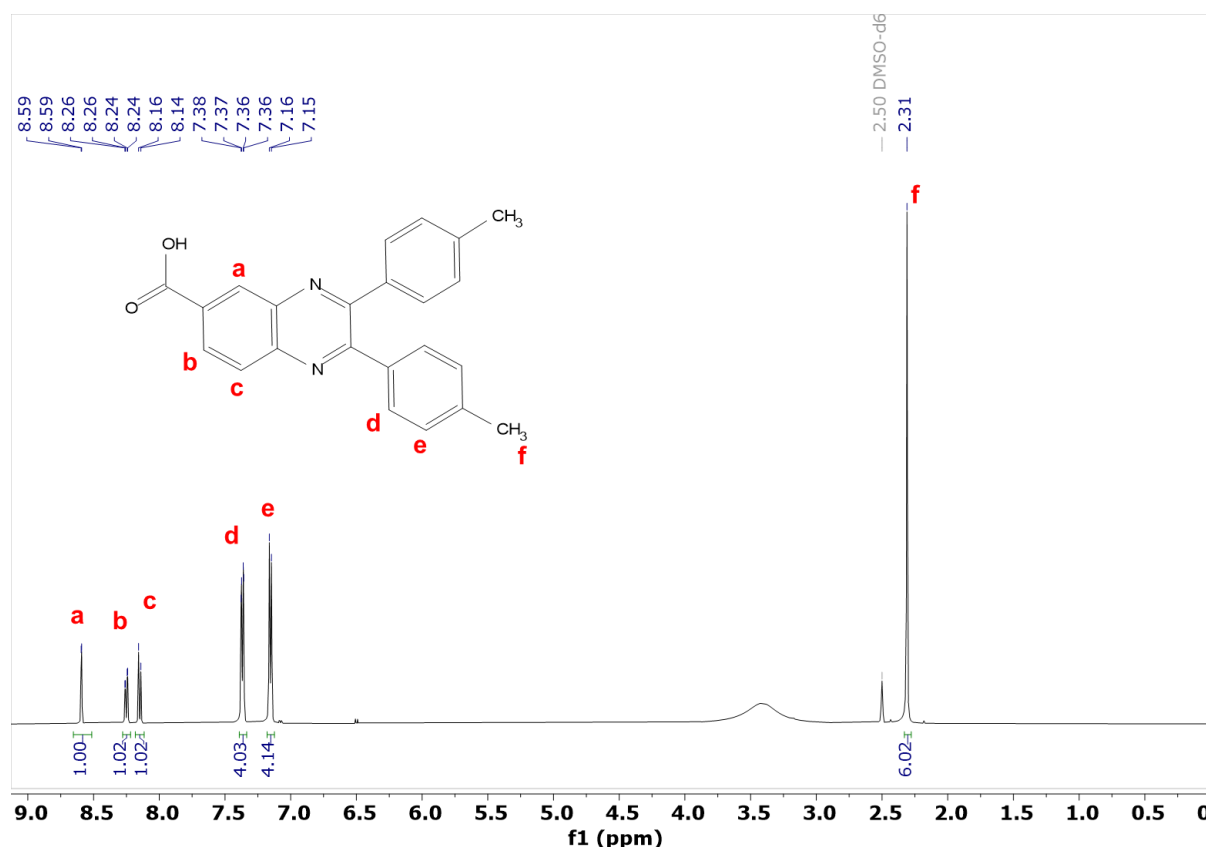
**Tabela 1 – Rendimentos isolados de QX1-6 pelos métodos I e II**

| Composto   | Rendimentos (%) |           |
|------------|-----------------|-----------|
|            | Método I        | Método II |
| <b>QX1</b> | 60              | 76        |
| <b>QX2</b> | 71              | -         |
| <b>QX3</b> | 81              | -         |
| <b>QX4</b> | 82              | 77        |
| <b>QX5</b> | 41              | 59        |
| <b>QX6</b> | 76              | 54        |

Tomando como exemplo o composto **QX1** para discussão da caracterização estrutural, tem-se no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 16), em 8,6 ppm, um dubleto ( $J = 1,8$  Hz) referente ao hidrogênio “a”, que é o hidrogênio mais desblindado devido à proximidade com a carbonila e com o nitrogênio da quinoxalina, que atuam como

retiradores de elétrons. Em 8,2 ppm há um duplo dubleto referente ao hidrogênio “b”, que acopla com o hidrogênio “c” ( $J = 8,7$  Hz) e com o hidrogênio “a” a quatro ligações ( $J = 1,8$  Hz). Em 8,1 ppm localiza-se um dubleto referente ao hidrogênio “c” ( $J = 8,7$  Hz), que fica em campo mais alto do que o hidrogênio “b” por estar mais distante da carbonila. Os hidrogênios do sistema aromático aparecem com integração de 4H em 7,4 ppm ( $J = 8,6, 2,8$  Hz) e em 6,9 ppm ( $J = 8,6$  Hz). O singlete em 3,8 ppm com integração de 6H é referente aos hidrogênios das duas metoxilas.

**Figura 16** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QX1**

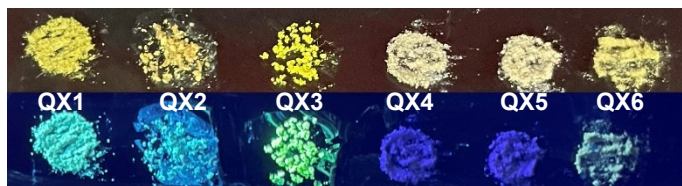


#### 4.2.2. Propriedades ópticas

##### 4.2.2.1. Estado sólido

Como pode ser visto na Figura 17, os compostos **QX1**, **QX2**, **QX3** e **QX6** na forma de pó são luminescentes sob luz UV emitindo do azul ao verde. Já os compostos **QX4** e **QX5** não mostraram fluorescência na fase sólida, indicando que os grupos metila em **QX4** não são doadores de elétrons fortes o suficiente para favorecer o sistema D- $\pi$ -A observado nos compostos que são fluorescentes em fase sólida. Já no composto **QX5**, a presença dos átomos de bromo provocam a supressão da fluorescência devido ao efeito do átomo pesado.[13]

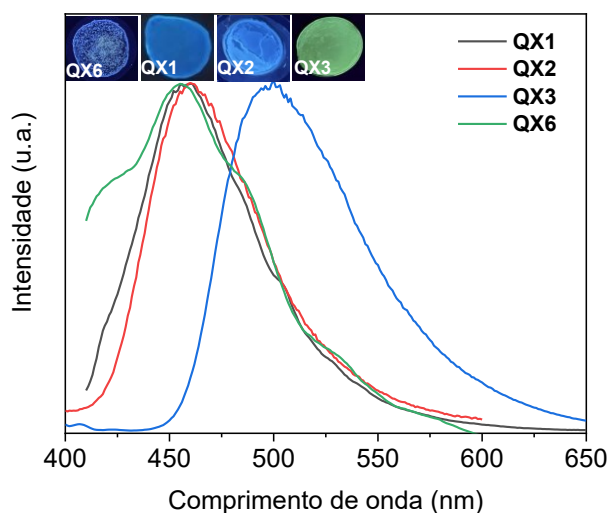
**Figura 17** – Fotografias dos compostos **QX1-6** sob luz natural (em cima) e sob luz UV de 360 nm (embaixo)



Os compostos que apresentaram luminescência em fase sólida tiveram os seus espectros de UV e emissão registrados a partir de seus filmes preparados sob lamínulas de vidro como mostrado na Figura 18. **QX1**, **QX2** e **QX6** são emissores de luz azul, com picos de emissão em 460 nm para **QX1** e **QX2**, e 455 nm para **QX6**, enquanto **QX3** teve pico de emissão em 500 nm, na região do verde. As bandas de absorção de UV na fase sólida atingiram o pico em 386 nm, 410 nm, 395 nm e 400 nm para **QX1**, **QX2**, **QX3** e **QX6**, respectivamente (Tabela 2).

O rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi_F$ ) de filmes sólidos de **QX1-3** foi medido usando um fotômetro de esfera integradora. Foram encontrados os seguintes valores de rendimentos quânticos: 3,5% para **QX1**, 3,4% para **QX2** e 6,3% para **QX3**. O maior rendimento quântico de **QX3** pode estar relacionado ao aumento nas interações de van der Waals por longas cadeias alquílicas que separam melhor as porções aromáticas das moléculas na fase sólida. O grupo alcóxi atuando como retirador de elétrons por efeito indutivo no anel causa o desvio para o vermelho observado na banda de emissão em comparação ao exibido por **QX1** e **QX2**.

**Figura 18** – Espectros de fotoluminescência no estado sólido (**QX1**,  $\lambda_{exc.} = 375$  nm; **QX2**,  $\lambda_{exc.} = 380$  nm; **QX3**,  $\lambda_{exc.} = 390$  nm; **QX6**,  $\lambda_{exc.} = 400$  nm); inserção: fotografias dos filmes sólidos de **QX1**, **QX2**, **QX3** e **QX6** sob irradiação de lâmpada UV a 365 nm



A fluorescência no estado sólido para esses compostos pode ser atribuída à existência de uma estrutura molecular torcida causada principalmente pelos anéis fenil na posição 2,3 na quinoxalina. Esse efeito minimiza o ACQ evitando o empilhamento  $\pi$ - $\pi$  nos filmes. Fluoróforos com essa característica retêm a capacidade de emitir no estado sólido devido à restrição do movimento intramolecular (RIM), incluindo rotação (RIR) e/ou vibração (RIV)[40,111,112]. O design molecular reflete diretamente na eficiência de emissão devido aos diferentes graus de movimento na estrutura. No entanto, nem todos os movimentos causam extinção de emissão. Modelos recentes foram estabelecidos nos quais o mecanismo RIM é ativado bloqueando várias vias não radiativas: restrição do acoplamento vibrônico (RVC), restrição do acesso à intersecção cônica (RACI), restrição do acesso ao estado escuro (RADS) e supressão da reação fotoquímica (SPCR) [113].

#### 4.2.2.2. Solvatocromismo

Os espectros de absorção UV-vis e fotoluminescência de **QX1** e **QX6** em vários solventes de diferentes polaridades são mostrados na Figura 19. Para **QX2** e **QX3**, foi realizada a análise apenas em soluções de tetrahydrofurano (THF) e diclorometano (DCM), uma vez que é difícil dissolvê-los na maioria dos solventes polares. Assim, uma comparação direta entre os compostos em todos os conjuntos de solventes não foi possível.

Os espectros de absorção de **QX1** mostraram poucas características dependentes de solvente com bandas de energia mais baixas centradas em torno de 377 nm. Os picos de absorção de energia mais baixos de **QX2** e **QX3** em THF e DCM não mudaram significativamente, e os de **QX6** variaram entre 386 nm e 396 nm, onde a mudança hipsocrômica com o aumento da polaridade é indicativo da relevância das interações de pares de elétrons não ligantes com o núcleo aromático [114]. A origem dessas pequenas mudanças nos espectros é devido a pequenas mudanças nos momentos dipolares das moléculas em seus estados fundamental e excitado de Franck-Condon. As bandas de absorção de mais baixa energia são atribuídas a transições de transferência de carga intramolecular (ICT) devido aos seus altos coeficientes de absorção molar e uma arquitetura D- $\pi$ -A.

Por outro lado, o solvatocromismo é bastante evidente para todos os compostos em seus espectros de emissão de fluorescência correspondentes, que mostraram características dependentes da polaridade. Os máximos de emissão mudaram para baixa energia seguidos por um ligeiro alargamento da banda de emissão e crescentes desvios de Stokes com o aumento da polaridade, indicativo de um ICT no estado excitado [59,115].

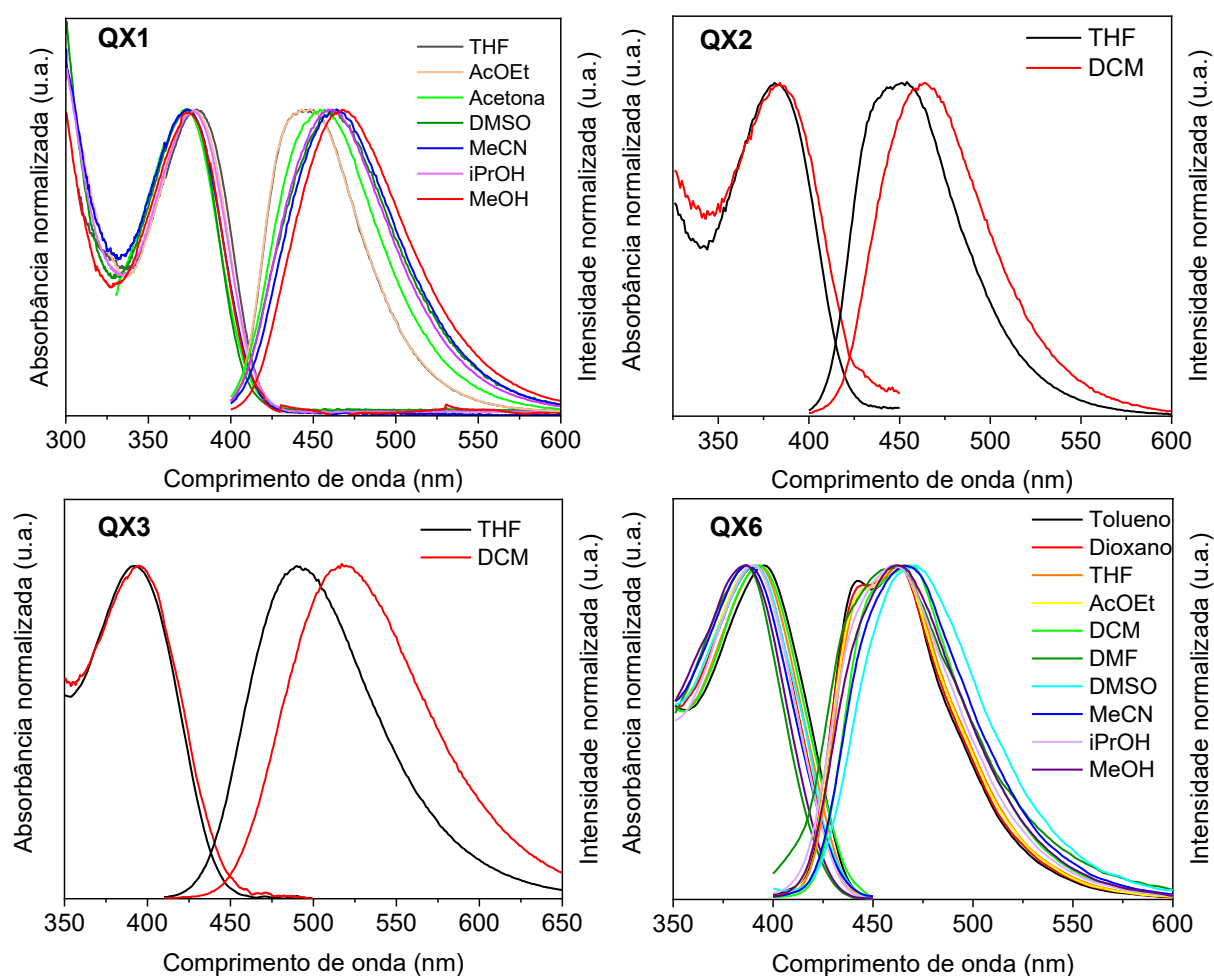
Em THF, **QX1** exibiu pico de emissão azul em 448 nm, coincidindo com seu pico de emissão em acetato de etila. O máximo de emissão mudou para o vermelho para 469 nm em metanol. Os deslocamentos de Stokes foram gradualmente aumentados com o aumento da polaridade do solvente, de 3952 cm<sup>-1</sup> em acetato de etila para 5299 cm<sup>-1</sup> em metanol.

O análogo de cadeia alquílica mais longa (**QX2**) mostrou uma forte fluorescência azul em THF com pico de emissão em 453 nm e deslocamento de Stokes de 4103 cm<sup>-1</sup>. Em DCM, o máximo de emissão mudou para o vermelho para 464 nm com deslocamento de Stokes de 4489 cm<sup>-1</sup>. Em THF, **QX3** exibiu uma forte banda de emissão em 488 nm com deslocamento de Stokes de 5084 cm<sup>-1</sup>, e emitiu fluorescência verde em DCM com um desvio para o vermelho na banda de emissão de 29 nm e deslocamento de Stokes de 5974 cm<sup>-1</sup>. **QX3** teve um aumento mais expressivo no deslocamento de Stokes com o aumento da polaridade do que **QX2**.

O composto **QX6** mostrou menor variação nos comprimentos de onda de emissão do que os demais compostos (de 462 nm em tolueno a 471 nm DMSO) e um

aumento, de modo geral, nos valores de deslocamento de Stokes com o aumento da polaridade do solvente, com  $3608\text{ cm}^{-1}$  em tolueno e  $4262\text{ cm}^{-1}$  em MeOH.

**Figura 19** – Espectros de absorção e emissão de **QX1**, **QX2**, **QX3** e **QX6** em diferentes solventes ( $10^{-5}\text{ M}$ ,  $\lambda_{\text{exc}}=\lambda_{\text{abs}}$ )



As mudanças de cor de emissão e deslocamentos de Stokes maiores indicaram que a origem da emissão é baseada principalmente na ICT entre a unidade doadora (grupos alcóxi e tiofeno) e a aceitadora (o anel quinoxalina e a carbonila), garantindo que não haja reabsorção de fótons emitidos [115]. Valores mais altos para deslocamento de Stokes em solventes mais polares são evidências de interação entre o complexo de transferência de carga e solventes polares no estado excitado [116].

Os rendimentos quânticos de fluorescência foram medidos usando sulfato de quinina como padrão. Para **QX1**, um rendimento quântico de 8,4% foi encontrado em THF. Os valores foram ligeiramente maiores em soluções de acetato de etila e acetona

e aumentaram em acetonitrila (Tabela 2). Nos solventes polares próticos isopropanol e metanol, **QX1** apresentou rendimentos quânticos mais altos, 14,6% e 18,9% respectivamente. Derivados de pirrolidinilvinilquinoxalina tendo um sítio aceitador de ligação H exibiram uma extinção de fluorescência induzida por ligação de hidrogênio por solventes próticos ou por protonação [117]. Ao contrário disso, os presentes resultados com quinoxalinas funcionalizadas com ácido carboxílico mostraram melhora na eficiência de emissão em solventes próticos. O valor encontrado em metanol é mais que o dobro do encontrado em THF. Esses resultados sugerem um aumento na eficiência de emissão de **QX1** em solventes com capacidade de doação de ligação H e maior polaridade. A exceção foi a solução de DMSO polar aprótico, onde a fluorescência de **QX1** foi bastante extinta ( $\Phi_F = 3,6\%$ ), assim como para **QX6** ( $\Phi_F = 1,8\%$ ). Na verdade, o resultado mais comum com o aumento da polaridade do solvente é que um desvio para o vermelho na emissão é seguido por um rendimento quântico diminuído. Essa tendência é bem suportada pela lei do gap de energia [13].

Os compostos **QX2** e **QX3** mostraram maiores rendimentos quânticos em THF do que em DCM. Já para **QX6**, as variações não foram tão significativas, mas mesmo assim observa-se que os maiores valores foram para as soluções de solventes mais apolares, como tolueno ( $\Phi_F = 5,5\%$ ). Os desvios para o vermelho observados nas bandas de emissão para **QX2** e **QX3** em DCM em comparação com aqueles em filmes sólidos são devido a uma melhor estabilização do estado excitado por moléculas de solvente. Além da polaridade, o efeito geral do solvente provavelmente inclui a capacidade de ligação de hidrogênio para cada solvente. Diferentes energias de solvatação dos fluoróforos em seus estados fundamental e excitado ocorrem por uma variedade de forças intermoleculares específicas e não específicas atuando entre o soluto e o solvente [118].

Os espectros de emissão dos compostos foram mais afetados pelos efeitos do solvente do que os espectros de absorção. Este resultado concorda com uma espécie mais dipolar no estado excitado do que no estado fundamental. O solvatocromismo nos espectros de emissão é atribuído ao estado excitado polarizado, no qual o momento dipolar aumentado pode ser explicado por transições de transferência de carga estabilizadas com reorientação de moléculas de solvente. Esta reorientação auxilia o solvente a atingir alto momento dipolar, o que por sua vez reduz a energia do

sistema. Este processo explicou a mudança batocrômica nos espectros de emissão [119].

**Tabela 2** – Propriedades ópticas dos compostos **QX1**, **QX2**, **QX3** e **QX6** em diferentes solventes ( $10^{-5}$  M) e no estado sólido ( $\lambda_{exc} = \lambda_{abs}$ )

|            |                | $\lambda_{max,abs}$<br>(nm) | $\epsilon^a$<br>( $\times 10^4$ ) | $\lambda_{max,em}$<br>(nm) | $\Delta\nu_{st}^b$<br>( $cm^{-1}$ ) | $\Phi_F^c$<br>(%) |
|------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|-------------------|
| <b>QX1</b> | THF            | 380                         | 1,0                               | 445                        | 3994                                | 8,4               |
|            | AcOEt          | 377                         | 1,3                               | 445                        | 3952                                | 9,1               |
|            | Acetona        | 373                         | 1,5                               | 454                        | 4783                                | 9,5               |
|            | DMSO           | 374                         | 1,3                               | 462                        | 5093                                | 3,6               |
|            | MeCN           | 374                         | 0,9                               | 464                        | 5186                                | 11,4              |
|            | <i>i</i> -PrOH | 377                         | 1,4                               | 459                        | 4739                                | 14,6              |
|            | MeOH           | 375                         | 1,6                               | 468                        | 5299                                | 18,9              |
|            | Filme          | 386                         | -                                 | 460                        | 4584                                | 3,5               |
| <b>QX2</b> | THF            | 382                         | 1,5                               | 453                        | 4103                                | 12,8              |
|            | DCM            | 384                         | 0,5                               | 464                        | 4489                                | 5,6               |
|            | Filme          | 410                         | -                                 | 460                        | 2651                                | 3,4               |
| <b>QX3</b> | THF            | 391                         | 1,1                               | 488                        | 5084                                | 16,0              |
|            | DCM            | 395                         | 1,0                               | 517                        | 5974                                | 10,0              |
|            | Filme          | 395                         | -                                 | 500                        | 5316                                | 6,3               |
| <b>QX6</b> | Tolueno        | 396                         | 1,5                               | 462                        | 3608                                | 5,5               |
|            | Dioxano        | 391                         | 1,3                               | 462                        | 3930                                | 4,6               |
|            | THF            | 393                         | 1,4                               | 465                        | 3940                                | 4,6               |
|            | AcOEt          | 390                         | 1,3                               | 462                        | 3996                                | 3,9               |
|            | DCM            | 393                         | 1,4                               | 468                        | 4078                                | 4,5               |
|            | DMF            | 386                         | 1,2                               | 462                        | 4262                                | 2,1               |
|            | DMSO           | 391                         | 1,3                               | 471                        | 4344                                | 1,8               |
|            | MeCN           | 387                         | 1,2                               | 466                        | 4381                                | 3,2               |
|            | <i>i</i> PrOH  | 390                         | 1,3                               | 460                        | 3902                                | 4,0               |
|            | MeOH           | 386                         | 1,2                               | 462                        | 4262                                | 3,1               |
|            | Filme          | 400                         | -                                 | 455                        | 3022                                | -                 |

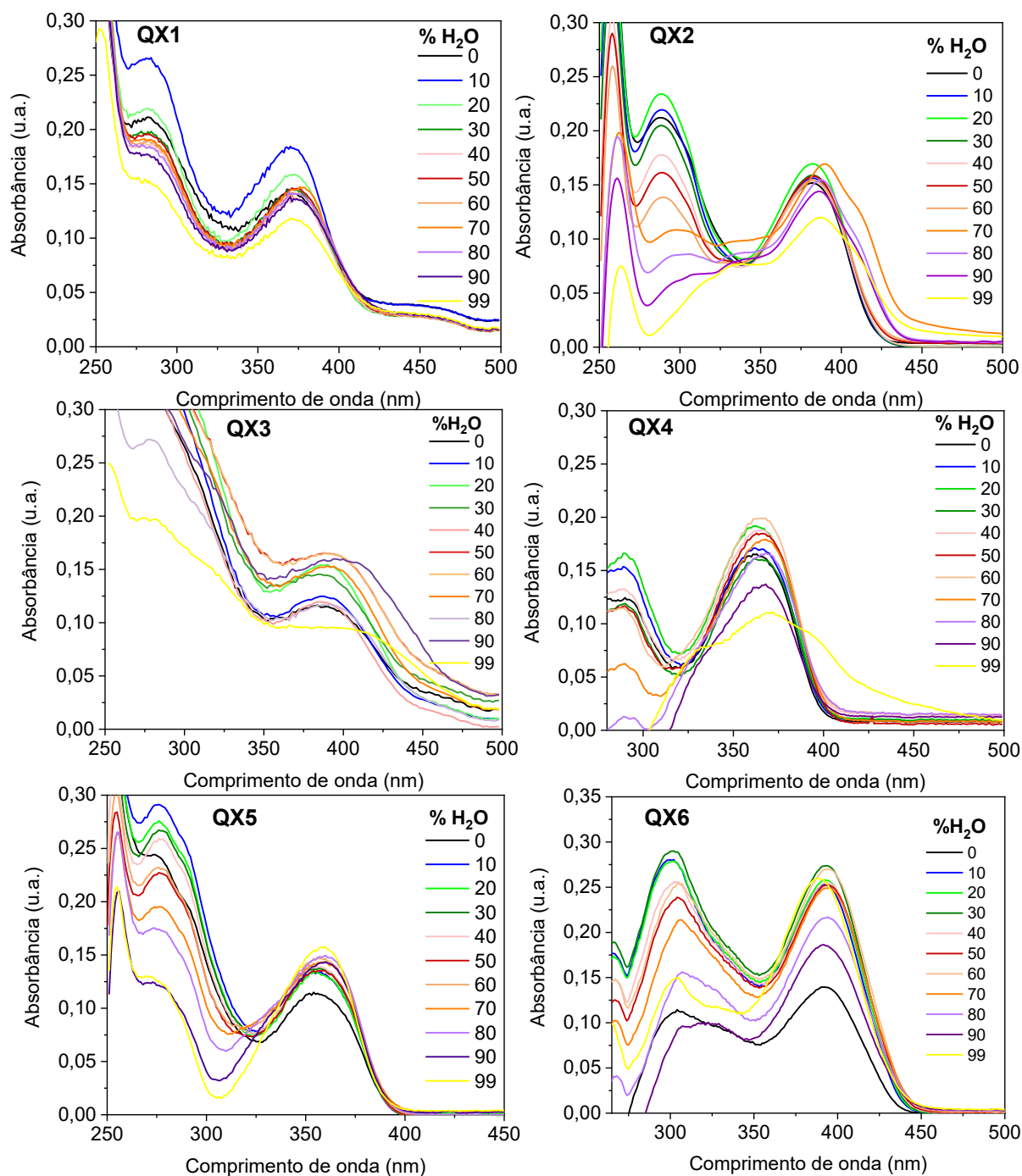
<sup>a</sup> Unidade:  $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; valor  $\times 10^4$ . <sup>b</sup> Deslocamento de Stokes; <sup>c</sup> Rendimento quântico de fluorescência relativo ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_F = 0,546$  em  $H_2SO_4$  0,5 M) para as soluções, e absoluto (determinado com esfera integradora) para os filmes

#### 4.2.2.3. Estudos de AIE

O comportamento de AIE das quinoxalinas **QX1-6** foi estudado a partir de soluções de MeCN/água para **QX1** e THF/água para as demais, utilizando misturas de solventes com aumento gradual da fração volumétrica de água, e então medidos os espectros de UV-vis e fluorescência para as análises posteriores. Como a água é um não-solvente para os compostos, o aumento da fração de água no sistema de solventes mistos pode alterar sua forma existente de uma solução no solvente puro para partículas nanoagregadas nas misturas com alto teor de água, onde o tamanho dessas partículas pode ser confirmado através de análises de DLS (espalhamento dinâmico de luz, do inglês *Dynamic Light Scattering*) [120].

Os espectros de UV-vis (Figura 20) mostraram que o aumento da fração volumétrica de água não alterou significativamente a posição das bandas de absorção, tendo o composto **QX1** variado entre 371 nm e 377 nm, **QX2** entre 382 nm e 390 nm, **QX3** entre 388 nm e 399 nm sendo que a solução com 99% de água apresentou  $\lambda_{abs} = 409$  nm além de uma diminuição considerável na absorbância, o que pode indicar que houve precipitação em alguma extensão. O composto **QX4** variou entre 362 nm e 371 nm, **QX5** de 356 nm a 360 nm, e **QX6** de 388 nm a 395 nm. Já o aumento na absorbância observado na maioria das misturas contendo água geralmente indica a formação de nanoagregados [120,121][24].

**Figura 20** – Espectros de UV-vis de **QX1** em misturas de MeCN/H<sub>2</sub>O e **QX2-6** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O



Os compostos estudados exibiram luminescência em solução, de fraca/moderada a intensa, dependendo da natureza do solvente, polaridade e/ou capacidade de ligação de hidrogênio. Com exceção dos compostos **QX4** e **QX5**, os filmes sólidos dessas quinoxalinas são luminescentes, com rendimentos quânticos menores em comparação aos valores obtidos em solução. Os desvios para o vermelho observadas em bandas de absorção indicando energia mais baixas nos

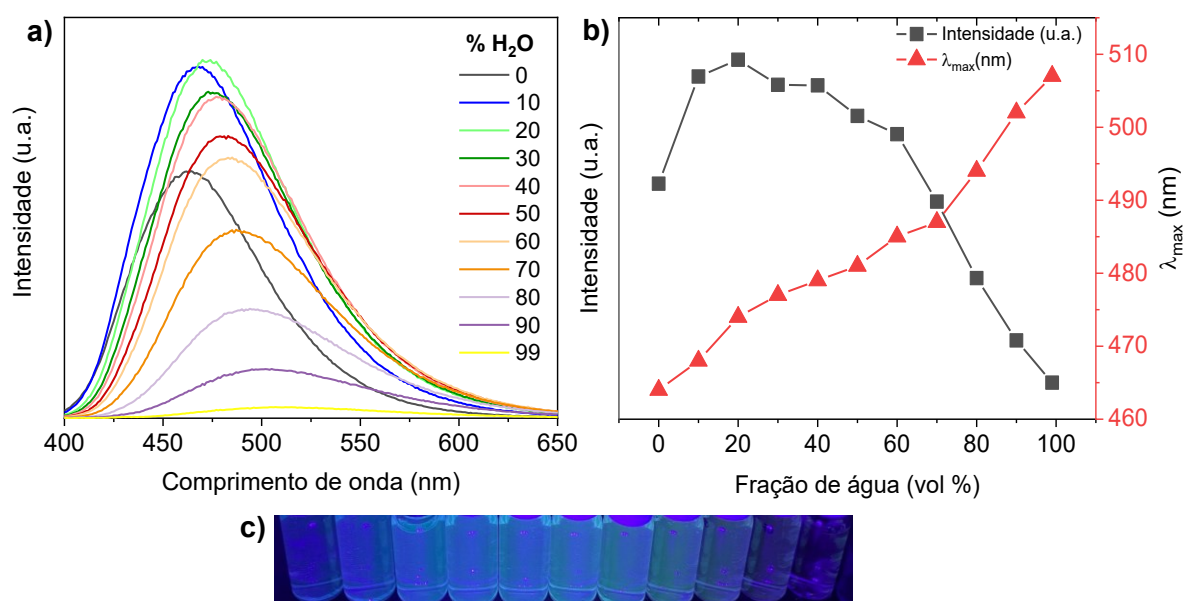
filmes sólidos são indicativos de que essas moléculas desenvolvem uma conformação mais plana no estado sólido, levando a um aumento na conjugação [122]. Isso pode explicar por que esses compostos são emissores mais pobres na fase sólida do que em soluções. No entanto, foi perceptível que a emissão desses compostos em solução aumentou quando alguma quantidade de água foi adicionada. As Figuras 21 e 22 mostram os espectros de fluorescência de **QX1** e **QX2** registrados em diferentes misturas de MeCN/água e THF/água, respectivamente (0–99%), bem como a imagem de fluorescência das soluções sob luz UV, para a comparação das intensidades de emissão. Como já mencionado, ambos os compostos **QX1** e **QX2** são fluorescentes em solução. Para **QX1**, essa intensidade de emissão aumentou cerca de 1,5 vezes em um  $f_w$  de 10% e atingiu uma intensidade máxima de 1,6 vezes a do acetonitrila puro em um  $f_w$  de 20%. Uma tendência semelhante foi observada para **QX2**. Em um  $f_w$  de 20%, a emissão de **QX2** foi cerca de 1,4 vezes mais intensa do que em THF puro. Esses aumentos de emissão podem ser explicados pela formação de agregados em soluções aquosas diluídas de acetonitrila e THF e é um fenômeno comum de AIEE [123].

A intensidade de emissão de **QX1** permaneceu mais ou menos a mesma até um  $f_w$  de 40%, diminuindo conforme o  $f_w$  aumentou de 40 para 60%, mas ainda 1,2 vezes mais emissiva do que em acetonitrila pura. Então, com o aumento adicional de água, a intensidade de emissão caiu rapidamente, atingindo intensidades de 26% e 6% daquela em acetonitrila pura em  $f_w$  de 90% e 99%, respectivamente (Figura 21b e Tabela 3). Para **QX2**, com longas cadeias alquílicas, a intensidade de emissão permaneceu quase linear em  $f_w$  de 20 a 60% e então caiu quando  $f_w$  passou de 60%. Comportamento semelhante foi relatado para alguns compostos que exibem um aumento moderado de emissão em  $f_w$  baixo e então diminuem a intensidade de emissão gradualmente em alto teor de água [115,124]. A diminuição da intensidade nas bandas de emissão em misturas determinadas pode ser devido à formação de agregados irregulares/amorfos de pequeno tamanho em frações de água mais altas [125].

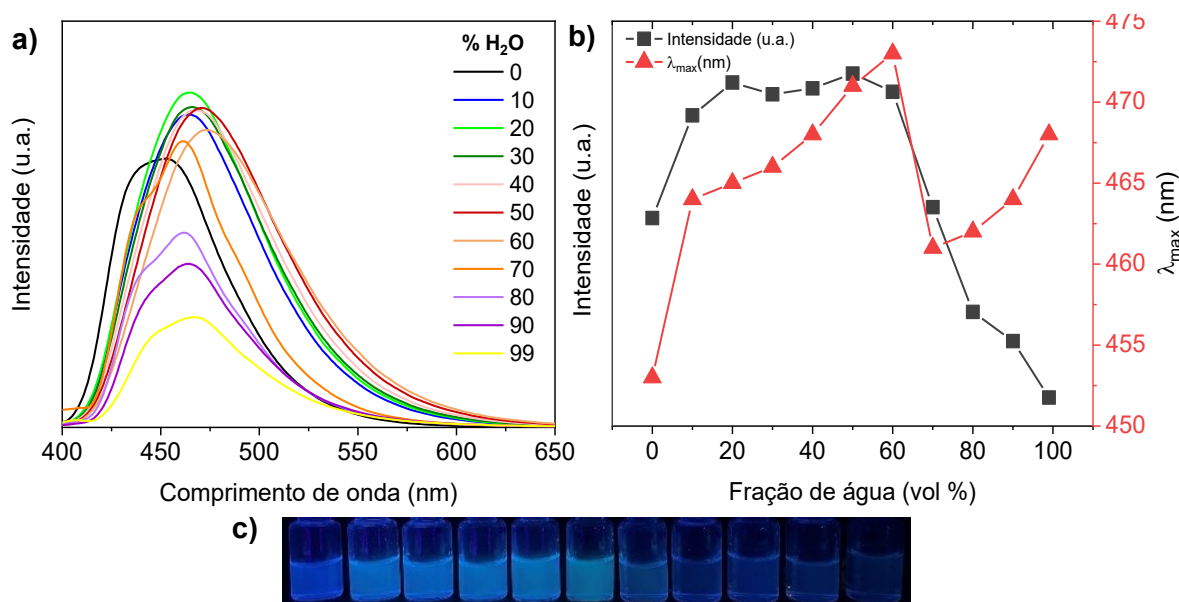
Além disso, é possível observar um desvio para o vermelho contínuo nas bandas de emissão para **QX1**, com uma emissão de luz azul centrada em 464 nm em acetonitrila pura e uma luz verde emitida em 507 nm quando  $f_w$  atingiu 99%. Os deslocamentos de Stokes também aumentaram significativamente de  $5330\text{ cm}^{-1}$  em

acetonitrila pura para  $7158\text{ cm}^{-1}$  em  $f_w$  de 99%. Para **QX2**, o pico de emissão mostrou um desvio para o azul de  $f_w$  de 60 a 70% junto com uma queda na intensidade de emissão (Figura 22b). No entanto, os máximos de emissão de todos os  $f_w$  são deslocados para o vermelho em comparação com a emissão em THF puro. É importante mencionar que a maioria dos AIEógenos relatados mostram desvios para o azul, racionalizados como devido a um microambiente menos polar para as moléculas nos agregados [19]. Portanto, o desvio para o vermelho nos espectros de emissão com o aumento de  $f_w$  sugere um microambiente mais polar para as moléculas dentro dos agregados [117].

**Figura 21** – (a) Espectros de fluorescência de **QX1** em misturas de MeCN/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}\text{ M}$ ,  $\lambda_{\text{exc}}=\lambda_{\text{max.abs}}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **QX1**; (c) fotografia das soluções de **QX1** sob lâmpada UV (360



**Figura 22** – (a) Espectros de fluorescência de **QX2** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **QX2**; (c) fotografia das soluções de **QX2** sob lâmpada UV (360 nm)



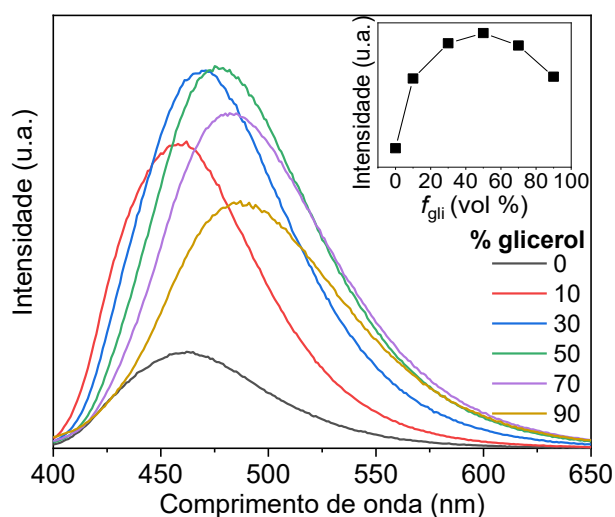
Foi investigado o efeito da viscosidade nas propriedades de fluorescência de **QX1** a partir de análises em misturas de DMSO/glicerol com incrementos graduais de porcentagem volumétrica do líquido mais viscoso, glicerol. Uma viscosidade mais alta pode limitar as rotações intramoleculares em moléculas [29]. Os espectros fluorescência de **QX1** em diferentes misturas de DMSO/glicerol são mostrados na Figura 23. A emissão fraca em DMSO intensificou-se 3 vezes quando a fração de glicerol ( $f_{gli}$ ) foi de 10% e 4,5 vezes em uma  $f_{gli}$  de 50%. A partir de então a intensidade da emissão teve uma pequena diminuição. Na  $f_{gli}$  de 90%, permaneceu 3 vezes maior em comparação com **QX1** em DMSO puro. As bandas de emissão mudaram para o vermelho cerca de 26 nm com o aumento da  $f_{gli}$  de 0 a 90%.

DMSO e glicerol têm constantes dielétricas semelhantes. Eles diferem em sua viscosidade e capacidade de doação de ligação de H [126]. Assim, a adição de glicerol aumentou a viscosidade, bem como a capacidade de doação de ligações de H da mistura. Já em MeCN/H<sub>2</sub>O, a adição de água aumentou a capacidade de doação de ligações de hidrogênio e a polaridade. Como o padrão de aumento nas intensidades de emissão foi o mesmo em ambos os estudos, fica provado que a mudança nas intensidades de emissão foi devido a uma mudança na viscosidade e não por causa da polaridade ou capacidade de doação de ligações de hidrogênio. O aumento nas

intensidades de emissão foi mais expressivo em DMSO/glicerol com o aumento gradual de glicerol do que em misturas de acetonitrila/água.

Esses resultados corroboram que a restrição na rotação intramolecular desempenha um papel importante nas propriedades AIEE do composto investigado. Resultados de experimentos semelhantes na literatura empregando 2,3-difenil quinoxalinas apontaram que quanto mais substituintes volumosos aromáticos a molécula tiver, de forma que os movimentos sejam restritos, maior o efeito que a viscosidade do meio tem em sua intensidade de emissão [120,127].

**Figura 23** – Espectros de emissão de **QX1** em misturas de DMSO/glicerol ( $10^{-5}$  M) com aumento na fração (vol%) de glicerol ( $f_{gli}$ ); inserção: gráfico da intensidade de emissão em função de  $f_{gli}$ .

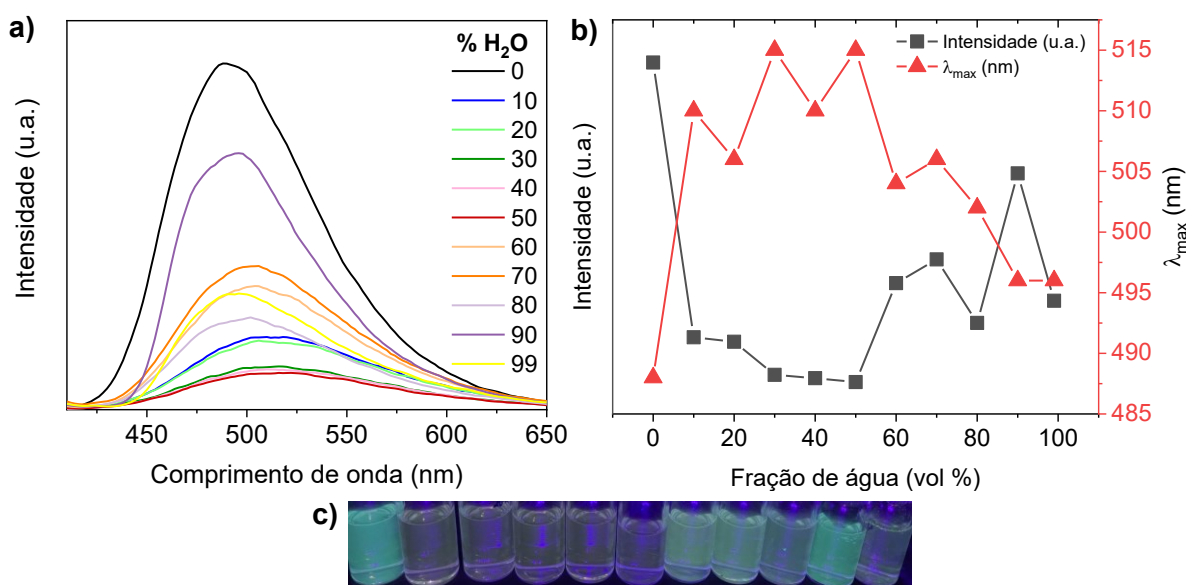


O composto **QX3** mostrou uma supressão significativa na emissão após adicionar água às suas soluções de THF (Figura 24). A intensidade de emissão caiu para 26% da exibida no THF puro a uma  $f_w$  de 10% e continuou caindo até 14% do original. A principal razão para a supressão na emissão para AIEógenos após uma certa quantidade de água nas misturas é atribuída à solubilidade diminuída desses fluoróforos em água [62,128]. Nesse sentido, as longas cadeias alquílicas em **QX3** têm um impacto maior neste efeito. Quando a  $f_w$  passou de 50%, as intensidades de emissão começaram a aumentar, confirmando que neste ponto há formação de agregados. Este aumento foi seguido por um interessante aumento e diminuição na intensidade de emissão e atingiu 70% do original em THF puro a uma  $f_w$  de 90%. O tamanho médio dos agregados é de 204 nm para **QX3** em suspensão homogênea de  $f_w$  de 90%, medido por DLS (Figura A.104). Um comportamento semelhante de

oscilações em intensidades de emissão foi relatado para um composto à base de trifetilamina contendo uma longa cadeia alquílica [129].

Também se observa uma oscilação notável entre desvios para o vermelho e para o azul nas bandas de emissão de **QX3** (Figura 24b). As oscilações nas bandas de emissão nas soluções são provavelmente devidas a mudanças morfológicas no empacotamento molecular, devido a diferentes conformações e modos de empacotamento [130,131]. Os picos de emissão deslocaram-se para o azul consideravelmente (cerca de 20 nm) quando a  $f_w$  passou de 50%. De certa forma, isso também ocorreu para **QX2**. No entanto, como também observado para **QX1** e **QX2**, todas as bandas de emissão de **QX3** em diferentes soluções aquosas de THF são deslocadas para o vermelho da emissão original em solvente puro. Portanto, nesses compostos, o aumento do ambiente polar pode ser explicado pelo fortalecimento das interações de transferência de carga do 4-alcóxifenil doador de elétrons com o quinoxalina-carbonil retirador de elétrons em uma estrutura  $\pi$ -conjugada do tipo D-A [120].

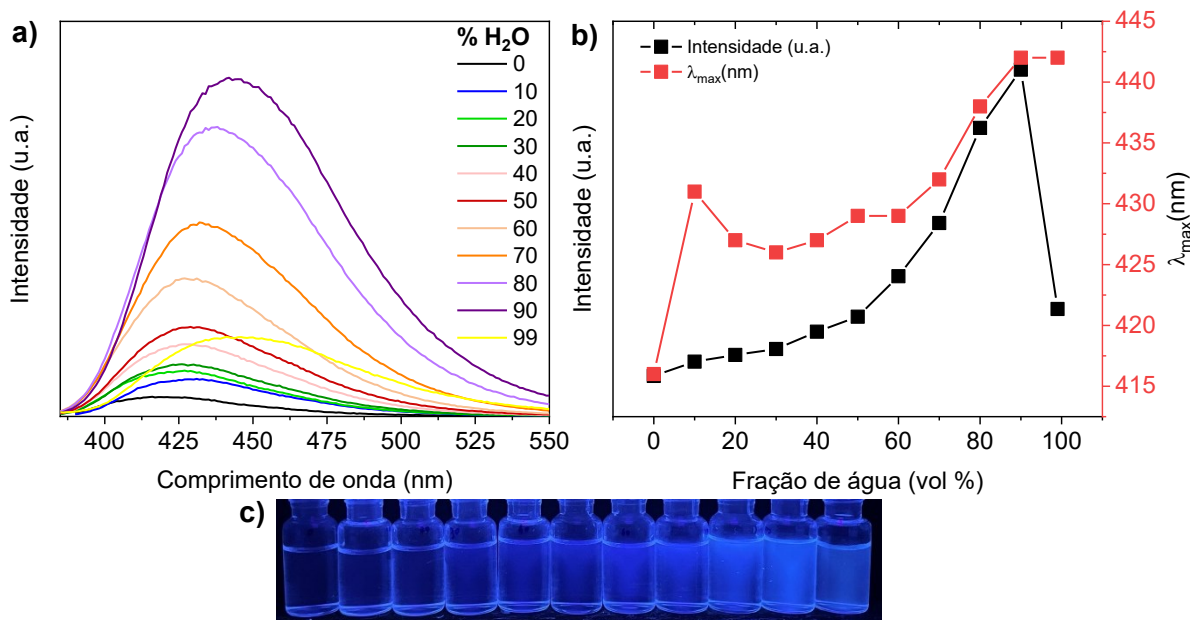
**Figura 24** – (a) Espectros de fluorescência de **QX3** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **QX3**; (c) fotografia das soluções de **QX3** sob lâmpada UV (365 nm)



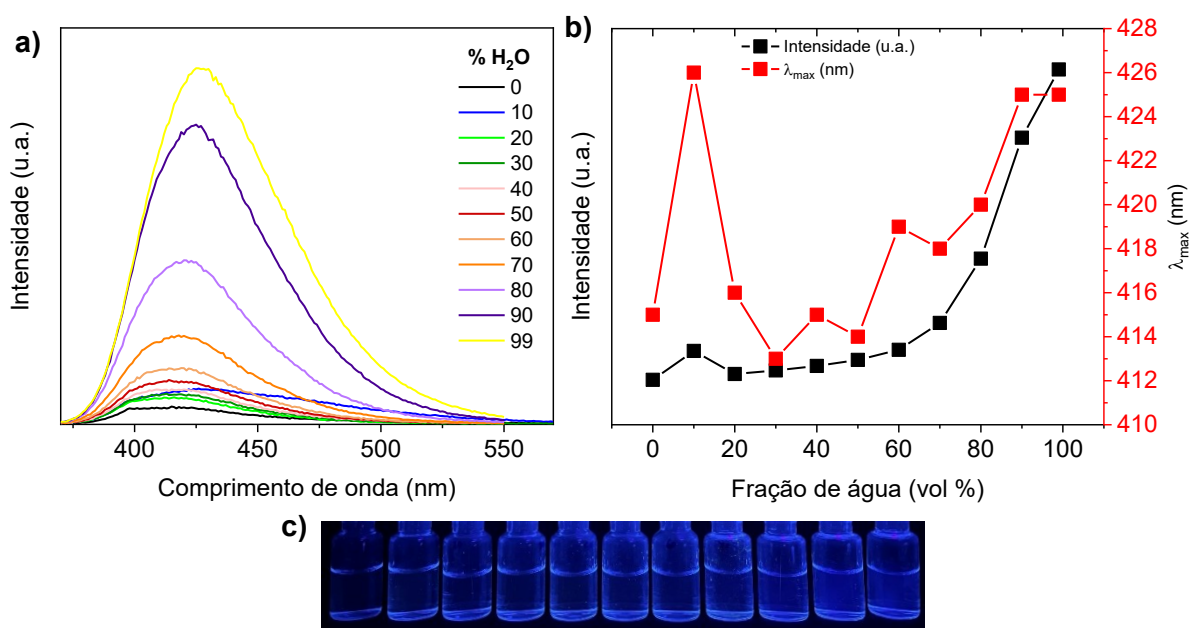
Os compostos **QX4** e **QX5**, de modo geral, apresentaram um perfil de AIE muito semelhante (Figuras 25 e 26), onde a fraca emissão em THF puro foi aumentada gradualmente com o aumento de  $f_w$ , diferindo apenas na  $f_w$  99% que **QX4** apresentou uma queda de emissão enquanto **QX5** continuou aumentando. O

composto **QX4** alcançou intensidade de emissão 22x maior do que em THF puro na  $f_w$  de 90%, e o composto **QX5** foi 20x mais intenso em  $f_w$  de 99% do que em THF puro.

**Figura 25** – (a) Espectros de fluorescência de **QX4** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **QX4**; (c) fotografia das soluções de **QX4** sob lâmpada UV (365 nm)



**Figura 26** – (a) Espectros de fluorescência de **QX5** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **QX5**; (c) fotografia das soluções de **QX5** sob lâmpada UV (365 nm)

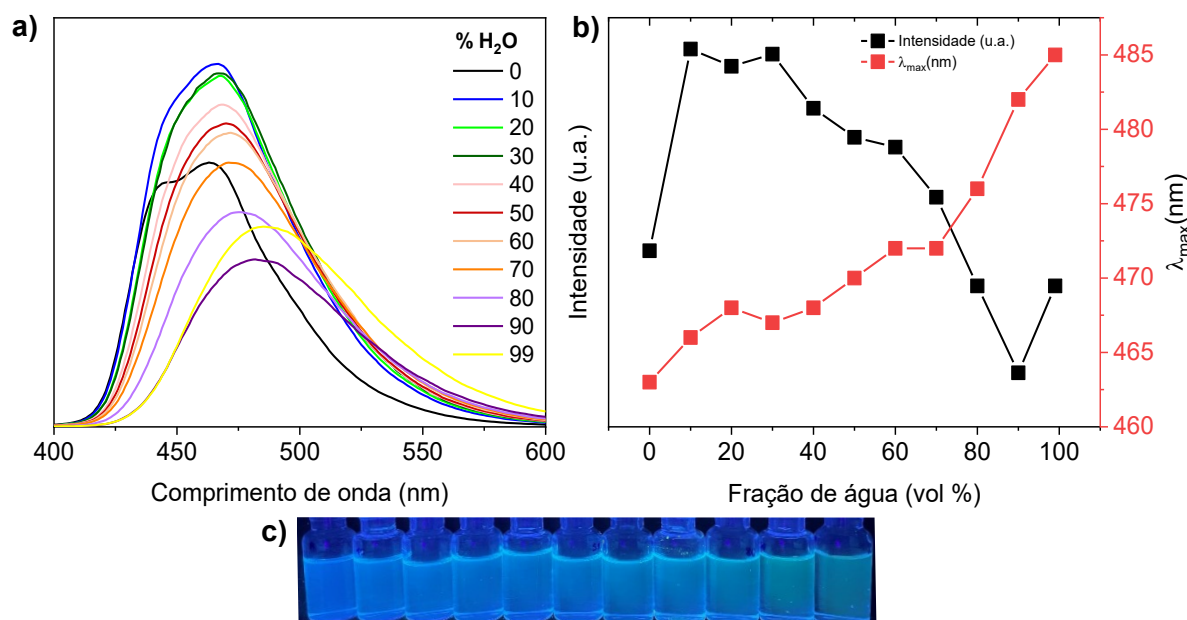


Já o composto **QX6** apresentou perfil de emissão diferente dos demais compostos nas misturas de solvente/água (Figura 27). Houve um aumento

significativo na intensidade de emissão na  $f_w$  de 10%, sendo 1,4x maior do que em THF puro, mantendo aproximadamente a mesma intensidade até  $f_w$  de 30% e iniciando uma queda a partir da  $f_w$  de 40% atingindo intensidades até mesmo menores do que em THF puro a partir de  $f_w$  de 80%. Como o anel de 5 membros do tienil em **QX6** é menor do que as fenilas nos demais compostos, é possível que o ângulo de torção entre os grupos tienil e o plano da quinoxalina seja menor do que nos compostos contendo as fenilas, onde essa menor torção possibilita mais interações  $\pi$ - $\pi$  promovendo ACQ nas maiores  $f_w$ .

Assim como foi observado para **QX1** e **QX2**, os compostos **QX4-6** também apresentaram crescente deslocamento batocrômico com o aumento de  $f_w$ . O composto **QX4** apresentou emissão do violeta para o azul, de 416 nm a 442 nm nas  $f_w$  de 0% e 99%, respectivamente. O composto **QX5** foi de 415 nm a 425nm e o composto **QX6** variou de 463 nm a 485 nm.

**Figura 27** – (a) Espectros de fluorescência de **QX6** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **QX6**; (c) fotografia das soluções de **QX6** sob lâmpada UV (365 nm)



**Tabela 3** – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos **QX1-6** em misturas de solvente com fração de água (vol %)

|                        | $f_w$<br>(%) | Absorção              |              | Fotoluminescência    |                                                   |         |                |
|------------------------|--------------|-----------------------|--------------|----------------------|---------------------------------------------------|---------|----------------|
|                        |              | $\lambda_{max.}$ (nm) | $\epsilon^c$ | $\lambda_{max}$ (nm) | $\Delta\nu_{st}$ (cm <sup>-1</sup> ) <sup>d</sup> | $I_F^e$ | $\Phi_F^f$ (%) |
| <b>QX1<sup>a</sup></b> | 0            | 372                   | 1,2          | 464                  | 5330                                              | 22431   | 11,4           |

|                        |    |     |     |     |      |       |      |
|------------------------|----|-----|-----|-----|------|-------|------|
|                        | 10 | 371 | 1,7 | 468 | 5587 | 33781 | -    |
|                        | 20 | 372 | 1,5 | 474 | 5785 | 35555 | -    |
|                        | 30 | 373 | 1,4 | 477 | 5845 | 32898 | -    |
|                        | 40 | 373 | 1,3 | 479 | 5933 | 32840 | -    |
|                        | 50 | 373 | 1,4 | 481 | 6020 | 29601 | -    |
|                        | 60 | 373 | 1,3 | 485 | 6191 | 27666 | -    |
|                        | 70 | 377 | 1,4 | 487 | 5991 | 20531 | -    |
|                        | 80 | 373 | 1,3 | 494 | 6567 | 12432 | -    |
|                        | 90 | 374 | 1,2 | 502 | 6818 | 5833  | -    |
|                        | 99 | 372 | 1,1 | 507 | 7158 | 1366  | -    |
| <b>QX2<sup>b</sup></b> | 0  | 382 | 1,5 | 453 | 4103 | 21626 | 12,8 |
|                        | 10 | 382 | 1,6 | 464 | 4626 | 28600 | -    |
|                        | 20 | 382 | 1,7 | 465 | 4673 | 30832 | -    |
|                        | 30 | 382 | 1,6 | 466 | 4719 | 30029 | -    |
|                        | 40 | 382 | 1,5 | 468 | 4810 | 30440 | -    |
|                        | 50 | 382 | 1,6 | 471 | 4947 | 31441 | -    |
|                        | 60 | 383 | 1,5 | 473 | 4968 | 30202 | -    |
|                        | 70 | 390 | 1,7 | 461 | 3949 | 22369 | -    |
|                        | 80 | 387 | 1,5 | 462 | 4195 | 15254 | -    |
|                        | 90 | 386 | 1,4 | 464 | 4355 | 13269 | -    |
|                        | 99 | 387 | 1,2 | 468 | 4472 | 9440  | -    |
| <b>QX3<sup>b</sup></b> | 0  | 388 | 1,1 | 488 | 5281 | 18837 | 16,0 |
|                        | 10 | 388 | 1,3 | 510 | 6165 | 4890  | -    |
|                        | 20 | 388 | 1,6 | 506 | 6010 | 4663  | -    |
|                        | 30 | 388 | 1,3 | 515 | 6356 | 2986  | -    |
|                        | 40 | 388 | 1,3 | 510 | 6165 | 2815  | -    |
|                        | 50 | 391 | 1,5 | 515 | 6158 | 2615  | -    |
|                        | 60 | 391 | 1,5 | 504 | 5734 | 7638  | -    |
|                        | 70 | 392 | 1,5 | 506 | 5747 | 8840  | -    |
|                        | 80 | 389 | 1,2 | 502 | 5787 | 5621  | -    |
|                        | 90 | 399 | 1,4 | 496 | 4901 | 13209 | -    |
|                        | 99 | 409 | 0,9 | 496 | 4289 | 6744  | -    |
| <b>QX4<sup>b</sup></b> | 0  | 362 | 1,6 | 416 | 3586 | 1359  | 0,12 |
|                        | 10 | 363 | 1,7 | 431 | 4346 | 2717  | -    |
|                        | 20 | 362 | 1,9 | 427 | 4205 | 3354  | -    |
|                        | 30 | 365 | 1,6 | 426 | 3923 | 3915  | -    |
|                        | 40 | 365 | 1,9 | 427 | 3978 | 5553  | -    |
|                        | 50 | 366 | 1,8 | 429 | 4012 | 6974  | -    |
|                        | 60 | 366 | 2,0 | 429 | 4012 | 10815 | -    |
|                        | 70 | 368 | 1,8 | 432 | 4026 | 15860 | -    |
|                        | 80 | 368 | 1,7 | 438 | 4343 | 24890 | -    |
|                        | 90 | 368 | 1,4 | 442 | 4549 | 30410 | -    |
|                        | 99 | 371 | 1,4 | 442 | 4330 | 7709  | -    |
| <b>QX5<sup>b</sup></b> | 0  | 356 | 1,1 | 415 | 3994 | 588   | 0,08 |
|                        | 10 | 357 | 1,3 | 426 | 4537 | 1610  | -    |
|                        | 20 | 357 | 1,3 | 416 | 3973 | 793   | -    |
|                        | 30 | 357 | 1,4 | 413 | 3798 | 918   | -    |
|                        | 40 | 357 | 1,4 | 415 | 3915 | 1078  | -    |

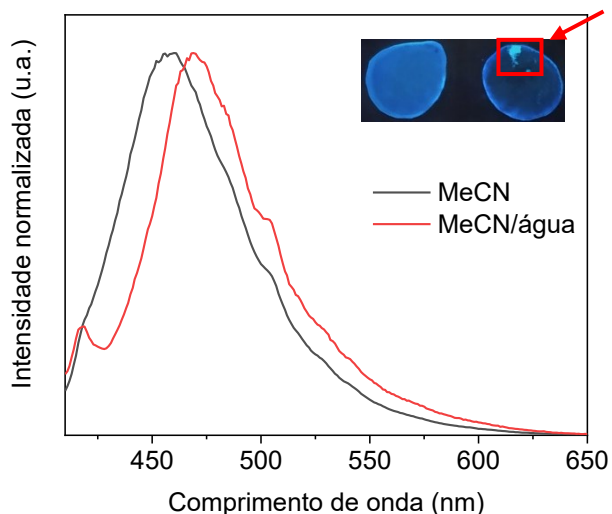
|                        |    |     |     |     |      |       |     |
|------------------------|----|-----|-----|-----|------|-------|-----|
|                        | 50 | 357 | 1,4 | 414 | 3857 | 1291  | -   |
|                        | 60 | 357 | 1,5 | 419 | 4145 | 1646  | -   |
|                        | 70 | 358 | 1,4 | 418 | 4010 | 2597  | -   |
|                        | 80 | 359 | 1,5 | 420 | 4046 | 4869  | -   |
|                        | 90 | 360 | 1,4 | 425 | 4248 | 9144  | -   |
|                        | 99 | 360 | 1,6 | 425 | 4248 | 11555 | -   |
| <b>QX6<sup>b</sup></b> | 0  | 392 | 1,4 | 463 | 3912 | 7797  | 4,6 |
|                        | 10 | 392 | 2,5 | 466 | 4051 | 11002 | -   |
|                        | 20 | 393 | 2,6 | 468 | 4078 | 10729 | -   |
|                        | 30 | 393 | 2,7 | 467 | 4032 | 10922 | -   |
|                        | 40 | 394 | 2,6 | 468 | 4013 | 10062 | -   |
|                        | 50 | 394 | 2,5 | 470 | 4104 | 9600  | -   |
|                        | 60 | 395 | 2,4 | 472 | 4130 | 9443  | -   |
|                        | 70 | 393 | 2,5 | 472 | 4259 | 8648  | -   |
|                        | 80 | 394 | 2,2 | 476 | 4372 | 7239  | -   |
|                        | 90 | 392 | 1,9 | 482 | 4763 | 5858  | -   |
|                        | 99 | 388 | 2,6 | 485 | 5155 | 7239  | -   |

<sup>a</sup> Misturas de MeCN/H<sub>2</sub>O; <sup>b</sup> Misturas de THF/H<sub>2</sub>O; <sup>c</sup> unidade: L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; valor x10<sup>4</sup>; <sup>d</sup> Deslocamento de Stokes; <sup>e</sup> Intensidade de fluorescência, unidade: u.a.; <sup>f</sup> Rendimento quântico de fluorescência relativo ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_F = 0,546$  em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M)

Adicionalmente, partir da observação do comportamento de AIE dos compostos estudados em soluções, foram analisados os filmes preparados em misturas de solventes. A Figura 28 mostra o espectro de fotoluminescência dos filmes de **QX1** preparados a partir de solução em MeCN pura e com fração de água. É possível perceber que houve um deslocamento batocrômico com adição de água, assim como observado nas soluções, entretanto, quanto à intensidade, não foi possível de ser observada pois a adição de água fez com que as moléculas se agregassem em uma região do filme (inserção da Figura 28, lado direito), o que dificultou o alcance do feixe

de luz do fluorímetro nos agregados concentrados, embora seja possível observar que nessa região a emissão é mais intensa.

**Figura 28** – Espectro de fluorescência dos filmes do composto **QX1** em MeCN e em MeCN/água; inserção: fotografia dos filmes sob luz UV (365 nm) destacando região de agregados

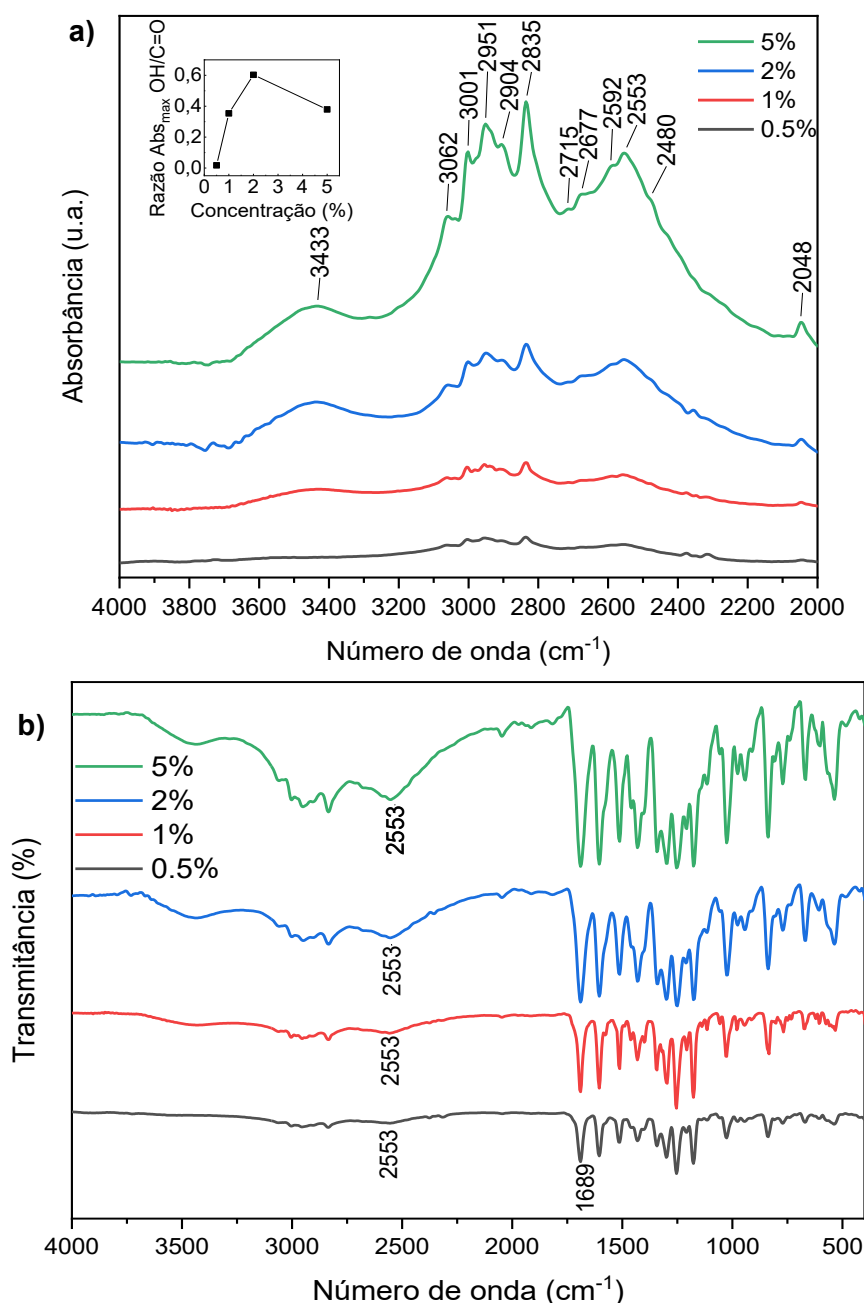


#### 4.2.3. Estudo da importância do ácido carboxílico para a emissão

A ligação de hidrogênio é uma característica importante na organização molecular e foi estudada em alguns AIEógenos como um facilitador de agregação [117,132]. As quinoxalinas estudadas no presente trabalho possuem ácido carboxílico como um sítio de ligação de H e é provável que gere melhor ligação com solventes nos estados fundamental e excitado, bem como dímeros e agregados em soluções mais concentradas e na fase sólida. Como um caso representativo, foi realizada a investigação da presença de ligação de H em **QX1** por espectroscopia de IV.

A presença de bandas de Fermi do alongamento e vibrações de flexão no plano de bandas O-H (banda larga centrada em  $3433\text{ cm}^{-1}$ , tipo A;  $\sim 2500\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ , tipo B; e  $2048\text{ cm}^{-1}$ , tipo C) é uma característica de ligação de H extensa na amostra [133]. O aumento nas bandas de Fermi foi observado com uma concentração crescente de **QX1** nas pastilhas de KBr. Os espectros de IV em diferentes concentrações de **QX1** (p/p 0,5%, 1%, 2% e 5%) são mostrados na Figura 29. Obviamente, o aumento da concentração leva a um aumento nas bandas de absorção. No entanto, as razões entre as absorvâncias em  $2553\text{ cm}^{-1}$  (H-O) e em  $2835\text{ cm}^{-1}$  (C-H) aumentaram quase linearmente com uma concentração maior do composto.

**Figura 29** – (a) Espectro de IV do composto **QX1** no modo absorvância em diferentes concentrações. Inserção: gráfico da razão entre a absorvância máxima da banda de OH e de C-H em função da concentração; (b) Espectro de IV de **QX1** no modo transmitância em diferentes concentrações

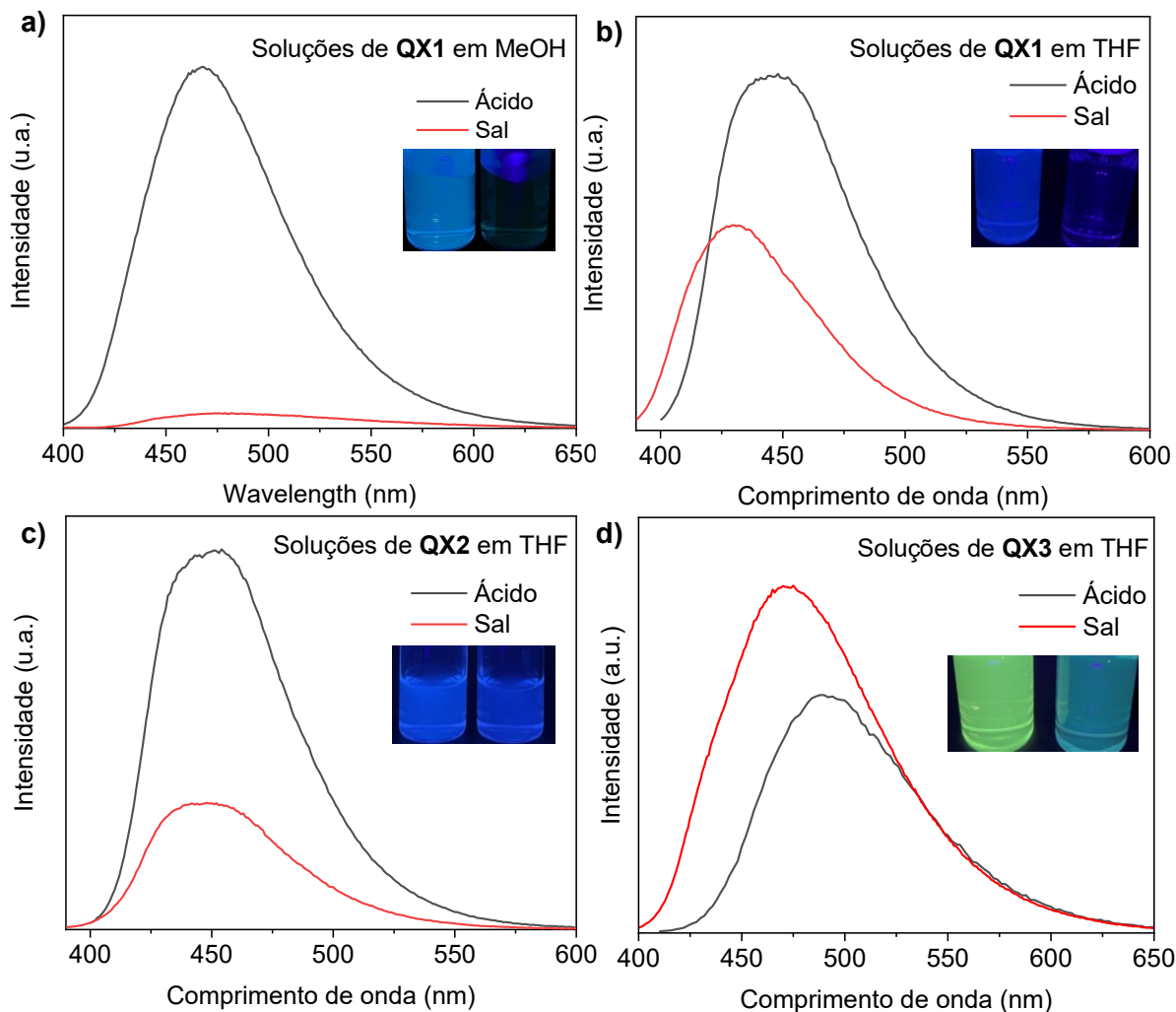


A fim de entender a influência direta do grupo ácido carboxílico nas propriedades ópticas desses compostos, foram conduzidas investigações dos sais de **QX1-3**. Uma vantagem dos grupos de ácido carboxílico é que os sais de potássio desses compostos podem ser facilmente obtidos a partir de reações ácido-base entre os ácidos e hidróxido de potássio em metanol. As espectroscopias de IV e RMN confirmaram a formação de seus sais. As bandas de absorção UV-vis (Figura A.102)

e de emissão (Figura 30) em THF foram deslocadas para o azul para todos os sais em relação ao respectivos ácidos.

O sal de potássio de **QX1** mostrou fluorescência muito fraca em metanol (Figura 30a). No THF, no entanto, o sal emitiu uma luz azul com banda de emissão centrada em 479 nm e  $\Phi_F = 7,3\%$ , mas menos emissiva do que **QX1** no mesmo solvente. Notavelmente, a cor de emissão verde de **QX3** é alterada para uma emissão de cor azul centrada em 471 nm para seu sal de potássio, juntamente com um aumento significativo na eficiência de emissão ( $\Phi_F = 24,5\%$ ). Uma possível explicação para essas mudanças azuis nos espectros de emissão dos sais em THF é que o ânion carboxilato se torce para fora do plano do sistema heteroaromático, diminuindo ou cessando o ICT no estado excitado [13].

**Figura 30** – Espectros de emissão de (a) **QX1** em MeOH; (b) **QX1**; (c) **QX2** e (d) **QX3** em THF em suas respectivas formas de ácido carboxílico e sal carboxilato. ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ )

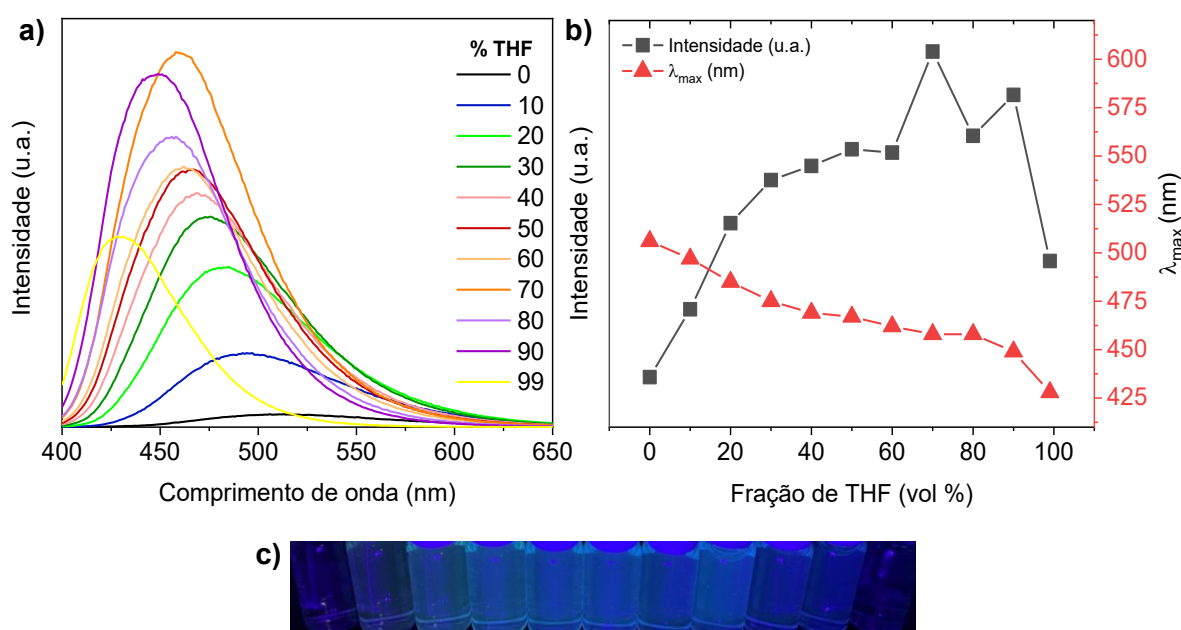


Uma vez que o sal do composto **QX1** apresentou maior eficiência de emissão no solvente aprótico não polar (THF) do que em metanol, foi avaliada a possibilidade de AIE no sal dos compostos estudados invertendo a lógica das misturas de solventes, empregando uma mistura água/THF com aumento das frações do solvente não polar. Devido à boa solubilidade em água, o sal de potássio de **QX1** foi escolhido para um experimento de AIE no qual aumentou-se as frações de THF ( $f_{THF}$ ) em sua solução aquosa (Figura 31).

Em água, que é um solvente prótico, o sal carboxilato de **QX1** é um emissor fraco com uma banda larga centrada em 515 nm. A intensidade de emissão foi aumentada significativamente com o aumento do  $f_{THF}$  devido à agregação das moléculas. Os agregados foram formados com um diâmetro médio de 502 nm, medido por DLS no  $f_{THF}$  90% (Figura A.103). A intensidade de fluorescência atingiu valor 21

vezes maior do que em 100% água, em um  $f_{\text{THF}}$  de 70%. As bandas de emissão, ao contrário de **QX1** na forma de ácido, mostraram um desvio para o azul de 494 nm para 448 nm com o aumento de  $f_{\text{THF}}$  de 10 para 90%. Assim, os agregados de sais são organizados em um microambiente menos polar com diminuição de ICT. [120] Quando  $f_{\text{THF}}$  ultrapassou 70%, a intensidade de emissão começou a declinar, e em um  $f_{\text{THF}}$  de 99%, ainda era 8 vezes maior do que em 100% de água, enquanto um desvio para o azul adicional para 428 nm foi observado na banda de emissão.

**Figura 31** – a) Espectro de fotoluminescência do sal do composto **QX1** em soluções de água/THF; b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de THF (vol %); c) fotografia das soluções sob lâmpada UV (360 nm)

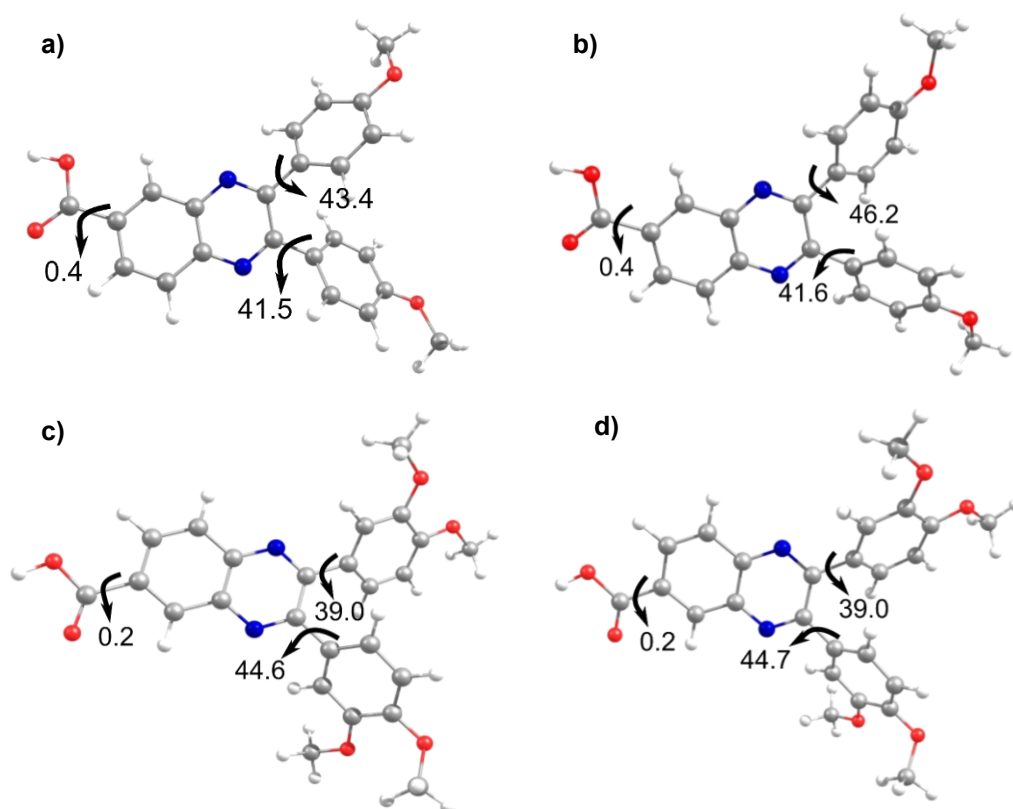


#### 4.2.4. Estudo teórico

Adicionalmente, estudos teóricos foram realizados para investigar a conformação dos compostos estudados usando o programa Gaussian 2009/D.01. A busca conformacional para a molécula **QX1** considerando efeitos de solvatação implícitos de soluções de acetonitrila e água deu estruturas otimizadas mostradas na Figura 32a e b. No composto **QX1**, os dois anéis 4-metoxifenil localizados na posição 2,3 da quinoxalina são torcidos do plano do núcleo do *N*-heterociclo por ângulos de cerca de 43,4° e 41,5° em acetonitrila e 46,2° e 41,6° em água. Também foram realizados os mesmos cálculos para uma estrutura mais simples de **QX3** considerando apenas substituintes metoxil em vez das longas cadeias alquílicas C-12, que chamamos de **QX3a** (Figura 32c e d). Os ângulos de torção entre os planos

dos dois substituintes arila e o núcleo quinoxalina são  $39,0^\circ$  e  $44,6^\circ$  em acetonitrila, e  $39,0^\circ$  e  $44,7^\circ$  em água. Não há mudanças significativas na geometria considerando os diferentes efeitos implícitos dos solventes, o que concorda com o solvatocromismo pouco pronunciado observado nos espectros de absorção UV desses compostos. O menor ângulo de intersecção entre o substituinte arila e o anel quinoxalina em **QX3a** corrobora a banda de desvio para o vermelho observada na absorção UV para a molécula **QX3** em comparação com a de **QX1**. Além disso, para ambos os casos estudados, os ângulos entre a carbonila do ácido carboxílico são quase coplanares ao anel quinoxalina.

**Figura 32** – Estruturas com ângulos de rotação da carbonila e dos grupos 2,3-diaril de **QX1** em (a) MeCN e (b) água, e **QX3** em (c) MeCN e (d) água



#### 4.2.5. Atividade biológica

##### 4.2.5.1. Atividade antimicrobiana

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das amostras sobre cepas bacterianas e fúngicas foram realizadas através da técnica de microdiluição em caldo [134] e os valores em µg/mL são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4** – Valores de CIM (em µg/mL) dos compostos **QX1-6** contra diferentes cepas de bactérias e fungos.

| Cepa/QX                          | CIM (µg/mL) |   |   |     |     |     | Cloranfenicol | Fluconazol |
|----------------------------------|-------------|---|---|-----|-----|-----|---------------|------------|
|                                  | 1           | 2 | 3 | 4   | 5   | 6   |               |            |
| <i>S. aureus</i> ATCC-13150      | 512         | + | + | 128 | 128 | 128 | 256           | X          |
| <i>S. epidermidis</i> ATCC-12228 | 512         | + | + | 128 | 128 | 128 | 256           | X          |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853  | +           | + | + | 256 | 128 | 128 | 256           | X          |
| <i>C. albicans</i> ATCC-76485    | 512         | + | + | 128 | 128 | 128 | X             | 64         |
| <i>C. albicans</i> LM-92         | 512         | + | + | 128 | 128 | 128 | X             | 128        |
| <i>C. tropicalis</i> ATCC-750    | 512         | + | + | 128 | 128 | +   | X             | 256        |
| <i>C. tropicalis</i> LM-77       | 512         | + | + | 128 | 128 | +   | X             | 256        |
| <i>A. flavus</i> ATCC-4603       | 512         | + | + | 512 | 256 | +   | X             | 512        |
| <i>A. flavus</i> LM-248          | 512         | + | + | 512 | 256 | +   | X             | 512        |
| <i>P. citrinum</i> INCQS-4001    | 512         | + | + | 512 | 256 | +   | X             | 512        |

(+): Sem inibição; (x): não aplicável

De um modo geral, todos os compostos analisados, exceto **QX2** e **QX3**, apresentaram atividade biológica sobre o crescimento das espécies de bactérias e de fungos, onde a CIM ficou estabelecida entre 128 a 512 µg/mL para os compostos ativos. A falta de atividade de **QX2** e **QX3** está diretamente relacionada à presença de longas cadeias alquílicas, que aumentam a lipofilicidade dessas moléculas, diminuindo a solubilidade no meio de análise e consequentemente afetando suas atividades.

O composto **QX1** foi igualmente ativo contra o crescimento de todos os microorganismos testados, com CIM de 512 µg/mL, exceto para *P. aeruginosa*, onde não houve inibição de crescimento. As estruturas unicelulares como as bactérias e leveduras apresentaram maior sensibilidade às moléculas **QX4**, **QX5** e **QX6** do que as estruturas pluricelulares como os fungos filamentosos, onde a maioria das CIMs foi de 128 µg/mL para bactérias e leveduras enquanto que para os fungos filamentosos foi de 512 µg/mL e 256 µg/mL para **QX4** e **QX5**, respectivamente, e sem inibição do crescimento frente ao composto **QX6**, assim como as cepas de *C. tropicalis* também não tiveram crescimento inibido por esse composto. Vale destacar que **QX4** e **QX5** apresentaram CIMs menores do que o fármaco de referência contra as cepas de *C. tropicalis*, e o composto **QX5** apresentou também CIM menor que o fluconazol contra

as cepas de fungos filamentosos *A. flavus* e *P. citrinum*. Sendo assim, todos os compostos apresentaram forte/ótima atividade antimicrobiana conforme critérios estabelecidos [135–137].

Estruturalmente, podemos afirmar que a substituição do grupo metoxila por metil ou bromo na posição 4 dos grupos arila ligados ao núcleo quinoxalina provocou uma melhora na atividade desses compostos contra bactérias e leveduras, assim como a substituição de metil por bromo aumentou a atividade antifúngica. Já a presença dos grupos tiofeno ao invés dos grupos arila prejudicou a atividade antifúngica, exceto contra *C. albicans*, onde **QX6** teve ótima atividade, com CIM de 128ug/mL assim como contra as bactérias testadas.

#### 4.2.5.1.1. Estudo computacional

##### 4.2.5.1.1.1. Desidroesqualeno sintase como alvo potencial para derivados de quinoxalina

Após a identificação da atividade antibacteriana, foi realizada uma investigação sobre o provável mecanismo de ação dos compostos **QX4** e **QX5**, identificados como mais promissores. A triagem virtual inversa (IVS, do inglês, *inverse virtual screening*), conforme detalhado na seção experimental, identificou a Dehidroesqualeno sintase (DQS, do inglês *Dehydrosqualene synthase*) como um alvo biológico potencial para os compostos analisados. A enzima DQS de *S. aureus* é a única variante presente no Protein Data Bank, categorizada em três códigos PDB distintos: PDB ID 2ZCR, PDB ID 2ZCS e PDB ID 3ACX. Para determinar o alvo ideal, métodos computacionais foram validados por meio de métricas de *redocking* e cálculos de chamariz, com resultados concisamente descritos na Tabela 5. O código PDB 2ZCS exibiu o valor RMSD mais favorável nos testes de *redocking*, exibindo uma baixa discrepância de 0,41 angstroms entre poses ancoradas e cristalográficas, juntamente com o maior valor de AUC nos testes de curva ROC. Isto sugere que o programa Vina discriminou eficazmente entre compostos ativos e chamarizes.

**Tabela 5** – Validação obtida para cálculo de redocking (RMSD) e Área sob a Curva (AUC) para curva ROC.

| Procedimento               | PDB ID 2ZCR | PDB ID 2ZCS | PDB ID 3ACX |
|----------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Redocking score (kcal/mol) | -10.0       | -10.1       | -9.5        |
| RMSD (Å)                   | 0.44        | 0.41        | 0.43        |
| AUC                        | 0.980       | 1.000       | 0.730       |

A proteína DQS é encontrada em bactérias como *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, enquanto em fungos como *C. albicans*, *C. tropicalis* e *A. flavus*, a Squalene sintase (SQS, do inglês, *Squalene synthase*) foi identificada. As estruturas 3D de DQS ou SQS de *S. epidermidis*, *C. albicans* e *C. tropicalis* foram obtidas do servidor AlphaFold. [138] No entanto, a falta de uma estrutura tridimensional resolvida para a enzima DQS nas espécies *P. aeruginosa* e *A. flavus* exigiu a implementação de modelagem comparativa que foi feita com o servidor SwissModel. Nossa investigação demonstrou que nossos modelos exibiram valores preditivos favoráveis, com cobertura substancial em regiões favoráveis (Figura A.125). Além disso, DQS exibe um domínio catalítico semelhante em todas as espécies antimicrobianas (Tabela A.4).

Um estudo recente de Furubayashi e colegas (2014) [139] investigou os aspectos evolutivos do SQS na biossíntese de desidroesqualeno. O SQS facilita a condensação cabeça-a-cabeça de duas moléculas de farnesil difosfato para produzir esqualeno. A relação evolutiva entre SQS e DQS, particularmente o DQS encontrado em *S. aureus* (CrtM), que está envolvido na síntese de pigmentos carotenoides, envolve a condensação de duas moléculas de farnesil difosfato em um intermediário de pirofosfato de presqualeno.[140] No entanto, o mecanismo de divergência entre SQS e CrtM durante a evolução permanece desconhecido. Os relatos da literatura incluem estudos de inibidores com foco na biossíntese de SQS e DQS,[141,142] com ênfase particular em sua significância como alvos potenciais para o tratamento de *S. aureus* resistente à metilina (MRSA).

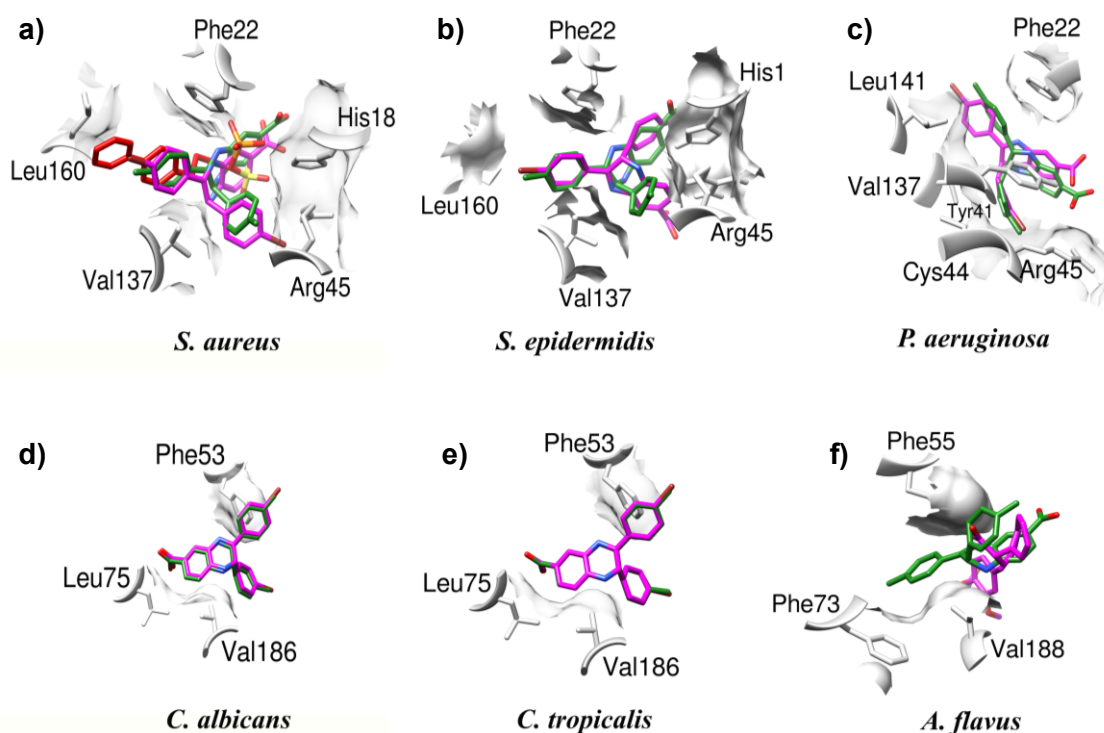
#### 4.2.5.1.1.2. Interações das enzimas DQS e SQS com **QX4** e **QX5**

Com base nesses estudos preliminares, os dois principais compostos identificados na triagem *in vitro*, **QX4** e **QX5**, foram submetidos ao *docking* molecular

com a enzima DQS em espécies bacterianas e a enzima SQS em espécies fúngicas. Os resultados estão resumidos na Tabela A.4.

Em relação às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis*, valores idênticos de pontuação de *docking* e interações são observados, atribuídos à conservação do sítio catalítico entre essas duas espécies. O composto **QX4** exibiu os melhores valores de interação com as espécies *Staphylococcus*. Vale ressaltar que os resíduos Arg45 e Val137 estão presentes tanto para o ligante PDB de *S. aureus* quanto para os compostos neste estudo. Além disso, observa-se que o resíduo Phe22 pode ser um resíduo adicional, presente apenas para os compostos neste estudo (Figura 33a e b).

**Figura 33** – Representação 3D das melhores poses para cada complexo estudado, onde o composto **QX4** é mostrado em verde, o composto **QX5** em magenta, o ligante PDB em vermelho e os resíduos de aminoácidos em cinza claro



Para *P. aeruginosa*, observa-se que o sítio ativo também é conservado e semelhante ao das espécies de *Staphylococcus*. Mais uma vez, o composto **QX4** apresentou os melhores valores de interação. Em relação aos aminoácidos envolvidos na interação, destacam-se resíduos comuns para os compostos, como Phe22, Cys44, Arg45, Val137 e Leu141 (Figura 33c). Dentre estes, pode-se observar que os resíduos Arg45 e Val137 também estão presentes nas espécies de *Staphylococcus*,

demonstrando interações-chave e um potencial mimetismo da atividade enzimática com o inibidor de PDB de *S. aureus*.

Em relação às espécies fúngicas, *C. albicans* e *C. tropicalis* também apresentam os mesmos resíduos de aminoácidos no sítio ativo, explicando as similaridades na interação com os compostos neste estudo. O composto **QX4** apresentou os melhores valores de interação. Dos resíduos comuns, podemos destacar Phe53, Leu75, Arg76 e Val186 como interações-chave com os compostos do estudo (Figura 33d, e). Para *A. flavus*, destacamos os resíduos Phe55, Val188 e Phe73 como fornecendo interações-chave com os compostos do estudo (Figura 33f), sendo o composto **QX4** o melhor perfil.

#### 4.2.5.2. Atividade anticâncer

O potencial citotóxico dos derivados de quinoxalinas foi avaliado contra as seguintes cepas de câncer: K-562 (leucemia mielóide crônica), H-1299 (carcinoma de pulmão), HL-60 (leucemia promielocítica) e HCT116 (câncer de cólon humano); e também contra a linhagens sadias MRC-5 (fibroblastos de pulmão humano).

Inicialmente, é realizado um estudo preliminar em concentração única (25µg L<sup>-1</sup>) e só passam para a etapa seguinte de análise os compostos capazes de inibir o crescimento das células tumorais em pelo menos 50%. Após essa triagem, foram selecionados apenas os compostos **QX4** e **QX6** para a etapa na qual se obtém o Cl<sub>50</sub>, que é a concentração necessária para causar 50% de inibição do crescimento das células tumorais estudadas.

O ensaio colorimétrico MTT foi empregado para avaliar a potência dos compostos e os resultados estão expostos na Tabela 6, onde a doxorrubicina foi usada como controle positivo e os valores de Cl<sub>50</sub> são expressos em concentração micromolar. Para a análise dos dados, foram adotados os seguintes critérios: alta atividade para compostos com Cl<sub>50</sub> ≤ 3 µM; boa atividade para compostos com 3 < Cl<sub>50</sub> ≤ 6 µM; atividade moderada para compostos com 6 < Cl<sub>50</sub> ≤ 12 µM; baixa atividade para compostos com 12 < Cl<sub>50</sub> ≤ 24 µM; e compostos com Cl<sub>50</sub> >24 µM foram considerados inativos.[143]

Os resultados obtidos mostram que ambos os compostos testados são considerados inativos conforme os critérios adotados, não apresentando valores de  $CI_{50}$  menores do que 25  $\mu M$  para nenhuma das linhagens testadas.

**Tabela 6** – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento ( $CI_{50}$ ) em  $\mu M$  e seu intervalo de confiança (IC) dos compostos **QX4** e **QX6** nas linhagens K-562, H-1299, HL-60, HCT116 e MRC-6

| Compostos                  | K-562                   | H1299                 | HL60                   | HCT116                 | MRC-5                  |
|----------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| $CI_{50}$ / IC ( $\mu M$ ) |                         |                       |                        |                        |                        |
| <b>QX4</b>                 | >70                     | >70                   | 31,24<br>24,08 a 40,54 | >70                    | 58,64<br>46,97 a 73,19 |
| <b>QX6</b>                 | 62,10<br>33,49 a 115,12 | >74                   | 54,58<br>38,88 a 76,60 | 63,55<br>42,69 a 94,62 | 35,98<br>17,57 a 73,64 |
| Dox                        | 0,79<br>0,48 a 1,32     | 13,38<br>8,57 a 20,88 | 0,02<br>0,02 a 0,07    | 1,64<br>0,33 a 8,03    | 0,75<br>0,51 a 1,12    |

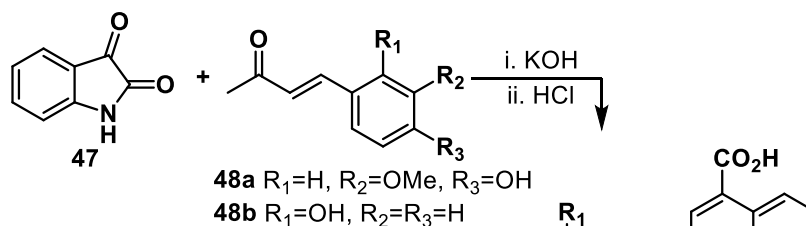
### 4.3. Quinolinas

#### 4.3.1. Síntese

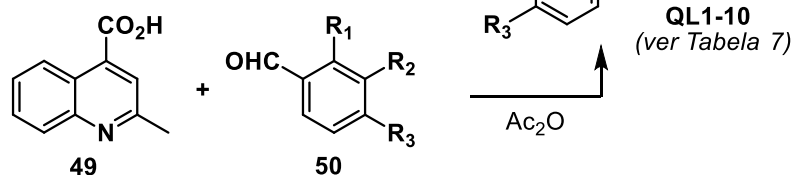
Os compostos finais **QL1-10** foram preparados de acordo com o Esquema 2. Foram empregadas duas metodologias diferentes: I) reação de Pfitzinger [144,145] entre isatina (**47**) e estiril metil cetonas (**48**); e II) reação de Knoevenagel entre ácido 2-metilquinolina-4-carboxílico (quinaldina, **49**) e benzaldeídos substituídos (**50**). [77] Os padrões de substituição no anel aromático e os resultados das reações são mostrados na Tabela 7. Os compostos foram classificados com base no tipo de seu principal grupo de substituição. A classificação foi feita usando letras maiúsculas de A a D. O grupo hidroxila foi designado como A, o grupo acetila como B, os grupos alcóxi de tamanhos variados de cadeia de carbono como C e o grupo nitro como D. Ambos os métodos foram empregados para obter as estirilquinolinas desejadas, no entanto, apresentamos o método de maior rendimento para cada composto. Compostos com grupo hidroxila livre, **QL1-A** e **QL2-A** deram melhores rendimentos usando a reação de Pfitzinger. Para todos os outros compostos, foi mais fácil isolar os produtos a partir da reação de Knoevenagel em comparação ao método de Pfitzinger. De todos os compostos sintetizados, todos da série B, **QL7-C** e **QL8-C** são inéditos.

## Esquema 2 – Síntese das quinolinas (QL1-10)

### Método I



### Método II



**Tabela 7** – Padrões de substituição e resultados para a síntese dos compostos **QL1-10**. A classificação A-D é baseada no tipo de seu grupo de substituição principal (em negrito)

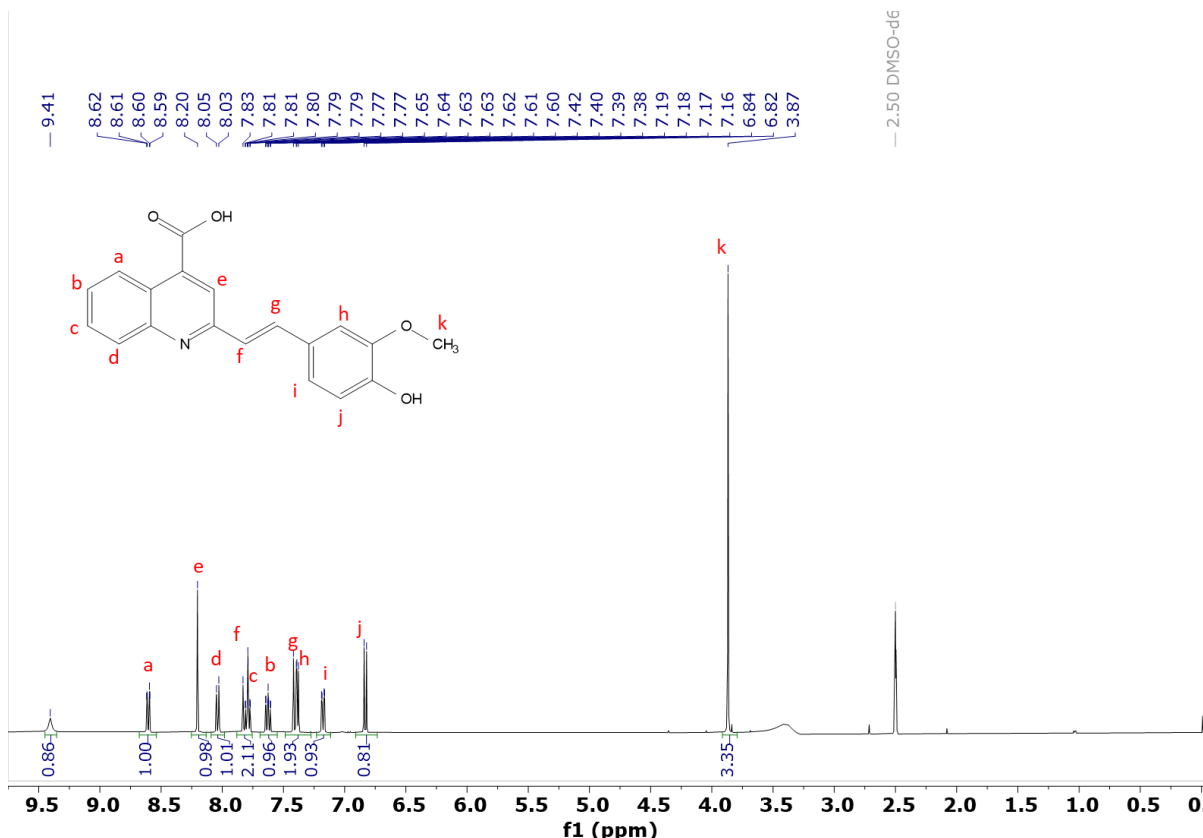
| Comp.-<br>classe | R <sub>1</sub>        | R <sub>2</sub>   | R <sub>3</sub>                      | Met. <sup>a,b</sup> | Rend. <sup>c</sup><br>(%) |
|------------------|-----------------------|------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------------|
| QL1-A            | H                     | OCH <sub>3</sub> | <b>OH</b>                           | I                   | 57                        |
| QL2-A            | <b>OH</b>             | H                | H                                   | I                   | 65                        |
| QL3-B            | H                     | OCH <sub>3</sub> | <b>OAc</b>                          | II                  | 43                        |
| QL4-B            | <b>OAc</b>            | H                | H                                   | II                  | 55                        |
| QL5-B            | H                     | H                | <b>OAc</b>                          | II                  | 58                        |
| QL6-C            | H                     | OCH <sub>3</sub> | <b>OCH<sub>3</sub></b>              | II                  | 84                        |
| QL7-C            | H                     | OCH <sub>3</sub> | <b>OC<sub>4</sub>H<sub>9</sub></b>  | II                  | 40                        |
| QL8-C            | H                     | OCH <sub>3</sub> | <b>OC<sub>8</sub>H<sub>17</sub></b> | II                  | 90                        |
| QL9-D            | <b>NO<sub>2</sub></b> | H                | H                                   | II                  | 74                        |
| QL10-D           | H                     | H                | <b>NO<sub>2</sub></b>               | II                  | 94                        |

<sup>a</sup> Os métodos I e II são reações de Pfitzinger e Knoevenagel, respectivamente. <sup>b</sup> o método de maior rendimento para cada composto; <sup>c</sup> rendimento isolado.

As estruturas químicas dos compostos finais foram completamente caracterizadas por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e HRMS e os espectros encontram-se nos apêndices. Os sinais de RMN de <sup>1</sup>H que confirmam o núcleo quinolínico (usando **QL1-A**, Figura 34, como representativo) são: um duplo dubleto em 8,6 ppm referente ao hidrogênio “a”, que é mais desblindado devido ao efeito de ressonância com a carbonila, com acoplamento *orto* com o hidrogênio “b” ( $J = 8,5$  Hz) e *meta* com o hidrogênio “c” ( $J = 2,0$  Hz); um singlete em 8,2 ppm referente ao hidrogênio “e”, um duplo dubleto em 8,0 ppm ( $J = 8,5, 1,7$  Hz) referente ao hidrogênio “d” que acopla em *orto* e *meta* com os hidrogênios “c” e “b”, respectivamente; um duplo duplo dubleto em 7,8 ppm ( $J = 8,5, 6,8, 1,7$  Hz) referente ao hidrogênio “c”, que acopla

com os hidrogênios “d”, “b” e “a”; outro duplo duplo dubleto em 7,6 ppm ( $J = 8,5, 6,8, 1,7$  Hz) referente ao hidrogênio “b” que acopla com os hidrogênios “a”, “c” e “d”.

**Figura 34** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do composto **QL1-A**



Além disso, todos os compostos finais foram caracterizados como *E*-estereoisômeros devido à constante de acoplamento  $J$  dos prótons insaturados com valores de 16,1 a 16,5 Hz nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ .

Para a síntese dos compostos **QL3-B** a **5-B**, vanilina, salicilaldeído e 4-hidroxibenzaldeído forneceram os produtos da reação de Knoevenagel com acetilação de grupos hidroxifenólicos devido ao anidrido acético usado como solvente. A acetilação foi confirmada pela presença de sinais singletos a 2,27-2,42 ppm nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  com uma área integrada de 3H e pelos sinais próximos a 20 ppm nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Todas as outras sínteses deram os produtos esperados sem nenhuma reação secundária.

#### 4.3.2. Propriedades ópticas

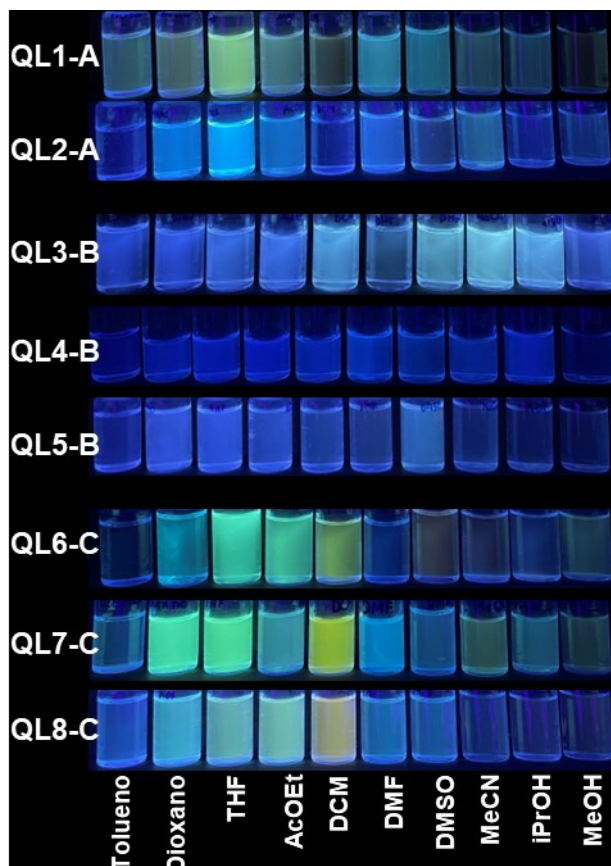
Uma das características físicas mais relevantes que acompanha a extensão do sistema conjugado  $\pi$ - $\pi$  em um *N*-heterociclo quinolina é a fotoluminescência. Assim,

investigamos as propriedades ópticas dos compostos finais em soluções de diferentes solventes. Para o estudo em meio aquoso, útil para aplicações de potencial biológico, exploramos a solvatação favorecida da estrutura molecular em água através da adição de uma base para reagir com o ácido carboxílico e pela adição de um ácido para reagir com o nitrogênio da quinolina. Apenas compostos contendo grupo nitro, **QL9-D** e **QL10-D** não foram luminescentes (Figura A.106). A causa é conhecida na literatura, devido à excitação de  $n-\pi^*$  do grupo nitro que suprime a emissão.[146]

#### 4.3.2.1. *Solvatocromismo*

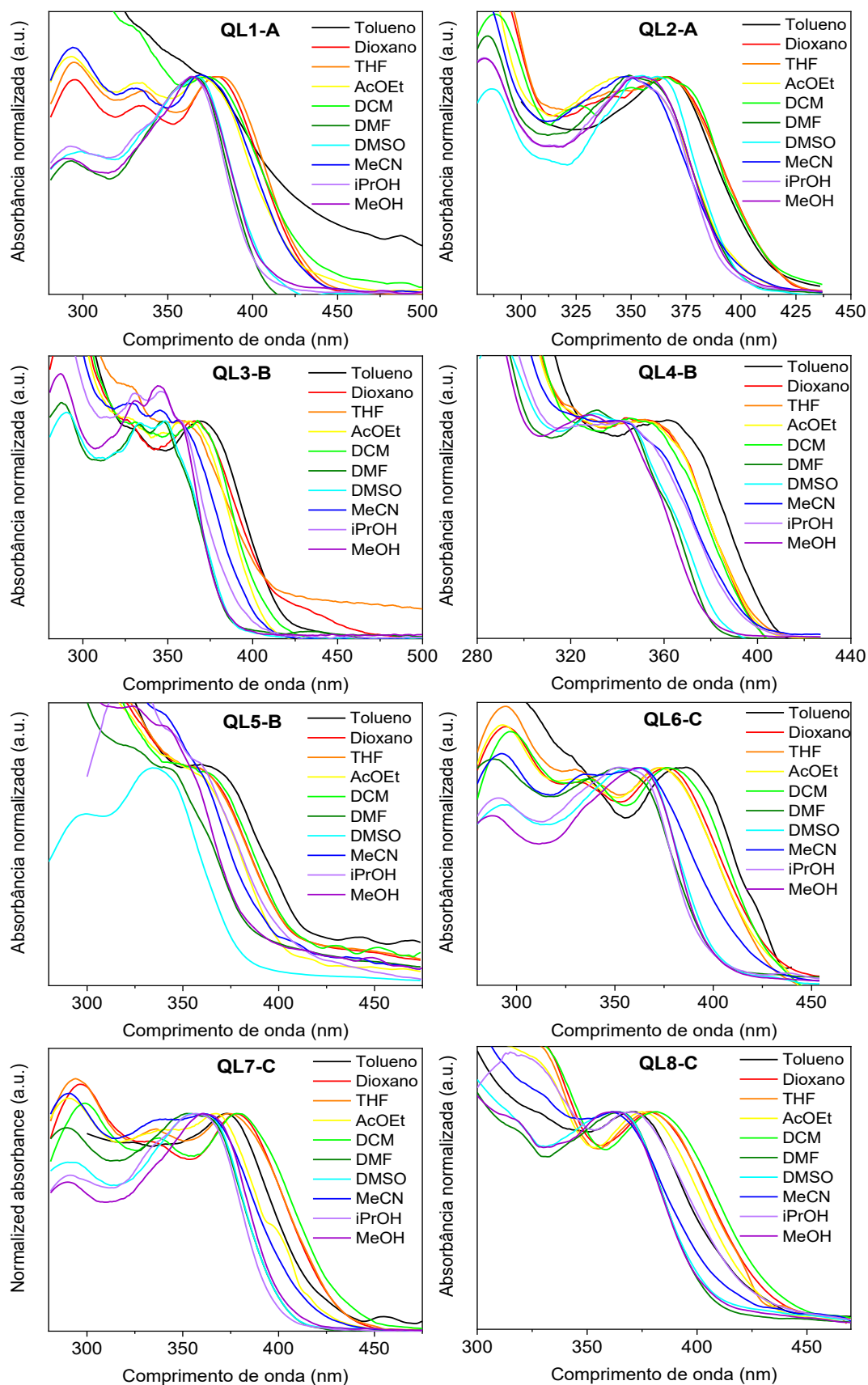
Os compostos **QL1-8** exibiram fotoluminescência em soluções ( $10^{-5}$  M) de uma variedade de solventes. Os solventes usados foram tolueno, 1,4-dioxano, tetrahydrofurano, acetato de etila, diclorometano, *N,N*-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrila, isopropanol e metanol. Os solventes foram ordenados de acordo com sua polaridade relativa usando a escala de polaridade empírica de Reichardt.[118] A cor da emissão foi muito afetada pelo tipo de solvente usado, sendo esse efeito observado de forma mais proeminente nos compostos com padrões de substituição de classificação **A** e **C** (Figura 35).

**Figura 35** – Fotografias das soluções dos compostos **QL1-8** em diferentes solventes sob lâmpada UV (365 nm)

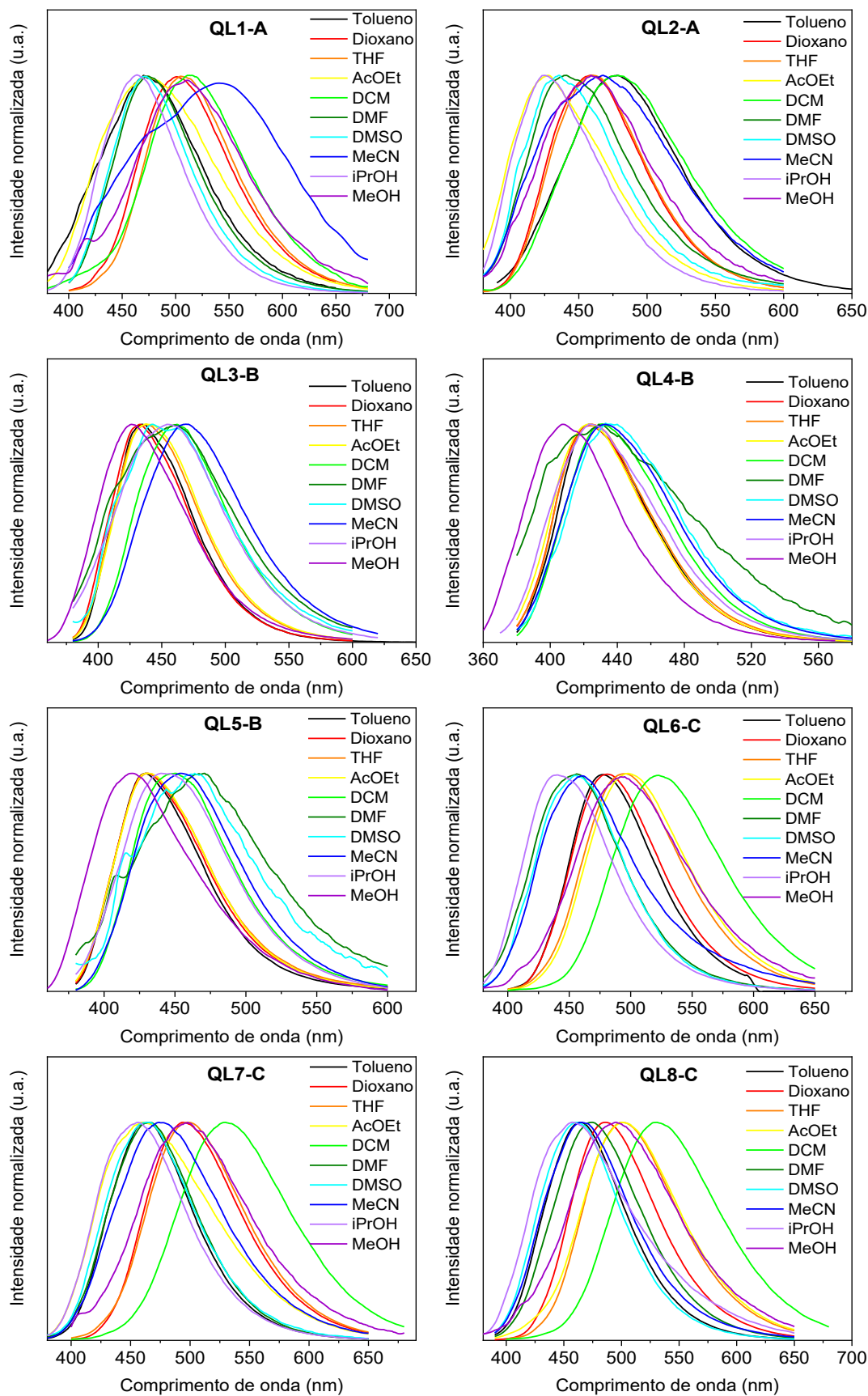


Foi possível observar, a partir das bandas de emissão de fluorescência e de absorção de UV (Figuras 36 e 37), que os compostos apresentaram solvatocromismo dependendo da estrutura química, seja em graus menores ou maiores. Os resultados estão resumidos na Tabela 7.

**Figura 36** – Espectros de UV-vis dos compostos **QL1-8** em diferentes solventes



**Figura 37** – Espectros de emissão dos compostos **QL1-8** em diferentes solventes ( $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ )



**Tabela 8** – Propriedades ópticas dos compostos **QL1-10** em diferentes solventes

|                       |                  | $\lambda_{\text{max,abs}}$ nm ( $\epsilon_{\text{max}} \times 10^3$ ) <sup>a</sup> | $\lambda_{\text{max,em}}$ (nm) | $\Delta\nu_{\text{st}}$ <sup>b</sup> (cm <sup>-1</sup> ) | $\Phi_{\text{F}}$ <sup>c</sup> (%) |
|-----------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <b>1A</b>             | Tolueno          | 336 (4,3) 373 (3,5)                                                                | 473                            | 5667                                                     | 8,4                                |
|                       | Dioxano          | 335 (3,5) 380 (4,1)                                                                | 501                            | 6357                                                     | 25,5                               |
|                       | THF              | 335 (3,8) 381 (4,1)                                                                | 506                            | 6483                                                     | 30,5                               |
|                       | AcOEt            | 333 (3,6) 370 (3,7)                                                                | 477                            | 6063                                                     | 17,8                               |
|                       | DCM              | 331 (4,5) 374 (3,7)                                                                | 515                            | 7323                                                     | 18,1                               |
|                       | DMF              | 366 (3,6)                                                                          | 476                            | 6313                                                     | 28,2                               |
|                       | DMSO             | 368 (3,7)                                                                          | 471                            | 5944                                                     | 18,2                               |
|                       | MeCN             | 330 (3,5) 373 (3,7)                                                                | 539                            | 8255                                                     | 2,2                                |
|                       | iPrOH            | 332 (2,7) 365 (3,6)                                                                | 462                            | 5750                                                     | 18,8                               |
|                       | MeOH             | 365 (3,6)                                                                          | 508                            | 7714                                                     | 1,7                                |
| <b>2A</b>             | Tolueno          | 366 (3,9)                                                                          | 478                            | 6402                                                     | 10,3                               |
|                       | Dioxano          | 367 (3,6)                                                                          | 459                            | 5461                                                     | 17,4                               |
|                       | THF              | 365 (3,6)                                                                          | 460                            | 5658                                                     | 23,0                               |
|                       | AcOEt            | 347 (4,1)                                                                          | 428                            | 5454                                                     | 6,5                                |
|                       | DCM              | 366 (3,6)                                                                          | 479                            | 6446                                                     | 10,0                               |
|                       | DMF              | 352 (3,9)                                                                          | 441                            | 5733                                                     | 7,1                                |
|                       | DMSO             | 358 (3,7)                                                                          | 436                            | 4997                                                     | 1,7                                |
|                       | MeCN             | 349 (4,2)                                                                          | 468                            | 7286                                                     | 4,4                                |
|                       | iPrOH            | 350 (4,1)                                                                          | 425                            | 5042                                                     | 5,1                                |
|                       | MeOH             | 356 (3,9)                                                                          | 459                            | 6303                                                     | 1,8                                |
| <b>3B</b>             | Tolueno          | 330 (3,6) 370 (3,7)                                                                | 435                            | 4039                                                     | 26,0                               |
|                       | Dioxano          | 329 (3,6) 365 (3,9)                                                                | 433                            | 4303                                                     | 29,4                               |
|                       | THF              | 330 (4,3) 360 (3,7)                                                                | 438                            | 4947                                                     | 26,1                               |
|                       | AcOEt            | 330 (3,7) 362 (3,6)                                                                | 439                            | 4845                                                     | 28,4                               |
|                       | DCM              | 332 (3,7) 367 (3,7)                                                                | 462                            | 5603                                                     | 30,4                               |
|                       | DMF              | 333 (5,4) 347 (5,5)                                                                | 456                            | 6889                                                     | 2,5                                |
|                       | DMSO             | 333 (5,4) 348 (5,5)                                                                | 453                            | 6661                                                     | 1,9                                |
|                       | MeCN             | 328 (4,3) 345 (4,2) 357 (4,0)                                                      | 470                            | 7709                                                     | 23,6                               |
|                       | iPrOH            | 330 (5,0) 345 (5,0) 358 (4,4)                                                      | 454                            | 6959                                                     | 21,5                               |
|                       | MeOH             | 330 (5,3) 344 (5,6) 357 (4,8)                                                      | 426                            | 5596                                                     | 12,6                               |
| <b>4B</b>             | Tolueno          | 360 (3,7)                                                                          | 423                            | 4137                                                     | 21,2                               |
|                       | Dioxano          | 355 (4,0)                                                                          | 424                            | 4584                                                     | 16,9                               |
|                       | THF              | 353 (4,0)                                                                          | 425                            | 4799                                                     | 15,7                               |
|                       | AcOEt            | 352 (4,2)                                                                          | 423                            | 4768                                                     | 16,8                               |
|                       | DCM              | 350 (4,3)                                                                          | 431                            | 5370                                                     | 17,8                               |
|                       | DMF              | 331 (1,9) 342 (7,0)                                                                | 429                            | 5930                                                     | 1,5                                |
|                       | DMSO             | 329 (1,7) 342 (6,4)                                                                | 433                            | 6145                                                     | 2,3                                |
|                       | MeCN             | 341 (4,9)                                                                          | 433                            | 6231                                                     | 13,7                               |
|                       | iPrOH            | 340 (5,2)                                                                          | 424                            | 5827                                                     | 16,1                               |
|                       | MeOH             | 329 (2,2) 340 (8,1)                                                                | 408                            | 4902                                                     | 4,0                                |
| Sal de K de <b>4B</b> | THF              | 342 (0,9) 360 (3,7)                                                                | 462                            | 6133                                                     | 16,8                               |
|                       | MeOH             | 348 (1,0) 356 (3,9)                                                                | 458                            | 6256                                                     | 2,0                                |
| <b>5B</b>             | H <sub>2</sub> O | 348 (1,0) 356 (3,9)                                                                | -                              | -                                                        | -                                  |
|                       | Tolueno          | 366 (3,6)                                                                          | 429                            | 4012                                                     | 13,4                               |
|                       | Dioxano          | 358 (3,8)                                                                          | 430                            | 4677                                                     | 13,6                               |
|                       | THF              | 358 (3,8)                                                                          | 431                            | 4731                                                     | 11,0                               |
|                       | AcOEt            | 352 (4,0)                                                                          | 431                            | 5207                                                     | 14,0                               |
|                       | DCM              | 356 (3,7)                                                                          | 450                            | 5868                                                     | 11,5                               |
|                       | DMF              | 342 (5,5)                                                                          | 471                            | 8008                                                     | 1,5                                |
|                       | DMSO             | 336 (8,2)                                                                          | 464                            | 8210                                                     | 1,0                                |
|                       | MeCN             | 322 (5,9) 342 (5,1) 358 (4,2)                                                      | 454                            | 7385                                                     | 8,2                                |
|                       | iPrOH            | 325 (5,9) 345 (4,5) 361 (4,0)                                                      | 440                            | 6342                                                     | 13,2                               |
|                       | MeOH             | 325 (6,5) 342 (6,0) 354 (5,1)                                                      | 420                            | 5516                                                     | 4,5                                |

|            |         |                     |     |      |      |
|------------|---------|---------------------|-----|------|------|
| <b>6C</b>  | Tolueno | 385 (3,6)           | 476 | 4966 | 22,2 |
|            | Dioxano | 333 (3,5) 376 (3,7) | 481 | 5806 | 34,6 |
|            | THF     | 333 (3,7) 373 (3,8) | 495 | 6608 | 34,4 |
|            | AcOEt   | 334 (3,7) 374 (3,9) | 499 | 6698 | 30,1 |
|            | DCM     | 339 (3,9) 377 (4,0) | 521 | 7331 | 24,3 |
|            | DMF     | 352 (4,0)           | 457 | 6527 | 7,1  |
|            | DMSO    | 364 (3,7)           | 458 | 5638 | 4,5  |
|            | MeCN    | 335(3,6) 362 (3,7)  | 458 | 5790 | 6,5  |
|            | iPrOH   | 354 (3,8)           | 437 | 5365 | 14,2 |
|            | MeOH    | 362 (3,7)           | 490 | 7216 | 3,3  |
| <b>7C</b>  | Tolueno | 372 (3,8)           | 479 | 6297 | 31,8 |
|            | Dioxano | 335 (3,6) 378 (4,2) | 494 | 6212 | 44,4 |
|            | THF     | 337 (3,6) 374 (3,8) | 498 | 6658 | 34,5 |
|            | AcOEt   | 338 (3,4) 367 (3,6) | 459 | 5461 | 20,6 |
|            | DCM     | 337 (3,7) 379 (4,2) | 530 | 7517 | 15,7 |
|            | DMF     | 354 (3,7)           | 467 | 6835 | 19,3 |
|            | DMSO    | 357 (3,7)           | 464 | 6459 | 7,2  |
|            | MeCN    | 338 (3,6) 361 (3,7) | 474 | 6604 | 11,4 |
|            | iPrOH   | 357 (3,8)           | 456 | 6081 | 15,8 |
|            | MeOH    | 361 (3,7)           | 498 | 7621 | 3,3  |
| <b>8C</b>  | Tolueno | 371 (3,7)           | 464 | 5402 | 31,3 |
|            | Dioxano | 379 (4,1)           | 486 | 5809 | 37,0 |
|            | THF     | 377 (4,0)           | 500 | 6525 | 32,0 |
|            | AcOEt   | 375 (3,9)           | 501 | 6707 | 28,8 |
|            | DCM     | 381 (4,2)           | 531 | 7414 | 15,2 |
|            | DMF     | 365 (3,6)           | 475 | 6345 | 30,0 |
|            | DMSO    | 364 (3,6)           | 461 | 5781 | 35,1 |
|            | MeCN    | 362 (3,7)           | 465 | 6119 | 6,9  |
|            | iPrOH   | 371 (3,7)           | 457 | 5072 | 8,0  |
|            | MeOH    | 363 (3,6)           | 495 | 7346 | 3,2  |
| <b>9D</b>  | DCM     | 360 (3,7)           | 442 | 5153 | 0,2  |
| <b>10D</b> | AcOEt   | 358 (3,8)           | -   | -    | 0,1  |

<sup>a</sup> Unidade: L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, valor x10<sup>4</sup>; <sup>b</sup> Deslocamento de Stokes; <sup>c</sup> Rendimento quântico de fluorescência relativo ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_F = 0,546$  em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M)

As bandas de absorção de energia mais baixas são atribuídas a transições de transferência de carga intramolecular (ICT) devido aos seus altos coeficientes de absorção molar e uma arquitetura D- $\pi$ -A. Em geral, os compostos exibiram um solvatocromismo negativo nos espectros de absorção. Os valores máximos das bandas tiveram variação de até 25 nm para cada composto. É interessante notar que o metanol, um solvente polar prótico, apresentou em todos os casos bandas de absorção deslocadas para o azul comparando-se às observadas em THF. Este deslocamento para o azul é indicativo da relevância das interações de pares de elétrons não ligantes com o núcleo aromático.[114] Nas séries **A** e **B**, as bandas de energia mais baixas dos compostos com um substituinte *orto* (**QL2-A** e **QL4-B**) foram deslocadas para o azul na maioria dos solventes estudados, quando comparados aos outros compostos. As diferenças observadas nas bandas de absorção na série **C**

podem ser explicadas pelas diferenças no tamanho da cadeia alifática nos substituintes alcóxi e suas diferentes interações em meios de diferentes polaridades.

Por outro lado, o comprimento de onda máximo das bandas de emissão para todos os compostos mostrou uma distribuição mais aleatória. Os comprimentos de onda de emissão máximos médios foram 473 nm, 440 nm e 481 nm para as séries **A**, **B** e **C**, respectivamente. O solvatocromismo na emissão é bastante evidente em compostos contendo o grupo metoxi localizado na posição 3 no anel aromático da unidade estirila. Em comparação, esses compostos (**QL1-A**, **QL3-B** e todos da série **C**) exibiram bandas de emissão com desvio para o vermelho e também os maiores rendimentos quânticos (Tabela 7). A série B mostrou um desvio para o azul na emissão quando comparada apenas aos solventes extremos tolueno e metanol. No entanto, os espectros têm um desvio para o vermelho significativo de soluções de dioxano para acetonitrila.

Os rendimentos quânticos de fotoluminescência foram obtidos em relação ao padrão de sulfato de quinina. Os valores variaram significativamente com os solventes. De modo geral, as soluções de solventes menos polares exibiram maiores rendimentos quânticos. Por exemplo, **QL7-C** em dioxano deu  $\Phi_F$  de 44,4%. O metanol, solvente polar prótico, ao contrário, mostrou os menores valores de rendimento quântico em todas as séries.

Para a maioria dos compostos, os gráficos do parâmetro de polaridade do solvente empírico  $E_T(30)$  [147] e Lippert-Mataga [148,149] não mostraram uma relação linear satisfatória. Para a série A, por exemplo, o coeficiente de regressão ( $R^2$ ) deu valores de 0,04 a 0,21 em ambos os estudos (Figura A.110). Quando removemos os pontos de isopropanol e metanol dos gráficos da função  $E_T(30)$  para a série **B**, a correlação linear melhorou (Figura 38). Este resultado é um indicativo de que a ligação de hidrogênio pode estar causando um efeito mais complexo no efeito geral do solvente investigado. Além disso, a série **B** mostrou o melhor coeficiente de regressão nos gráficos de Lippert-Mataga. O  $R^2$  de 0,6757 para **QL3-B** é um exemplo. Nesses casos, correlações relativamente melhores indicam uma importância dominante do efeito geral do solvente em compostos da série **B**. [18]

Além disso, o solvatocromismo exibido pelos compostos finais foi estudado por uma abordagem multiparâmetro usando parâmetros de solvente de Catalán.[150]

Nessa abordagem, o efeito de diversos parâmetros de solvente nos espectros de absorção e emissão pode ser descrito por uma expressão multilinear (Equação 4):

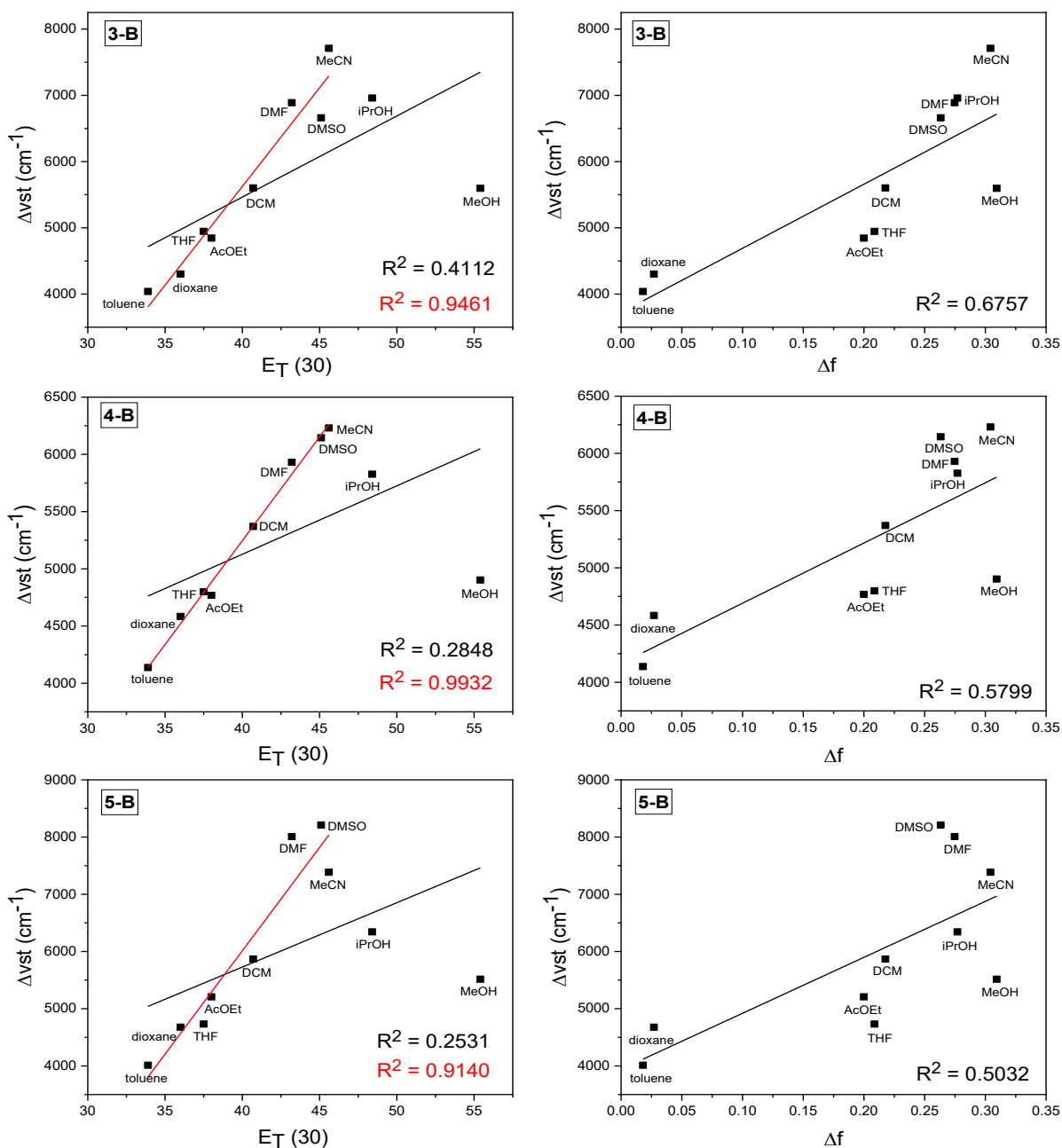
$$y = y_0 + C_a a + C_b b + C_c c \dots \quad \text{(Equação 4)}$$

Onde  $y$  é o valor previsto da propriedade fotofísica sob triagem,  $y_0$  é a intersecção e pode significar a propriedade fotofísica de interesse na fase gasosa, e  $C_a$ ,  $C_b$  e  $C_c$  são valores de coeficientes ajustáveis para cada descritor de solvente  $a$ ,  $b$  e  $c$ .

A abordagem multiparâmetro usando o método Catalán foi realizada aplicando a Equação 8:

$$y = y_0 + C_{SP}SP + C_{SdP}SdP + C_{SA}SA + C_{SB}SB \quad \text{(Equação 8)}$$

**Figura 38** – (Esquerda) Função  $E_T(30)$  (linha preta, coeficiente de regressão  $R^2$  em preto considerando todos os solventes; linha vermelha,  $R^2$  em vermelho sem isopropanol e metanol) e (Direita) gráficos de Lippert-Mataga dos compostos da série B



A relação entre parâmetros do solvente, como polarizabilidade ( $SP$ ), dipolaridade ( $SdP$ ), acidez ( $SA$ ) e basicidade ( $SB$ ), e o número de onda observado (cm<sup>-1</sup>) dos máximos de absorção ( $\nu_{abs}$ ) e emissão ( $\nu_{em}$ ) e deslocamento de Stokes ( $\Delta\nu_{st}$ ), foram analisados por meio de uma regressão multilinear. Os coeficientes calculados de cada descritor de solvente ( $C_{SP}$ ,  $C_{SdP}$ ,  $C_{SA}$ , e  $C_{SB}$ ), coeficientes de

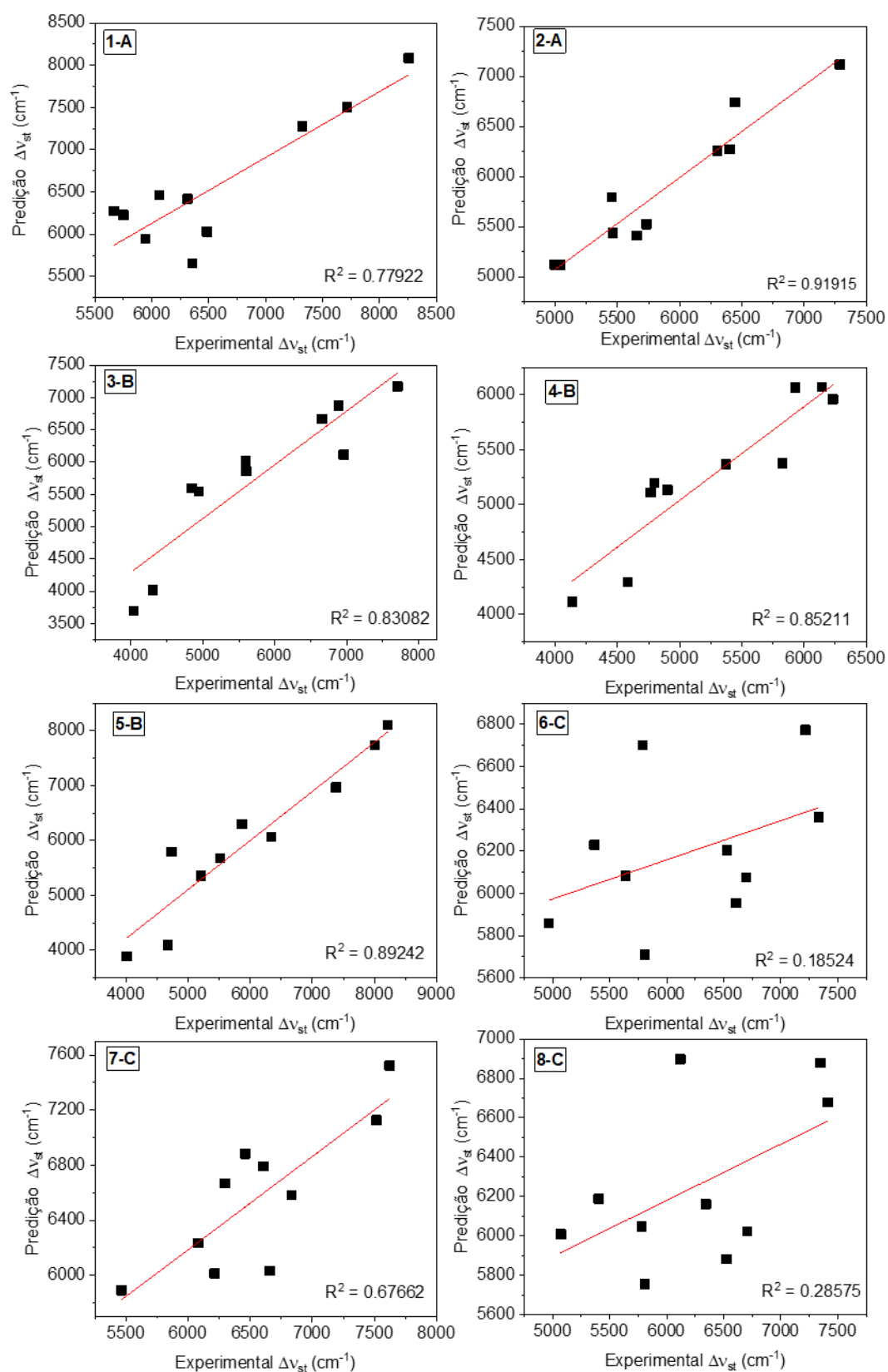
correlação ( $R$ ) e significância estatística ( $F$ ) na análise de solvatocromismo dos compostos **QL1-8** são mostrados na Tabela 8. Os gráficos de correlação entre propriedades fotofísicas experimentais com os valores previstos obtidos por uma regressão linear multicomponente usando a escala Catalán são mostrados na Figura 39.

**Tabela 9** – Coeficientes calculados ( $y_0$ ,  $C_{SP}$ ,  $C_{SdP}$ ,  $C_{SA}$ , and  $C_{SB}$ )<sup>a</sup>, coeficientes de correlação ( $R$ ), e significância ( $F$ ) para a análise de regressão multilinear das propriedades fotofísicas de **QL1-8** ( $\nu_{abs}$ ,  $\nu_{em}$ , and  $\Delta\nu_{st}$ )<sup>b</sup>, usando parâmetros de solvente de Catalán<sup>c</sup>

| Comp.        |                  | $y_0$    | $C_{SP}$ | $C_{SdP}$ | $C_{SA}$ | $C_{SB}$ | $R$         | $F^d$ |
|--------------|------------------|----------|----------|-----------|----------|----------|-------------|-------|
| <b>QL1-A</b> | $\nu_{abs}$      | 25633.89 | 827.22   | 624.93    | 1053.35  | 277.31   | <b>0.75</b> | 0.304 |
|              | $\nu_{em}$       | 14835.64 | 3889.50  | -1478.08  | 851.38   | 3278.12  | <b>0.74</b> | 0.323 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 10789.80 | -6049.50 | 2102.73   | 207.20   | -3002.77 | <b>0.88</b> | 0.067 |
| <b>QL2-A</b> | $\nu_{abs}$      | 31046.66 | -5788.15 | 1245.20   | -1442.68 | 633.54   | <b>0.84</b> | 0.137 |
|              | $\nu_{em}$       | 21250.68 | -1418.03 | 106.97    | -1315.27 | 3999.95  | <b>0.89</b> | 0.059 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 9797.07  | -4371.53 | 1138.65   | -128.08  | -3367.23 | <b>0.96</b> | 0.006 |
| <b>QL3-B</b> | $\nu_{abs}$      | 24584.40 | 2243.07  | 1525.49   | -182.36  | 1222.14  | <b>0.93</b> | 0.022 |
|              | $\nu_{em}$       | 22276.27 | 1758.31  | -2440.10  | 2521.62  | 800.43   | <b>0.86</b> | 0.094 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 5027.68  | -3336.88 | 4448.61   | -1788.01 | 135.81   | <b>0.91</b> | 0.036 |
| <b>QL4-B</b> | $\nu_{abs}$      | 27815.16 | -784.44  | 1753.41   | 592.59   | 405.16   | <b>0.96</b> | 0.004 |
|              | $\nu_{em}$       | 24355.68 | -613.02  | -894.06   | 1886.34  | 97.86    | <b>0.93</b> | 0.020 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 3458.88  | -170.85  | 2648.07   | -1293.48 | 306.77   | <b>0.92</b> | 0.026 |
| <b>QL5-B</b> | $\nu_{abs}$      | 22312.05 | 5913.86  | 1631.22   | -65.11   | 1151.91  | <b>0.87</b> | 0.078 |
|              | $\nu_{em}$       | 27265.27 | -3918.54 | -2772.6   | -2155.99 | -76.95   | <b>0.94</b> | 0.014 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | -946.44  | 4162.37  | 5210.78   | -1726.44 | 783.34   | <b>0.94</b> | 0.012 |
| <b>QL6-C</b> | $\nu_{abs}$      | 26102.49 | -1333    | 1821.05   | -47.76   | 1522.80  | <b>0.90</b> | 0.046 |
|              | $\nu_{em}$       | 18907.11 | 604.77   | 824.21    | -557.27  | 2353.64  | <b>0.54</b> | 0.725 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 7196.72  | -1938.71 | 995.80    | 509.27   | -830.73  | <b>0.43</b> | 0.877 |
| <b>QL7-C</b> | $\nu_{abs}$      | 25406.88 | 386.85   | 1502.69   | 262.22   | 1114.99  | <b>0.82</b> | 0.172 |
|              | $\nu_{em}$       | 21306.29 | -2475.14 | 266.91    | -2023.38 | 2650.96  | <b>0.63</b> | 0.564 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 4015.25  | 3283.58  | 1062.61   | 2438.57  | -1695.33 | <b>0.82</b> | 0.160 |
| <b>QL8-C</b> | $\nu_{abs}$      | 25777.55 | 531.00   | 1177.42   | 760.64   | -240.64  | <b>0.70</b> | 0.410 |
|              | $\nu_{em}$       | 18446.55 | 2099.05  | 123.46    | -11.29   | 1446.31  | <b>0.33</b> | 0.951 |
|              | $\Delta\nu_{st}$ | 7330.21  | -1567.89 | 1054.61   | 771.01   | -1686.42 | <b>0.53</b> | 0.739 |

<sup>a</sup>  $y_0$  = Interseção,  $C_x$  = coeficientes para descritores de solventes de Catalán (SP = polarizabilidade; SdP = dipolaridade; SA = acidez; SB = basicidade); <sup>b</sup>  $\nu_{abs}$ ,  $\nu_{em}$  são números de onda de absorção e emissão máximos, respectivamente.  $\Delta\nu_{st}$  = Deslocamento de Stokes ( $\text{cm}^{-1}$ ); <sup>c</sup> para valores do descritor de solvente, ver Tabela A2; <sup>d</sup>  $F$  é a significância estatística (valor  $p$  da estatística de Fisher).

**Figura 39** – Gráficos de correlação entre propriedades fotofísicas experimentais com os valores previstos obtidos por uma regressão linear multicomponente usando a escala Catalán para os compostos **QL** estudados



Os resultados obtidos na análise de  $\Delta v_{st}$  para **QL1-A** e **QL2-A** são quantitativamente semelhantes, embora apenas **QL2-A** tenha significância estatística em todos os parâmetros ( $F < 5\%$ ) e um bom coeficiente de correlação de 0,96. Altos valores negativos de  $C_{SP}$  e  $C_{SB}$  foram observados na análise de  $\Delta v_{st}$  para **QL2-A**, com contribuições relativas de 49% e 37% da polarizabilidade e basicidade do solvente, respectivamente. Os efeitos proeminentes da basicidade do solvente sobre  $\Delta v_{st}$  na série **A** podem ser racionalizados pela presença do grupo fenol. As características do doador de elétrons dos grupos OH nas posições *orto* e *para* no anel aromático podem ser diretamente afetadas pelo processo de desprotonação/protonação, bem como pela distribuição de elétrons por toda a molécula.

Curiosamente, a série **B** exibiu em geral melhores resultados de ajuste para todas as propriedades fotofísicas na análise de regressão linear múltipla. Apenas os resultados para  $v_{em}$  de **QL3-B** e  $v_{abs}$  de **QL5-B** não são estatisticamente relevantes. A dipolaridade e acidez do solvente têm maiores contribuições relativas ao solvatocromismo na fluorescência exibida por **QL3-B**, **QL4-B** e **QL5-B**. Os  $v_{st}$  na série **B** com grupos O-acetil são muito menos afetados pela basicidade do solvente do que o composto análogo **QL2-A** com grupo OH livre do fenol. Na análise de  $v_{abs}$  de **QL3-B**, os maiores coeficientes foram obtidos para polarizabilidade e dipolaridade do solvente (43% e 30% de contribuição relativa dos parâmetros, respectivamente), seguidos pela basicidade do solvente (24%), que pareceu ter um papel mais importante na banda de absorção na série **B**. Comparando os resultados obtidos na análise de  $v_{em}$  de **QL4-B** e **QL5-B** é possível observar uma maior dependência da acidez do solvente quando o grupo acetila está localizado na posição *orto* em vez da posição *para*. As contribuições relativas do coeficiente do parâmetro na análise de  $v_{em}$  de **QL4-B** foram de 54% para  $C_{SA}$ , 25% para  $C_{SdP}$ , 17% para  $C_{SP}$  e 4% para  $C_{SB}$ , e de **QL5-B** foram de 44% para  $C_{SP}$ , 31% para  $C_{SdP}$ , 24% para  $C_{SA}$  e 1% para  $C_{SB}$ . Na análise de  $v_{st}$ , o parâmetro de dipolaridade é responsável por cerca de 60% do efeito total observado no solvatocromismo de **QL4-B**, enquanto a acidez explica outros 29% do efeito e os 11% restantes são de polarizabilidade e basicidade. As acetil esterilquinolinas *para*-substituídas **QL3-B** e **QL5-B** deram resultados quantitativamente semelhantes, reforçando a dipolaridade como o principal parâmetro

contribuinte nos deslocamentos de Stokes observados para a série **B**, seguidos pela polarizabilidade e acidez.

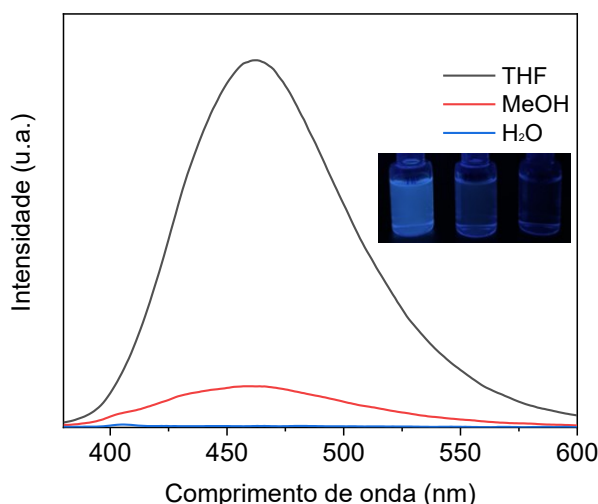
A maioria dos resultados da regressão multilinear obtidos para compostos da série **C** não são estatisticamente relevantes. A exceção foi a análise de  $\nu_{\text{abs}}$  de **QL6-C**, que apresentou um bom coeficiente de correlação de 0,90 e significância abaixo de 5%. O impacto dos parâmetros do solvente no solvatocromismo nos espectros de absorção desta 3,4-dialcoxifenilestirilquinolina foi quantitativamente semelhante ao observado para o estruturalmente análogo **QL3-B** (as contribuições relativas do coeficiente do parâmetro são 38% para  $C_{\text{SDP}}$ , 32% para  $C_{\text{SB}}$ , 28% para  $C_{\text{SP}}$  e 2% para  $C_{\text{SA}}$ ).

#### 4.3.2.2. *Propriedades do sal de QL4-B*

Todos os compostos apresentaram baixa solubilidade em água. Portanto, exploramos o grupo ácido carboxílico como um facilitador para dissolver em um meio aquoso básico a fim de verificar se ele poderia aumentar a solubilidade e manter a propriedade de fluorescência. Ao adicionar uma solução aquosa de KOH a 10% aos pós dos compostos, a solubilização é imediata. As bandas de absorção de UV de menor energia para o sal de **QL4-B** em solução atingiram o pico em torno de 342 a 348 nm, com uma banda mais ampla em THF do que aquelas obtidas em MeOH e água (Figura A.111a). No entanto, a fluorescência do sal em água caiu notavelmente, oposto ao que ocorre quando os sais são dissolvidos em THF ou metanol. Por exemplo, **QL4-B** em seu sal de potássio mostrou uma forte banda de emissão em 462 nm em THF. No metanol, essa emissão é significativamente reduzida em 8 vezes

(Tabela 7). Na água, apenas ruído foi registrado no espectro de fluorescência (Figura 40).

**Figura 40** – Espectros emissão de **QL4-B** em sua forma de sal de potássio em diferentes solventes (THF, metanol e água.  $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Inserção: fotografias de frascos contendo as soluções sob irradiação de luz UV (365 nm).



Os testes de solubilidade também foram realizados em meio ácido. O nitrogênio quinolina é um sítio comum para a protonação.[151] A solubilidade em água de todos os compostos aumentou após a mistura dos pós com uma solução aquosa de HCl a 10%. Com base em nossos testes, descobrimos que os compostos pertencentes à série **B**, particularmente **QL4** e **QL5**, apresentaram alterações significativas na emissão de cor à medida que transitavam de soluções neutras para soluções ácidas. No entanto, a eficiência de emissão foi baixa quando os estudos foram realizados apenas em água, como também ocorreu no meio básico. O aumento das vias de decaimento não radiativo na água pode explicar essas observações, mas também as soluções extremamente básicas e ácidas empregadas nesses testes, como explorado no item 4.3.2.5.

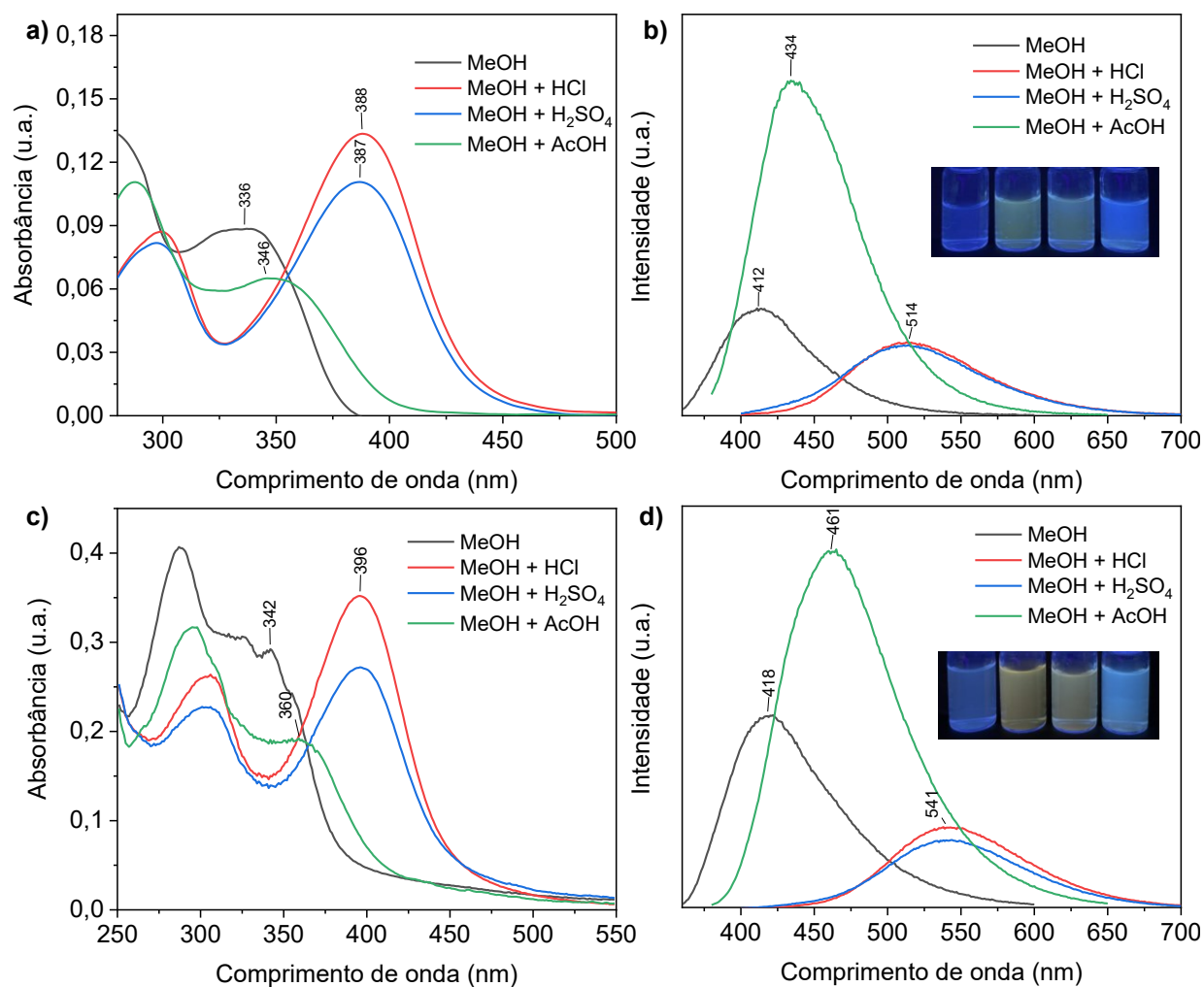
#### 4.3.2.3. Acidocromismo

Os compostos **QL4-B** e **QL5-B** apresentaram acidocromismo em seus espectros de absorção e emissão (Figura 41). Esses compostos contendo grupo acetil quando protonados em meio ácido apresentaram bandas com desvio para o vermelho de cerca de 52 nm na absorção UV. Após a adição de HCl ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, as bandas do

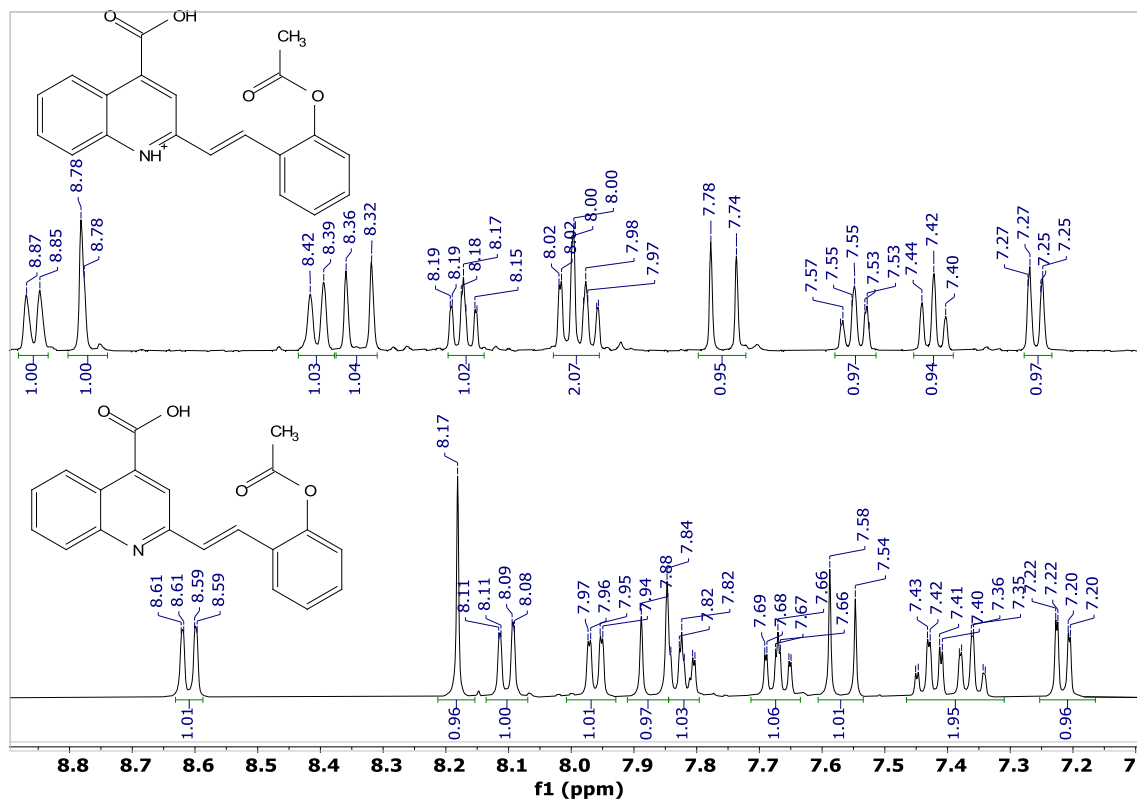
espectro de emissão mudaram para o vermelho em cerca de 102 nm, com uma mudança visível na luz de emissão de azul para verde, já com adição de ácido acético (AcOH), o deslocamento batocrômico foi menor, porém com um aumento significativo na intensidade de emissão. O resultado intrigante aqui é que entre todas as estirilquinolinas estudadas, apenas **QL4-B** e **QL5-B** apresentaram esse fenômeno.

Embora os mecanismos de como o acidocromismo ocorre especificamente para ambas as estruturas ainda não sejam completamente compreendidos, a protonação do anel de nitrogênio quinolina é evidente em nossa análise de RMN de  $^1\text{H}$ , (Figura 42) que mostra os sinais dos prótons do composto protonado deslocados para campo mais baixo do espectro. A estrutura *N*-protonada pode aumentar a deficiência de elétrons no núcleo de quinolina, potencialmente aumentando as transições de transferência de carga e levando a um desvio para o vermelho nos espectros de absorção e emissão. [152] Além disso, a presença do grupo acetil na posição *orto* ou *para* é de alguma forma necessária. Curiosamente, o grupo acetil presente em **QL3-B** possuindo um grupo 3-metoxi vizinho não exibiu o mesmo comportamento. A hipótese de que em um meio ácido o grupo acetil se hidrolisaria e geraria uma espécie de fenol emissiva não é sustentável porque o composto **QL2-A**, que é o possível produto hidrolisado de **QL4-B**, perdeu qualquer capacidade de emissão em um meio ácido (Figura A.112).

**Figura 41** – (a) e (c) espectros de UV-vis; (b) e (d) espectros de emissão de soluções de **QL4-B** e **QL5-B**, respectivamente, em MeOH ( $10^{-5}$  M) e com adição de 50  $\mu$ L de HCl,  $H_2SO_4$  e AcOH.



**Figura 42** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) em MeOD do composto **QL4-B** na forma neutra (embaixo) e na forma protonada (em cima)



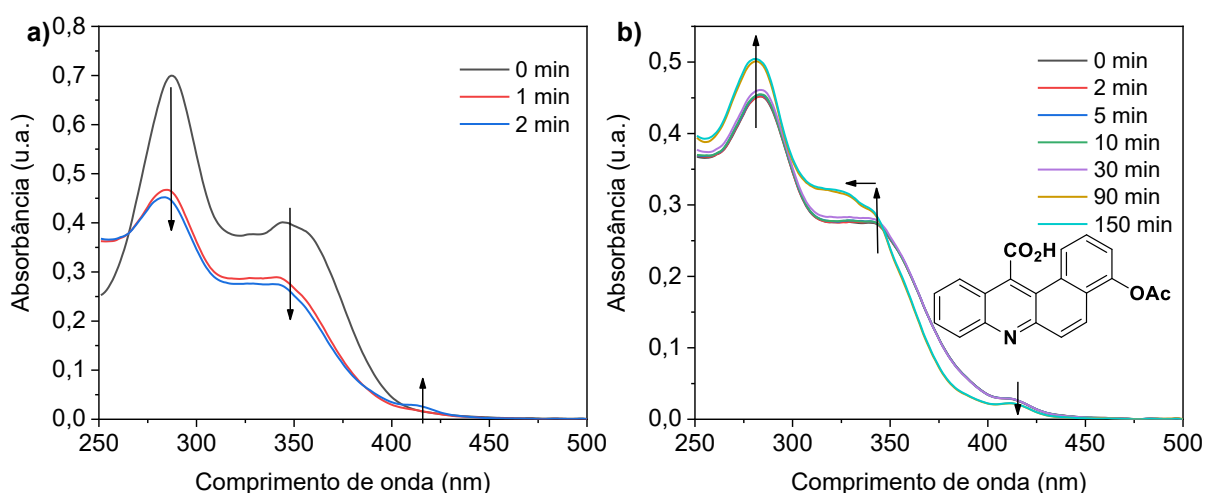
#### 4.3.2.4. Fotoisomerismo

Já é conhecido que, assim como a maioria dos diariletilenos, a 2-estirilquinolina isomeriza da forma *trans* para *cis* reversivelmente por um mecanismo diabático em solventes polares, [153] portanto é impossível converter completamente um isômero em outro fotoquimicamente. Sob irradiação, o estado fotoestacionário pode ser alcançado, onde há uma mistura de isômeros *trans* e *cis* e as concentrações dependem do comprimento de onda e tempo de irradiação. O estudo de fotoisomerização e sua reversibilidade de **QL4-B** foi realizado tanto na forma neutra quanto com adição de ácido (HCl).

Na forma neutra de **QL4-B**, após apenas dois minutos de irradiação UV, o processo de fotoisomerização *trans-cis* é observado através de uma diminuição na intensidade da banda atribuída à transição  $\pi\text{-}\pi^*$  da quinolina (em 348 nm) em um fator de 1,5 de magnitude com leve deslocamento hipsocrômico de 8 nm, diminuição na intensidade da banda em 287 nm, ponto isobéstico em 265 nm, e o surgimento de uma banda em 414 nm relativa à transição  $n\text{-}\pi^*$  do nitrogênio (Figura 43a), um padrão semelhante ao observado em outras estirilquinolinas.[154] Quando a solução foi mantida no escuro e

registrados os espectros de UV em vários tempos diferentes (Figura 41b) houve a reversão do processo de fotoisomerização, porém não completamente, pois mesmo após 150 min sem irradiação, as absorbâncias não retornaram ao estado inicial, mostrando certa estabilidade na forma *cis*. Além disso, após 90 min houve um deslocamento hipsocrômico (de 340 nm para 327 nm), que pode indicar uma ciclização a partir do conformero *cis* formando a estrutura mostrada na Figura 43b.[155]

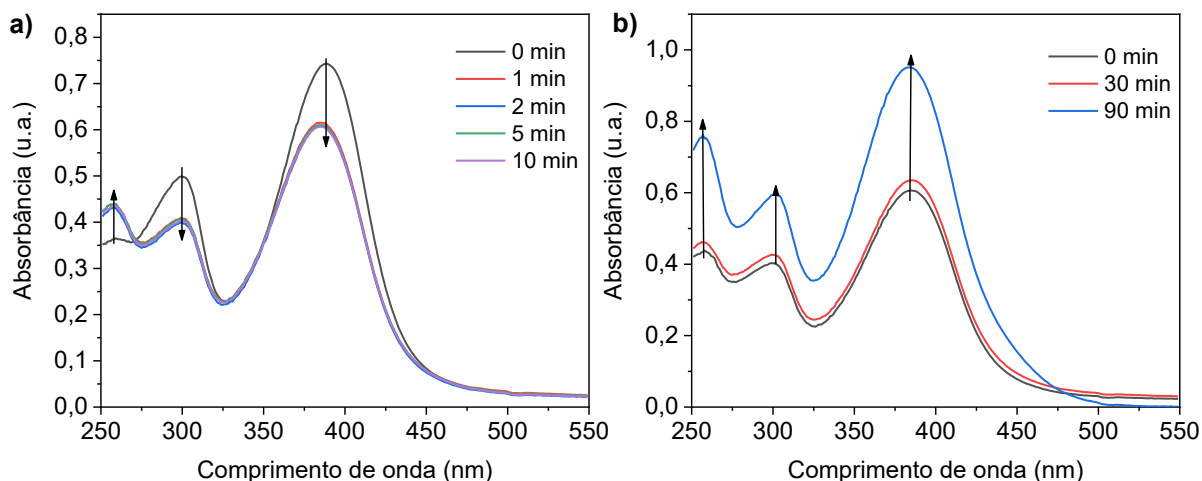
**Figura 43** – Espectros UV-vis de **QL4-B** em soluções de MeOH registrados em diferentes tempos (a) com irradiação UV e (b) sem irradiação UV (solução mantida no escuro após ter sido irradiada)



Na forma protonada, também se observa a fotoisomerização (Figura 44), pois após apenas 1 min de irradiação UV houve diminuição nas intensidades das bandas em 388 nm e 300 nm, ponto isobéstico em 270 nm, e aumento na intensidade da banda em 257 nm. O processo foi visivelmente mais reversível na forma protonada do que na forma neutra, pois após 90 min com a solução mantida no escuro, as intensidades das bandas em 388 nm e 300 nm retornaram, indicando que não há fotociclização do composto protonado, onde a forma *trans* é mais estável. Apenas a banda em 257 nm continuou aumentando de intensidade, ao invés de retornar para intensidade mais baixa como inicialmente. Devido ao deslocamento batocrômico que ocorre na banda de menor energia quando se adiciona ácido, não se observa o surgimento da banda relativa à transição  $n-\pi^*$  do nitrogênio em 414 nm vista na forma neutra, pois provavelmente ficou encoberta pela banda de menor energia que foi deslocada. Apesar de trabalhos anteriores mostrarem o processo de fotoisomerização de estililquinolinas,[156,157] este é o primeiro relato comparando as formas neutra e

protonada contendo espectros experimentais das formas *cis* e da reversibilidade desse processo.

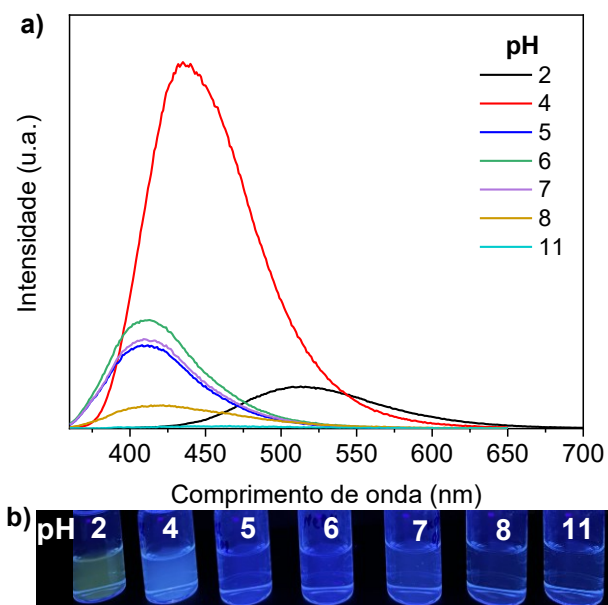
**Figura 44** – Espectros UV-vis de **QL4-B** em soluções de MeOH com adição de HCl (0,5 M) registrados em diferentes tempos (a) com irradiação UV e (b) sem irradiação UV (solução mantida no escuro após ter sido irradiada)



#### 4.3.2.5. Estudo da luminescência de **QL4-B** em diferentes pHs

Com base nos resultados interessantes de solvatocromismo e acidocromismo que o composto **QL4-B** mostrou, resolvemos testar seu comportamento em diferentes valores de pH. Inicialmente, foram adicionados à solução do composto em MeOH 50  $\mu$ L de solução aquosa de HCl ou KOH em diferentes concentrações para obtenção do pH desejado, e então registrados os espectros de emissão, mostrados na Figura 45. Ocorreram mudanças significativas que comprovam que esse composto apresenta sensibilidade tanto à polaridade do solvente quanto ao pH. No pH mais ácido, 2, ocorre a banda mais deslocada para o vermelho, em 513 nm, mas ao passar para pH 4, ocorre *blueshift* para 435 nm acompanhado de um aumento de 6,8 vezes na intensidade de fluorescência. A partir do pH 5, as bandas ficam centradas próximo de 413 nm com progressiva diminuição na intensidade de emissão.

**Figura 45** – (a) Espectros de emissão de **QL4-B** em soluções de MeOH ( $10^{-5}$  M;  $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ) com diferentes valores de pH obtidos pela adição de 50  $\mu$ L de HCl<sub>(aq)</sub> ou KOH<sub>(aq)</sub> em diferentes concentrações; (b) fotografia das soluções sob irradiação de luz UV (365 nm)

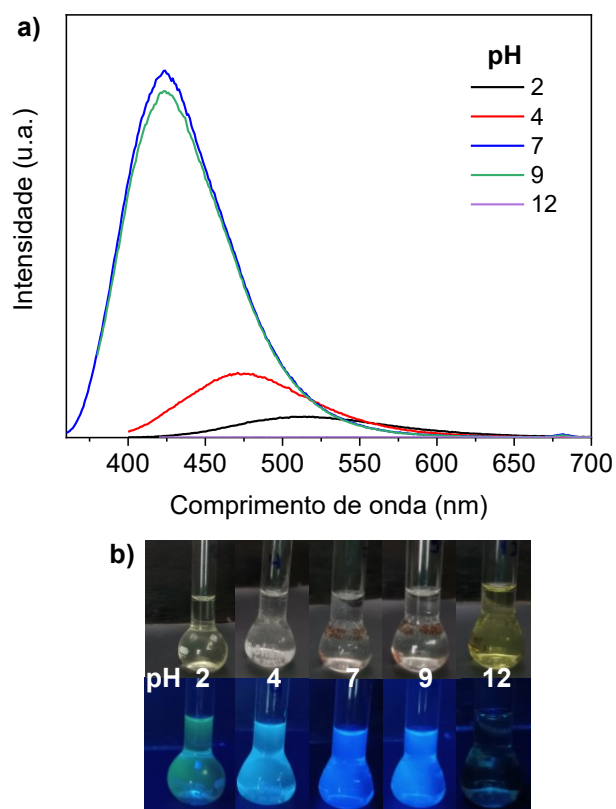


Considerando a importância de que um composto apresente fluorescência em meios semelhantes aos ambientes biológicos para que possam ser utilizados como sondas, resolvemos testar a luminescência de **QL4-B** em diferentes pHs em soluções aquosas a partir de tampões. Para isso, cinco soluções aquosas tamponadas diferentes do composto **QL4-B** foram preparadas com uma faixa de pH de 2 a 12. As soluções finais de **QL4-B** continham 5% de DMSO, como um co-solvente, comumente usado em testes biológicos *in vitro* de 1 a um máximo de 10% para auxiliar a dissolução do composto em um ambiente aquoso. Os espectros de emissão de **QL4-B** em diferentes valores de pH são mostrados na Figura 46 e os dados resumidos na Tabela 9.

A fluorescência azul em pH 7, próximo ao pH fisiológico, não variou significativamente até pH 9. Então, caiu a maior parte da emissão quando atingiu pH 12 (conforme descrito anteriormente em nossos experimentos de metanol/KOH aquoso a 10%). Ao aumentar a acidez, observamos uma interessante mudança de três estágios, visível pelas diferentes cores emitidas (Figura 46b). A emissão mudou para o vermelho cerca de 50 nm ao passar de pH 7 para pH 4. De pH 4 para pH 2, a emissão mudou para o vermelho outros 50 nm. O ambiente de acidez crescente também extingue parte da fluorescência, diminuindo significativamente a intensidade da emissão. No entanto, as mudanças de cor são perceptíveis, tornando este

fluoróforo uma potencial sonda de pH com aplicações em diferentes ambientes biológicos.[82,158]

**Figura 46** – (a) Espectros de emissão de **QL4-B** em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Uma solução estoque  $5 \times 10^{-5}$  M em DMSO foi diluída por soluções tampão 0,01 M correspondentes. As soluções finais continham 5% de DMSO com uma concentração do composto de  $5 \times 10^{-5}$  M. Soluções tampão: pH 2 (HCl), pH 4 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 7 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 9 (tampão  $NH_4Cl/NH_4OH$ ), pH 12 (NaOH). (b) fotografia das soluções sob luz visível (em cima) e sob uma lâmpada UV com  $\lambda_{exc.} = 365$  nm (embaixo)



**Tabela 10** – Máximos de absorção e emissão de **QL4-B** em diferentes soluções aquosas tamponadas

| pH | $\lambda_{max. abs}$ | $\lambda_{max. em}$ |
|----|----------------------|---------------------|
| 2  | 380                  | 520                 |
| 4  | 370                  | 471                 |
| 7  | 340                  | 423                 |
| 9  | 340                  | 423                 |
| 12 | 400                  | -                   |

#### 4.3.3. Atividade biológica

##### 4.3.3.1. Atividade antimicrobiana

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das amostras contra cepas bacterianas e fúngicas foi realizada usando a técnica de microdiluição em caldo. Os resultados são mostrados na Tabela 10.

**Tabela 11** – Valores de CIM (em µg/mL) dos compostos **QL1-10** contra diferentes cepas de bactérias e fungos.

| Cepa/QL                            | CIM (µg/mL) |     |     |     |      |     |     |      |      |      | G <sup>k</sup> | F <sup>l</sup> |
|------------------------------------|-------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|------|------|----------------|----------------|
|                                    | 1-A         | 2-A | 3-B | 4-B | 5-B  | 6-C | 7-C | 8-C  | 9-D  | 10-D |                |                |
| <i>S. aureus</i> <sup>a</sup>      | 256         | +   | 128 | 128 | 512  | 256 | +   | 512  | 1024 | 256  | 128            | x              |
| <i>S. epidermidis</i> <sup>b</sup> | 256         | +   | 128 | 128 | 512  | 256 | +   | 512  | 512  | 256  | 128            | x              |
| <i>P. aeruginosa</i> <sup>c</sup>  | +           | +   | 128 | 128 | 512  | +   | +   | 1024 | 1024 | +    | 256            | x              |
| <i>C. albicans</i> <sup>d</sup>    | 256         | +   | 128 | 128 | 256  | 256 | +   | 512  | 512  | 256  | x              | 64             |
| <i>C. albicans</i> <sup>e</sup>    | 256         | +   | 128 | 128 | 256  | 256 | +   | 512  | 512  | 256  | x              | 128            |
| <i>C. tropicalis</i> <sup>f</sup>  | 256         | +   | 128 | 128 | 256  | 256 | +   | 512  | 512  | 256  | x              | 256            |
| <i>C. tropicalis</i> <sup>g</sup>  | 256         | +   | 256 | 128 | 256  | 256 | +   | 512  | 512  | 256  | x              | 256            |
| <i>A. flavus</i> <sup>h</sup>      | +           | +   | 512 | 512 | 1024 | +   | +   | 512  | +    | +    | x              | 512            |
| <i>A. flavus</i> <sup>i</sup>      | +           | +   | 512 | 512 | 1024 | +   | +   | 1024 | +    | +    | x              | 512            |
| <i>P. citrinum</i> <sup>j</sup>    | +           | +   | 512 | 512 | 1024 | +   | +   | 1024 | +    | 256  | x              | 512            |

(+): Sem inibição; (x): não aplicável; <sup>a</sup>ATCC-13150; <sup>b</sup>ATCC-12228; <sup>c</sup>ATCC-25853; <sup>d</sup>ATCC-76485; <sup>e</sup>LM-92; <sup>f</sup>ATCC-750; <sup>g</sup>LM-77; <sup>h</sup>ATCC-4603; <sup>i</sup>LM-248; <sup>j</sup>INCQS-4001; <sup>k</sup>Gentamicina; <sup>l</sup>Fluconazol.

A maioria dos compostos analisados exibiu atividade biológica contra o crescimento de espécies bacterianas e fúngicas. Organismos unicelulares, como bactérias e leveduras, exibiram maior sensibilidade às moléculas quando comparados a organismos multicelulares, como fungos filamentosos. Isso é evidente no caso das moléculas **QL3-B** e **QL4-B**, onde a CIM foi de 128 µg/mL, enquanto a CIM para fungos filamentosos foi de 512 µg/mL. A presença do grupo O-acetil aumentou a atividade contra estruturas unicelulares em comparação com análogos com fenol livre. Por exemplo, **QL3-B** mostrou melhor atividade do que o análogo estrutural **QL1-A** para a maioria dos microrganismos testados. Este efeito está de acordo com observações anteriores, [89] onde a substituição de OH livre por O-acetil em uma estirilquinolina aumentou o efeito sinérgico da molécula com o fármaco contra *Candida albicans*. Os compostos **QL1-A** e **QL6-C** apresentaram resultados idênticos, indicando que a metilação do grupo OH na posição 4 do grupo estiril não afetou sua atividade. No entanto, a substituição com uma cadeia butil inibiu a atividade do **QL7-C**. Moléculas nitro-substituídas também foram ativas contra bactérias e leveduras. **QL10-D** exibiu CIM menor que **QL9-D**, sendo até duas vezes mais ativo que o medicamento de

referência contra *P. citrinum*. Esses resultados indicam que a nitração na posição 4 do grupo estiril é preferida para propriedades antimicrobianas

#### 4.3.3.1.1. Estudo computacional

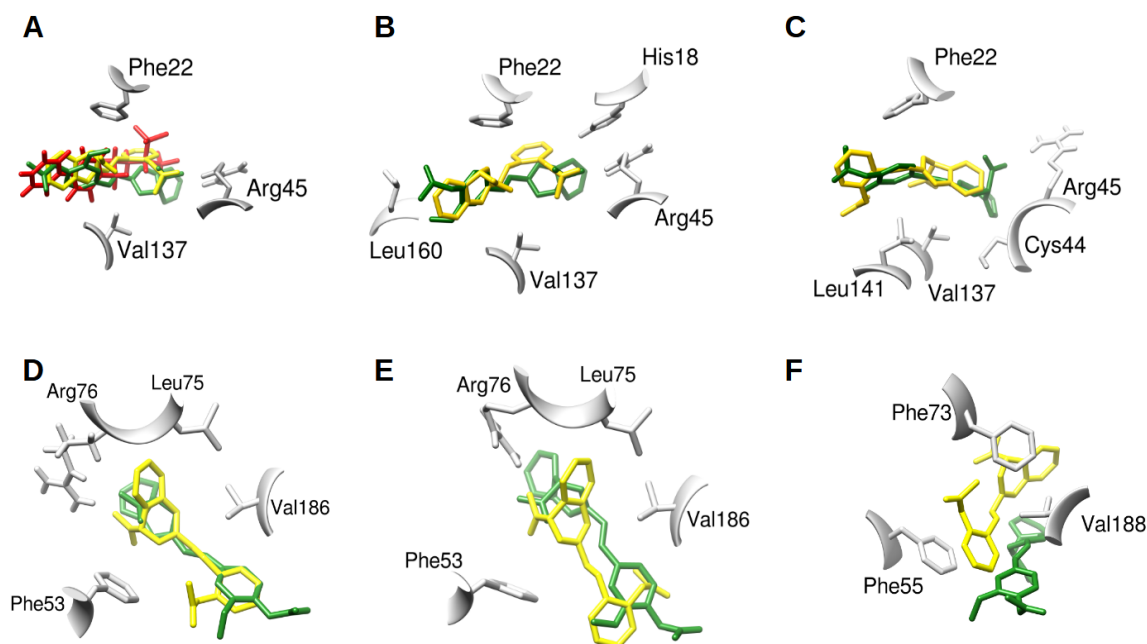
##### 4.3.3.1.1.1. Interações das enzimas DQS e SQS com **QL3-B** e **QL4-B**

Os compostos **QL3-B** e **QL4-B**, identificados como os candidatos mais promissores na triagem *in vitro*, foram submetidos a estudos de *docking* molecular com enzimas DQS em espécies bacterianas e enzimas SQS em espécies fúngicas, assim como foi realizado para as quinoxalinas (tópico 4.2.4.1.1.1). Os resultados estão apresentados na Tabela A.6. Os compostos exibiram valores de energia muito próximos e mostraram divergência em relação às espécies avaliadas.

Em relação às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis*, interações idênticas foram observadas, atribuíveis à conservação do sítio catalítico. Além disso, *P. aeruginosa* exibiu um sítio ativo conservado e semelhante às espécies de *Staphylococcus*. O composto **QL4-B** demonstrou a interação mais favorável com espécies bacterianas (Figuras 47a-c). Particularmente, Phe22 se envolveu em interações com o núcleo quinolina, enquanto Arg45 e Val137 formaram ligações de hidrogênio com o grupo acetoxi, indicando interações cruciais consistentes com aquelas encontradas no ligante PDB. Da mesma forma, essas mesmas interações de DQS de *S. aureus* com novos derivados de quinolina foram identificadas anteriormente, [159] sugerindo um potencial mimetismo da atividade enzimática com o inibidor de PDB de *S. aureus*.

Em relação às espécies fúngicas, tanto *C. albicans* quanto *C. tropicalis* exibiram resíduos de aminoácidos idênticos e interações dentro do sítio ativo. Para espécies fúngicas, o composto **QL3-B** exibiu um perfil superior. Notavelmente, entre os resíduos comuns, Phe53, Tyr72, Glu82 e Val186 surgiram como interações-chave com os compostos neste estudo (Figuras 47d e e). No caso de *A. flavus*, é importante enfatizar o envolvimento dos resíduos Phe55 e Val188,[160] que desempenham papéis cruciais na interação com **QL3-B** e **QL4-B** (Figura 47f).

**Figura 47** – Representação 3D das posições ideais para cada complexo investigado, com o composto **QL3-B** representado em verde, **QL4-B** em amarelo e o ligante PDB em vermelho de DQS de A) *S. aureus*; B) *S. epidermidis*; C) *P. aeruginosa*; e SQS de D) *C. albicans*; E) *C. tropicalis*; F) *A. flavus*.



#### 4.3.3.2. Atividade anticâncer

Conforme explanado no item 4.2.4.2 para as quinoxalinas, adotando o mesmo protocolo de análise e mesmos critérios para interpretação dos resultados, temos que, conforme os dados mostrados na Tabela 12, apenas **QL7-C** apresentou alguma atividade antiproliferativa, sendo atividade moderada contra a linhagem de leucemia mielóide crônica (K-562) e baixa atividade contra a linhagem de leucemia promielocítica (HL60). Para as demais linhagens o composto foi considerado inativo, assim como os demais compostos em todas as linhagens.

**Tabela 12** – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento ( $CI_{50}$ ) em  $\mu M$  e seu intervalo de confiança (IC) dos compostos **QX4** e **QX6** nas linhagens K-562, H-1299, HL-60, HCT116 e MRC-6

| Compostos                  | K-562                 | H1299 | HL60                   | HCT116                 | MRC-5                  |
|----------------------------|-----------------------|-------|------------------------|------------------------|------------------------|
| $CI_{50}$ / IC ( $\mu M$ ) |                       |       |                        |                        |                        |
| <b>QL7-C</b>               | 11,46<br>7,88 a 16,65 | >66   | 14,66<br>10,58 a 20,25 | 51,78<br>28,65 a 85,76 | 31,93<br>20,64 a 49,41 |
| <b>QL9-D</b>               | >78                   | >78   | >78                    | 49,90<br>37,00 a 66,66 | >78                    |

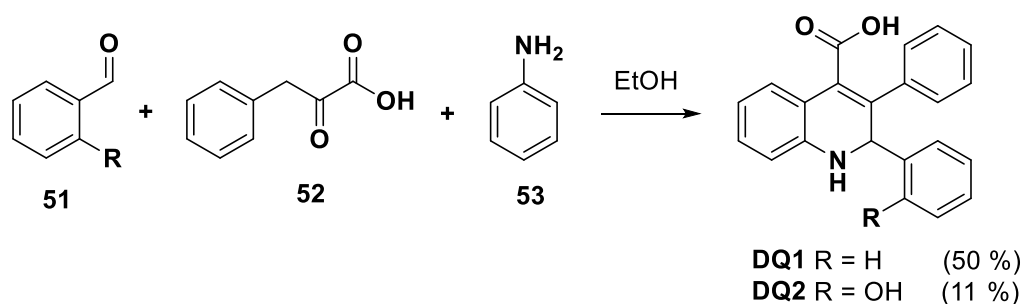
|        |                     |                       |                     |                     |                        |
|--------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| QL10-D | >78                 | >78                   | >78                 | >78                 | 43,56<br>23,62 a 80,34 |
| Dox    | 0,79<br>0,48 a 1,32 | 13,38<br>8,57 a 20,88 | 0,02<br>0,02 a 0,07 | 1,64<br>0,33 a 8,03 | 0,75<br>0,51 a 1,12    |

#### 4.4. Di-hidroquinolinas

##### 4.4.1. Síntese

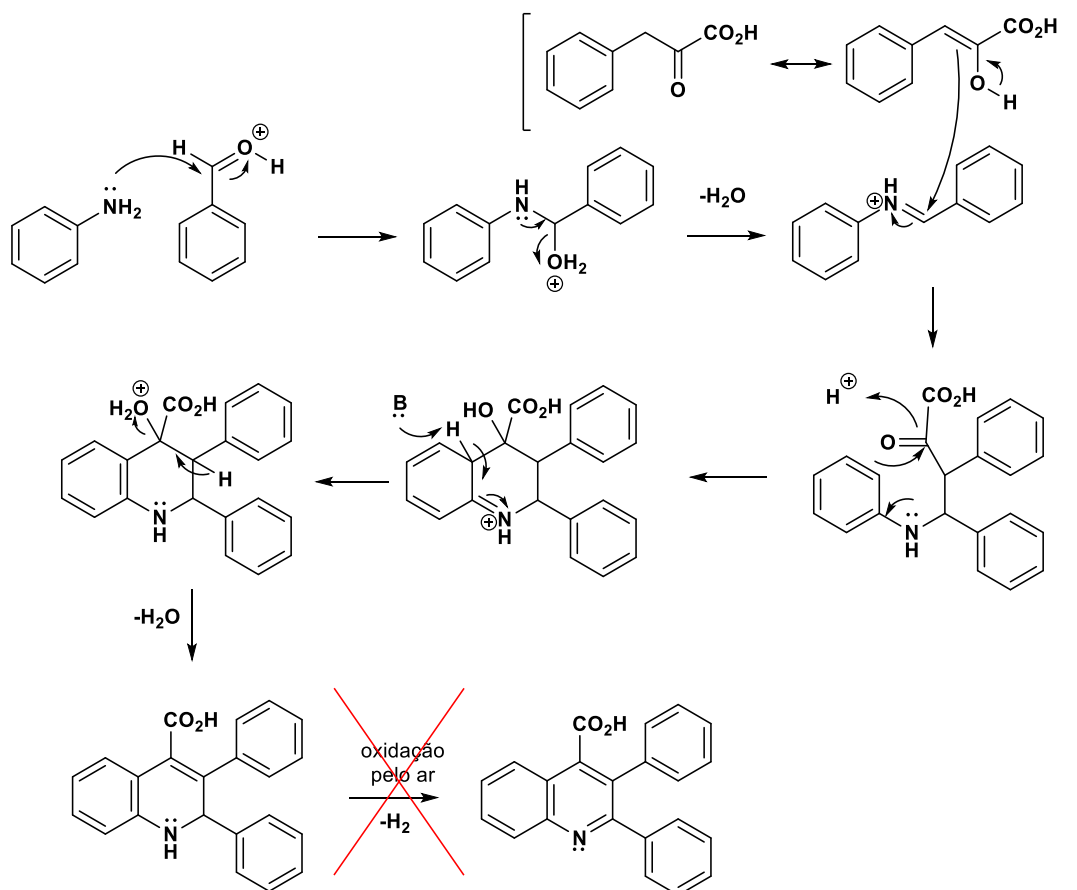
Os compostos foram obtidos conforme mostrado no Esquema 3. A reação é uma adaptação da reação de Doebner, que é um dos métodos clássicos de obtenção de ácidos 2-fenilquinolina-4-carboxílicos utilizando aldeídos aromáticos, anilina e ácido pirúvico.[161] De forma similar, foi utilizado o ácido fenilpirúvico (**52**) para reagir com os benzaldeídos (**51**) e anilina (**53**) para formar derivados de ácido 2,3-difenilquinolina-4-carboxílico, como relatado na literatura.[162]

Esquema 3 – Síntese das di-hidroquinolinas (DQ1-2)



Essa é uma reação multicomponente que envolve a formação de uma imina pela adição nucleofílica da anilina ao aldeído aromático seguida por uma ciclização promovida pelo ácido pirúvico ou fenilpirúvico na forma enólica após eliminação de água, que então sofre uma etapa de oxidação pelo ar, formando o anel quinolíneo, conforme mostrado na proposta de mecanismo (Esquema 4). Curiosamente, a caracterização estrutural mostrou que os compostos obtidos não foram oxidados formando o anel aromático, ficando como produto final a estrutura contendo um nitrogênio hydrogenado ligado a um carbono  $sp^3$ , configurando o núcleo conhecido como 1,2-di-hidroquinolina.

**Esquema 4 – Mecanismo proposto para obtenção de di-hidroquinolinas**



Fonte: adaptado da ref. [86]

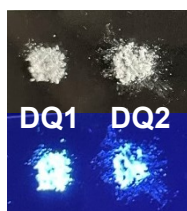
Na caracterização estrutural, os dados que confirmaram que a estrutura do produto final correspondia ao núcleo di-hidroquinolina foram (usando como exemplo **DQ1**): no RMN de  $^1\text{H}$ , a presença de um sinal singlete com integração de 1H em 6,51 ppm; no RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT), um sinal para baixo em 60,72 ppm, fora da região do aromático, referente ao carbono  $\text{sp}^3$ ; HRMS de 328,1310, que corresponde à massa do composto com dois átomos de H a mais do que na quinolina análoga (que teria massa calculada de 326,1181); e no espectro de IV, uma banda em  $3197\text{ cm}^{-1}$ , indicando o estiramento da ligação  $\text{C}(\text{sp}^3)\text{--H}$ . Diante da possibilidade de a oxidação ocorrer de forma lenta, o composto foi deixado em contato com o ar atmosférico por aproximadamente um mês e o espectro de RMN foi então refeito, porém nenhuma modificação ocorreu, o que mostra a estabilidade desse produto.

#### 4.4.2. Propriedades ópticas

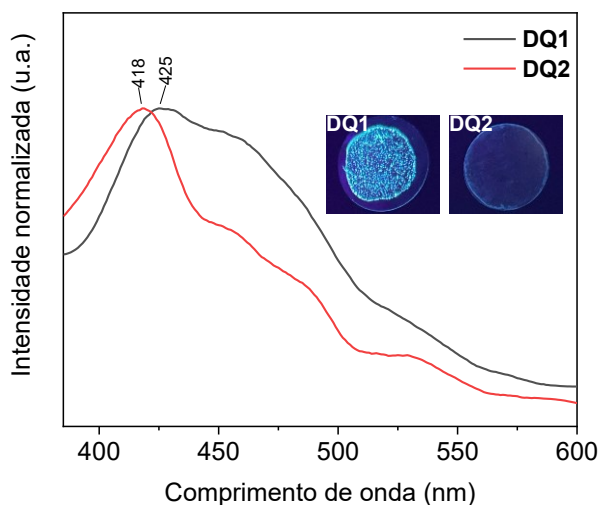
##### 4.4.2.1. Estado sólido

Apesar de os compostos obtidos além de serem moléculas pequenas, não serem completamente conjugadas, os pós dos compostos **DQ1** e **DQ2** apresentaram luminescência sob lâmpada UV conforme mostrado na Figura 48. A partir dessa observação, os filmes desses compostos foram preparados em lamínulas de vidro e registrados os seus espectros de UV-vis (Figura A.114) e de emissão de fluorescência (Figura 49). Ambos os compostos exibiram fluorescência na região do violeta, com picos de emissão em 425 nm e 418 nm para **DQ1** e **DQ2** respectivamente.

**Figura 48** – Fotografias dos compostos **DQ1** e **DQ2** sob luz natural (em cima) e sob luz UV de 360 nm (embaixo)



**Figura 49** – Espectros de fotoluminescência no estado sólido de **DQ1** e **DQ2** ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ); inserção: fotografias dos filmes sólidos de **DQ1** e **DQ2** sob irradiação de lâmpada UV a 365 nm



A fluorescência no estado sólido para esses compostos pode ser atribuída à presença de uma estrutura molecular torcida devido aos anéis fenil nas posições 2 e 3 da di-hidroquinolina, além do fato de o carbono  $sp^3$  apresentar geometria tetraédrica

fazendo com que o fenil ligado a ele esteja fora do plano. Essa falta de planaridade diminui as interações  $\pi$ - $\pi$  no empacotamento molecular no estado sólido, o que minimiza o efeito de ACQ, tornando esses compostos em fluoróforos AIE devido a restrição dos movimentos moleculares. [40]

Os espectros de UV-vis e fluorescência desses compostos também foram registrados em solução de THF ( $10^{-5}$  M) e os valores obtidos tanto em solução quanto no estado sólido estão dispostos na Tabela 13. Observa-se que as bandas de UV-vis em solução são bem deslocadas para o azul em relação ao estado sólido, enquanto as bandas de emissão são bem deslocadas para o vermelho, com ambos os compostos emitindo na região do azul (458 nm e 456 nm para **DQ1** e **DQ2**, respectivamente), o que indica uma melhor estabilização do estado excitado pelas moléculas do solvente. Com isso, os valores de deslocamento de Stokes nas soluções são quase o dobro dos filmes, indicando uma maior deformação molecular no estado excitado,[163] como também pode estar associado a mais relaxamentos vibracionais no processo de excitação/emissão.[164]

**Tabela 13** – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos **DQ1** e **DQ2** em THF ( $10^{-5}$  M) e no estado sólido. ( $\lambda_{exc} = \lambda_{max.abs}$ )

|            |       | $\lambda_{max.abs}$<br>(nm) | $\epsilon^a$ | $\lambda_{max.em}$<br>(nm) | $\Delta\nu_{st}$<br>( $cm^{-1}$ ) <sup>b</sup> | $\Phi_F^c$ |
|------------|-------|-----------------------------|--------------|----------------------------|------------------------------------------------|------------|
| <b>DQ1</b> | THF   | 310                         | 4021         | 458                        | 10424                                          | 10,7       |
|            | Filme | 345                         | -            | 425                        | 5566                                           | -          |
| <b>DQ2</b> | THF   | 312                         | 34549        | 456                        | 10121                                          | 8,7        |
|            | Filme | 335                         | -            | 418                        | 5927                                           | -          |

<sup>a</sup> Coeficiente de absorvidade molar, unidade:  $L\ mol^{-1}\ cm^{-1}$ ; <sup>b</sup> Deslocamento de Stokes; <sup>c</sup> Rendimento quântico de fluorescência relativo ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_F = 0,546$  em  $H_2SO_4$  0,5 M)

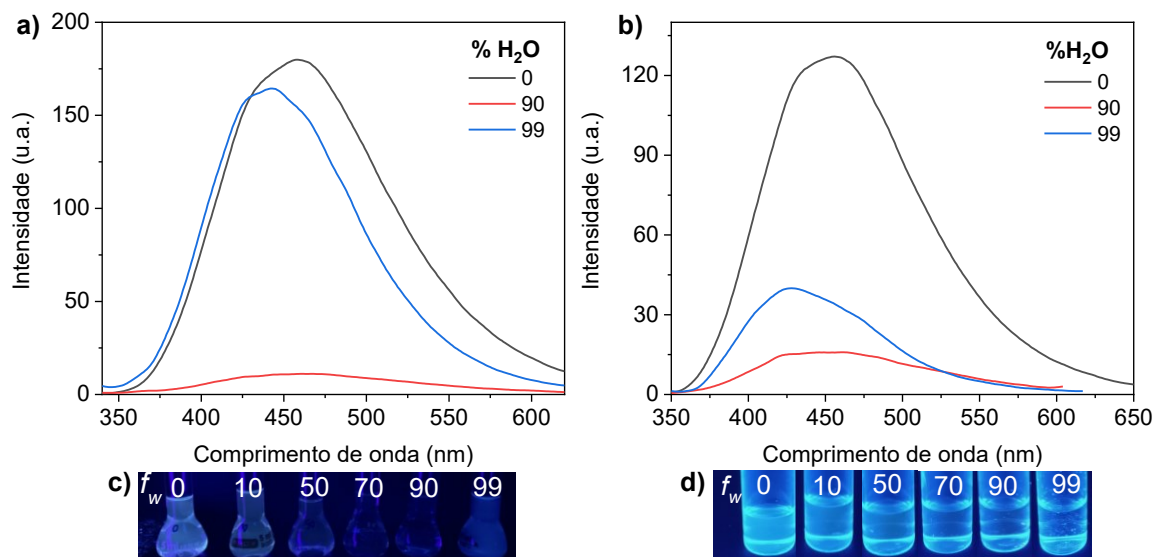
#### 4.4.2.2. Estudos de AIE

Uma vez que a emissão desses compostos no estado sólido é um indicativo de AIE, foram realizadas medidas em misturas de THF/água com aumento da fração de água para se verificar o comportamento de AIE nesses compostos. Além disso, não há nenhum relato na literatura de estudo de AIE para di-hidroquinolinas. Os espectros de emissão de **DQ1** e **DQ2** nas soluções de THF com frações de água de 0, 90 e 99% são mostrados na Figura 50 e os dados estão dispostos na Tabela A.3.

No caso de **DQ1**, observa-se que não há o padrão típico de AIE em que não há (ou há pouca) emissão na solução do solvente puro com aumento gradativo na intensidade com o aumento de  $f_w$ . Em vez disso, o composto é emissivo na solução de THF e com adição de água há uma queda brusca na intensidade de emissão até  $f_w$  90%, sendo que com  $f_w$  99% houve um novo aumento na emissão chegando a atingir intensidade próxima à da solução em THF puro, indicando que nessa fração de água ocorre um rearranjo molecular que leva o composto a emitir, que provavelmente se trata de agregação. Assim, o fato de o composto ser emissivo em solução com grande quantidade de água favorece suas aplicações em meios biológicos.

O composto **DQ2** exibiu perfil relativamente semelhante a **DQ1**, sendo que a intensidade de emissão não se aproximou da solução em THF puro em nenhuma das misturas de solventes, embora seja notável um aumento de intensidade em  $f_w$  99%. Nesse caso, a presença do grupo OH deve estar influenciando na fluorescência desse composto.

**Figura 50** – Espectros de emissão de (a) **DQ1** e (b) **DQ2** em soluções de THF/água ( $6 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc} = 310$  nm) nas  $f_w$  0%, 90% e 99%; (c) e (d) fotografia das soluções de **DQ1** e **DQ2**, respectivamente, sob lâmpada UV (365 nm)



#### 4.4.2.3. Estudo da luminescência de **DQ1** e **DQ2** em diferentes pHs

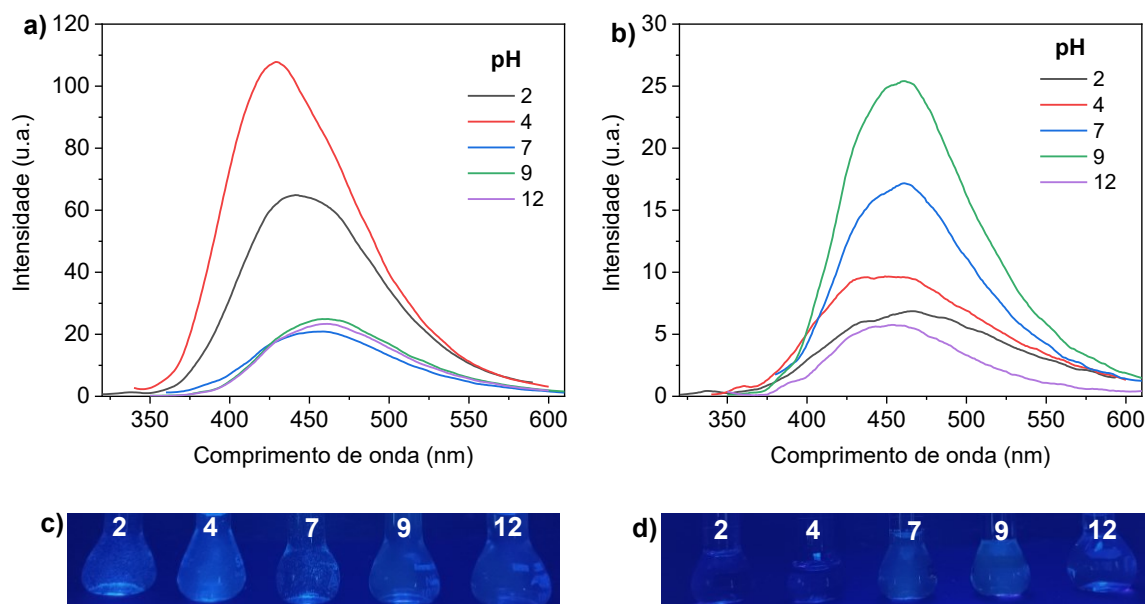
Cinco diferentes soluções aquosas tamponadas dos compostos **DQ1** e **DQ2** foram preparadas com uma faixa de pH de 2 a 12 seguindo a mesma metodologia adotada no estudo das quinolinas (tópico 4.3.2.5.). Os espectros de emissão de **DQ1**

e **DQ2** em diferentes valores de pH são mostrados na Figura 51 e os dados resumidos na Tabela 14.

Os compostos exibiram bandas de absorção de menor energia entre 303 e 337 nm, e os espectros de emissão foram registrados nesses máximos de absorção. Devido a isso, as fotografias nas Figuras 51c e d não conseguem representar satisfatoriamente os resultados dos espectros uma vez que estão sob lâmpada de comprimento de onda de excitação de 365 nm, muito distante do comprimento de onda de excitação dos compostos.

Para o composto **DQ1**, os espectros de emissão mostram que a fluorescência azul no pH 7, próximo ao pH fisiológico, não variou significativamente até pH 12. Já com o aumento da acidez, observa-se um aumento de 4,6x na intensidade de emissão no pH 4 em relação ao pH 7, acompanhado de um deslocamento hipsocrômico de 28 nm. Já no pH 2 há uma queda de 1,5x na intensidade de emissão junto com deslocamento batocrômico de 13 nm. Já o composto **DQ2** apresentou mais variações de intensidade do que de comprimento de onda, variando de 452 nm a 467 nm, com menor intensidade no pH 12 e maior intensidade no pH 9, o que favorece sua aplicação em meios mais básicos com sensibilidade à pequenas variações de pH.

**Figura 51** – Espectros de emissão de (a) **DQ1** e (b) **DQ2** em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Uma solução estoque  $5 \times 10^{-5}$  M em DMSO foi diluída por soluções tampão 0,01 M correspondentes. As soluções finais continham 5% de DMSO com uma concentração de cada composto de  $5 \times 10^{-5}$  M. Soluções tampão: pH 2 (HCl), pH 4 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 7 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 9 (tampão  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ ), pH 12 (NaOH). (c) e (d) fotografias das soluções de sob luz **DQ1** e **DQ2**, respectivamente



**Tabela 14** – Máximos de absorção e emissão de **DQ1** e **DQ3** em diferentes soluções aquosas tamponadas

|            | pH | $\lambda_{\text{max.abs}}$ | $\lambda_{\text{max.em}}$ |
|------------|----|----------------------------|---------------------------|
| <b>DQ1</b> | 2  | 303                        | 441                       |
|            | 4  | *                          | 428                       |
|            | 7  | *                          | 456                       |
|            | 9  | 337                        | 461                       |
|            | 12 | 337                        | 461                       |
| <b>DQ2</b> | 2  | 304                        | 467                       |
|            | 4  | *                          | 452                       |
|            | 7  | *                          | 461                       |
|            | 9  | 338                        | 461                       |
|            | 12 | 344                        | 453                       |

\*não foi possível medir

#### 4.4.3. Atividade biológica

##### 4.4.3.1. Atividade antimicrobiana

Os compostos **DQ1** e **DQ2** foram testados contra diferentes cepas de bactérias e fungos conforme já descrito para quinoxalinas e quinolinas, e os resultados estão dispostos na Tabela 15. Ambos os compostos foram inativos contra todas as cepas testadas, não sendo capazes de inibir o crescimento bacteriano ou fúngico. Alguns compostos semelhantes a essas di-hidroquinolinas sendo que com anel aromático quinolínico foram testados em algumas bactérias e também foram inativos contra *S. aureus* enquanto foram ativos contra algumas espécies não testadas nesse trabalho (*B. subtilis* e *E. coli*).[162]

Não há relatos de testes experimentais de di-hidroquinolinas semelhantes a **DQ1** e **DQ2**, porém um estudo teórico recente mostrou uma di-hidroquinolina contendo átomos de cloro e grupo éster como um promissor antibacteriano.[165] Assim, modificações estruturais podem ser sugeridas a fim de promover esses compostos a bioativos como também testá-los contra uma maior variedade de cepas.

**Tabela 15** – Valores de CIM (em  $\mu\text{g/mL}$ ) dos compostos **DQ1** e **DQ2** contra diferentes cepas de bactérias e fungos.

| Cepa                        | CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) |            |               |            |
|-----------------------------|--------------------------|------------|---------------|------------|
|                             | <b>DQ1</b>               | <b>DQ2</b> | Cloranfenicol | Fluconazol |
| <i>S. aureus</i> ATCC-13150 | +                        | +          | 256           | X          |

|                                  |   |   |     |     |
|----------------------------------|---|---|-----|-----|
| <i>S. epidermidis</i> ATCC-12228 | + | + | 256 | X   |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853  | + | + | 256 | X   |
| <i>C. albicans</i> ATCC-76485    | + | + | X   | 64  |
| <i>C. albicans</i> LM-92         | + | + | X   | 128 |
| <i>C. tropicalis</i> ATCC-750    | + | + | X   | 256 |
| <i>C. tropicalis</i> LM-77       | + | + | X   | 256 |
| <i>A. flavus</i> ATCC-4603       | + | + | X   | 512 |
| <i>A. flavus</i> LM-248          | + | + | X   | 512 |
| <i>P. citrinum</i> INCQS-4001    | + | + | X   | 512 |

(+): Sem inibição; (x): não aplicável

#### 4.4.3.2. Atividade anticâncer

Conforme explanado no item 4.2.4.2 para as quinoxalinas, adotando o mesmo protocolo de análise e mesmos critérios para interpretação dos resultados, temos que, conforme os dados mostrados na Tabela 16, a linhagem de leucemia promielocítica (HL60) foi a mais sensível frente aos compostos testados, onde **DQ1** apresenta atividade moderada e **DQ2** baixa atividade, sendo possível inferir que a presença do grupo OH promoveu uma piora na atividade dessa classe de compostos. Os compostos foram inativos frente as demais linhagens estudadas.

**Tabela 16** – Concentração que causa 50% de inibição do crescimento (CI<sub>50</sub>) em µM e seu intervalo de confiança (IC) dos compostos **DQ1** e **DQ2** nas linhagens K-562, H-1299, HL-60, HCT116 e MRC-6

| Compostos  | K-562                      | H1299                  | HL60                   | HCT116                 | MRC-5                  |
|------------|----------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|            | CI <sub>50</sub> / IC (µM) |                        |                        |                        |                        |
| <b>DQ1</b> | 48,54<br>39,11 a 60,31     | 37,83<br>28,68 a 48,88 | 7,871<br>18,96 a 30,83 | 50,52<br>36,88 a 69,82 | 34,59<br>23,89 a 50,03 |
| <b>DQ2</b> | 43,82<br>35,57 a 54,02     | 47,81<br>32,86 a 69,56 | 21,49<br>18,86 a 24,51 | 38,69<br>25,36 a 59,07 | 34,63<br>27,64 a 43,44 |
| Dox        | 0,79<br>0,48 a 1,32        | 13,38<br>8,57 a 20,88  | 0,02<br>0,02 a 0,07    | 1,64<br>0,33 a 8,03    | 0,75<br>0,51 a 1,12    |

## 4.5. Pirazinas

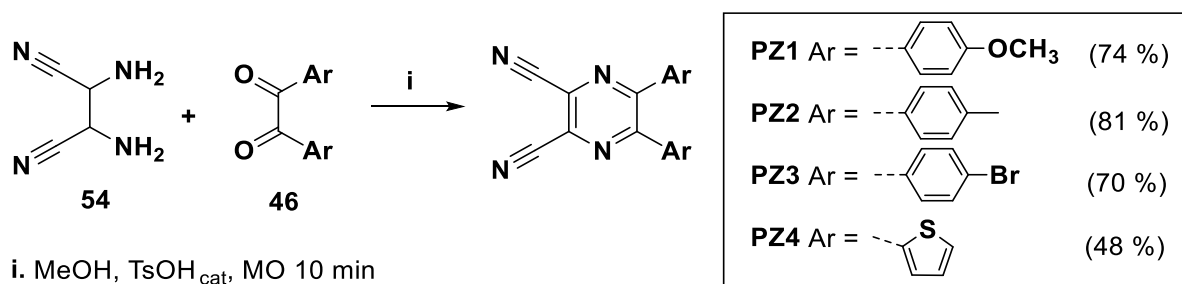
### 4.5.1. Síntese

Os derivados de 2,3-dicianopirazinas foram sintetizados conforme mostrado no Esquema 4. A reação de condensação entre as dicetonas **46** e diaminomaleonitrila **54**

na presença de quantidade catalítica de ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TsOH) em metanol forneceu os produtos finais com rendimentos satisfatórios em apenas 10 minutos de reação em micro-ondas (MW). Embora essas condições reacionais já tenham sido relatadas anteriormente,[166] a reação ocorreu em refluxo durante a noite, portanto a utilização de MW foi eficiente para otimizar o tempo de reação para esses produtos.

O composto **PZ4** apresentou menor rendimento em relação aos demais compostos, assim como ocorreu com a quinoxalina análoga que contém o grupo tiofeno (**QX6**), o que pode ser explicado pela maior solubilidade desses compostos promovida pelo grupo tiofeno, o que ocasiona maior perda de produto durante o processo de recristalização.

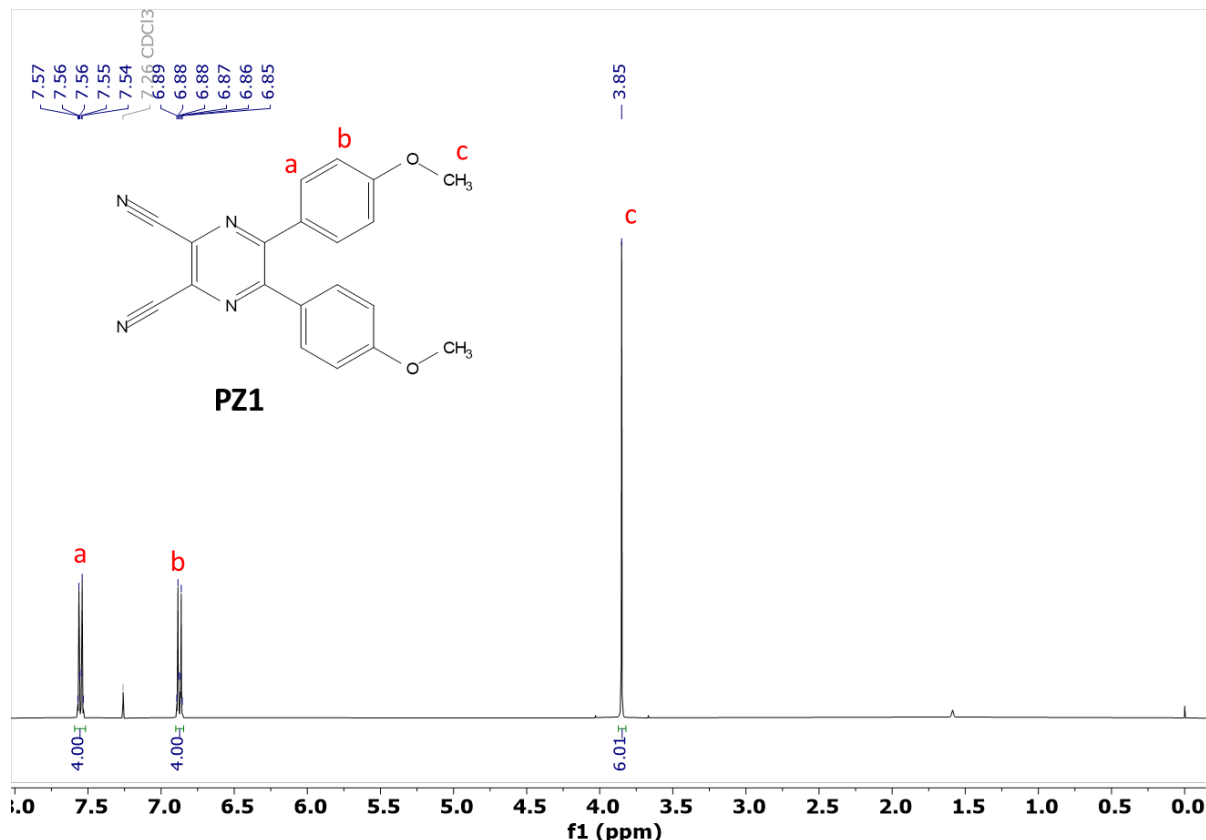
**Esquema 5 – Síntese das pirazinas (PZ1-4)**



As estruturas químicas de todos os compostos foram caracterizadas por espectroscopia de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e IV após purificação. Nos espectros de RMN de <sup>1</sup>H aparecem os sinais referentes aos substituintes aromáticos, como por exemplo para **PZ1** (Figura 52), com um multiplete com integração de 4H em 7,57-7,53 ppm,

outro multiplete entre 6,9-6,85 ppm também com integração de 4H e um singlete em 3,85 ppm com integração de 6H referente aos hidrogênios das metilas.

**Figura 52** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ1**



Apesar de esses compostos já serem interessantes do ponto de vista da arquitetura estrutural do tipo D- $\pi$ -A com o grupo ciano atuando como retirador de elétrons, esses compostos poderiam ainda sofrer reação de hidrólise para formar os respectivos ácidos carboxílicos, o que tornaria possível a comparação direta com as quinoxalinas correspondentes.

#### 4.5.2. Propriedades ópticas

Alguns desses compostos já são relatados na literatura como intermediários para produtos mais complexos com propriedades ópticas/térmicas,[166,167] efeitos ópticos não-lineares,[168] e fluorescência retardada com aplicação em OLED.[169] Entretanto, as propriedades ópticas desses compostos nunca foram exploradas anteriormente. Por isso, considerando a similaridade que possuem com as quinoxalinas relatadas nesse trabalho devido à presença de grupos arila nas posições

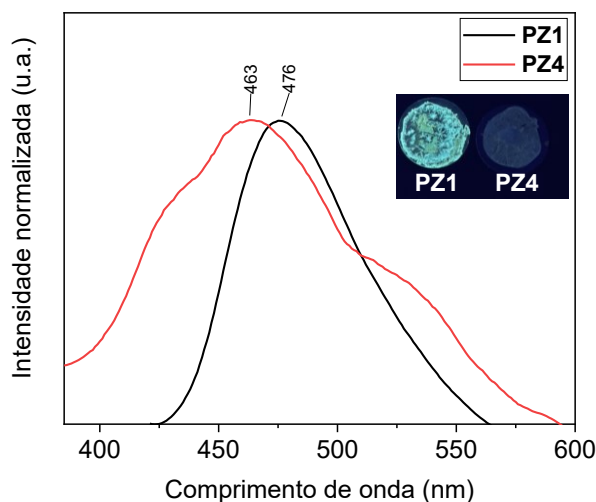
2 e 3 do *N*-heterociclo, viu-se que esses compostos seriam candidatos a fluoróforos no estado sólido e soluções de agregados devido a possibilidade de serem AIEógenos.

#### 4.5.2.1. Estado sólido

Assim como foi observado nas quinoxalinas, as pirazinas contendo metil (**PZ2**) e bromo (**PZ3**) não apresentaram fluorescência em fase sólida, enquanto **PZ1** contendo metoxi e **PZ4** com o grupo tiofeno foram emissivos e, portanto, foram preparados os seus respectivos filmes e analisados por espectroscopia de UV-vis e fluorescência.

As bandas de absorção de UV na fase sólida atingiram o pico em 374 nm para **PZ1** e em 386 nm para **PZ4**. Ambos os compostos apresentaram fluorescência na região do azul (inserção da Figura 53), com os picos de emissão centrados em 463 nm para **PZ1** e em 476 nm para **PZ4** (Figura 53). Comparando com as quinoxalinas correspondentes, as pirazinas apresentaram menores valores de absorção de UV e emissão mais deslocada para o vermelho, resultando em maiores valores de deslocamento de Stokes ( $5139\text{ cm}^{-1}$  e  $4898\text{ cm}^{-1}$  para **PZ1** e **PZ2**, respectivamente), o que pode indicar uma maior ICT no estado excitado quando a porção receptora de elétrons são os dois grupos cianeto ligados ao *N*-heterociclo com menor conjugação, do que quando a porção receptora é o grupo ácido carboxílico ligado ao núcleo quinoxalina.

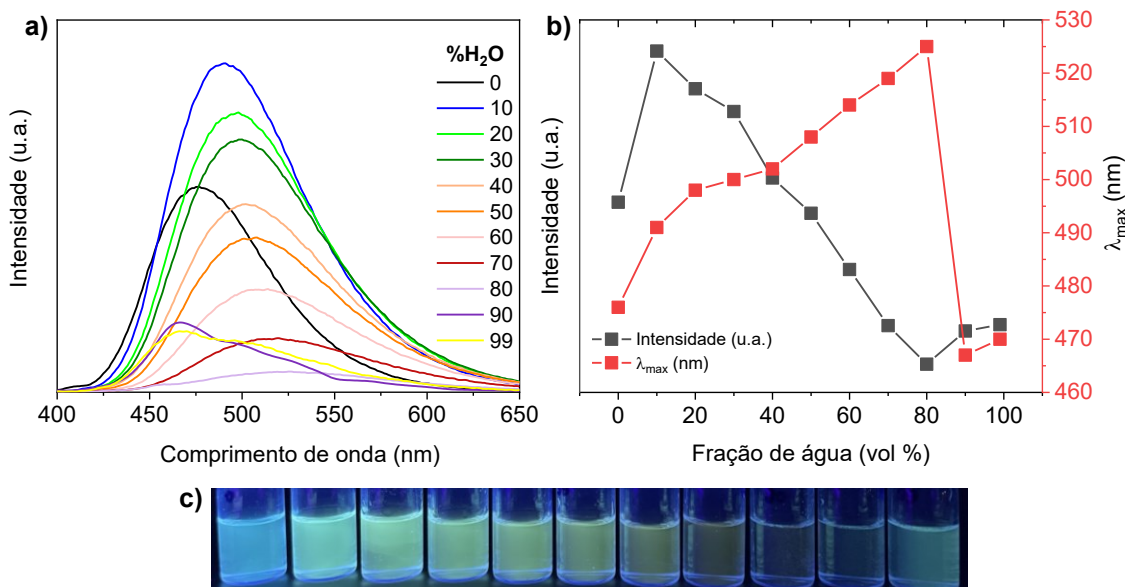
**Figura 53** – Espectros de fotoluminescência no estado sólido de **PZ1** e **PZ2** ( $\lambda_{\text{exc.}} = \lambda_{\text{max. as.}}$ ); inserção: fotografias dos filmes sólidos de **PZ1** e **PZ2** sob irradiação de lâmpada UV a 365 nm



#### 4.5.2.2. Estudos de AIE

O composto **PZ1** apresentou um perfil de AIE (Figura 54) semelhante ao observado em **QX1** no sentido de ter ocorrido um aumento de intensidade de emissão nas primeiras  $f_w$  seguido por uma diminuição de intensidade nas  $f_w$  maiores, além de um crescente deslocamento batocrômico com o aumento da  $f_w$ . No entanto, a variação de comprimento de onda foi ainda maior em **PZ1**, que variou 49 nm entre as frações de 0% a 80% de água, emitindo do azul ao verde, porém na  $f_w$  90% houve um deslocamento hipsocrômico brusco, que não foi observado em **QX1**, indicando que nessa mistura de solvente ocorre algum rearranjo molecular provavelmente relacionado a uma maior torção da molécula de forma que diminua a sua conjugação,[122] alterando seu comportamento emissivo.

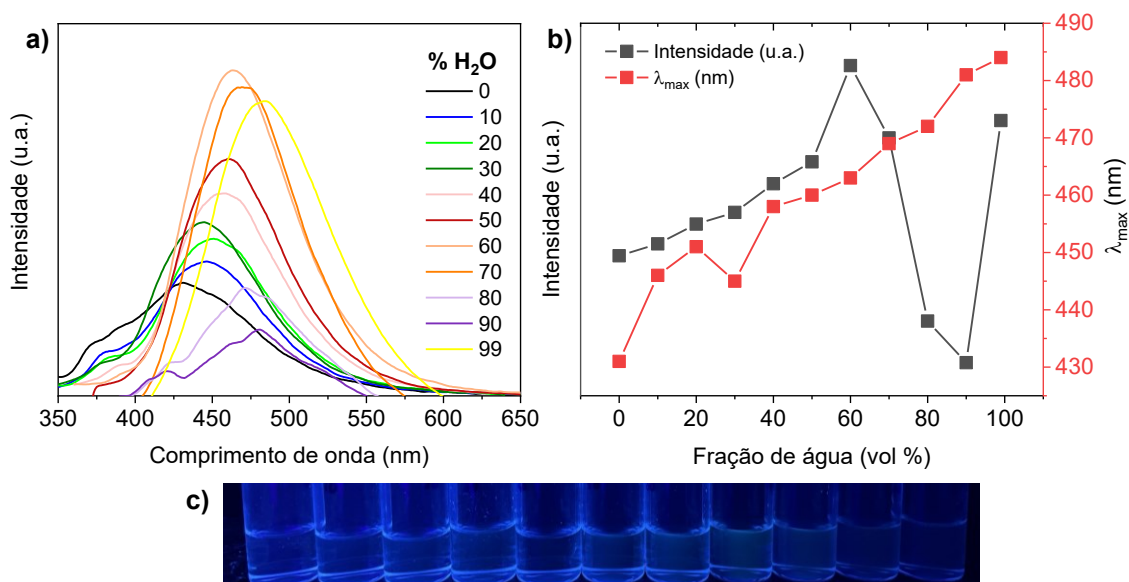
**Figura 54** – (a) Espectros de fluorescência de **PZ1** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **PZ1** (c) fotografia das soluções de **PZ1** sob lâmpada UV (365 nm)



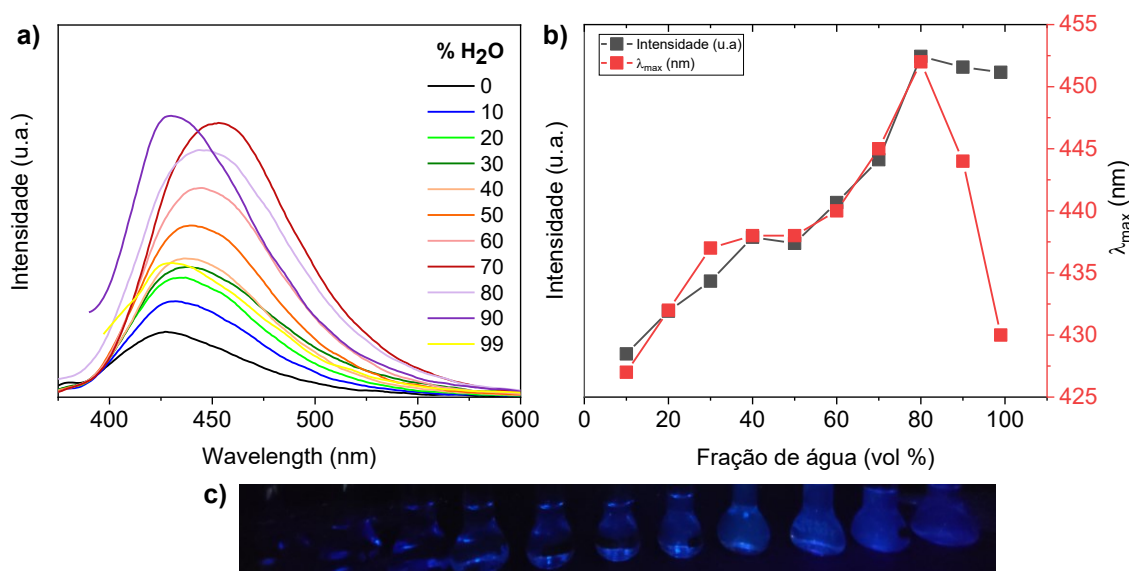
As Figuras 55 e 56 mostram os perfis de AIE dos compostos **PZ2** e **PZ3**, respectivamente. Ambos os compostos apresentaram tendências similares, e também parecidas com as observadas nas quinoxalinas correspondentes (**QX4** e **QX5**). As duas pirazinas mostraram crescente aumento na intensidade de emissão acompanhado de deslocamento batocrômico com o aumento da fração de água, sendo que **PZ2** apresentou uma queda na intensidade entre as  $f_w$  de 70% a 90%, e **PZ3** teve um deslocamento para o azul nas frações de 90% e 99%. No caso de **PZ2**,

a maior intensidade foi registrada na  $f_w$  de 60%, que foi 2,4 vezes maior do que na solução em THF puro, enquanto que em **PZ3** foi na solução com 80% de água, com intensidade 4 vezes maior do que da solução em THF puro.

**Figura 55** – (a) Espectros de fluorescência de **PZ2** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **PZ2** (c) fotografia das soluções de **PZ2** sob lâmpada UV (365 nm)

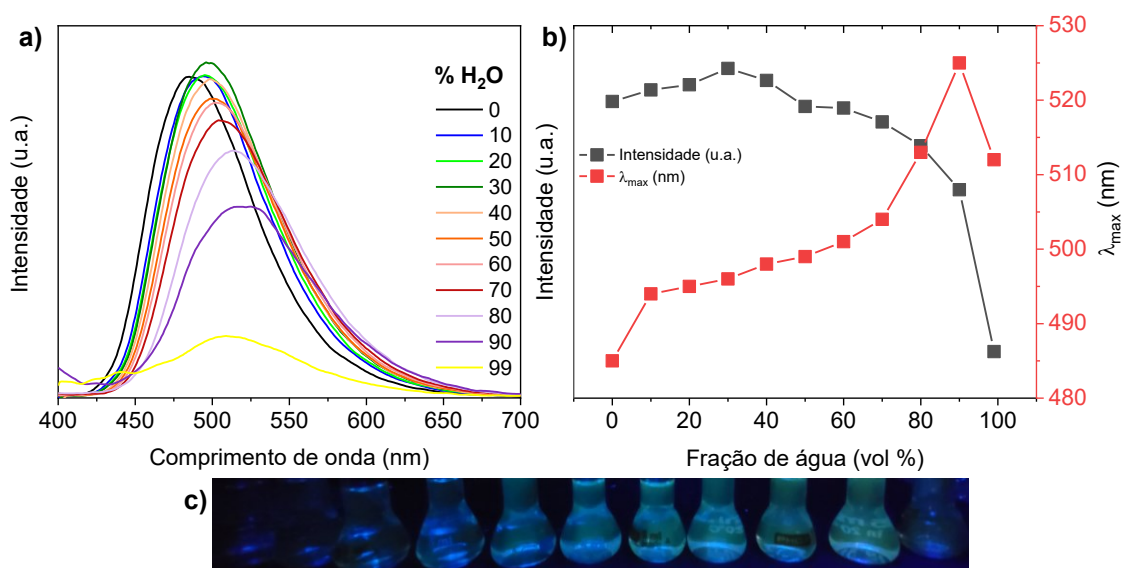


**Figura 56** – (a) Espectros de fluorescência de **PZ3** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max.abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **PZ3** (c) fotografia das soluções de **PZ3** sob lâmpada UV (365 nm)



A pirazina **PZ4**, assim como a quinoxalina **QX6**, apresentou perfil de emissão diferente dos demais compostos nas misturas de THF/água. Como mostrado na Figura 57, não há aumento significativo na intensidade de emissão com o aumento da fração de água, o que limita esse composto à classificação de AIEógeno. Entretanto, **PZ4** também não sofre ACQ na maioria das misturas de solvente, sofrendo uma queda de intensidade significativa apenas na  $f_w$  99%, mostrando que esse composto pode ser aplicado em diversas misturas de solventes com a vantagem da modulação do comprimento de onda, pois o mesmo apresentou um deslocamento para o vermelho pronunciado variando do azul (485 nm em THF puro) ao verde (525 nm em  $f_w$  90%).

**Figura 57** – (a) Espectros de fluorescência de **PZ4** em misturas de THF/H<sub>2</sub>O ( $10^{-5}$  M,  $\lambda_{exc}=\lambda_{max,abs}$ ); (b) gráfico da intensidade de fotoluminescência e comprimento de onda máximo de emissão em função da fração de água (vol %) de **PZ4** (c) fotografia das soluções de **PZ4** sob lâmpada UV (365 nm)



Todos os dados espectroscópicos das medidas de AIE das pirazinas analisadas nesse trabalho estão sumarizados na Tabela 17. Apesar das similaridades que as pirazinas mostraram em relação as quinoxalinas, vale observar que nas soluções em THF puro, as pirazinas apresentaram menores valores de rendimento quântico do que as quinoxalinas, com valores de 6,8% e 0,8% para **PZ1** e **PZ4**, respectivamente, enquanto **QX1** e **QX6** foi de 11,4% e 4,6%, respectivamente. Esse fato se relaciona com a menor conjugação nas pirazinas, que são moléculas com uma fenila a menos do que as quinoxalinas.

**Tabela 17** – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos **PZ1-4** em misturas de THF/água (vol %,  $10^{-5}$  M)

| Absorção | Fotoluminescência |
|----------|-------------------|
|----------|-------------------|

|            | $f_w$<br>(%) | $\lambda_{\max.}$ (nm) | $\epsilon^a$ | $\lambda_{\max}$ (nm) | $\Delta\nu_{st}$ (cm <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup> | $I_F^c$ | $\Phi_F^d$ (%) |
|------------|--------------|------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------------------------------|---------|----------------|
| <b>PZ1</b> | 0            | 372                    | 1,3          | 476                   | 5873                                              | 12766   | 6,8            |
|            | 10           | 374                    | 1,7          | 491                   | 6371                                              | 22909   | -              |
|            | 20           | 375                    | 1,8          | 498                   | 6586                                              | 20374   | -              |
|            | 30           | 377                    | 1,8          | 500                   | 6525                                              | 18854   | -              |
|            | 40           | 377                    | 1,8          | 502                   | 6605                                              | 14390   | -              |
|            | 50           | 378                    | 1,8          | 508                   | 6770                                              | 12020   | -              |
|            | 60           | 378                    | 1,9          | 514                   | 7000                                              | 8252    | -              |
|            | 70           | 379                    | 1,8          | 519                   | 7117                                              | 4482    | -              |
|            | 80           | 377                    | 1,6          | 525                   | 7478                                              | 1897    | -              |
|            | 90           | 388                    | 0,2          | 467                   | 4360                                              | 4122    | -              |
|            | 99           | 390                    | 0,2          | 470                   | 4364                                              | 4546    | -              |
| <b>PZ2</b> | 0            | 350                    | 1,2          | 431                   | 5370                                              | 1692    | 1,1            |
|            | 10           | 351                    | 1,4          | 446                   | 6069                                              | 1836    | -              |
|            | 20           | 351                    | 1,5          | 451                   | 6317                                              | 2075    | -              |
|            | 30           | 352                    | 1,4          | 445                   | 5937                                              | 2215    | -              |
|            | 40           | 351                    | 1,4          | 458                   | 6656                                              | 2561    | -              |
|            | 50           | 352                    | 1,5          | 460                   | 6670                                              | 2826    | -              |
|            | 60           | 353                    | 1,4          | 463                   | 6730                                              | 3989    | -              |
|            | 70           | 356                    | 1,2          | 469                   | 6768                                              | 3114    | -              |
|            | 80           | 348                    | 5,0          | 472                   | 7549                                              | 902     | -              |
|            | 90           | 350                    | 4,0          | 481                   | 7781                                              | 399     | -              |
|            | 99           | 389                    | 0,2          | 484                   | 5046                                              | 3325    | -              |
| <b>PZ3</b> | 0            | 341                    | 3,0          | 427                   | 5906                                              | 935     | 0,2            |
|            | 10           | 337                    | 3,4          | 432                   | 6525                                              | 1365    | -              |
|            | 20           | 337                    | 3,9          | 437                   | 6790                                              | 1667    | -              |
|            | 30           | 337                    | 4,1          | 438                   | 6843                                              | 2109    | -              |
|            | 40           | 337                    | 3,8          | 438                   | 6843                                              | 2048    | -              |
|            | 50           | 339                    | 3,6          | 440                   | 6771                                              | 2458    | -              |
|            | 60           | 340                    | 3,4          | 445                   | 6940                                              | 2890    | -              |
|            | 70           | 340                    | 3,3          | 452                   | 7288                                              | 3930    | -              |
|            | 80           | 351                    | 3,0          | 444                   | 5968                                              | 3822    | -              |
|            | 90           | 367                    | 3,0          | 430                   | 3992                                              | 3770    | -              |
|            | 99           | 376                    | 1,2          | 430                   | 3340                                              | 1841    | -              |
| <b>PZ4</b> | 0            | 382                    | 6,0          | 485                   | 5559                                              | 3487    | 0,8            |
|            | 10           | 385                    | 4,1          | 494                   | 5731                                              | 3603    | -              |
|            | 20           | 386                    | 4,0          | 495                   | 5705                                              | 3655    | -              |
|            | 30           | 386                    | 4,3          | 496                   | 5745                                              | 3820    | -              |
|            | 40           | 388                    | 4,0          | 498                   | 5693                                              | 3699    | -              |
|            | 50           | 389                    | 3,5          | 499                   | 5667                                              | 3437    | -              |
|            | 60           | 392                    | 3,3          | 501                   | 5550                                              | 3421    | -              |
|            | 70           | 392                    | 3,5          | 504                   | 5669                                              | 3281    | -              |
|            | 80           | 389                    | 3,2          | 513                   | 6214                                              | 3041    | -              |
|            | 90           | 380                    | 3,0          | 525                   | 7268                                              | 2598    | -              |
|            | 99           | 370                    | 0,8          | 512                   | 7496                                              | 969     | -              |

<sup>a</sup> unidade: L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; valor x10<sup>4</sup>; <sup>b</sup> Deslocamento de Stokes; <sup>c</sup> Intensidade de fluorescência, unidade: u.a.; <sup>d</sup> Rendimento quântico de fluorescência relativo ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_F = 0,546$  em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M)

## 5. CONCLUSÕES

De modo geral, compostos contendo *N*-heterociclos de quatro classes distintas foram sintetizados e caracterizados por técnicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , IV e espectrometria de massas. Suas propriedades ópticas foram investigadas através de espectros de absorção e emissão em solução e/ou fase sólida, e as propriedades biológicas foram analisadas através de avaliação de atividade antimicrobiana, incluindo estudo computacional de mecanismo de ação, e antitumoral.

As quinoxalinas apresentaram características típicas de AIEE por mecanismo RIM e alterações na estrutura através de inserção de grupos doadores de elétrons e longas cadeias alquílicas modificaram as propriedades ópticas em solução e fase sólida. Os compostos apresentaram solvatocromismo positivo nos espectros de emissão. O sal de potássio de **QX1** apresentou AIE em misturas de água/THF, logo a presença do grupo ácido carboxílico foi importante tanto na formação de dímeros nos agregados e fase sólida quanto na facilidade de obtenção do respectivo sal com propriedades interessantes.

As moléculas contendo o núcleo quinolina, com exceção dos compostos nitrados, foram excelentes fluoróforos apresentando solvatocromismo com emissão de luz variando do violeta ao verde, sendo os processos de decaimento afetados pela natureza da ligação de H. Além disso, o acidocromismo apresentado por alguns desses compostos indica a possibilidade de aplicação como sondas fluorescentes para bioimagem em diferentes ambientes de pH.

Novas di-hidroquinolinas foram emissoras em fase sólida e são candidatos para aplicações com altas  $f_w$  e também em diferentes ambientes de pH, tais quais em meios fisiológicos. Sugere-se que essa série de compostos seja ampliada visando a modulação de suas propriedades.

As propriedades ópticas das pirazinas apresentaram semelhanças significativas com as das quinoxalinas correspondentes, apesar da ausência do grupo ácido carboxílico, mas a ausência de um anel benzênico reduziu os rendimentos quânticos em solução. A hidrólise dos grupos ciano pode ser feita para uma comparação mais direta, além de inserção de cadeias alquílicas e os respectivos testes biológicos.

A maioria das quinoxalinas e quinolinas foram ativas contra as cepas de bactérias e fungos, tendo se destacado as quinoxalinas substituídas por metila e bromo (**QX4** e **QX5**) e as quinolinas O-acetiladas (**QL3-B** e **QL4-B**), para as quais os estudos computacionais encontraram as enzimas DQS e SQS como prováveis mecanismos de ação. Já em relação à atividade anticâncer, apenas **QL7-C** e as di-hidroquinolinas apresentaram alguma atividade.

## **6. SEÇÃO EXPERIMENTAL**

### **6.1. Procedimentos gerais**

Todos os protocolos sintéticos descritos nesta pesquisa foram realizados utilizando reagentes e solventes contendo um excelente grau de pureza. O acompanhamento das reações se deu pela técnica de cromatografia de camada delgada (CCD) cuja fase estacionária foram cromatofolhas de alumínio suportadas em gel de Sílica 60 e misturas de acetato de etila/hexano ou metanol/acetato de etila utilizadas como fase móvel, sendo irradiadas numa câmara de ultravioleta com luz de comprimento de onda de 254 nm.

As reações que foram realizadas com irradiação de micro-ondas foram feitas em um reator de micro-ondas CEM<sup>®</sup> modelo Discover-system benchmate com temperatura monitorada por sensor de infravermelho e potência programável 0-300 W. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C) foram obtidos usando um espectrômetro Varian Mercury 500, operando a 400 MHz para RMN <sup>1</sup>H e 100 MHz para RMN <sup>13</sup>C, disponível no Laboratório Multiusuário de Caracterização Analítica da Universidade Federal da Paraíba. Os deslocamentos químicos foram relatados em relação ao padrão interno tetrametilsilano (TMS), usando CDCl<sub>3</sub>, DMSO-*d*<sub>6</sub>, MeOD ou D<sub>2</sub>O como solvente. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Os desdobramentos químicos referentes a cada acoplamento dos hidrogênios foram expressos como singleto (s), dubleto (d), tripleto (t), duplo dubleto (dd), triplo dubleto (td), triplo tripleto (tt), duplo duplo dubleto (ddd) e multipletto (m). As multiplicidades dos sinais dos carbonos foram observadas pelo uso da técnica de APT, onde os colocados em fase “pra cima” carbonos não hidrogenados e metilenos e em fase “para baixo” carbonos de metino e metila.

As análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR) das amostras foram realizadas com espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo IRPrestige-21. Os espectros foram realizados fazendo-se uso da técnica de dispersão da amostra em pastilhas de KBr.

Os espectros de absorção na região do UV-vis foram realizados em um espectrofotômetro UV-VIS-NIR-3600 da marca Shimadzu, pertencente ao Laboratório de Espectroscopia Molecular (LEM) ou no Espectrofotômetro Cary 60 UV-Vis da marca Agilent pertencente ao Laboratório do Grupo de Estudos Avançados em Química Analítica (GEAQA). Já as medidas de fotoluminescência (emissão e excitação) foram realizadas em um espectrômetro de fluorescência modelo Cary Eclipse da marca Agilent, pertencente também ao GEAQA. As medidas de rendimento quântico absoluto dos filmes e sólidos amorfos foram realizadas usando a esfera integradora Horiba Quanta-phi acoplada ao espectrofluorímetro Fluorolog-3 por meio de cabos de fibra óptica e o adaptador F-3000, pertencentes ao Laboratório BSTR, UFPE – Recife – PE. Os rendimentos quânticos das soluções foram calculados em relação ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_f = 0,54$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M).[17] As medições de espalhamento dinâmico de luz (DLS) foram feitas com Zetasizer Nano series da Malvern Instruments Ltd com  $173^\circ$  de ângulo de espalhamento, a  $25^\circ\text{C}$ .

A espectrometria de massa de alta resolução (HRMS) foi realizada em um espectrômetro de massa microTOF III (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). As amostras foram preparadas em MeOH ( $1\ \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e infundidas na fonte ESI a uma taxa de fluxo de  $5\ \mu\text{L min}^{-1}$ . As condições da fonte ESI(+) foram as seguintes: tensão capilar 4500 V, temperatura capilar de transferência  $200^\circ\text{C}$ , gás seco  $4,0\ \text{L min}^{-1}$  e deslocamento da placa final 500 V. Os espectros de massa foram adquiridos e processados usando o software Compass Data Analysis (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

Os cálculos teóricos foram realizados da seguinte forma: a molécula **QX1** foi construída a partir de seu código SMILES, e uma otimização preliminar da geometria da fase gasosa foi realizada usando o método semi-empírico PM7 [170] pelo programa MOPAC2016. [171,172] A busca conformacional pela molécula **QX1** foi realizada usando o programa CREST, [173] levando em consideração os efeitos de solvatação implícitos da água (**QX1**/água) e acetonitrila (**QX1**/MeCN) por meio do modelo

Generalized Born (GB) e da área de superfície acessível ao solvente (SASA). Foi usado o algoritmo iMTD-GC, [174] que explora a superfície de energia potencial por meio da metadinâmica usando o potencial semi-empírico GFN2-xTB, [175,176] junto com um cálculo de entropia de conjunto aprimorado. As conformações foram então agrupadas em cinco *clusters* de conjunto para cada busca conformacional com base nos critérios de proximidade energéticos e RMSD (Raiz do desvio quadrático médio, do inglês *Root Mean Square Deviation*). A estrutura de menor energia de cada busca foi selecionada para cálculos subsequentes de estrutura eletrônica. Assim, duas geometrias foram consideradas, uma para cada sistema em estudo (**QX1**/água e **QX1**/MeCN). O mesmo processo foi realizado para a molécula **QX3a**.

Todos os cálculos de estrutura eletrônica foram realizados usando o programa Gaussian 2009/D.01.[177] Inicialmente, as geometrias do estado fundamental dos dois sistemas foram otimizadas usando critérios padrão. Esses cálculos empregaram o funcional B3LYP com o conjunto de base cc-pVTZ. Correções de dispersão no nível D3 [178] e efeitos implícitos de solvente foram considerados. Posteriormente, cálculos de frequência vibracional foram realizados para garantir que as geometrias correspondessem aos mínimos de energia. Isso foi confirmado pela verificação de que todas as frequências vibracionais tinham valores positivos. O mesmo nível de teoria usado para otimizações de geometria foi usado para esses cálculos.

## 6.2. Sínteses

### 6.2.1. Quinoxalinas

O composto **QX3**, o ácido 2,3-bis(3,4-bis(dodeciloxi)fenil)quinoxalina-6-carboxílico foi fornecido por Pontes (2020). [109] Os demais foram obtidos através dos métodos I e/ou II descritos a seguir.

Método I: Em um balão de 50 mL, adicionou-se 0,5g da 1,2-dicetona correspondente, quantidade equimolar de ácido 3,4-diaminobenzoico e 15 mL de ácido acético glacial. A mistura foi mantida sob refluxo durante 3 h, resfriada e filtrada a vácuo lavando-se com água destilada gelada. O produto seco foi purificado por suspensão em um solvente apropriado sob aquecimento e agitação por 5 min e filtrado a vácuo após resfriamento, ou por coluna cromatográfica.

**Método II:** Em um frasco de micro-ondas, foram adicionados 0,5 mmol da 1,2-dicetona correspondente, 0,53 mmol de ácido 3,4-diaminobenzóico, 2 mL de metanol e ácido para-toluenossulfônico em quantidade catalítica. O frasco foi colocado na cavidade do reator de micro-ondas e aquecido a 100 °C em 5 min sob potência = 300 W e agitação. A temperatura alvo foi mantida por 10 min e a reação foi então resfriada à temperatura ambiente. Os produtos brutos precipitaram como sólidos após o resfriamento. Os sólidos foram filtrados, lavados com água destilada gelada e secos durante a noite à temperatura ambiente. Os compostos puros foram obtidos após suspensão em solvente apropriado, como no método I.

- Ácido 2,3-bis(4-metoxifenil)quinoxalina-6-carboxílico (**QX1**)

Purificado por suspensão em etanol. Sólido amarelo. Rendimento: 60% pelo método I e 76% pelo método II. Ponto de fusão: 298-301 °C (lit. 296-298 °C). [179]

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ ppm: 8,57 (*d*, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,23 (*dd*, *J* = 8,7, 1,9 Hz, 1H), 8,12 (*d*, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,44 (*dd*, *J* = 8,9, 2,8 Hz, 4H), 6,92 (*d*, *J* = 8,9 Hz, 4H), 3,77 (*s*, 6H). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) δ ppm: 166,81; 160,18; 160,07; 154,34; 153,73; 142,31; 139,58; 131,73; 131,37; 131,27; 130,93; 130,89; 130,65; 129,24; 129,14; 113,75; 55,22. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>): 3460, 2843, 2549, 1693, 1604, 1512, 1427, 1346, 1303, 1257, 1180, 1029, 837, 771, 667, 536. HRMS *m/z*, calcd. para C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 387,1345, encontrado: 387,1498.

- Ácido 2,3-bis(4-(dodeciloxi)fenil)quinoxalina-6-carboxílico (**QX2**)

Purificado em coluna cromatográfica usando uma mistura de AcOEt/Hex 1:1 como eluente. Sólido amarelo. Rendimento: 71% pelo método I. Ponto de fusão: 155-157 °C

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ ppm: 8,94 (*d*, *J* = 2,3 Hz, 1H), 8,35 (*dd*, *J* = 8,7, 2,3 Hz, 1H), 8,17 (*d*, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,67 – 7,45 (*m*, 4H), 6,99 – 6,82 (*m*, 4H), 4,05 – 3,93 (*m*, 4H), 1,79 (*t*, *J* = 6,3 Hz, 4H), 1,52 – 1,42 (*m*, 4H), 1,27 (*s*, 32H), 0,89 (*t*, *J* = 6,9 Hz, 6H). RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ ppm: 171,21; 160,37; 160,22; 155,12; 154,31; 143,51; 140,24; 132,75; 131,54; 131,41; 131,01; 130,96; 130,13; 129,36; 114,50; 69,42; 68,24; 32,05; 29,80; 29,78; 29,74; 29,72; 29,56; 29,49; 29,36; 29,34; 26,17; 22,82; 14,27. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>): 2924, 2854, 1689 (C=O), 1604, 1512, 1465, 1423, 1342, 1296, 1249, 1176, 833, 767, 678, 597, 547. HRMS *m/z*, calcd. para C<sub>45</sub>H<sub>62</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 695,4982, encontrado: 695,4940.

- Ácido 2,3-bis(4-metilfenil)quinoxalina-6-carboxílico (**QX4**)

Purificado por suspensão em AcOEt. Sólido marrom claro. Rendimento: 82% pelo método I e 77% pelo método II. Ponto de fusão: 299-301 °C.

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,78 (d,  $J$  = 1,9 Hz, 1H); 8,44 (dd,  $J$  = 8,7, 1,9 Hz, 1H); 8,34 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 1H); 7,56 (dd,  $J$  = 8,1, 1,8 Hz, 4H); 7,34 (d,  $J$  = 7,9 Hz, 4H); 2,50 (s, 6H), RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 166,65; 154,63; 154,01; 142,28; 139,62; 138,83; 138,67; 135,71; 135,68; 131,90; 130,68; 129,68; 129,63; 129,34; 129,17; 128,75; 20,89. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 2985, 2920, 2862, 2580, 1689, 1608, 1427, 1342, 1199, 1053, 818, 767, 548. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 355,1447, encontrado: 355,1562.

- Ácido 2,3-bis(4-bromofenil)quinoxalina-6-carboxílico (**QX5**)

Purificado por suspensão em AcOEt. Sólido marrom claro. Rendimento: 41% pelo método I e 59% pelo método II. Ponto de fusão: 276-279 °C.

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,61 (dd,  $J$  = 11,1, 1,9 Hz, 1H); 8,29 (td,  $J$  = 8,9, 1,9 Hz, 1H); 8,19 (dd,  $J$  = 13,0, 8,7 Hz, 1H); 7,64 – 7,57 (m, 4H); 7,44 (td,  $J$  = 7,0, 2,1 Hz, 4H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 166,54; 153,60; 152,97; 142,35; 139,77; 137,40; 132,39; 131,92; 131,89; 131,28; 130,71; 129,83; 129,33; 123,12; 123,01. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3086, 2850, 2515, 1693, 1585, 1423, 1338, 1199, 1072, 1010, 829, 544. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 482,9344, encontrado: 482,9500.

- Ácido 2,3-di(tiofen-2-il)quinoxalina-6-carboxílico (**QX6**)

Purificado por suspensão em MeOH. Sólido amarelo. Rendimento: 76% pelo método I e 54% pelo método II. Ponto de fusão: 237-239 °C.

RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 13,44 (s, 1H); 8,50 (dd,  $J$  = 1,9, 0,6 Hz; 1H); 8,22 (dd,  $J$  = 8,7, 1,9 Hz; 1H); 8,08 (dd,  $J$  = 8,7, 0,6 Hz; 1H); 7,83 (ddd,  $J$  = 5,0, 2,6, 1,1 Hz; 2H); 7,28 (ddd,  $J$  = 10,9, 3,7, 1,2 Hz; 3H); 7,12 (td,  $J$  = 4,9, 3,7 Hz; 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 166,40; 147,80; 147,13; 141,70; 140,59; 140,39; 139,02; 132,15; 130,72; 130,26; 130,20; 130,07; 129,81; 129,72; 128,77; 127,92; 127,82. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3097, 2966, 2800, 2526, 1689, 1612, 1519, 1431, 1277, 1195, 1057, 848, 706, 521. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$  [ $\text{M} + \text{H}$ ] $^+$ : 339,0262, encontrado: 339,0416.

### 6.2.2. Quinolinas

- Síntese dos intermediários benzilidenocetonas (**48a** e **48b**)

Em um erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 20 mmol do aldeído de partida, 12 mL de acetona (164 mmol) e 9 mL de uma solução aquosa de NaOH a 10%. A solução resultante foi mantida em repouso durante 48 h à temperatura ambiente. Após esse tempo, adicionou-se 50 mL de água destilada e gotejado lentamente, com auxílio de um funil de adição, 15 mL de uma solução aquosa de HCl a 10%, sob agitação vigorosa. O precipitado formado foi filtrado à vácuo lavando-se com água gelada, recristalizado em etanol e seco sob pressão reduzida.

(*E*)-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)but-3-en-2-ona (**48a**): Sólido amarelo. Rendimento: 3,0 g (78%). Ponto de fusão: 125-127 °C (lit. (128-129 °C).[180] IV (em KBr;  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 3294, 3001, 2947, 1674, 1639, 1581, 1026, 979, 756.

(*E*)-4-(2-hidroxifenil)-but-3-en-2-ona (**48b**): Sólido amarelo. Rendimento: 86%. Ponto de fusão: 140-143 °C (lit. (138-139 °C)[181]. IV (em KBr;  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 3350, 3066, 3024, 1645, 1608, 1255.

- Ácido 2-metilquinolina-4-carboxílico (**49**)

Em um balão de 50 mL foram adicionados 1,0 g (6,8 mmol) de isatina (**47**) e 20 mL de KOH<sub>(aq)</sub> 10 %. Após 5 min de agitação à temperatura ambiente, foram adicionados 1,5 mL (16,0 mmol) de acetona e a mistura foi mantida sob agitação e refluxo durante 8 h. Após esse tempo, a mistura reacional foi resfriada e acidificada com HCl<sub>(aq)</sub> 10% até pH 5-6 e o precipitado formado foi filtrado a vácuo e recristalizado em etanol. Sólido cinza claro. Rendimento: 0,82 g (64%). Ponto de fusão: 236-238 °C (lit. 238-240°C). [182] RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz)  $\delta$  ppm: 8,59 (dd, *J* = 8,6, 1,5 Hz, 1H), 7,99 (dd, *J* = 8,5, 1,3 Hz, 1H), 7,80 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H), 7,76 (ddd, *J* = 8,4, 6,8, 1,4 Hz, 1H), 7,62 (ddd, *J* = 8,4, 6,8, 1,3 Hz, 1H), 2,69 (s, 3H). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$  ppm: 167,81; 158,91; 148,19; 136,53; 129,92; 128,92; 127,14; 125,46; 122,90; 122,87; 24,79. IV (em KBr;  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 3502, 3417, 3036, 2924, 1670, 1612, 1392, 1369, 1284, 1076, 937, 829, 713, 625, 513.

A síntese das quinolinas como compostos finais se deu por dois métodos diferentes, descritos a seguir.

**Método I:** Em um balão de fundo redondo, 0,14 g (0,75 mmol) de isatina (**47**) foi solubilizada em 2,5 mL de 30% de KOH<sub>(aq)</sub>. Após agitar a solução resultante por 5 min em temperatura ambiente, 0,5 mmol de **48a** ou **48b** foi adicionado. A mistura de reação foi mantida sob refluxo durante 9 horas e após o resfriamento foi acidificada com 10% de HCl<sub>(aq)</sub> até o pH 5. O precipitado formado foi então filtrado sob vácuo e lavado com água gelada. O produto bruto obtido foi purificado por suspensão de etanol.

**Método II:** Em um balão de fundo redondo, uma mistura de 0,0936 g (0,5 mmol) de ácido 2-metilquinolina-4-carboxílico (**49**), 0,5 mmol do aldeído aromático correspondente (**50**) e 0,3 mL de anidrido acético foi mantida sob refluxo durante 3-5h. Após o resfriamento, etanol foi adicionado à suspensão de reação. O precipitado resultante foi coletado por filtração sob vácuo. Produtos brutos foram purificados por suspensão em etanol.

- Ácido (*E*)-2-(4-hidroxi-3-metoxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL1-A**)

Obtido pelo método I. Sólido Vermelho. Rendimento: 0,0910g (57 %). Ponto de fusão: 285-287 °C (lit. 282-283 °C) [183]. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ ppm: 9,76 (s, 1H); 8,59 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Hz, 1H); 8,16 (s, 1H); 8,02 (dd, *J* = 8,4, 1,7 Hz, 1H); 7,79 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H); 7,77 (ddd, *J* = 8,4, 6,8, 1,5 Hz, 1H); 7,61 (ddd, *J* = 8,3, 6,8, 1,3 Hz, 1H); 7,38 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H); 7,38 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 7,17 (dd, *J* = 8,2, 1,9 Hz, 1H); 6,83 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 3,86 (s, 3H). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) δ ppm: 167,91; 155,97; 148,59; 148,02; 135,33; 130,04; 129,15; 127,78; 127,01; 125,61; 125,03; 123,40; 121,66; 120,32; 115,73; 110,63; 55,72. IV (em KBr; ν<sub>max</sub>/cm<sup>-1</sup>): 3441, 2943, 2596, 1724, 1627, 1589, 1516, 1381, 1280, 1122, 1029, 968, 860, 759, 470. HRMS *m/z*, calcd. para C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub> [M + H]<sup>+</sup>: 322,1079, encontrado: 322,1098.

- Ácido (*E*)-2-(2-hidroxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL2-A**)

Obtido pelo método I. Sólido laranja. Rendimento: 0,1419 g (65 %). Ponto de fusão: > 300 °C (lit. > 300 °C) [183]. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ ppm: 8,58 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); 8,11-8,00 (m, 3H); 7,76 (ddd, *J* = 8,4, 6,8, 1,4 Hz, 1H); 7,70 (dd, *J* = 7,9, 1,6 Hz, 1H); 7,59 (ddd, *J* = 8,3, 6,8, 1,3 Hz, 1H); 7,50 (d, *J* = 16,4 Hz, 1H); 7,18 (ddd, *J* = 8,4, 7,2, 1,6 Hz, 1H); 6,94 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H); 6,86 (td, *J* = 7,5, 1,2 Hz, 1H). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) δ ppm: 168,57; 156,28; 156,21; 148,81; 140,00; 130,36;

130,30; 130,20; 129,44; 127,80; 127,13; 126,25; 124,02; 123,20; 120,20; 119,85; 116,46. IV (em KBr;  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 3077, 2584, 1658, 1627, 1597, 1381, 1161, 1095, 744, 466. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NO}_3$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 292,0974, encontrado: 292,0975.

- Ácido (*E*)-2-(4-acetoxi-3-metoxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL3-B**)

Obtido pelo método II. Sólido laranja. Rendimento: 0,0780 g (43 %). Ponto de fusão: 235-238 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,63 (dd,  $J = 8,6, 1,8$  Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,07 (dd,  $J = 8,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,89 (d,  $J = 16,4$  Hz, 1H), 7,82 (ddd,  $J = 8,4, 6,8, 1,4$  Hz, 1H), 7,66 (ddd,  $J = 8,4, 6,9, 1,3$  Hz, 1H), 7,60 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H), 7,57 (d,  $J = 1,9$  Hz, 1H), 7,35 (dd,  $J = 8,2, 1,9$  Hz, 1H), 7,14 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 2,27 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 168,70; 167,74; 155,44; 151,25; 148,60; 139,94; 137,00; 135,23; 134,33; 130,26; 129,40; 128,37; 127,59; 125,56; 123,62; 123,29; 120,77; 120,37; 111,26; 56,00; 20,52. IV (em KBr;  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 3410, 3074, 2939, 2839, 1762, 1631, 1597, 1512, 1373, 1199, 1122, 1029, 763, 517. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{NO}_5$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 364,1185, encontrado: 364,1189.

- Ácido (*E*)-2-(2-acetoxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL4-B**)

Obtido pelo método II. Sólido amarelo. Rendimento: 0,0916 g (55 %). Ponto de fusão: 260-262 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,60 (dd,  $J = 8,6, 1,6$  Hz, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,10 (dd,  $J = 8,6, 1,5$  Hz, 1H), 7,96 (dd,  $J = 7,7, 1,7$  Hz, 1H), 7,86 (d,  $J = 16,4$  Hz, 1H), 7,84 – 7,79 (m, 1H), 7,66 (ddd,  $J = 8,3, 6,8, 1,4$  Hz, 1H), 7,56 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H), 7,42 (td,  $J = 7,7, 1,7$  Hz, 1H), 7,36 (td,  $J = 7,5, 1,4$  Hz, 1H), 7,21 (dd,  $J = 8,0, 1,4$  Hz, 1H), 2,42 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 169,52; 167,70; 154,96; 148,81; 148,47; 137,27; 130,29; 129,97; 129,64; 128,69; 127,77; 127,66; 127,05; 126,55; 125,49; 123,72; 123,43; 121,25; 20,91. IV (em KBr;  $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ): 3062, 1762, 1597, 1373, 1199, 968, 767, 655. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 334,1079, encontrado: 334,1051.

- Ácido (*E*)-2-(4-acetoxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL5-B**)

Obtido pelo método II. Sólido marrom escuro. Rendimento: 0,0970 g (58 %). Ponto de fusão: 260-263 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,62 (dd,  $J = 8,5, 1,3$  Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,07 (dd,  $J = 8,7, 1,2$  Hz, 1H), 7,90 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H), 7,85 – 7,76 (m, 3H), 7,65 (ddd,  $J = 8,4, 6,9, 1,3$  Hz, 1H), 7,53 (d,  $J = 16,4$  Hz, 1H), 7,20 (d,

$J = 8,6$  Hz, 2H), 2,28 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 169,21; 167,68; 155,35; 150,90; 148,51; 136,99; 133,90; 133,83; 130,17; 128,90; 128,55; 128,15; 127,51; 126,38; 123,54; 122,37; 120,69; 20,93. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3067, 2932, 1751, 1632, 1597, 1508, 1369, 1215, 1199, 1165, 1014, 914, 767. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 334,1079, encontrado: 334,1050.

- Ácido (*E*)-2-(3,4-dimetoxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL6-C**)

Obtido pelo método II. Sólido de cor vinho. Rendimento: 0,1407 g (84 %). Ponto de fusão: 216-218 °C (lit. 258-260 °C) [184]. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,61 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,04 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,84 (d,  $J = 16,5$  Hz, 1H), 7,78 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,63 (t,  $J = 7,7$  Hz, 1H), 7,47 (d,  $J = 16,4$  Hz, 1H), 7,43 (d,  $J = 2,1$  Hz, 1H), 7,29 (dd,  $J = 8,3$ , 2,0 Hz, 1H), 7,01 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,80 (s, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 167,70; 155,78; 149,81; 149,04; 148,55; 136,93; 134,95; 130,04; 129,18; 129,02; 127,14; 125,88; 125,48; 123,37; 121,42; 120,51; 111,77; 109,83; 55,57; 55,56. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3074, 3001, 2835, 1631, 1593, 1516, 1346, 1257, 1234, 1141, 1026, 964, 763, 466. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 336,1236, encontrado: 336,1258.

- Ácido (*E*)-2-(4-butoxi-3-metoxiestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL7-C**)

Obtido pelo método II. Sólido amarelo. Rendimento: 0,0458 g (24 %). Ponto de fusão: 192-195 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta$  ppm: 8,59 (dd,  $J = 8,6$ , 1,4 Hz, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,03 (dd,  $J = 8,5$ , 1,3 Hz, 1H), 7,81 (d,  $J = 16,2$  Hz, 1H), 7,78 (ddd,  $J = 8,3$ , 6,8, 1,4 Hz, 1H), 7,62 (ddd,  $J = 8,4$ , 6,8, 1,3 Hz, 1H), 7,43 (d,  $J = 16,3$  Hz, 1H), 7,39 (d,  $J = 2,0$  Hz, 1H), 7,25 (dd,  $J = 8,3$ , 2,0 Hz, 1H), 6,98 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H), 3,98 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H), 3,84 (s, 3H), 1,69 (p,  $J = 6,5$  Hz, 2H), 1,42 (h,  $J = 7,5$  Hz, 2H), 0,92 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 168,17; 156,07; 149,55; 149,51; 148,82; 137,77; 135,29; 130,39; 129,44; 129,22; 127,44; 126,09; 125,84; 123,70; 121,72; 120,66; 113,13; 110,36; 68,22; 55,93; 31,10; 19,08; 14,03. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3398, 2958, 2870, 1990, 1658, 1631, 1593, 1512, 1384, 1273, 1138, 1029, 771, 517. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 378,1705, encontrado: 378,1748.

- Ácido (*E*)-2-(3-metoxi-4-(octiloxi)estiril)quinolina-4-carboxílico (**QL8-C**)

Obtido pelo método II. Sólido marrom. Rendimento: 0,1949 g (90 %). Ponto de fusão: 122-124 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta$  ppm: 8,62 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,00 (d,  $J$  = 8,2 Hz, 1H), 7,85 – 7,76 (m, 2H), 7,62 (t,  $J$  = 7,6 Hz, 1H), 7,45 (d,  $J$  = 16,5 Hz, 1H), 7,41 (d,  $J$  = 2,1 Hz, 1H), 7,25 (dd,  $J$  = 8,3, 2,1 Hz, 1H), 6,97 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 1H), 3,96 (t,  $J$  = 6,6 Hz, 2H), 3,85 (s, 3H), 1,70 (p,  $J$  = 6,6 Hz, 2H), 1,38 (p,  $J$  = 6,6 Hz, 2H), 1,30 – 1,17 (m, 8H), 0,87 – 0,79 (m, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 167,75; 158,69; 155,78; 149,21; 148,15; 136,66; 134,92; 129,61; 128,96; 128,84; 126,85; 125,39; 122,83; 122,63; 121,38; 120,44; 112,80; 110,07; 68,19; 55,59; 31,26; 28,75; 28,73; 28,69; 25,55; 22,10; 13,96. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3495, 3425, 2927, 2854, 1712, 1666, 1597, 1512, 1392, 1369, 1273, 1138, 1029, 848, 771, 520. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{NO}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 434,2331, encontrado: 434,2365.

- Ácido (*E*)-2-(2-nitroestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL9-D**)

Obtido pelo método II. Sólido amarelo. Rendimento: 0,1184 g (74 %). Ponto de fusão: 270-272 °C (lit. > 300 °C) [76]. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta$  ppm: 8,65 (d,  $J$  = 8,5 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,15 (d,  $J$  = 16,1 Hz, 1H), 8,12 – 8,03 (m, 3H), 7,87 – 7,78 (m, 2H), 7,70 (ddd,  $J$  = 8,3, 6,8, 1,3 Hz, 1H), 7,66 – 7,57 (m, 1H), 7,61 (d,  $J$  = 16,0 Hz, 1H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 167,50; 154,51; 148,43; 148,35; 137,09; 133,66; 132,43; 130,94; 130,29; 129,65; 129,59; 129,15; 128,60; 127,95; 125,50; 124,64; 123,80; 121,25. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3232, 3074, 3047, 1716, 1600, 1519, 1373, 1350, 1269, 960, 767, 733. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 321,0875, encontrado: 321,0796.

- Ácido (*E*)-2-(4-nitroestiril)quinolina-4-carboxílico (**QL10-D**)

Obtido pelo método II. Sólido amarelo. Rendimento: 0,1488 g (94 %). Ponto de fusão: > 300 °C (lit. > 300 °C) [76]. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 8,64 (dd,  $J$  = 8,4, 1,5 Hz, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,28 – 8,24 (m, 2H), 8,11 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 1H), 8,04 – 8,01 (m, 2H), 8,01 (d,  $J$  = 16,3 Hz, 1H), 7,84 (ddd,  $J$  = 8,6, 6,8, 1,7 Hz, 1H), 7,77 (d,  $J$  = 16,4 Hz, 1H), 7,69 (ddd,  $J$  = 8,4, 6,7, 1,5 Hz, 1H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 167,29; 154,46; 148,37; 146,97; 142,71; 137,12; 132,31; 132,27; 130,06; 129,38; 128,18; 127,74; 125,32; 123,83; 123,64; 120,76. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3074, 1635, 1597, 1519, 1338, 1273, 1107, 979, 771, 690. para  $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 321,0875, encontrado: 321,0816.

### 6.2.3. Di-hidroquinolinas

Em um balão de 25 mL foram adicionados 2,36 mmol do aldeído correspondente, 0,4104 g (2,5 mmol) de ácido fenil pirúvico (**52**), e 4 mL de etanol. Uma solução de 0,2309 g (2,48 mmol) de anilina (**53**) em 2 mL de etanol foi adicionada lentamente à mistura inicial sob agitação e deixada em refluxo por 3 h. A mistura ficou em repouso durante a noite. O produto foi filtrado, lavado com acetato de etila e recristalizado em etanol.[162]

- Ácido 2,3-difenil-1,2-di-hidroquinolina-4-carboxílico (**DQ1**)

Pó branco. Rendimento: 0,3842 g (50 %). Ponto de fusão: 230-232 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 10,58 (s, 1H), 7,73 (dd,  $J = 8,5, 1,3$  Hz, 2H), 7,65 (dd,  $J = 8,7, 1,2$  Hz, 2H), 7,37 (dd,  $J = 7,0, 1,4$  Hz, 2H), 7,33 – 7,27 (m, 4H), 7,17 (t,  $J = 7,8$  Hz, 3H), 7,11 – 7,02 (m, 2H), 6,51 (s, 1H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 165,45; 143,00; 137,59; 136,92; 131,64; 128,61; 128,48; 128,22; 127,88; 127,72; 127,32; 127,23; 124,53; 122,55; 121,89; 60,72. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3197, 1674, 1593, 1423, 1373, 1311, 1195, 929, 767, 694, 486. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{NO}_2$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 328,1338, encontrado: 328,1307.

- Ácido 2-(2-hidroxifenil)-3-fenil-1,2-di-hidroquinolina-4-carboxílico (**DQ2**)

Pó branco. Rendimento: 0,0887 g (11%). Ponto de fusão: 256-259 °C. RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  ppm: 10,56 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 7,81 – 7,71 (m, 4H), 7,32 – 7,26 (m, 4H), 7,17 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 7,03 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 6,96 – 6,90 (m, 1H), 6,85 – 6,70 (m, 2H), 6,59 (t,  $J = 8,1$  Hz, 2H). RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100 MHz)  $\delta$  ppm: 165,88; 155,08; 143,16; 137,46; 131,99; 128,92; 128,60; 128,27; 127,22; 126,81; 126,03; 124,04; 123,18; 122,89; 120,23; 119,77; 115,75; 53,36. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ): 3549, 3167, 1662, 1597, 1496, 1431, 1377, 1327, 1192, 933, 763, 690, 470. HRMS  $m/z$ , calcd. para  $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{NO}_3$   $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 344,1287, encontrado: 344,1181.

### 6.2.4. Pirazinas

Em um frasco de micro-ondas, foram adicionados 0,5 mmol da 1,2-dicetona correspondente, 0,0649 g (0,6 mmol) de diaminomaleonitrila (**54**), 2 mL de metanol e

ácido para-toluenossulfônico em quantidade catalítica. O frasco foi colocado na cavidade do reator de micro-ondas e aquecido a 100 °C em 5 min sob potência = 300 W e agitação. A temperatura alvo foi mantida por 10 min e a reação foi então resfriada à temperatura ambiente. Os produtos brutos precipitaram como sólidos após o resfriamento. Os sólidos foram filtrados, lavados com água destilada gelada e secos durante a noite à temperatura ambiente. Os compostos puros foram obtidos após suspensão em solvente apropriado.

- 5,6-bis(4-metoxifenil)pirazina-2,3-dicarbonitrila (**PZ1**)

Pó amarelo. Rendimento: 0,1274 g (74%). Ponto de fusão: 187-191 °C (lit. 190-191°C)[166]. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7,57 – 7,53 (m, 4H); 6,91 – 6,85 (m, 4H); 3,85 (s, 6H). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 162,18; 154,45; 131,60; 128,86; 127,86; 114,48; 113,58; 55,59. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>): 2967, 2843, 2237, 1605, 1504, 1377, 1265, 1176, 1014, 837, 575.

- 5,6-bis(4-metilfenil)pirazina-2,3-dicarbonitrila (**PZ2**)

Pó bege. Rendimento: 0,1255 g (81%). Ponto de fusão: 135-138 °C. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,45 (d, *J* = 8,2 Hz, 4H); 7,17 (d, *J* = 8,2 Hz, 4H); 2,39 (s, 6H). RMN <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 155,29; 141,93; 132,70; 129,85; 129,70; 129,44; 113,44; 21,63. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>): 2920, 2241, 1604, 1504, 1369, 825, 725, 567, 532.

- 5,6-bis(4-bromofenil)pirazina-2,3-dicarbonitrila (**PZ3**)

Pó amarelo. Rendimento: 0,1542 g (70%). Ponto de fusão: 212-215 °C (lit. 209-211 °C) [185]. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>): 3089, 1662, 1585, 1396, 1207, 1172, 1068, 879, 833, 760, 725, 467.

- 5,6-di(tiofen-2-il)pirazina-2,3-dicarbonitrila (**PZ4**)

Pó amarelo. Rendimento: 0,0703 g (48%). Ponto de fusão: 174-178 °C (lit. 178 °C) [186]. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 7,64 (ddd, *J* = 15,3, 4,4, 1,2 Hz, 4H); 7,10 – 7,07 (m, 2H). RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm: 148,03; 138,13; 133,21; 131,57; 128,55; 128,32; 113,09. IV (em KBr;  $\nu_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>): 3097, 2241, 1500, 1416, 1369, 1230, 1056, 844, 725, 574, 516.

### 6.3. Obtenção de sais

Os sais de potássio dos compostos **QX1**, **QX2**, **QX3** e **QL4-B** foram obtidos da seguinte forma: em um balão de 25 mL, foi preparada uma solução saturada de cada composto dissolvidos em MeOH e adicionada uma solução equimolar de KOH 10% em metanol (1,12 g; 0,02 mmol). As misturas foram agitadas por 12h à temperatura ambiente e então o metanol foi evaporado no rotaevaporador, e o sólido restante foi seco sob vácuo. Os sais foram redissolvidos em solvente apropriado para análises posteriores.

### 6.4. Preparação dos filmes

Foram preparadas soluções de concentração de 1% em massa e gotejada sob uma lamínula de vidro de formato circular previamente lavada com detergente neutro, acetona e etanol, e seca na estufa. Após a deposição do material, lamínula foi deixada na capela até evaporação total do solvente. Para realizar a medida de fluorescência dos filmes, os mesmos foram levados ao fluorímetro no suporte específico para sólidos.

### 6.5. Preparação de soluções para análises das propriedades ópticas

As soluções foram preparadas inicialmente a uma concentração de  $1 \times 10^{-3}$  M. Para isso foi adicionada a massa correspondente a 0,001 mol de cada composto em um balão volumétrico de 10 mL e completada com o solvente orgânico. Depois disso, as soluções foram diluídas para  $1 \times 10^{-5}$  M transferindo-se, utilizando um micropipetador, uma alíquota de 100  $\mu$ L da solução-mãe para outro balão volumétrico de 10 mL e então completado com o próprio solvente para as análises de solvatocromismo, ou com as misturas solvente/água para as análises de AIE. Nesse caso, adicionou-se primeiro a quantidade necessária de solvente orgânico e então adicionou-se a água gota a gota sob agitação. Por exemplo, para preparar uma solução com 10% de água, foram adicionados 9 mL de solvente orgânico e completou-se com água, e assim sucessivamente. Para os estudos de AIE do sal do composto **QX1**, seguiu-se o mesmo protocolo, sendo que adicionando primeiro a água e depois o THF.

### 6.6. Rendimento quântico relativo

Para a determinação do rendimento quântico relativo, foi preparada uma solução diluída de sulfato de quinina usando como solvente uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,1M. Essa solução foi levada ao espectrômetro de UV-vis e seu espectro de absorção foi registrado ajustando-se a concentração da solução até que no comprimento de onda de 365 nm, a absorbância fosse de 0,05 u.a.. Após isso, o espectro de emissão foi registrado imediatamente. O mesmo protocolo foi adotado para as soluções dos compostos analisados nos respectivos solventes utilizados. Após a plotagem de todos os espectros, as áreas dos espectros foram calculadas utilizando o programa Origin e os rendimentos quânticos relativos foram determinados a partir da Equação 3 (p. 38).

## **6.7. Atividade biológica**

### **6.7.1. Atividade antimicrobiana**

Os testes de atividade antimicrobiana foram realizados em parceria com o Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPB, conforme método descrito a seguir.

As substâncias foram submetidas aos ensaios biológicos *in vitro* para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias, fungos leveduriformes e fungos filamentosos. Dez microrganismos de diferentes grupos microbianos foram usados, a saber: bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC-13150 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC-12228; bactérias Gram-negativas - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-25853; leveduras: *Candida albicans* ATCC-76485, *Candida albicans* LM-92, *Candida tropicalis* ATCC-750, and *Candida tropicalis* LM-77; e fungos filamentosos: *Aspergillus flavus* ATCC-4603, *Aspergillus flavus* LM-248, e *Penicillium citrinum* INCQS-4001.

Os fármacos usados como controles foram gentamicina como antibacteriano e fluconazol como antifúngico (Sigma-Aldrich/Merck KGaA). Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade biológica foram Brain Heart Infusion (BHI), Agar Sabouraud Dextrose (ASD) – adquiridos da Difco Laboratories Ltd, USA, para manutenção, respectivamente, das cepas de bactérias e fungos. Os microrganismos pertencem a MICOTECA do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da

Universidade Federal da Paraíba (UFPB). As amostras das espécies fúngicas foram mantidas em ASD à temperatura de 4°C (Geladeira).

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas de bactérias em meio BHI e fungos em meio ASD, foram suspensas em solução fisiológica a 0,9% estéril e ajustadas de acordo com o tubo 0,5 da escala padrão de Mc Farland para obtenção de  $10^6$  UFC/mL. [134,187,188] A determinação da CIM das amostras sobre cepas bacterianas e fúngicas foram realizadas através da técnica de microdiluição em caldo, com placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”. Inicialmente, os produtos foram pesados e devidamente solubilizados em 150  $\mu$ L (3 %) de dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionados 100  $\mu$ L (2%) de Tween 80, completando-se o volume final com água destilada esterilizada 5 mL. Dessa forma, foi obtida a concentração inicial dos produtos de 1024  $\mu$ g/mL.[189–191]

Foram distribuídos 100  $\mu$ L de caldo RPMI 1640 duplamente concentrado nos poços das placas de microdiluição. Em seguida, 100  $\mu$ L das moléculas solubilizados foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 até 4  $\mu$ g/mL. Por fim, foi adicionado 10  $\mu$ L das suspensões dos microrganismos nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma espécie. Paralelamente, foram realizados os controles: microrganismos (RPMI + leveduras), para comprovação da viabilidade das cepas, meio de cultura (RPMI), para comprovação da esterilidade, e controle com gentamicina/bactérias e fluconazol/fungos para inibição dos microrganismos. As placas preparadas foram assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 - 48 horas para os ensaios com leveduras e a  $28-30^\circ\text{C}/5-7$  dias para fungos filamentosos.

#### 6.7.1.1. Estudos computacionais

Os estudos computacionais envolvendo *docking* molecular para compreensão do mecanismo de ação das moléculas nas espécies microbianas foram realizados em parceria com o Laboratório de Química Quântica Computacional (LQQC – UFPB) conforme método descrito a seguir.

#### 6.7.1.1.1. *Triagem virtual inversa (IVS)*

Os compostos derivados de quinoxalinas e quinolinas escolhidos como representativos passaram por triagem virtual inversa (*target fishing*) para se descobrir atividades biológicas potenciais dentro de uma série de compostos. Uma biblioteca de alvos, consistindo de aproximadamente 23.000 estruturas, foi estabelecida com base na metodologia publicada anteriormente. [192] Este procedimento abrangente envolveu a curadoria de alvos do Protein Data Bank (PDB), [193] originalmente acompanhados por ligantes ligados. Após a remoção de todos os ligantes ligados, entradas personalizadas foram geradas para simulações de *docking* automatizadas usando Autodock Vina. [194] Scripts ad hoc especializados, conforme relatado anteriormente, [192] foram empregados para automação. Posteriormente, os dados passaram por classificação com base em scores e inspeção humana para priorizar testes biológicos potenciais. O alvo ideal para a atividade proposta foi então selecionado.

#### 6.7.1.1.2. *Modelagem de proteínas*

Avaliamos a presença do alvo antimicrobiano mais eficaz dentro das espécies fúngicas e bacterianas examinadas neste estudo. Notavelmente, entre as espécies investigadas, apenas a estrutura de *S. aureus* foi elucidada e depositada no PDB. Por outro lado, para as espécies *S. epidermidis*, *C. albicans* e *C. tropicalis*, suas informações estruturais foram obtidas do AlphaFold,[138] identificadas pelos respectivos códigos: A0A829M0X2, A0A1D8PI71 e C5M7M6.

Após a identificação, as estruturas foram preservadas no formato PDB. A ausência de uma estrutura tridimensional resolvida para *P. aeruginosa* e *A. flavus* levou à necessidade de construir suas representações tridimensionais. Inicialmente, a sequência de aminoácidos de *S. aureus* serviu como uma consulta no BLAST para localizar a sequência alvo nessas espécies, identificadas pelos códigos do GenBank MBA6432622.1 e KOC07597.1. Análises computacionais não foram realizadas na espécie *Penicillium citrinum* devido à indisponibilidade de uma estrutura tridimensional resolvida e sequência de proteína alvo.

O servidor PSIPRED [195] foi utilizado para analisar todas as sequências de aminoácidos, conduzindo buscas por regiões transmembrana, previsões de estrutura secundária e peptídeos de sinal. Posteriormente, as sequências de aminoácidos dessas espécies foram incorporadas ao SwissModel [196] para identificar modelos adequados. Por fim, o modelo foi construído e sua precisão foi avaliada usando parâmetros Molprobit e o gráfico Ramachandran. A criação de um alinhamento de sequência múltipla foi realizada usando ClustalO dentro do Jalview. [197]

#### 6.7.1.1.3. *Docking*

##### 6.7.1.1.3.1. *Validação usando redocking*

A IVS produziu três códigos PDB correspondentes ao mesmo alvo biológico: PDB ID 2ZCR, [198] PDB ID 2ZCS [198] e PDB ID 3ACX. [199] Para determinar o alvo mais adequado para estudos de *docking* molecular, sua validação foi executada por meio de *redocking* e cálculo de chamariz para a criação de uma curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC). O *redocking* envolve a comparação da pose de um ligante cristalizado com a pose do mesmo ligante encaixado no sítio ativo da proteína correspondente. Nesse contexto, os procedimentos de *redocking* foram conduzidos para os três códigos PDB da proteína *S. aureus*, pois eles abrangem um inibidor de PDB ligado ao sítio ativo.

A preparação das estruturas proteicas envolveu várias etapas, incluindo exclusão de solvente, adição de hidrogênios e cargas e a substituição da biblioteca de rotâmeros por cadeias laterais incompletas usando o programa Chimera UCSF. [200] As simulações de *redocking* foram realizadas usando o Autodock Vina,[194] com uma grade definida em 20 angstroms da posição do ligante cristalizado. A validação da simulação de *docking* foi baseada em um critério de distância entre 0 e 2 angstroms.[201] Os resultados de *redocking* obtidos do Vina serviram como dados de entrada no Discovery Studio 2020,[202] com o ligante PDB cristalizado servindo como uma referência fixa.

##### 6.7.1.1.3.2. *Validação usando procedimentos decoys*

Um segundo modelo de validação para docking foi executado usando a metodologia envolvendo a geração de chamarizes e falsos positivos. [203]

Inicialmente, inibidores previamente relatados para a enzima estudada, com valores de  $K_i$  documentados na literatura, foram buscados no ChEMBL.[204] Todos os compostos identificados compartilhavam o mesmo sítio de ligação com a proteína. A triagem de compostos envolveu a remoção de duplicatas e ajustes para regiões iônicas no código SMILES. No total, 32 compostos foram identificados, com 14 categorizados como ativos ( $K_i$  variando de 0,5 nM a 450 nM) e 18 como inativos ( $K_i$  variando de 810 nM a 19.820 nM).

Os códigos SMILES dos compostos ativos foram empregados para produzir chamarizes usando a plataforma DUD-E.[205] Para cada composto ativo na série, um conjunto de 51 chamarizes foi gerado. Posteriormente, as estruturas tridimensionais dos compostos ativos e inativos, juntamente com os chamarizes, foram construídas usando o OpenBabel.[206] Este processo envolveu a definição de um pH de 7,4, a realização de geração de estrutura 3D e o emprego de ligações de hidrogênio como um critério de padronização. Os compostos resultantes foram convertidos para o formato pdbqt para utilização no Autodock Vina.[194]

Após a aquisição das estruturas dos compostos, o *docking* molecular foi executado para compostos ativos e inativos, juntamente com os chamarizes, utilizando coordenadas de caixa de grade idênticas e a estrutura de proteína empregada no *redocking*. Os valores de *scores* foram calculados e uma planilha foi gerada contendo os nomes dos compostos, suas pontuações correspondentes e uma terceira coluna atribuindo um valor de 1 para compostos ativos e 0 para compostos inativos e chamarizes. A curva ROC foi computada por meio do uso do servidor em <https://stats.drugdesign.fr/> [207], onde um valor de área sob a curva (AUC) mais próximo de 1 indica uma previsão de modelo mais precisa. Dos três alvos, o mais ideal foi selecionado para os estudos de *docking* molecular dos compostos investigados neste estudo.

#### 6.7.1.1.3.3. Simulação de docking molecular

Após a validação, simulações de *docking* foram conduzidas para as quinoxalinas **QX4** e **QX5** e para as quinolinas **QL3-B** e **QL4-B** os quais não exibiram crescimento microbiano em estudos *in vitro*. Esses compostos foram submetidos a simulações nos alvos de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C.*

*tropicalis* e *A. flavus*. O sítio ativo no *docking* molecular foi determinado utilizando o sítio de ligação do inibidor de PDB, empregando as mesmas coordenadas do *redocking* para todas as espécies. O processo de *docking* foi executado por meio de linha de comando, empregando o *script* de triagem virtual Vina com uma configuração de exaustividade de 50 [208]. Subsequentemente aos cálculos, os valores de energia, melhor pose e interações foram avaliados usando a interface UCSF Chimera [200].

#### 6.7.2. Atividade anticâncer

O estudo da citotoxicidade *in vitro* dos compostos desse trabalho foi realizado em parceria com o Laboratório de Proliferação celular e Câncer, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco, conforme procedimento descrito a seguir.

Os ensaios biológicos *in vitro* das substâncias para avaliação da atividade anticâncer foram realizados utilizando-se células das seguintes linhagens tumorais: K-562 (leucemia mielóide crônica), HL-60 (leucemia promielocítica), HTC-116 (carcinoma de colorretal humano), H-1299 (carcinoma de pulmão) e MRC-5 (fibroblasto de pulmão). Essas linhagens foram obtidas do Banco de células do Rio de Janeiro, tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>. As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril.

A análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano.[209] É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983),[210] tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol) -2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação.[211]

As linhagens K-562 e HL-60 foram plaqueadas na concentração de  $0,3 \times 10^6$  células/mL e as linhagens HCT-116 e H-1299, foram plaqueadas na concentração de  $1 \times 10^5$  células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO, foram diluídas

no meio RPMI para obtenção da concentração final e adicionadas em placa de 96 poços (200µL/ poço). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Transcorrido às 72h, foram adicionados 25µL da solução de MTT (sal de tetrazolium) em cada poço e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 575nm.

Para a análise dos resultados, a concentração inibitória em 50% (CI<sub>50</sub>) foi calculada por regressão não linear no programa *GraphPad Prism 5.0*. Cada amostra foi testada em duplicata

## 7. REFERÊNCIAS

- [1] Chen Y, Lam JWY, Kwok RTK, Liu B, Tang BZ. Aggregation-induced emission: Fundamental understanding and future developments. *Mater Horizons* 2019;6:428–33. <https://doi.org/10.1039/c8mh01331d>.
- [2] Wang B, Liu S, Liu X, Hu R, Qin A, Tang BZ. Aggregation-Induced Emission Materials that Aid in Pharmaceutical Research. *Adv Healthc Mater* 2021;10:1–18. <https://doi.org/10.1002/adhm.202101067>.
- [3] Yang Y, Gao F, Wang Y, Li H, Zhang J, Sun Z, et al. Fluorescent Organic Small Molecule Probes for Bioimaging and Detection Applications. *Molecules* 2022;27. <https://doi.org/10.3390/molecules27238421>.
- [4] Wei Y, Wang L, Huang J, Zhao J, Yan Y. Multifunctional Metallo-Organic Vesicles Displaying Aggregation-Induced Emission: Two-Photon Cell-Imaging, Drug Delivery, and Specific Detection of Zinc Ion. *ACS Appl Nano Mater* 2018;1:1819–27. <https://doi.org/10.1021/acsanm.8b00226>.
- [5] de Araújo LG, de Jesus AASS, Dantas JR, de Oliveira Lima E, Vaz BG, dos Santos GF, et al. 2-Styryl-quinoline-4-carboxylic acids: Synthesis, characterization, and investigation of their optical properties and antimicrobial activity. *Dye Pigment* 2024;229. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112294>.
- [6] Yildiz EA, Pepe Y, Erdener D, Karatay A, Boyacioglu B, Ünver H, et al.

- Chromogenic sensing, biological, and optical properties of Schiff bases of 2-amino-6-methoxybenzothiazole. *J Mol Struct* 2024;1295.  
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136731>.
- [7] Bayona AMDP, Mroz P, Thunshelle C, Hamblin MR. Design features for optimization of tetrapyrrole macrocycles as antimicrobial and anticancer photosensitizers. *Chem Biol Drug Des* 2017;89:192–206.  
<https://doi.org/10.1111/cbdd.12792>.
- [8] Lavis LD, Raines RT. Bright ideas for chemical biology. *ACS Chem Biol* 2008;3:142–55. <https://doi.org/10.1021/cb700248m>.
- [9] Jun J V., Chenoweth DM, Petersson EJ. Rational design of small molecule fluorescent probes for biological applications. *Org Biomol Chem* 2020;18:5747–63. <https://doi.org/10.1039/d0ob01131b>.
- [10] Vitaku E, Smith DT, Njardarson JT. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. *J Med Chem* 2014;57:10257–74.  
<https://doi.org/10.1021/jm501100b>.
- [11] Nagarajan R, Varadaraju C, Lee KH. Recent advancements in the role of N-Heterocyclic receptors on heavy metal ion sensing. *Dye Pigment* 2021;191:109331. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109331>.
- [12] Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JR. *Introdução à espectroscopia*. 5th ed. Bellingham, Washington: Cengage Learning; 2015.  
<https://doi.org/10.1590/s0100-40422007000700048>.
- [13] Valeur B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*. 2nd ed. Weinheim, Germany: Wiley-Vch; 2012.
- [14] Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. vol. 33. 3rd ed. Baltimore, Mariland, USA: Springer; 2006.  
<https://doi.org/10.1007/BF02629943>.
- [15] Rousseac F, Rousseac A. *Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques*. 2nd ed. Wiley; 2013.
- [16] Harris DC, LUCY CA. *Análise Química Quantitativa*. 9th ed. Rio de Janeiro:

LTC; 2017.

- [17] Fery-Forgues S, Lavabre D. Are fluorescence quantum yields so tricky to measure? A demonstration using familiar stationary products. *J Chem Educ* 1999;76:1260–4. <https://doi.org/10.1021/ed076p1260>.
- [18] Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 1999. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3061-6>.
- [19] Shaya J, Fontaine-Vive F, Michel BY, Burger A. Rational Design of Push–Pull Fluorene Dyes: Synthesis and Structure–Photophysics Relationship. *Chem - A Eur J* 2016;22:10627–37. <https://doi.org/10.1002/chem.201600581>.
- [20] Myochin T, Hanaoka K, Iwaki S, Ueno T, Komatsu T, Terai T, *et al*. Development of a Series of Near-Infrared Dark Quenchers Based on Si-rhodamines and Their Application to Fluorescent Probes. *J Am Chem Soc* 2015;137:4759–65. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b00246>.
- [21] Hong Y, Lam JWY, Tang BZ. Aggregation-induced emission. *Chem Soc Rev* 2011;40:5361–88. <https://doi.org/10.1039/c1cs15113d>.
- [22] Du W, Liu X, Liu L, Lam JWY, Tang BZ. Photoresponsive Polymers with Aggregation-Induced Emission. *ACS Appl Polym Mater* 2021;3:2290–309. <https://doi.org/10.1021/acsapm.1c00182>.
- [23] Mei J, Leung NLC, Kwok RTK, Lam JWY, Tang BZ. Aggregation-Induced Emission: Together We Shine, United We Soar! *Chem Rev* 2015;115:11718–940. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00263>.
- [24] Tang BZ, Luo J, Xie Z, Lam JWY. Aggregation-induced emission of 1-methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilole. *Chem Commun* 2001;18:1740–1. <https://doi.org/10.1039/b105159h>.
- [25] Peng Q, Shuai Z. Molecular mechanism of aggregation-induced emission. *Aggregate* 2021;2:1–20. <https://doi.org/10.1002/agt2.91>.
- [26] Peng Q, Ma H, Shuai Z. Theory of Long-Lived Room-Temperature Phosphorescence in Organic Aggregates. *Acc Chem Res* 2021;54:940–9. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.0c00556>.

- [27] Gierschner J, Shi J, Milián-Medina B, Roca-Sanjuán D, Varghese S, Park SY. Luminescence in Crystalline Organic Materials: From Molecules to Molecular Solids. *Adv Opt Mater* 2021;9. <https://doi.org/10.1002/adom.202002251>.
- [28] Zeng Q, Li Z, Dong Y, Di C, Qin A, Hong Y, *et al*. Fluorescence enhancements of benzene-cored luminophors by restricted intramolecular rotations: AIE and AIEE effects. *Chem Commun* 2007;1:70–2. <https://doi.org/10.1039/b613522f>.
- [29] Leung NLC, Xie N, Yuan W, Liu Y, Wu Q, Peng Q, *et al*. Restriction of intramolecular motions: The general mechanism behind aggregation-induced emission. *Chem - A Eur J* 2014;20:15349–53. <https://doi.org/10.1002/chem.201403811>.
- [30] Peng Q, Yi Y, Shuai Z, Shao J. Toward quantitative prediction of molecular fluorescence quantum efficiency: Role of Duschinsky rotation. *J Am Chem Soc* 2007;129:9333–9. <https://doi.org/10.1021/ja067946e>.
- [31] Chung JW, Yoon SJ, An BK, Park SY. High-contrast on/off fluorescence switching via reversible *e* - *Z* isomerization of diphenylstilbene containing the  $\alpha$ -cyanostilbenic moiety. *J Phys Chem C* 2013;117:11285–91. <https://doi.org/10.1021/jp401440s>.
- [32] Dommett M, Rivera M, Smith MTH, Crespo-Otero R. Molecular and Crystalline Requirements for Solid State Fluorescence Exploiting Excited State Intramolecular Proton Transfer. *J Mater Chem C* 2020;8:2558. <https://doi.org/10.1039/b000000x>.
- [33] Tu Y, Liu J, Zhang H, Peng Q, Lam JWY, Tang BZ. Restriction of Access to the Dark State A New Mechanistic Model for Heteroatom-Containing AIE Systems. *AngewChem Int* 2019;58:14911 –14914.
- [34] Peng XL, Ruiz-Barragan S, Li ZS, Li QS, Blancafort L. Restricted access to a conical intersection to explain aggregation induced emission in dimethyl tetraphenylsilole. *J Mater Chem C* 2016;4:2802–10. <https://doi.org/10.1039/c5tc03322e>.
- [35] Yin PA, Wan Q, Niu Y, Peng Q, Wang Z, Li Y, *et al*. Theoretical and Experimental Investigations on the Aggregation-Enhanced Emission from Dark

- State: Vibronic Coupling Effect. *Adv Electron Mater* 2020;6:2000255.  
<https://doi.org/10.1002/aelm.202000255>.
- [36] Chen J, Law CCW, Lam JWY, Dong Y, Lo SMF, Williams ID, *et al.* Synthesis, Light Emission, Nanoaggregation, and Restricted Intramolecular Rotation of 1,1-Substituted 2,3,4,5-Tetraphenylsiloles. *Chem Mater* 2003;15:1535–46.
- [37] He Z, Zhao E, Lam JWY, Tang BZ. New Mechanistic Insights into the AIE Phenomenon. *ACS Symp. Ser.*, vol. 1226, 2016, p. 5–20.  
<https://doi.org/10.1021/bk-2016-1226.ch002>.
- [38] Mei J, Hong Y, Lam JWY, Qin A, Tang Y, Tang BZ. Aggregation-induced emission: The whole is more brilliant than the parts. *Adv Mater* 2014;26:5429–79. <https://doi.org/10.1002/adma.201401356>.
- [39] Yang Z, Qin W, Leung NLC, Arseneault M, Lam JWY, Liang G, *et al.* A mechanistic study of AIE processes of TPE luminogens: Intramolecular rotation vs. configurational isomerization. *J Mater Chem C* 2015;4:99–107.  
<https://doi.org/10.1039/c5tc02924d>.
- [40] Zhang J, Zhang H, Lam JWY, Tang BZ. Restriction of Intramolecular Motion(RIM): Investigating AIE Mechanism from Experimental and Theoretical Studies. *Chem Res Chinese Univ* 2021;37. <https://doi.org/10.1007/s40242-021-0381-6>.
- [41] Zheng Z, Zhang H, Lam JWY, Tang BZ. Aggregation-Induced Emission: New Vistas at the Aggregate Level. *Angew Chemie - Int Ed* 2020;59:9888–907.
- [42] Chua MH, Shah KW, Zhou H, Xu J. Recent advances in aggregation-induced emission chemosensors for anion sensing. *Molecules* 2019;24.  
<https://doi.org/10.3390/molecules24152711>.
- [43] Kwok RTK, Leung CWT, Lam JWY, Tang BZ. Biosensing by luminogens with aggregation-induced emission characteristics †. *This J Is Cite This Chem Soc Rev* 2015;4228:4228. <https://doi.org/10.1039/c4cs00325j>.
- [44] Ma D. Status and Prospects of Aggregation-Induced Emission Materials in Organic Optoelectronic Devices. *Top Curr Chem* 2021;379:1–37.  
<https://doi.org/10.1007/s41061-021-00328-8>.

- [45] Jiang Y, Liu YY, Liu X, Lin H, Gao K, Lai WY, *et al.* Organic solid-state lasers: A materials view and future development. *Chem Soc Rev* 2020;49:5885–944. <https://doi.org/10.1039/d0cs00037j>.
- [46] Cai X, Liu B. Aggregation-Induced Emission: Recent Advances in Materials and Biomedical Applications. *Angew Chemie - Int Ed* 2020;59:9868–86. <https://doi.org/10.1002/anie.202000845>.
- [47] Hu F, Xu S, Liu B. Photosensitizers with Aggregation-Induced Emission: Materials and Biomedical Applications. *Adv Mater* 2018;30:1–29. <https://doi.org/10.1002/adma.201801350>.
- [48] Wang J, Zhang L, Li Z. Aggregation-Induced Emission Luminogens with Photoresponsive Behaviors for Biomedical Applications. *Adv Healthc Mater* 2021;10:1–25. <https://doi.org/10.1002/adhm.202101169>.
- [49] Hu R, Wang J, Qin A, Tang BZ. Aggregation-Induced Emission-Active Biomacromolecules: Progress, Challenges, and Opportunities. *Biomacromolecules* 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.1c01516>.
- [50] Gao M, Tang BZ. Fluorescent Sensors Based on Aggregation-Induced Emission: Recent Advances and Perspectives. *ACS Sensors* 2017;2:1382–99. <https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00551>.
- [51] Yin W, Yang Z, Zhang S, Yang Y, Zhao L, Li Z, *et al.* A positively charged aggregation-induced emission (AIE) luminogen as an ultra-sensitive mechanochromic luminescent material: Design, synthesis and versatile applications. *Mater Chem Front* 2021;5:2849–59. <https://doi.org/10.1039/d0qm01047b>.
- [52] Zheng X, Huang R, Zhong C, Xie G, Ning W, Huang M, *et al.* Achieving 21% External Quantum Efficiency for Nondoped Solution-Processed Sky-Blue Thermally Activated Delayed Fluorescence OLEDs by Means of Multi-(Donor/Acceptor) Emitter with Through-Space/-Bond Charge Transfer. *Adv Sci* 2020;7. <https://doi.org/10.1002/advs.201902087>.
- [53] Liu B, Liu J, He J, Zhang J, Zhou H, Gao C. A novel red-emitting fluorescent probe for the highly selective detection of Hg<sup>2+</sup> ion with AIE mechanism. *Chem*

- Phys 2020;539:110944. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2020.110944>.
- [54] Guan P, Liu Y, Yang B, Wu Y, Chai J, Wen G. Fluorometric probe for the lipase level: Design, mechanism and biological imaging application. *Talanta* 2021;225:121948. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121948>.
- [55] Muthusamy S, Zhu D, Rajalakshmi K, Zhu W, Wang S, Lee KB, *et al.* Successive Detection of Zinc Ion and Citrate Using a Schiff Base Chemosensor for Enhanced Prostate Cancer Diagnosis in Biosystems. *ACS Appl Bio Mater* 2021;4:1932–41. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01568>.
- [56] Zárate-Zárate D, Aguilar R, Hernández-Benitez RI, Labarrios EM, Delgado F, Tamariz J. Synthesis of  $\alpha$ -ketols by functionalization of captodative alkenes and divergent preparation of heterocycles and natural products. *Tetrahedron* 2015;71:6961–78. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.07.010>.
- [57] Kerru N, Gummidi L, Maddila S, Gangu KK, Jonnalagadda SB. A review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications. *Molecules* 2020;25. <https://doi.org/10.3390/molecules25081909>.
- [58] Gers-Panther CF, Fischer H, Nordmann J, Seiler T, Behnke T, Würth C, *et al.* Four- and Five-Component Syntheses and Photophysical Properties of Emission Solvatochromic 3-Aminovinylquinoxalines. *J Org Chem* 2017;82:567–78. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b02581>.
- [59] Gers CF, Nordmann J, Kumru C, Frank W, Müller TJJ. Solvatochromic fluorescent 2-substituted 3-ethynyl quinoxalines: Four-component synthesis, photophysical properties, and electronic structure. *J Org Chem* 2014;79:3296–310. <https://doi.org/10.1021/jo4025978>.
- [60] Li S, Yin C, Wang R, Fan Q, Wu W, Jiang X. Second Near-Infrared Aggregation-Induced Emission Fluorophores with Phenothiazine Derivatives as the Donor and 6,7-Diphenyl-[1,2,5]Thiadiazolo[3,4-g]Quinoxaline as the Acceptor for in Vivo Imaging. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12:20281–6. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c03769>.
- [61] Yu L, Wu Z, Xie G, Zhong C, Zhu Z, Ma D, *et al.* An efficient exciton harvest route for high-performance OLEDs based on aggregation-induced delayed

- fluorescence. *Chem Commun* 2018;54:1379–82.  
<https://doi.org/10.1039/c7cc09925h>.
- [62] Wen Z, Yang T, Zhang D, Wang Z, Dong S, Xu H, *et al.* A multifunctional luminescent material based on quinoxaline and triphenylamine groups: polymorphism, mechanochromic luminescence, and applications in high-efficiency fluorescent OLEDs. *J Mater Chem C* 2022;10:3396–403.  
<https://doi.org/10.1039/d1tc04285h>.
- [63] Zhan Y, Wang Y. Donor-acceptor  $\pi$ -conjugated quinoxaline derivatives exhibiting multi-stimuli-responsive behaviors and polymorphism-dependent multicolor solid-state emission. *Dye Pigment* 2020;173:107971.  
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107971>.
- [64] Ge Y, Huang B. Light-emitting analogues based on triphenylamine modified quinoxaline and pyridine[2,3-*b*]pyrazine exhibiting different mechanochromic luminescence. *New J Chem* 2021;45:11304–12.  
<https://doi.org/10.1039/d1nj01350e>.
- [65] Liu Q song, Yang Z hui, Wang Z long, Sun Y, Chen L lin, Sun L, *et al.* A novel dehydroabietic acid-based AIE-active fluorescent probe for rapid detection of Hg<sup>2+</sup> and its environmental and biological applications. *J Photochem Photobiol A Chem* 2022;423:113597. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113597>.
- [66] Zhou C, Cao C, Yang D, Cao X, Liu H, Ma D, *et al.* Highly efficient red thermally activated delayed fluorescence emitters by manipulating the molecular horizontal orientation. *Mater Chem Front* 2021;5:3209–15.  
<https://doi.org/10.1039/d1qm00155h>.
- [67] Zhang H, Lu Q, Zhang J, Qu W, Xie S, Huang L, *et al.* Discovery of novel nitrogenous heterocyclic-containing quinoxaline-1,4-di-N-oxides as potent activator of autophagy in M.tb-infected macrophages. *Eur J Med Chem* 2021;223:113657. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113657>.
- [68] Dewangan D, Nakhate KT, Verma VS, Nagori K, Badwaik H, Nair N, *et al.* Synthesis and Molecular Docking Study of Novel Hybrids of 1,3,4-Oxadiazoles and Quinoxaline as a Potential Analgesic and Anti-Inflammatory Agents. *J Heterocycl Chem* 2018;55:2901–10. <https://doi.org/10.1002/jhet.3363>.

- [69] Oyallon B, Brachet-Botineau M, Logé C, Robert T, Bach S, Ibrahim S, *et al.* New quinoxaline derivatives as dual pim-1/2 kinase inhibitors: Design, synthesis and biological evaluation. *Molecules* 2021;26:1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules26040867>.
- [70] Pereira JA, Pessoa AM, Cordeiro MNDS, Fernandes R, Prudêncio C, Noronha JP, *et al.* Quinoxaline, its derivatives and applications: A State of the Art review. *Eur J Med Chem* 2015;97:664–72. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.06.058>.
- [71] V. Bala Aakash, Ramalakshmi N, Bhuvaneswari S, Sankari E, Arunkumar S. Comprehensive Review on Versatile Pharmacology of Quinoxaline Derivative. *Russ J Bioorganic Chem* 2022;48:657–77. <https://doi.org/10.1134/S1068162022040069>.
- [72] Manickam S, Balijapalli U, Sawminathan S, Samuelrajamani P, Kamaraj S, Shanmugam V, *et al.* One-Pot Synthesis and Photophysical Studies of Styryl-Based Benzo[f]pyrazolo[3,4-b]quinoline and Indeno[2,1-b]pyrazolo[4,3-e]pyridines. *European J Org Chem* 2018;2018:6204–16. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201801015>.
- [73] Allaoui ZIM, le Gall E, Fihey A, Plaza-Pedroche R, Katan C, Robin-le Guen F, *et al.* Push–Pull (Iso)quinoline Chromophores: Synthesis, Photophysical Properties, and Use for White-Light Emission. *Chem - A Eur J* 2020;26:8153–61. <https://doi.org/10.1002/chem.202000817>.
- [74] Shinotsuka R, Oba T, Mitome T, Masuya T, Ito S, Murakami Y, *et al.* Synthesis of quinolyl-pyrrole derivatives as novel environment-sensitive fluorescent probes. *J Photochem Photobiol A Chem* 2019;382. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.111900>.
- [75] Jachak M, Khopkar S, Chaturvedi A, Joglekar A, Shankarling G. Synthesis of novel viscosity sensitive pyrrolo-quinaldine based styryl dyes: Photophysical properties, electrochemical and DFT study. *J Photochem Photobiol A Chem* 2020;397:112557. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112557>.
- [76] Luczywo A, Sauter IP, da Silva Ferreira TC, Cortez M, Romanelli GP, Sathicq G, *et al.* Microwave-assisted synthesis of 2-styrylquinoline-4-carboxylic acid

- derivatives to improve the toxic effect against Leishmania (Leishmania) amazonensis. *J Heterocycl Chem* 2021;58:822–32.  
<https://doi.org/10.1002/jhet.4217>.
- [77] Dubrovin AN, Mikhalev AI, Ukhov S V., Goldshtein AG, Novikova V V., Odegova TF, *et al.* Synthesis, Properties, and Biological Activities of 2-Methyl- and 2-Styrylquinoline-4-Carboxylic Acids. *Pharm Chem J* 2015;49:309–12.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-015-1275-z>.
- [78] Muthusamy S, Yin S, Rajalakshmi K, Meng S, Zhu D, Xie M, *et al.* Development of a quinoline-derived turn-on fluorescent probe for real time detection of hydrazine and its applications in environment and bioimaging. *Dye Pigment* 2022;206:110618. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110618>.
- [79] Medeiros GA, Correa JR, de Andrade LP, Lopes TO, de Oliveira HCB, Diniz AB, *et al.* A benzothiadiazole-quinoline hybrid sensor for specific bioimaging and surgery procedures in mice. *Sensors Actuators, B Chem* 2021;328.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128998>.
- [80] Rajalakshmi K, Muthusamy S, Lee HJ, Kannan P, Zhu D, Silviya Lodi R, *et al.* Quinoline-derived electron-donating/withdrawing fluorophores for hydrazine detection and applications in environment and bioimaging. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* 2024;304:123282.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123282>.
- [81] Guo Z, Yan C, Zhu WH. High-Performance Quinoline-Malononitrile Core as a Building Block for the Diversity-Oriented Synthesis of AIEgens. *Angew Chemie - Int Ed* 2020;59:9812–25. <https://doi.org/10.1002/anie.201913249>.
- [82] Jun J V., Petersson EJ, Chenoweth DM. Rational Design and Facile Synthesis of a Highly Tunable Quinoline-Based Fluorescent Small-Molecule Scaffold for Live Cell Imaging. *J Am Chem Soc* 2018;140:9486–93.  
<https://doi.org/10.1021/jacs.8b03738>.
- [83] Matada BS, Pattanashettar R, Yernale NG. A comprehensive review on the biological interest of quinoline and its derivatives. *Bioorganic Med Chem* 2021;32:115973. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115973>.

- [84] Dhanawat M, Mehta DK, Das R. An Elite Scaffold and a Wonderful Pharmacophore in Drug Discovery: Styrylquinoline. *Mini-Reviews Med Chem* 2021;21:1849–64. <https://doi.org/10.2174/1389557521666210225115055>.
- [85] Sharma AS, Salahuddin, Mazumder A, Kumar R, Datt V, Shabana K, *et al.* Recent Updates on Synthesis, Biological Activity, and Structure-activity Relationship of 1,3,4-Oxadiazole-quinoline Hybrids: A Review. *Curr Org Synth* 2022;20:758–87. <https://doi.org/10.2174/1570179420666221004142659>.
- [86] Shehab WS, Amer MMK, Elsayed DA, Yadav KK, Abdellattif MH. Current progress toward synthetic routes and medicinal significance of quinoline. *Med Chem Res* 2023. <https://doi.org/10.1007/s00044-023-03121-y>.
- [87] Jiao ZG, He HQ, Zeng CC, Tan JJ, Hu LM, Wang CX. Design, synthesis and anti-HIV integrase evaluation of N-(5-chloro-8- hydroxy-2-styrylquinolin-7-yl)benzenesulfonamide derivatives. *Molecules* 2010;15:1903–17. <https://doi.org/10.3390/molecules15031903>.
- [88] Mrozek-Wilczkiewicz A, Spaczynska E, Malarz K, Cieslik W, Rams-Baron M, Kryštof V, *et al.* Design, synthesis and in Vitro activity of anticancer styrylquinolines. The p53 independent mechanism of action. *PLoS One* 2015;10:10–3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142678>.
- [89] Szczepaniak J, Cieřlik W, Romanowicz A, Musioł R, Krasowska A. Blocking and dislocation of *Candida albicans* Cdr1p transporter by styrylquinolines. *Int J Antimicrob Agents* 2017;50:171–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.01.044>.
- [90] Al-Matarneh CM, Nicolescu A, Marinaș IC, Găboreanu MD, Shova S, Dascălu A, *et al.* New Library of Iodo-Quinoline Derivatives Obtained by an Alternative Synthetic Pathway and Their Antimicrobial Activity. *Molecules* 2024;29. <https://doi.org/10.3390/molecules29040772>.
- [91] Ökten S, Aydın A, Koçyiğit ÜM, Çakmak O, Erkan S, Andac CA, *et al.* Quinoline-based promising anticancer and antibacterial agents, and some metabolic enzyme inhibitors. *Arch Pharm (Weinheim)* 2020;353. <https://doi.org/10.1002/ardp.202000086>.

- [92] Vijay K, Nandi C, Samant SD. Synthesis of a dihydroquinoline based fluorescent cyanine for selective, naked eye, and turn off detection of Fe<sup>3+</sup> ions. *RSC Adv* 2016;6:49724–9. <https://doi.org/10.1039/c6ra06642a>.
- [93] Vijay K, Nandi C, Samant SD. Synthesis of a dihydroquinoline based merocyanine as a “naked eye” and “fluorogenic” sensor for hydrazine hydrate in aqueous medium and hydrazine gas. *RSC Adv* 2014;4:30712–7. <https://doi.org/10.1039/c4ra02426e>.
- [94] Matsumoto S, Mori T, Akazome M. Synthesis and fluorescence properties of N-methyl-1,2-dihydroquinoline-3- carboxylate derivatives: Light-emitting compounds in organic solvent, in neat form, and in water. *RSC Adv* 2012;2:3379–86. <https://doi.org/10.1039/c2ra20061a>.
- [95] Elamathi C, Butcher RJ, Mohankumar A, Sundararaj P, Madankumar A, Kalaivani P, *et al.* A quinoline-based probe for effective and selective sensing of aspartic acid in aqueous medium:: In vitro and in vivo live cell imaging. *Inorg Chem Front* 2019;6:3237–44. <https://doi.org/10.1039/c9qi00992b>.
- [96] Vaz WF, Custodio JMF, D'Oliveira GDC, Neves BJ, Junior PSC, Filho JTM, *et al.* Dihydroquinoline derivative as a potential anticancer agent: synthesis, crystal structure, and molecular modeling studies. *Mol Divers* 2021;25:55–66. <https://doi.org/10.1007/s11030-019-10024-x>.
- [97] Fotie J, Kaiser M, Delfin DA, Manley J, Reid CS, Paris JM, *et al.* Antitrypanosomal activity of 1,2-dihydroquinolin-6-ols and their ester derivatives. *J Med Chem* 2010;53:966–82. <https://doi.org/10.1021/jm900723w>.
- [98] Reid CS, Patrick DA, He S, Fotie J, Premalatha K, Tidwell RR, *et al.* Synthesis and antitrypanosomal evaluation of derivatives of N-benzyl-1,2-dihydroquinolin-6-ols: Effect of core substitutions and salt formation. *Bioorganic Med Chem* 2011;19:513–23. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.11.003>.
- [99] Achelle S, Baudequin C, Plé N. Luminescent materials incorporating pyrazine or quinoxaline moieties. *Dye Pigment* 2013;98:575–600. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.03.030>.
- [100] Inoue S, Taguchi H, Murata M, Kakoi H, Goto T. SQUID BIOLUMINESCENCE

IV. ISOLATION AND STRUCTURAL ELUCIDATION OF WATASENIA  
DEHYDROPRELUCIFERIN. Chem Lett 1977;6:259–62.

- [101] Tambat N, Mulani SK, Ahmad A, Shaikh SB, Ahmed K. Pyrazine Derivatives—Versatile Scaffold. Russ J Bioorganic Chem 2022;48:865–95.  
<https://doi.org/10.1134/S1068162022050259>.
- [102] Verbitskiy E V., Kvashnin YA, Baranova AA, Khokhlov KO, Chuvashov RD, Schapov IE, *et al.* Synthesis and characterization of linear 1,4-diazine-triphenylamine-based selective chemosensors for recognition of nitroaromatic compounds and aliphatic amines. Dye Pigment 2020;178:108344.  
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108344>.
- [103] Park HH, Meti P, Gong YD. Effect of conjugation on the optoelectronic properties of pyrazine-based push-pull chromophores: Aggregation-induced emission, solvatochromism, and acidochromism. Dye Pigment 2021;190:109320. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2021.109320>.
- [104] Liu P, Chen S, Zhao W, Wang Q, Wu S, Xu L, *et al.* Novel Pyrazine-Bridged D-A-D Type Charge Neutral Probe for Membrane Permeable Long-Term Live Cell Imaging. Front Chem 2021;9:1–8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.782827>.
- [105] Gür M, Şener N, Muğlu H, Çavuş MS, Özkan OE, Kandemirli F, *et al.* New 1,3,4-thiadiazole compounds including pyrazine moiety: Synthesis, structural properties and antimicrobial features. J Mol Struct 2017;1139:111–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.03.019>.
- [106] Abu-Hashem AA, El-Shazly M. Synthesis of New Isoxazole-, Pyridazine-, Pyrimidopyrazines and Their Anti-Inflammatory and Analgesic Activity. Med Chem (Los Angeles) 2018;14:356–71.  
<https://doi.org/10.2174/1573406414666180112110947>.
- [107] Rachala MR, Maringanti TC, Syed T, Eppakayala L. Synthesis and biological evaluation of 1,3,4-oxadiazole bearing pyrimidine-pyrazine derivatives as anticancer agents. Synth Commun 2023;53:1262–8.  
<https://doi.org/10.1080/00397911.2023.2219354>.
- [108] Pathak S, Agrawal N, Gaur S. A Review on Diverse Biological Activity of

Heterocyclic Nucleus Pyrazine and its Derivatives: A Key for the Researchers.  
Lett Org Chem 2024;21:351–61.  
<https://doi.org/10.2174/0115701786273932230927062616>.

- [109] Silva WP, Girotto E, Gallardo H, Cristiano R. Synthesis and characterization of photoactive columnar liquid crystals containing azobenzene and quinoxaline moieties. *J Mol Liq* 2020;307:112944.  
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112944>.
- [110] Bandyopadhyay D, Mukherjee S, Banik B. A Selective, Expeditious and Sustainable Entry en Route to Benzopyrazines and bis-Benzopyrazines. *Comb Chem High Throughput Screen* 2015;18:53–62.  
<https://doi.org/10.2174/1386207318666150131125053>.
- [111] Tu Y, Zhao Z, Lam JWY, Tang BZ. Mechanistic connotations of restriction of intramolecular motions (RIM). *Natl Sci Rev* 2021;8:0–3.  
<https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa260>.
- [112] Wang H, Li Q, Zhang J, Zhang H, Shu Y, Zhao Z, *et al*. Visualization and Manipulation of Solid-State Molecular Motions in Cocrystallization Processes. *J Am Chem Soc* 2021;143:9468–77. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c02594>.
- [113] Tu Y, Zhao Z, Lam JWY, Zhong Tang B. Mechanistic connotations of restriction of intramolecular motions (RIM). *Natl Sci Rev* 2021:nwaa260.
- [114] Bayliss NS, McRae EG. Solvent effects in organic spectra: dipole forces and the Franck-Condon principle 1954;58:1002–6.
- [115] Yu J, Liu Z, Wang B, Cao Y, Liu D, Li F, *et al*. Aminostyrylquinoxalines derived organic materials with remarkable solvatochromic and mechanofluorochromic properties. *Dye Pigment* 2019;170:107578.  
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.107578>.
- [116] Sednev M V., Belov VN, Hell SW. Fluorescent dyes with large Stokes shifts for super-resolution optical microscopy of biological objects: A review. *Methods Appl Fluoresc* 2015;3. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/3/4/042004>.
- [117] Nirmalananthan N, Behnke T, Hoffmann K, Kage D, Gers-Panther CF, Frank W, *et al*. Crystallization and Aggregation-Induced Emission in a Series of

- Pyrrolidinylnylvinylquinoxaline Derivatives. *J Phys Chem C* 2018;122:11119–27. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.8b01425>.
- [118] Reichardt C, Welton T. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. 2010. <https://doi.org/10.1002/9783527632220.ch6>.
- [119] Ekbote A, Jadhav T, Misra R. T-Shaped donor-acceptor-donor type tetraphenylethylene substituted quinoxaline derivatives: Aggregation-induced emission and mechanochromism. *New J Chem* 2017;41:9346–53. <https://doi.org/10.1039/c7nj01531c>.
- [120] Wang L, Cui M, Tang H, Cao D. Fluorescent nanoaggregates of quinoxaline derivatives for highly efficient and selective sensing of trace picric acid. *Dye Pigment* 2018;155:107–13. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.03.036>.
- [121] Jana P, Kanvah S. Aggregation-Induced Emission and Organogels with Chiral and Racemic Pyrene-Substituted Cyanostyrenes. *Langmuir* 2020;36:2720–8. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b03946>.
- [122] Tonzola CJ, Alam MM, Kaminsky W, Jenekhe SA. New n-Type Organic Semiconductors: Synthesis, Single Crystal Structures, Cyclic Voltammetry, Photophysics, Electron Transport, and Electroluminescence of a Series of Diphenylanthrazolines. *J Am Chem Soc* 2003;125:13548–58. <https://doi.org/10.1021/ja036314e>.
- [123] An BK, Kwon SK, Jung SD, Park SY. Enhanced emission and its switching in fluorescent organic nanoparticles. *J Am Chem Soc* 2002;124:14410–5. <https://doi.org/10.1021/ja0269082>.
- [124] Gupta S, Milton MD. Y-shaped AIEE active quinoxaline-benzothiazole conjugate for fluorimetric sensing of nitroaromatics in aqueous media. *J Photochem Photobiol A Chem* 2021;419:113444. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113444>.
- [125] Tian G, Huang W, Cai S, Zhou H, Li B, Wang Q, *et al*. Small molecules based on diphenylamine and carbazole with large two-photon absorption cross sections and extraordinary AIEE properties. *RSC Adv* 2014;4:38939–42. <https://doi.org/10.1039/c4ra06314g>.

- [126] Angulo G, Brucka M, Gerecke M, Grampp G, Jeannerat D, Milkiewicz J, *et al.* Characterization of dimethylsulfoxide/glycerol mixtures: A binary solvent system for the study of “friction-dependent” chemical reactivity. *Phys Chem Chem Phys* 2016;18:18460–9. <https://doi.org/10.1039/c6cp02997c>.
- [127] Cui M, Li W, Wang L, Gong L, Tang H, Cao D. Twisted intramolecular charge transfer and aggregation-enhanced emission characteristics based quinoxaline luminogen: photophysical properties and a turn-on fluorescent probe for glutathione. *J Mater Chem C* 2019;7:3779–86. <https://doi.org/10.1039/c8tc05360j>.
- [128] Kanekar DN, Chacko S, Kamble RM. Quinoxaline based amines as blue-orange emitters: Effect of modulating donor system on optoelectrochemical and theoretical properties. *Dye Pigment* 2019;167:36–50. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2019.04.005>.
- [129] Ouyang M, Zhuo C, Cao F, Pan G, Lv C, Yang S, *et al.* Organogelator based on long alkyl chain attached excimer precursor: Two channels of TICT, highly efficient and switchable luminescence. *Dye Pigment* 2020;180:108433. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108433>.
- [130] Liu W, Ying S, Zhang Q, Ye S, Guo R, Ma D, *et al.* New multifunctional aggregation-induced emission fluorophores for reversible piezofluorochromic and nondoped sky-blue organic light-emitting diodes. *Dye Pigment* 2018;158:204–12. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.05.030>.
- [131] Zheng X, Peng Q, Zhu L, Xie Y, Huang X, Shuai Z. Unraveling the aggregation effect on amorphous phase AIE luminogens: A computational study. *Nanoscale* 2016;8:15173–80. <https://doi.org/10.1039/c6nr03599j>.
- [132] Zhou T, Li F, Fan Y, Song W, Mu X, Zhang H, *et al.* Hydrogen-bonded dimer stacking induced emission of aminobenzoic acid compounds. *Chem Commun* 2009;1:3199–201. <https://doi.org/10.1039/b900476a>.
- [133] Abdy MJ, Murdoch A, Martínez-Felipe A. New insights into the role of hydrogen bonding on the liquid crystal behaviour of 4-alkoxybenzoic acids: a detailed IR spectroscopy study. *Liq Cryst* 2016;43:2191–207. <https://doi.org/10.1080/02678292.2016.1212119>.

- [134] CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Wayne, PA Clin Lab Stand Inst 2017;4th ed.
- [135] Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez AG, Nakamura CV, Prado B, *et al.* Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97:1027–31.
- [136] Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian J Microbiol* 2004;35:275–80. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000300001>.
- [137] Houghton PJ, Howes MJ, Lee CC, Steventon G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. *J Ethnopharmacol* 2007;110:391–400. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.032>.
- [138] Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, *et al.* Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 2021;596:583–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>.
- [139] Furubayashi M, Li L, Katabami A, Saito K, Umeno D. Directed evolution of squalene synthase for dehydrosqualene biosynthesis. *FEBS Lett* 2014;588:3375–81. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.07.028>.
- [140] Wieland B, Feil C, Gloria-Maercker E, Thumm G, Lechner M, Bravo - JM, *et al.* Genetic and biochemical analyses of the biosynthesis of the yellow carotenoid 4,4'-diaponeurosporene of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1994;176:7719–26. <https://doi.org/10.1128/jb.176.24.7719-7726.1994>.
- [141] Kourounakis AP, Bavavea E. New applications of squalene synthase inhibitors: Membrane cholesterol as a therapeutic target. *Arch Pharm (Weinheim)* 2020;353:1–8. <https://doi.org/10.1002/ardp.202000085>.
- [142] Bourhia M, Shahab M, Zheng G, Bin Jordan YA, Sitotaw B, Ouahmane L, *et al.* Napthyridine-derived compounds as promising inhibitors for *Staphylococcus aureus* CrtM: a primer for the discovery of potential anti-*Staphylococcus aureus* agents. *Front Microbiol* 2023;14:1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1279082>.

- [143] Fortes MP, Da Silva PBN, Da Silva TG, Kaufman TS, Militão GCG, Silveira CC. Synthesis and preliminary evaluation of 3-thiocyanato-1H-indoles as potential anticancer agents. *Eur J Med Chem* 2016;118:21–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.04.039>.
- [144] Buu-Hoï P, Royer R, Xuong D, Jacquignon P. The pfitzinger reaction in the synthesis of quinoline derivatives. *J Org Chem* 1953;18:1209–24. <https://doi.org/10.1021/jo50015a019>.
- [145] Tyagi R, Singh B, Kishore D. Synthesis of novel precursors of Pfitzinger reaction: A facile one-pot strategy to the synthesis of quinoline carboxylic acid derivatives of pyrazolo-carbazoles and azacarbazoles. *J Chem Sci* 2012;124:431–5. <https://doi.org/10.1007/s12039-012-0240-6>.
- [146] Cristiano R, Ely F, Gallardo H. Light-emitting bent-shape liquid crystals. *Liq Cryst* 2005;32:15–25. <https://doi.org/10.1080/02678290412331329279>.
- [147] Reichardt C. Empirical Parameters of Solvent Polarity as Linear Free-Energy Relationships. *Angew Chemie Int Ed English* 1979;18:98–110. <https://doi.org/10.1002/anie.197900981>.
- [148] Lippert E. Spektroskopische Bestimmung des Dipolmomentes aromatischer Verbindungen im ersten angeregten Singulettzustand. *Zeitschrift Für Elektrochemie, Berichte Der Bunsengesellschaft Für Phys Chemie* 1957;61:962–75. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bbpc.19570610819>.
- [149] Mataga N, Kaifu Y, Koizumi M. The Solvent Effect on Fluorescence Spectrum . Change of Solute-Solvent Interaction during the Lifetime of Excited Solute Molecule. *Bull Chem Soc Jpn* 1956;29:465–70. <https://doi.org/https://doi.org/10.1246/bcsj.29.465>.
- [150] Catalán J. Toward a generalized treatment of the solvent effect based on four empirical scales: Dipolarity (SdP, a new scale), polarizability (SP), acidity (SA), and basicity (SB) of the medium. *J Phys Chem B* 2009;113:5951–60. <https://doi.org/10.1021/jp8095727>.
- [151] Uchacz T, Szlachcic P, Wojtasik K, Mac M, Stadnicka K. Amino derivatives of 1,3-diphenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]quinoline - Photophysics and implementation of

- molecular logic switches. *Dye Pigment* 2016;124:277–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2015.09.016>.
- [152] Sachdeva T, Gupta S, Milton MD. Smart Organic Materials with Acidochromic Properties. *Curr Org Chem* 2020;24:1976–98.  
<https://doi.org/10.2174/1385272824999200729132853>.
- [153] Budyka MF, Potashova NI, Gavrishova TN, Lee VM. Solvent-driven adiabatic trans-to-cis photoisomerization of 4-styrylquinoline. *J Photochem Photobiol A Chem* 2009;203:100–4. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2008.12.027>.
- [154] Smokal V, Krupka A, Kharchenko O, Krupka O, Derkowska-Zielinska B, Kolendo A. Synthesis and photophysical properties of new styrylquinoline-containing polymers. *Mol Cryst Liq Cryst* 2018;661:38–44.  
<https://doi.org/10.1080/15421406.2018.1460236>.
- [155] Budyka MF, Potashova NI, Gavrishova TN, Li VM. Photoisomerization and photocyclization of 4-styrylquinoline derivatives. *High Energy Chem* 2009;43:370–6. <https://doi.org/10.1134/S0018143909050075>.
- [156] Budyka MF, Li VM. Visible-light-driven two-way photoisomerization of 1-(1-pyrenyl)-2-(2-quinolyl)ethylene in neutral and protonated forms. *Photochem Photobiol Sci* 2018;17:213–20. <https://doi.org/10.1039/c7pp00359e>.
- [157] Budyka MF, Sadykova KF, Gavrishova TN. Photochemical properties of the naphthol-styrylquinoline dyad in neutral and ionic forms. *High Energy Chem* 2012;46:44–9. <https://doi.org/10.1134/S0018143912010109>.
- [158] Niu W, Fan L, Nan M, Li Z, Lu D, Wong MS, *et al.* Ratiometric emission fluorescent pH probe for imaging of living cells in extreme acidity. *Anal Chem* 2015;87:2788–93. <https://doi.org/10.1021/ac504109h>.
- [159] Bouzian Y, Sert Y, Khalid K, Van Meervelt L, Chkirate K, Mahi L, *et al.* Synthesis, spectroscopic characterization, DFT, molecular docking and in vitro antibacterial potential of novel quinoline derivatives. *J Mol Struct* 2021;1246:131217. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131217>.
- [160] Malwal SR, Shang N, Liu W, Li X, Zhang L, Chen CC, *et al.* A Structural and Bioinformatics Investigation of a Fungal Squalene Synthase and Comparisons

- with Other Membrane Proteins. ACS Omega 2022;7:22601–12.  
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01924>.
- [161] Heravi MM, Asadi S, Azarakhshi F. Recent applications of Doebner, Doebner-von Miller and Knoevenagel-Doebner reactions in organic syntheses. Curr Org Synth 2014;11:701–31.
- [162] Saeed AEM, Elhadi SA. Synthesis of some 2-aryl- and 2,3-diaryl-quinolin-4-carboxylic acid derivatives. Synth Commun 2011;41:1435–43.  
<https://doi.org/10.1080/00397911.2010.486508>.
- [163] Al-marhabi AR, El-shishtawy RM, Mohamed S. D-D- $\pi$ -A- $\pi$ -A-based quinoxaline dyes incorporating phenothiazine, phenoxazine and carbazole as electron donors: Synthesis, photophysical, electrochemical, and computational investigation. J Photochem Photobiol A Chem 2023;436:114389.
- [164] Kuehne AJC, Gather MC. Organic Lasers: Recent Developments on Materials, Device Geometries, and Fabrication Techniques. Chem Rev 2016;116:12823–64. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00172>.
- [165] Agwupuye JA, Gber TE, Edet HO, Zeeshan M, Batool S, Duke OEE, *et al.* Molecular modeling, DFT studies and biological evaluation of methyl 2,8-dichloro-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylate. Chem Phys Impact 2023;6:100146. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2022.100146>.
- [166] Cristiano R, Westphal E, Bechtold IH, Bortoluzzi AJ, Gallardo H. Synthesis and optical/thermal properties of low molecular mass V-shaped materials based on 2,3-dicyanopyrazine. Tetrahedron 2007;63:2851–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.01.045>.
- [167] Mørkved EH, Afseth NK, Zimcik P. Azaphthalocyanines with extended conjugation through heteroaryl and aryl substituents. Photochemical and photophysical properties. J Porphyr Phthalocyanines 2007;11:130–8.  
<https://doi.org/10.1142/S1088424607000175>.
- [168] Bureš F, Čermáková H, Kulhánek J, Ludwig M, Kuznik W, Kityk I V., *et al.* Structure-property relationships and nonlinear optical effects in donor-substituted dicyanopyrazine-derived push-pull chromophores with enlarged

- and varied  $\pi$ -linkers. *European J Org Chem* 2012;529–38.  
<https://doi.org/10.1002/ejoc.201101226>.
- [169] Park IS, Lee SY, Adachi C, Yasuda T. Full-Color Delayed Fluorescence Materials Based on Wedge-Shaped Phthalonitriles and Dicyanopyrazines: Systematic Design, Tunable Photophysical Properties, and OLED Performance. *Adv Funct Mater* 2016;26:1813–21.  
<https://doi.org/10.1002/adfm.201505106>.
- [170] Stewart JJP. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: More modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. *J Mol Model* 2013;19:1–32. <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1667-x>.
- [171] Stewart JJP. MOPAC2016. Stewart Comput Chem 2016.
- [172] Maia JDC, Urquiza Carvalho GA, Manguiera CP, Santana SR, Cabral LAF, Rocha GB. GPU linear algebra libraries and GPGPU programming for accelerating MOPAC semiempirical quantum chemistry calculations. *J Chem Theory Comput* 2012;8:3072–81. <https://doi.org/10.1021/ct3004645>.
- [173] Grimme S. Exploration of Chemical Compound, Conformer, and Reaction Space with Meta-Dynamics Simulations Based on Tight-Binding Quantum Chemical Calculations. *J Chem Theory Comput* 2019;15:2847–62.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00143>.
- [174] Pracht P, Bohle F, Grimme S. Automated exploration of the low-energy chemical space with fast quantum chemical methods. *Phys Chem Chem Phys* 2020;22:7169–92. <https://doi.org/10.1039/c9cp06869d>.
- [175] Bannwarth C, Ehlert S, Grimme S. GFN2-xTB - An Accurate and Broadly Parametrized Self-Consistent Tight-Binding Quantum Chemical Method with Multipole Electrostatics and Density-Dependent Dispersion Contributions. *J Chem Theory Comput* 2019;15:1652–71.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b01176>.
- [176] Bannwarth C, Caldeweyher E, Ehlert S, Hansen A, Pracht P, Seibert J, *et al.* Extended tight-binding quantum chemistry methods. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci* 2021;11:1–49. <https://doi.org/10.1002/wcms.1493>.

- [177] Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, *et al.* Gaussian 09. Gaussian 2009.
- [178] Grimme S, Antony J, Ehrlich S, Krieg H. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu. *J Chem Phys* 2010;132. <https://doi.org/10.1063/1.3382344>.
- [179] Eom YK, Ryu JH, Bünzli JCG, Baek JB, Kim HK. Lanthanide(III) dendrimer complexes based on diphenylquinoxaline derivatives for photonic amplification. *Macromol Res* 2013;21:556–64. <https://doi.org/10.1007/s13233-013-1100-z>.
- [180] Ganeshpure PA, Stevenson R. Synthesis of Aryltetralin and Dibentylbutyrolactone Lignans : (+-)- Lintetralin, (+-)-Phyltetralin, and (+-)-Kusunokinin. *J Chem Soc Perkin Trans* 1981;1:2–5. <https://doi.org/10.1039/p19810001681>.
- [181] Porter WR, Trager WF. Structural reassignment of the dehydration product of 2'- Hydroxywarfarin. *J Heterocycl Chem* 1977;14:319–20.
- [182] Zemtsova MN, Trakhtenberg PL, Galkina M V. A procedure for preparation of 2-methylquinoline-4-carboxylic acids. *Russ J Org Chem* 2003;39:1803. <https://doi.org/10.1023/B:RUJO.0000019750.72414.48>.
- [183] John H. Synthese substituierter 2-Styryl-chinolin-4-carbonsäuren 1927;117:214–24.
- [184] Muscia GC, Asis SE, Buldain GY. Microwave-assisted Synthesis of 2-Styrylquinoline-4-carboxylic Acids as Antitubercular Agents. *Med Chem (Los Angeles)* 2017;13:448–52. <https://doi.org/10.2174/1573406412666160901102710>.
- [185] Barker CA, Zeng X, Bettington S, Batsanov AS, Bryce MR, Beeby A. Porphyrin, phthalocyanine and porphyrazine derivatives with multifluorenyl substituents as efficient deep-red emitters. *Chem - A Eur J* 2007;13:6710–7. <https://doi.org/10.1002/chem.200700054>.
- [186] Hloušková Z, Klikar M, Pytela O, Almonasy N, Růžička A, Jandová V, *et al.* Structural elaboration of dicyanopyrazine: Towards push-pull molecules with tailored photoredox activity. *RSC Adv* 2019;9:23797–809.

<https://doi.org/10.1039/c9ra04731j>.

- [187] Hadacek F, Greger H. Testing of Antifungal Natural Products: Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. *Phytochem Anal* 2000;11:137–47.
- [188] Antunes R, Lima E de O, Pereira MS V., Camara CA, Arruda TA, Catão RMR, *et al.* Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Brazilian J Pharmacogn* 2006;16:517–24.
- [189] Hannan PCT. Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. *Vet Res* 2000;31:373–95. <https://doi.org/10.1051/vetres:2000100>.
- [190] Eloff JN. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med* 1998;64:711–3. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957563>.
- [191] De Oliveira Pereira F, Mendes JM, Lima IO, De Lira Mota KS, De Oliveira WA, De Oliveira Lima E. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. *Pharm Biol* 2015;53:228–34. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.913299>.
- [192] Viana J de O, Souza ES e, Sbaraini N, Vainstein MH, Gomes JNS, de Moura RO, *et al.* Scaffold repositioning of spiro-acridine derivatives as fungi chitinase inhibitor by target fishing and in vitro studies. *Sci Rep* 2023;13:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33279-9>.
- [193] Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, *et al.* The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res* 2000;28:235–42. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00473-z>.
- [194] Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *J Chem Inf Model* 2021;61:3891–8. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>.
- [195] McGuffin LJ, Bryson K, Jones DT. The PSIPRED protein structure prediction server. *Bioinformatics* 2000;16:404–5.

<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.4.404>.

- [196] Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, *et al*. SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res* 2018;46:W296–303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>.
- [197] Procter JB, Carstairs GM, Soares B, Mourão K, Ofoegbu TC, Barton D, *et al*. Alignment of Biological Sequences with Jalview. *Methods Mol Biol* 2021;2231:203–24. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1036-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1036-7_13).
- [198] Liu C, Liu GY, Song Y, Yin F, Hensler ME, Jeng Y, *et al*. A Cholesterol Biosynthesis Inhibitor Blocks *Staphylococcus aureus* Virulence. *Science* (80- ) 2008;319:1391–4. <https://doi.org/10.1126/science.1153018.A>.
- [199] Lin FY, Liu CI, Liu YL, Zhang Y, Wang K, Jeng WY, *et al*. Mechanism of action and inhibition of dehydrosqualene synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:21337–42. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010907107>.
- [200] Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, *et al*. UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 2004;25:1605–12. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>.
- [201] Yusuf D, Davis AM, Kleywegt GJ, Schmitt S. An alternative method for the evaluation of docking performance: RSR vs RMSD. *J Chem Inf Model* 2008;48:1411–22. <https://doi.org/10.1021/ci800084x>.
- [202] BIOVIA Dassalt Systemes; BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2020.
- [203] Vieira TF, Sousa SF. Comparing AutoDock and Vina in ligand/decoy discrimination for virtual screening. *Appl Sci* 2019;9. <https://doi.org/10.3390/app9214538>.
- [204] Mendez D, Gaulton A, Bento AP, Chambers J, De Veij M, Félix E, *et al*. ChEMBL: Towards direct deposition of bioassay data. *Nucleic Acids Res* 2019;47:D930–40. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1075>.
- [205] Mysinger MM, Carchia M, Irwin JJ, Shoichet BK. Directory of useful decoys, enhanced (DUD-E): Better ligands and decoys for better benchmarking. *J Med Chem* 2012;55:6582–94. <https://doi.org/10.1021/jm300687e>.

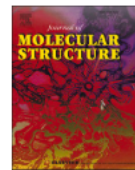
- [206] O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open Babel: An open chemical toolbox Noel. J Cheminform 2011;3:1–14.
- [207] Empereur-Mot C, Zagury JF, Montes M. Screening Explorer-An Interactive Tool for the Analysis of Screening Results. J Chem Inf Model 2016;56:2281–6. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00283>.
- [208] Agarwal R, Smith JC. Speed vs Accuracy: Effect on Ligand Pose Accuracy of Varying Box Size and Exhaustiveness in AutoDock Vina. Mol Inform 2023;42:1–5. <https://doi.org/10.1002/minf.202200188>.
- [209] SKEHAN P, STORENG R, SCUDIERO D, MONKS A, MCMAHON J, VISTICA D, *et al*. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. J Natl Cancer Inst 1990;82:1107–12.
- [210] MOSSMAN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983;65:55–63.
- [211] BERRIDGE M V., TAN AS, McCoy KD, WANG R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. Biochemical 1996;4:14–9.

## **ARTIGOS PUBLICADOS**



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Molecular Structure

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/molstr](http://www.elsevier.com/locate/molstr)

## Impact of alkyl chains, electron donor substituents and acidic group on aggregation-induced emission of carboxylic acid functionalized quinoxalines

Lidiane Gomes de Araújo<sup>a</sup>, Welisson de Pontes Silva<sup>a,1</sup>, Cláudia M. Zaccaron Cristiano<sup>a</sup>, José Gutemberg de Mendonça<sup>a</sup>, Gerd B. Rocha<sup>a</sup>, Boniek Gontijo Vaz<sup>b</sup>, Gabriel Franco dos Santos<sup>b</sup>, Claudio Gabriel Lima-Junior<sup>a</sup>, Rodrigo Cristiano<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba-UFPA, João Pessoa-PB, 58051-900, Brazil

<sup>b</sup> Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia-GO 74690-900, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Quinoxaline  
Aggregation-induced emission  
AIE  
Carboxylate salt-based AIEgens  
Alkyl chain effect  
H-bonding  
Fluorophore dyes

### ABSTRACT

We report an optical study of quinoxaline-based luminogens derived from 2,3-bis(aryl)-quinoxaline-6-carboxylic acid (**1a**, **1b**, and **2**) in solution and solid state. These compounds were fluorescent in solid films and in solutions with emission bands ranging from blue to green (445–517 nm). They showed a positive solvatochromism in the PL spectra, indicative of intramolecular charge transfer (ICT) in the excited state. **1a**, **1b**, and **2** exhibited Aggregation-Induced Enhanced Emission (AIEE) characteristics with a drastic change in properties by increasing alkyl chains and donor alkoxy groups. Their carboxylate potassium salts had a blueshift emission compared to the acid carboxylic form and a significant quenching in PL intensity in protic polar solvents. The salt of **1a** presented an Aggregation-Induced Emission (AIE) profile, its weak fluorescence in water had an expressive enhancement by adding THF. Theoretical calculations were also carried out considering implicit solvent effects. The optimized structures of compounds and their simulated UV–vis absorption spectra showed no significant differences in water and acetonitrile. These results are in good agreement with the solvatochromism experiments. The calculated HOMO–LUMO energy gaps were 3.47 eV in both solvents, and the energy levels for HOMO and LUMO are slightly lower in water.

### 1. Introduction

The study and development of fluorescent materials have become a rapidly growing field motivated by vast technological applications, from emissive layers in optoelectronic devices, such as organic light-emitting diodes (OLEDs) and organic field-effect transistors (OFETs) [1,2], to fluorescent probes in Chemical Biology [3,4]. Fluorophores based on small molecules are highly attractive not only because of their ease to use, good solubility, and stability but mainly the chemical tunability achieved by structural design [5]. Highly fluorescent molecules in solution have been exhaustively investigated. Their chemical structure is typically comprised of flat molecules of aromatic or heteroaromatic rings with extended delocalization of electrons in the  $\pi$ -system. The most significant drawback is that the planar structure of hydrophobic aromatic backbones usually shows weak emission efficiency in solid state

and/or aggregates (in aqueous media) due to aggregation-caused quenching (ACQ) [6]. These disadvantages turn difficult their use in thin solid films in optoelectronic devices, as well as in aqueous solutions for biological applications [7–9].

Thus, attention has been paid to an emerging class of small molecules exhibiting weak or no fluorescence in solution but highly emissive in the aggregate or solid state. This phenomenon was coined Aggregation Induced Emission (AIE) [10]. AIE in a number of different structures has been reported so far, most of them shaped like pinwheels or propellers with peripheral aromatic rotors [11,12]. The restricted rotation of the C–C, N–N, or N–C bonds of appended phenyl rings and the highly twisted molecular conformation prevent the non-radiative decay from the excited state in aggregates by hampering the intermolecular  $\pi$ - $\pi$  stacking interaction [13–15].

Quinoxaline core is an electron-deficient *N*-heterocycle that has been

\* Corresponding author.

E-mail address: [rcristiano@quimica.ufpb.br](mailto:rcristiano@quimica.ufpb.br) (R. Cristiano).

<sup>1</sup> Present address: Silesian University of Technology, Gliwice, 44–100, Poland.

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137275>

Received 14 October 2023; Received in revised form 1 December 2023; Accepted 6 December 2023

Available online 7 December 2023

0022-2860/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.



## 2-Styryl-quinoline-4-carboxylic acids: Synthesis, characterization, and investigation of their optical properties and antimicrobial activity

Lidiane Gomes de Araújo<sup>a</sup>, Ashley A.S.S. de Jesus<sup>a</sup>, José Roberto Dantas<sup>b</sup>, Edeltrudes de Oliveira Lima<sup>b</sup>, Boniek Gontijo Vaz<sup>c</sup>, Gabriel Franco dos Santos<sup>c</sup>, Cláudia M. Zaccaron Cristiano<sup>a</sup>, Claudio Gabriel Lima-Junior<sup>a</sup>, Jéssika de Oliveira Viana<sup>a</sup>, Karen C. Weber<sup>a</sup>, Euzébio Guimarães Barbosa<sup>d</sup>, Rodrigo Cristiano<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba-UFPB, João Pessoa, PB, 58051-900, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba-UFPB, João Pessoa, PB, 58051-900, Brazil

<sup>c</sup> Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás-UFG, Goiânia, GO, 74690-900, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN, Natal, RN, 59012-570, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Styrylquinolines  
Solvatochromism  
Fluorescent dyes  
Acidochromism  
Antimicrobial activity  
Molecular docking

### ABSTRACT

Styrylquinoline-based fluorophores **1–10** were synthesized via Knoevenagel and Pfitzinger reactions. The molecules were fully characterized and studied for the impact of their substitution patterns (**A–D**) on their optical and bioactivity properties. With exception of nitro substituted compounds **9–D** and **10–D**, all compounds were fluorescent in solution with a significant solvatochromic behavior measured in toluene, dioxane, tetrahydrofuran, ethyl acetate, dichloromethane, dimethylformamide, dimethylsulfoxide, acetonitrile, isopropanol, and methanol. The maximum wavelength of their emission ranged from 408 to 539 nm. Additionally, there was a significant variation in the photoluminescence (PL) quantum yield concerning different solvent polarities. The PL quantum yields ranged from small values, such as 1.7 % in methanol for compound **1–A**, to good PL quantum yields, such as 44.4 % in dioxane for **7–C**. For comparison, the quantum yield of **7–C** in methanol was 3.3 %, a total range variation of 41.1 %. **4–B** and **5–B** with *O*-acetyl groups at *ortho* and at *para* position to the C=C double bond, respectively, presented an interesting acidochromism with a redshift of about 102 nm in their emission bands along with a visible emitted color change from blue to green. In addition, the antimicrobial activity for all compounds and the theoretical mechanism of action of the more significant bioactive compounds were investigated. In inverse virtual screening studies, the enzymes Dehydrosqualene synthase and Squalene synthase were indicated as putative biological targets for **3–B** and **4–B**. Molecular docking indicated the amino acid residues critical for interaction in bacteria and fungi.

### 1. Introduction

Fluorophores based on small molecular mass compounds are in rapid development, mainly because of their use as probes in bioimages and real time investigations of biological environments [1–3]. Among many classes of known luminescent cores, quinoline moiety has been used in the design of fluorophores for bio applications [4,5]. This *N*-heterocycle is present in several commercially available drugs and have demonstrated low toxicity along with vast biological activities [6–9]. Quinolines with extended  $\pi$ -conjugation have a flat and rigid conformation, structurally like amphotericin B (AmB) and naftifine. Such molecules

can interact with the cell membrane during passive transport due to their structure and lipophilic nature. Styrylquinolines are known to inhibit HIV integrase [10] and have a p53-independent antiproliferative effect [11]. They also exhibit strong antifungal activity against *Candida albicans* [12].

Besides, quinoline based fluorophores have attracted enormous attention because of the amplitude of color emission spectra and tunability by substitution patterns and elongation of aromatic conjugated system [13–16]. Recently, Z. Guo and collaborators [17] have described quinoline-malonitrile core as successful building blocks for designing new luminescent compounds with enhanced emission when

\* Corresponding author.

E-mail address: [rcristiano@quimica.ufpb.br](mailto:rcristiano@quimica.ufpb.br) (R. Cristiano).

<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2024.112294>

Received 22 April 2024; Received in revised form 5 June 2024; Accepted 17 June 2024

Available online 19 June 2024

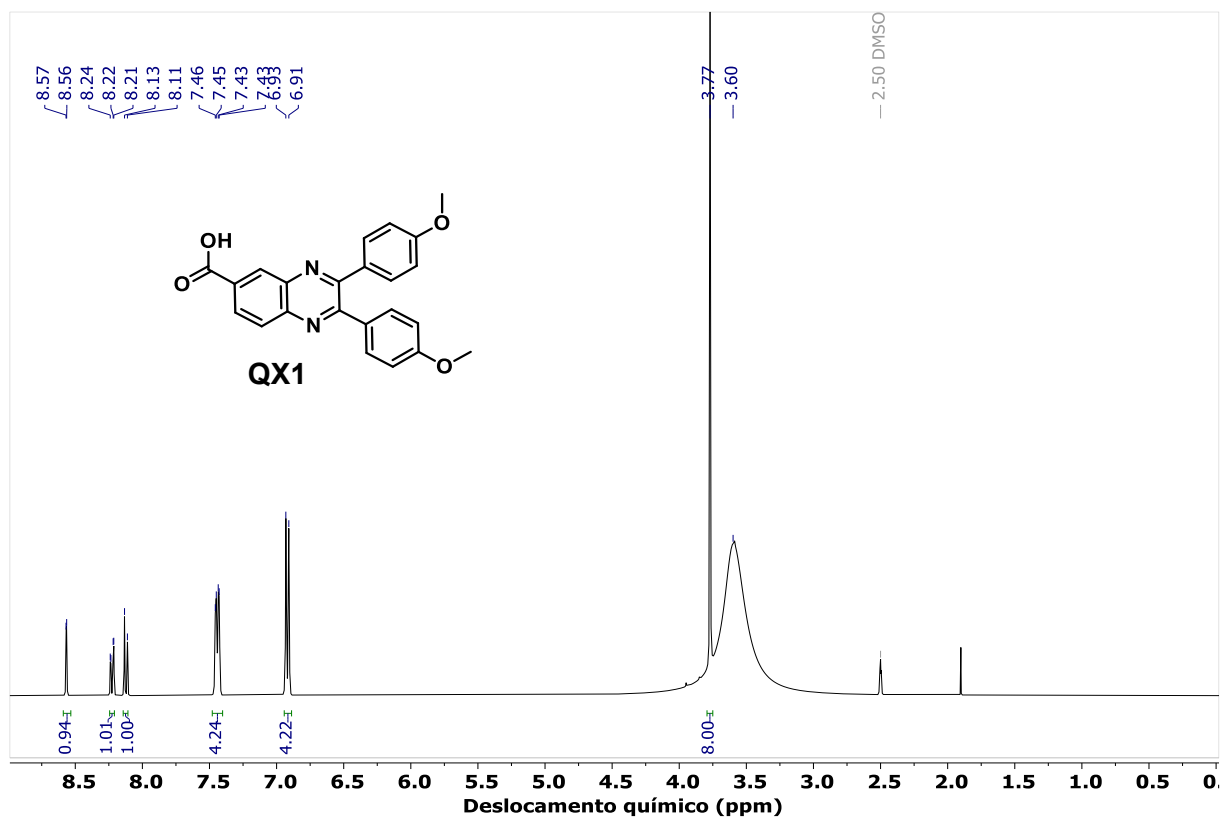
0143-7208/© 2024 Elsevier Ltd. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

# **APÊNDICES**

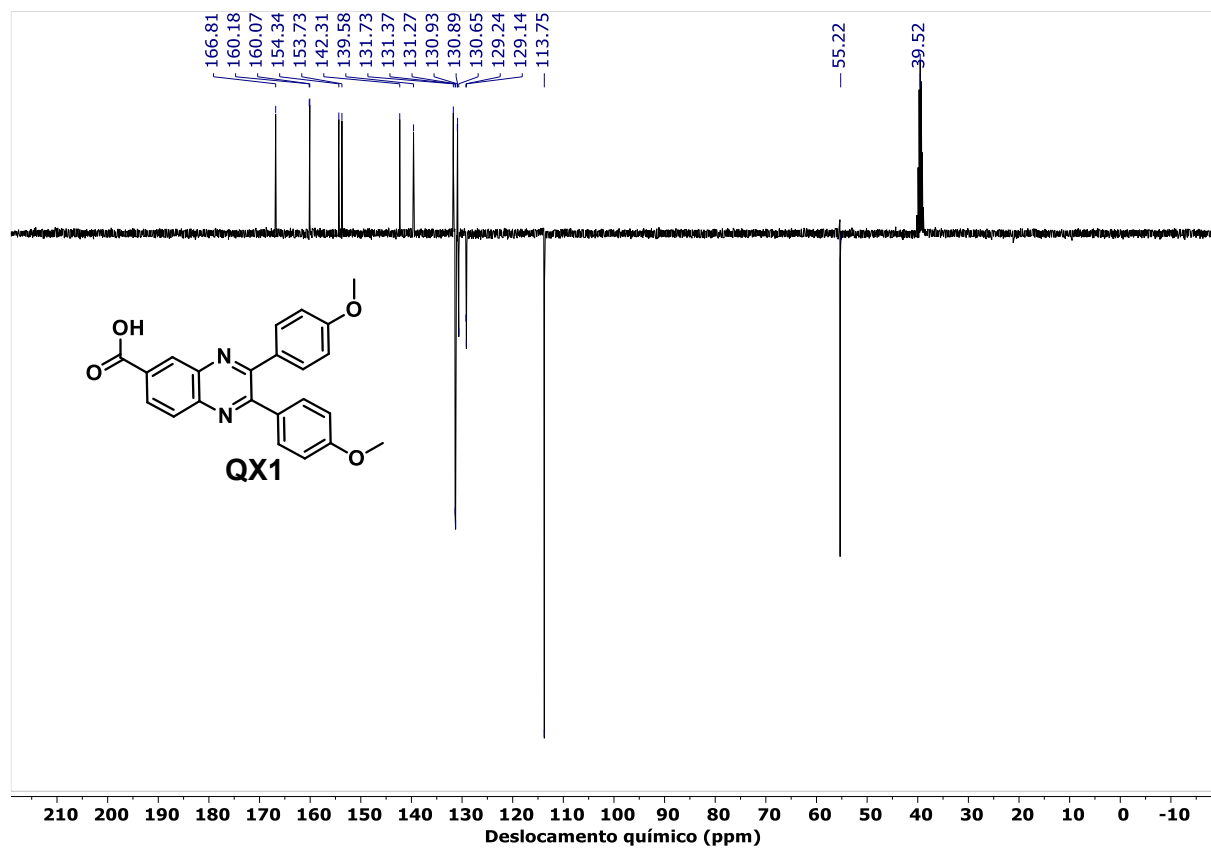
## 1. Caracterização estrutural

### 1.1. Quinoxalinas

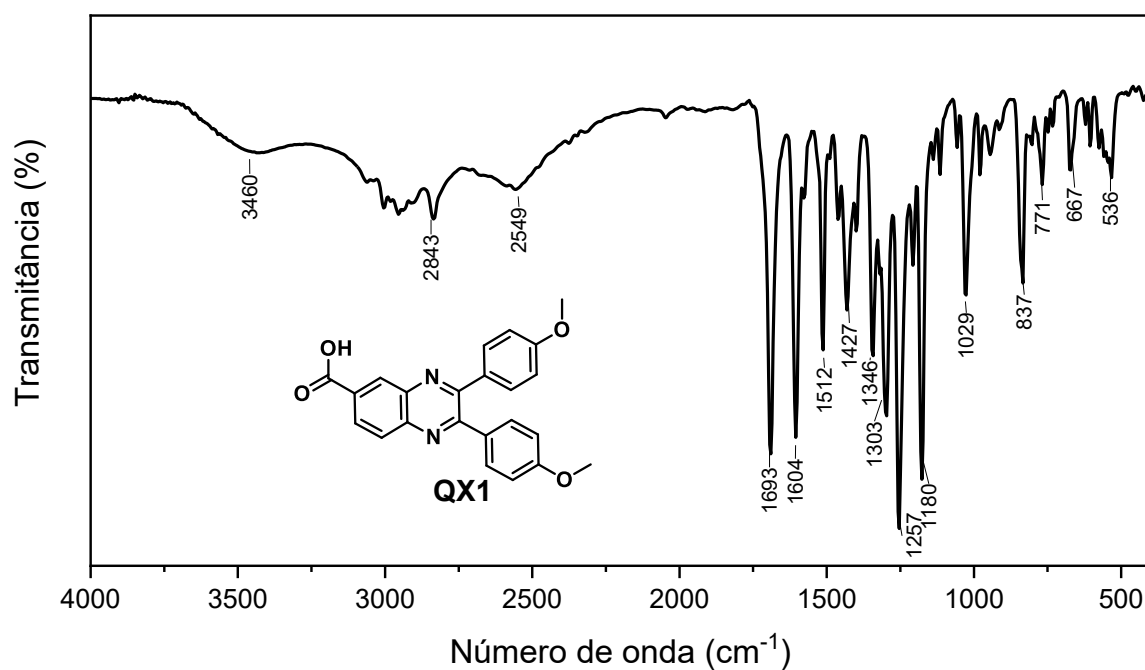
Figura A.1 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QX1**



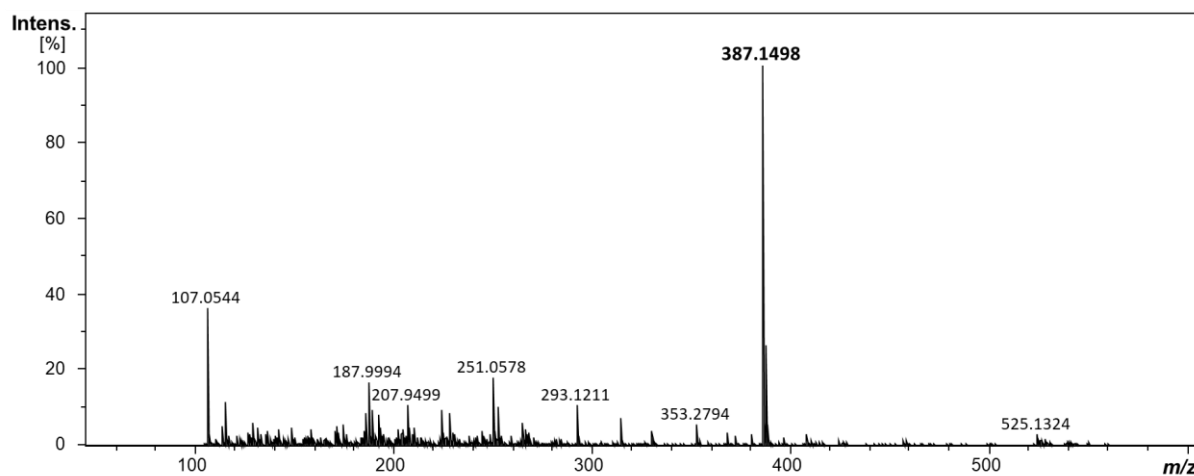
**Figura A.2** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  –APT (100 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do composto **QX1**



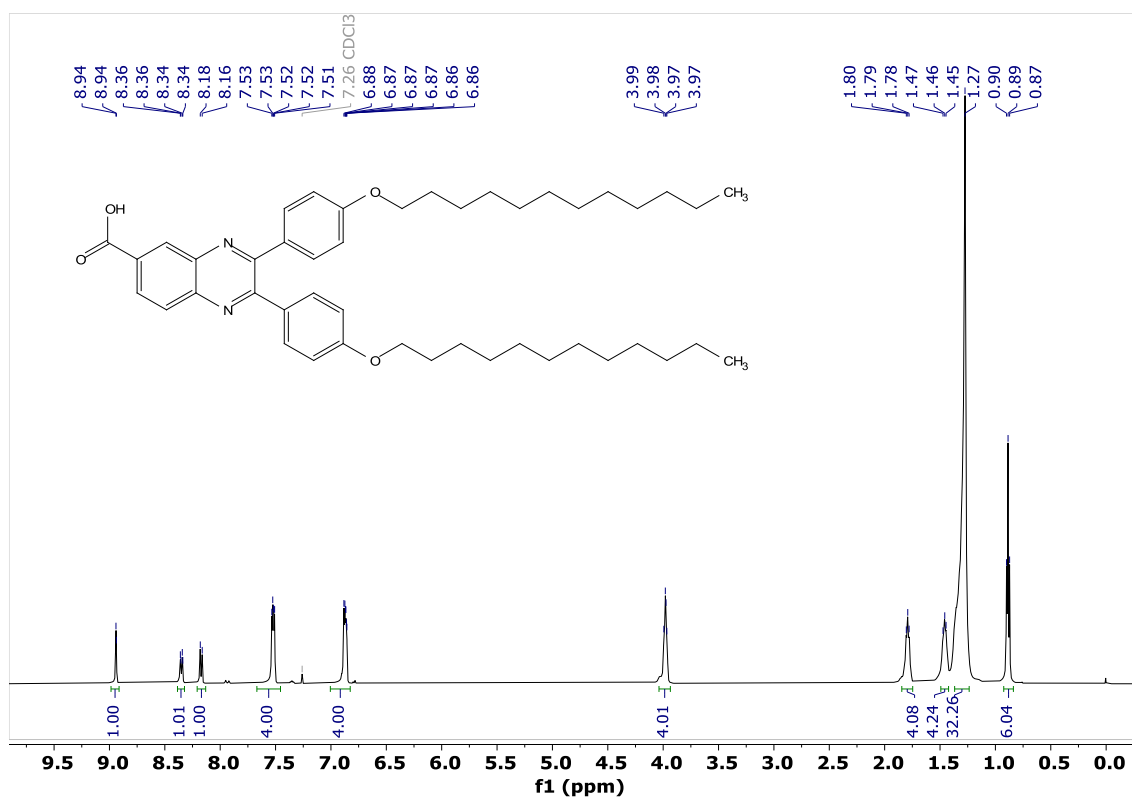
**Figura A.3** – Espectro de IV do composto **QX1** realizado em pastilha de KBr



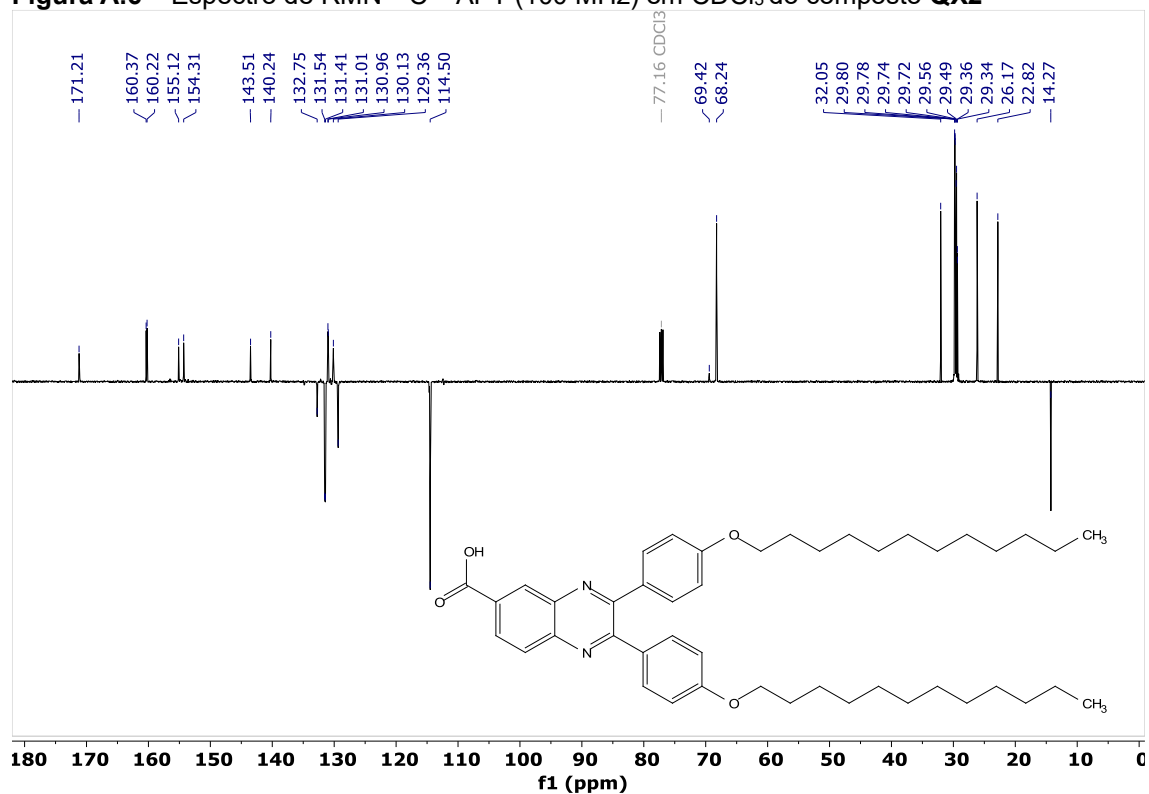
**Figura A.4 – Espectro de massas do composto QX1**



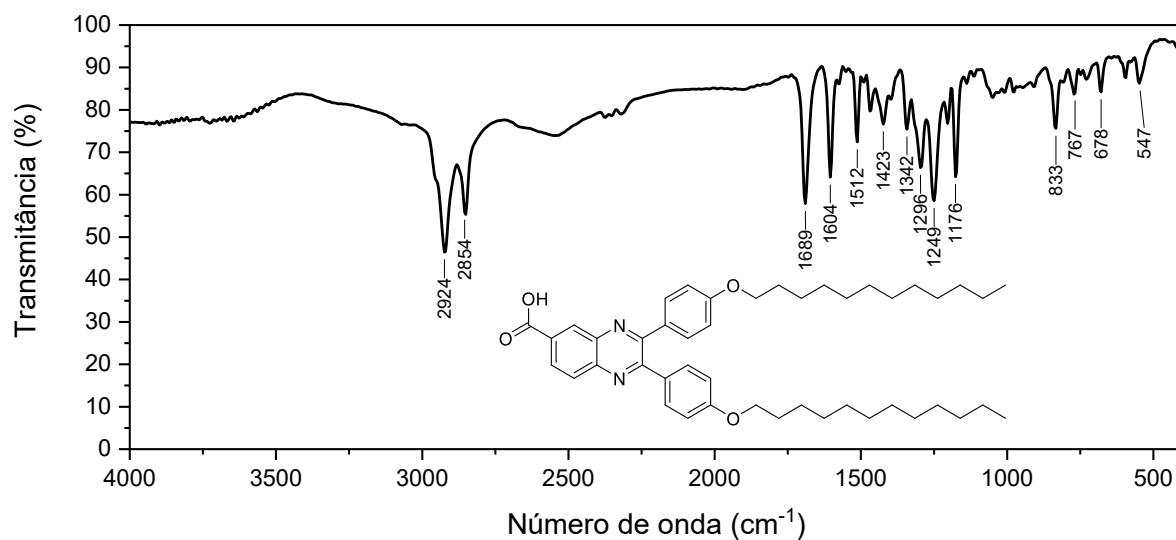
**Figura A.5 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto QX2**



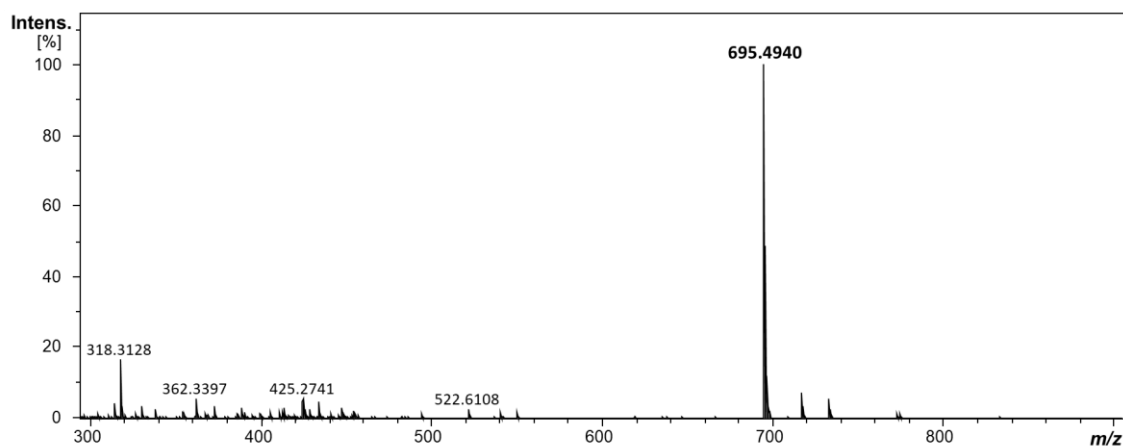
**Figura A.6** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **QX2**



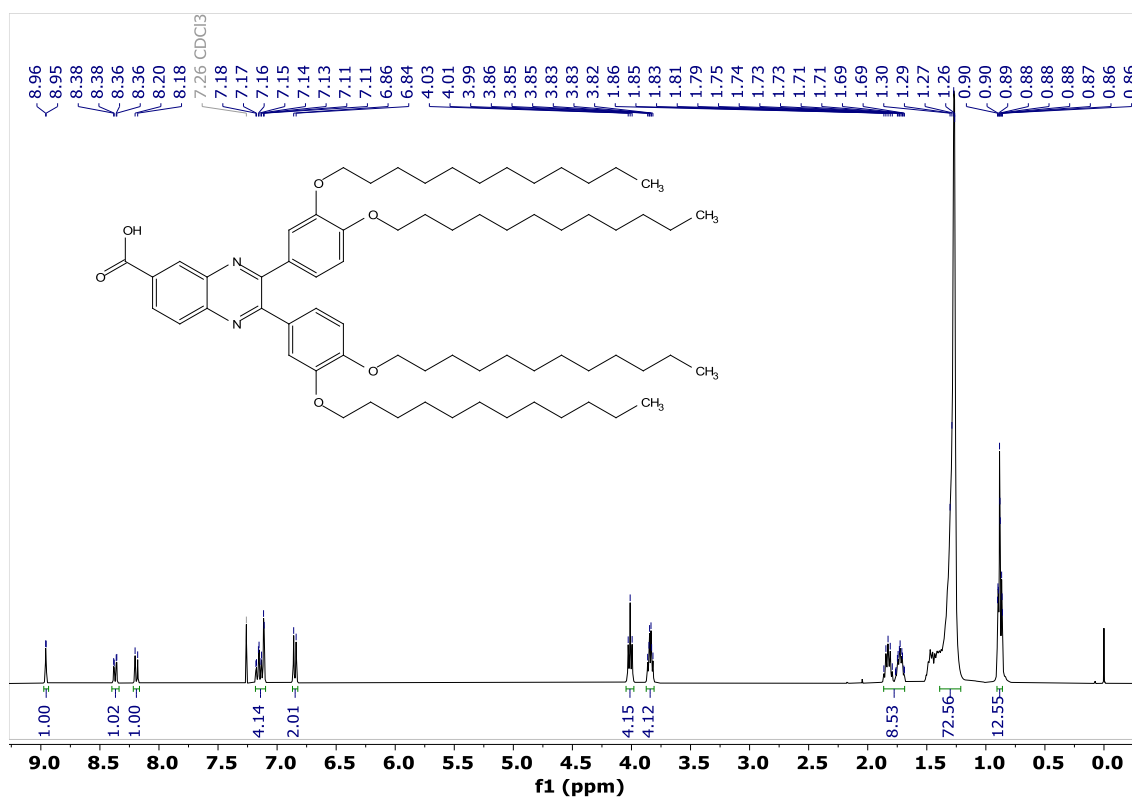
**Figura A.7** – Espectro de IV do composto **QX2** realizado em pastilha de KBr



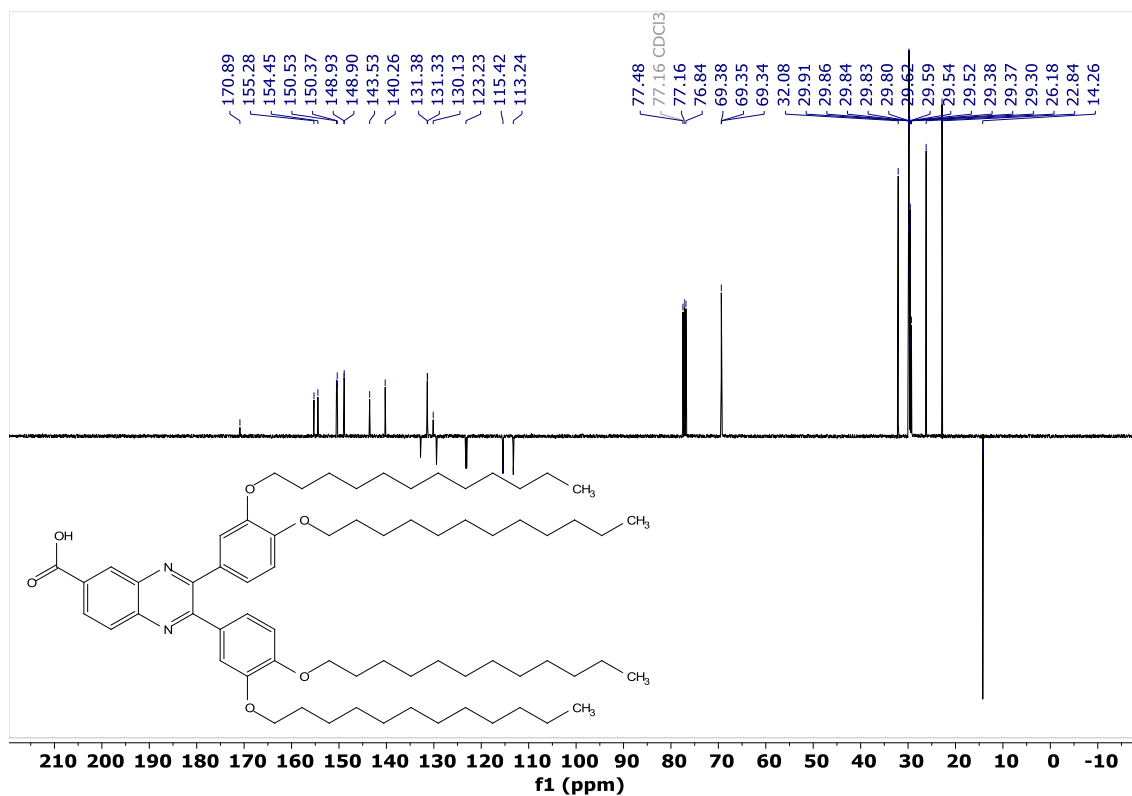
**Figura A.8 – Espectro de massas do composto QX2**



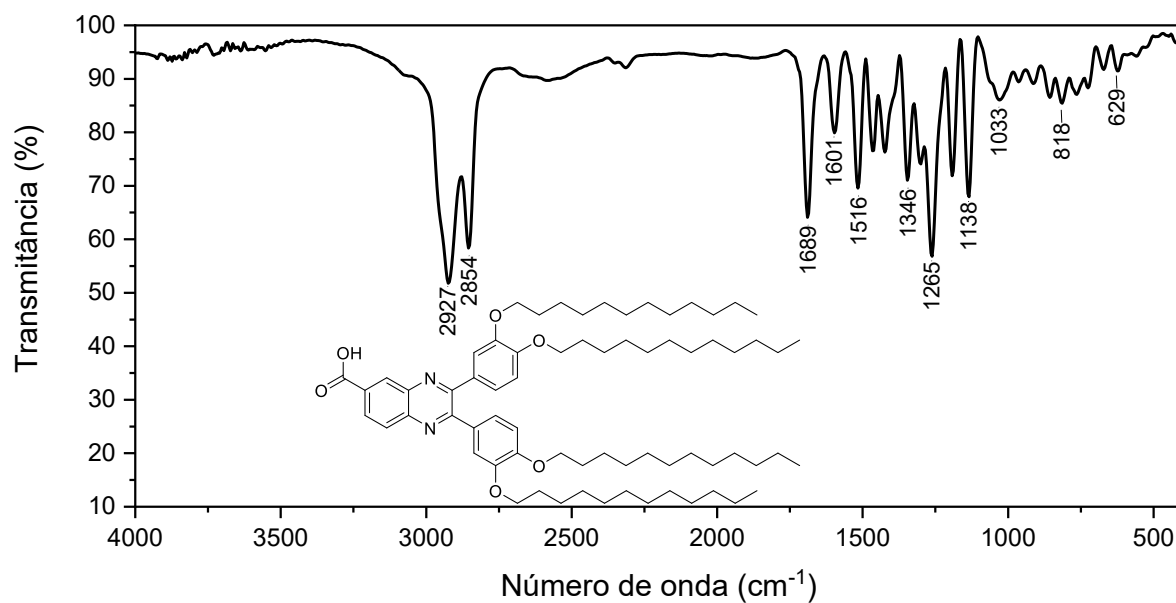
**Figura A.9 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto QX3**



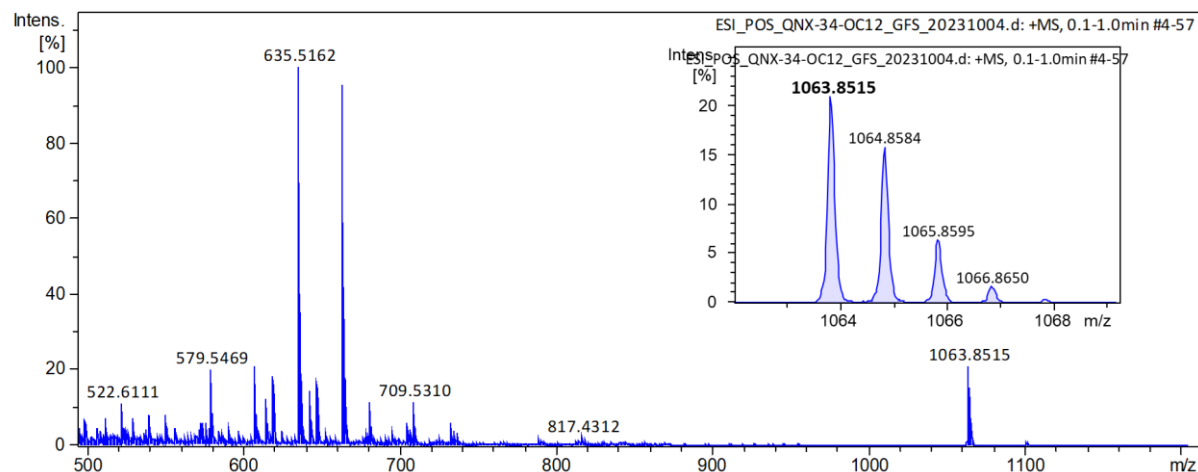
**Figura A.10** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **QX3**



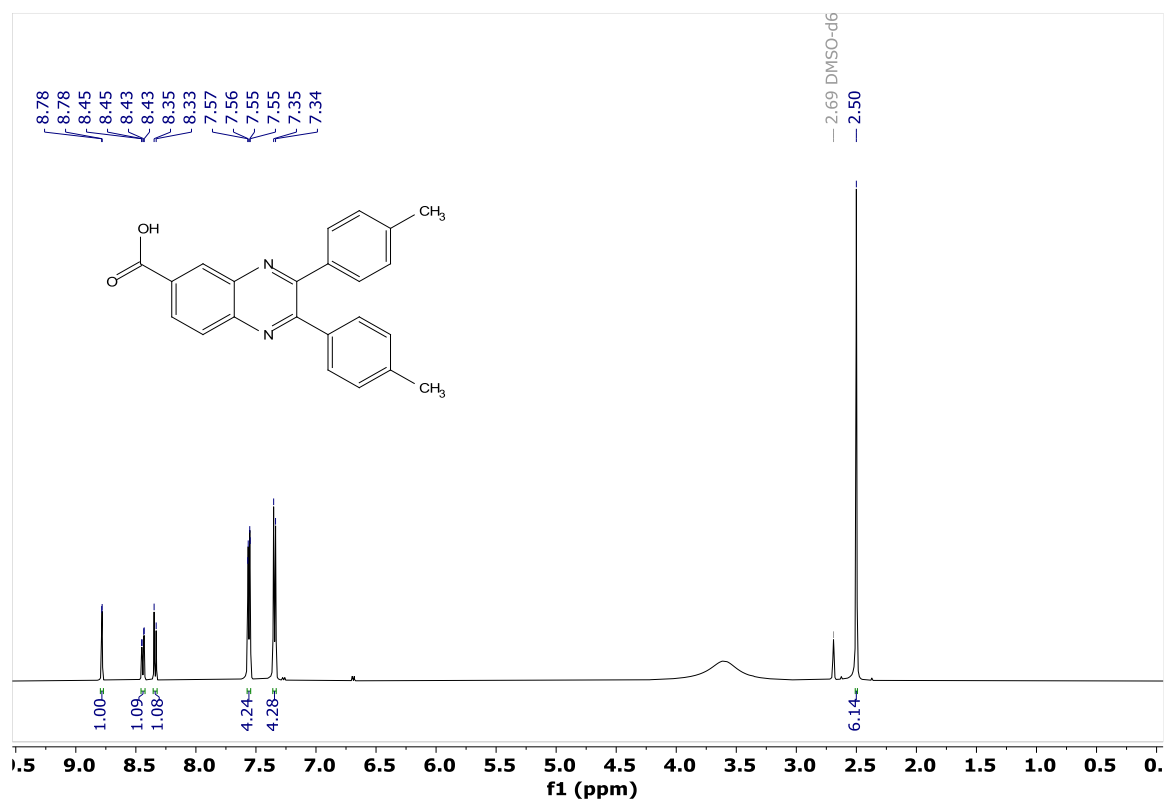
**Figura A.11** – Espectro de IV do composto **QX3** realizado em pastilha de KBr



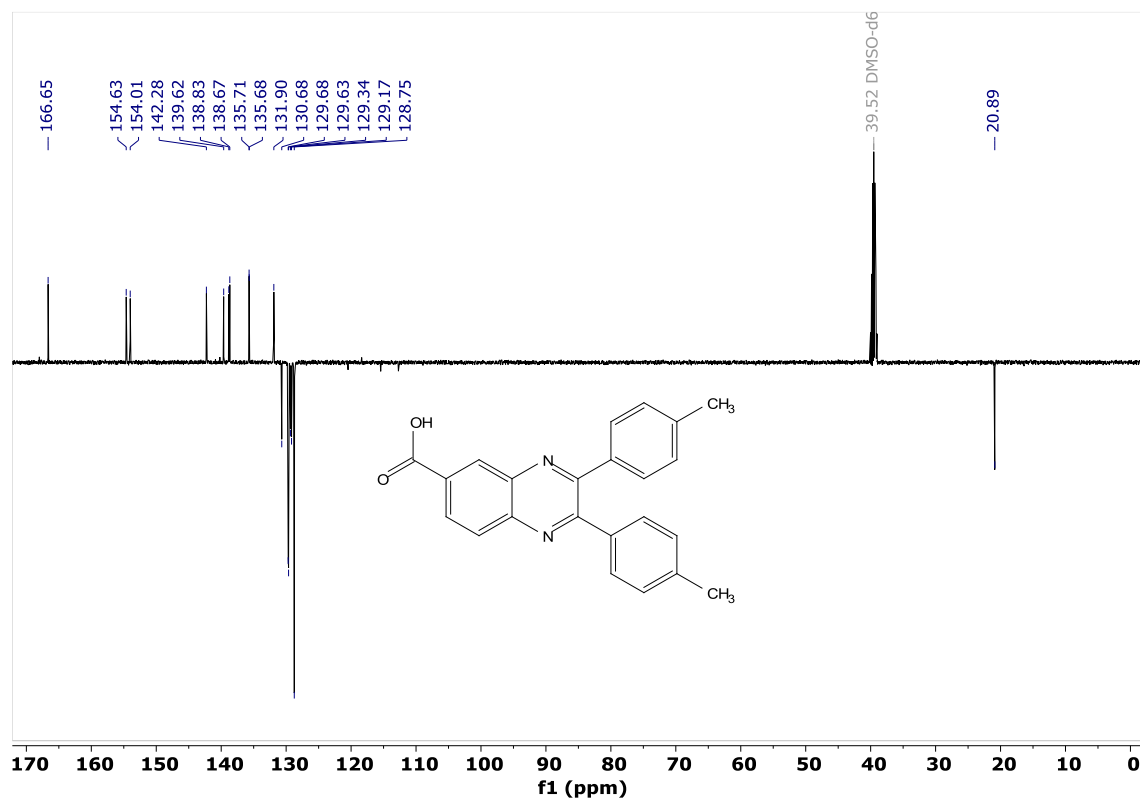
**Figura A.12 – Espectro de massas do composto QX3**



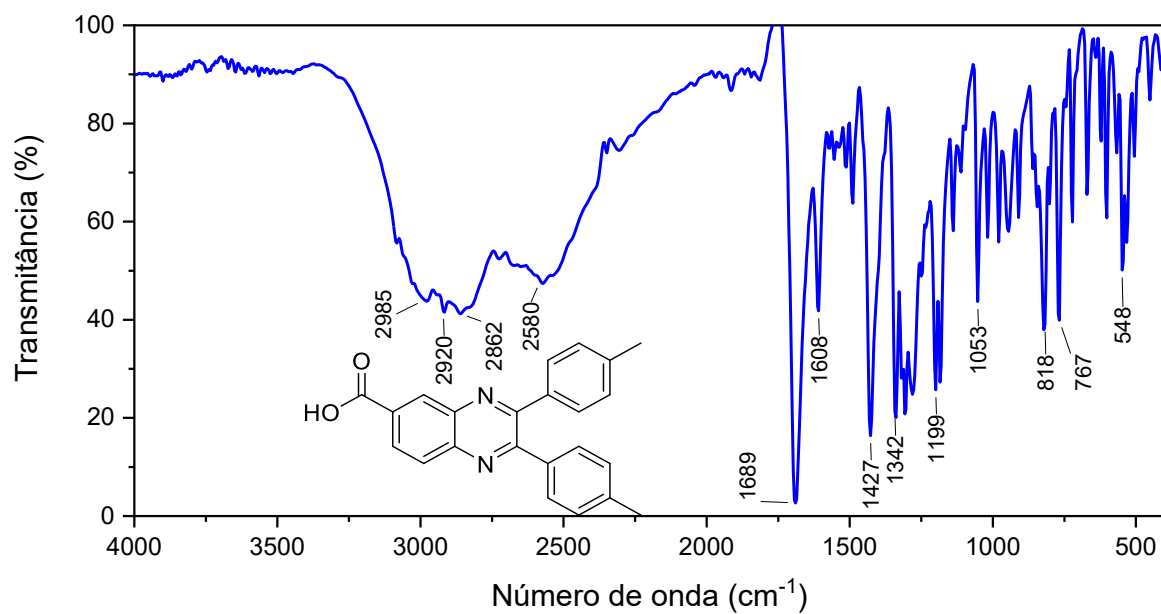
**Figura A.13 – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em DMSO- $d_6$  do composto QX4**



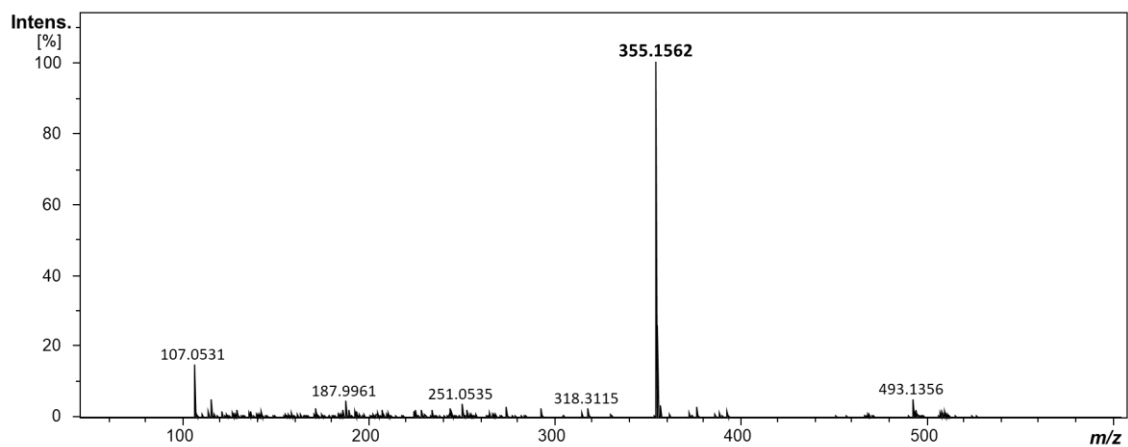
**Figura A.1458** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do composto **QX4**



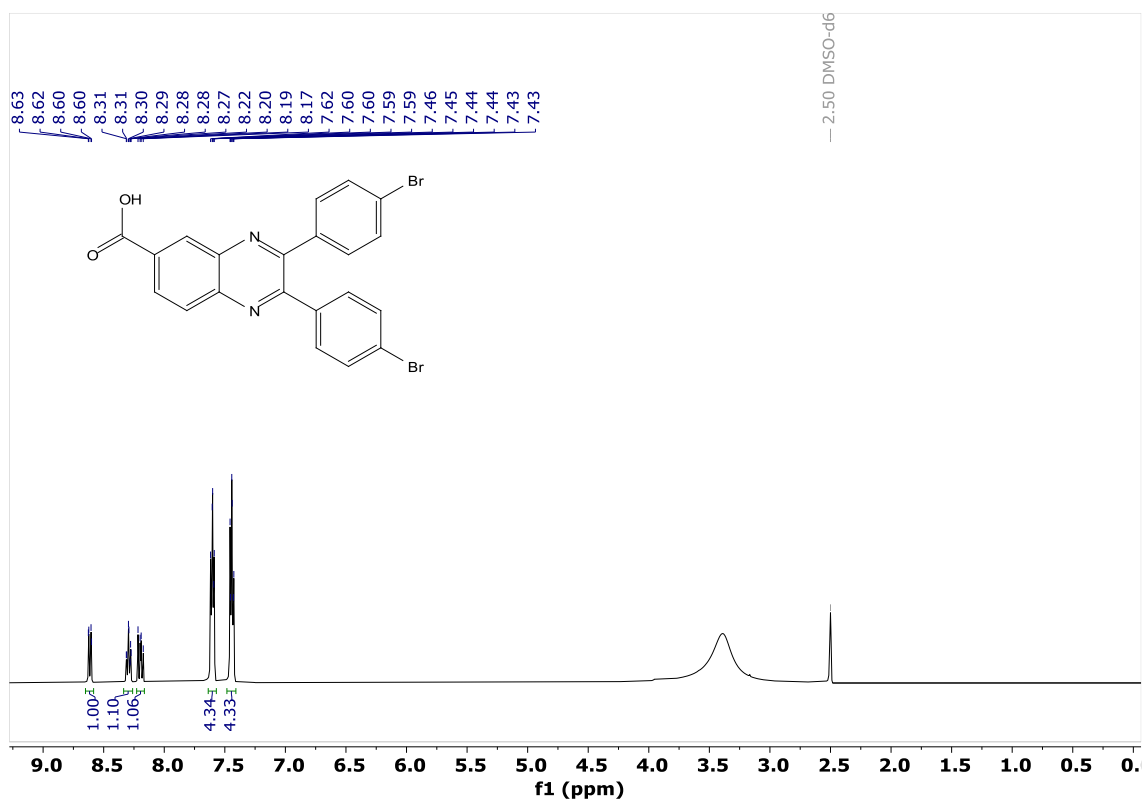
**Figura A.1559** – Espectro de IV do composto **QX4** realizado em pastilha de KBr



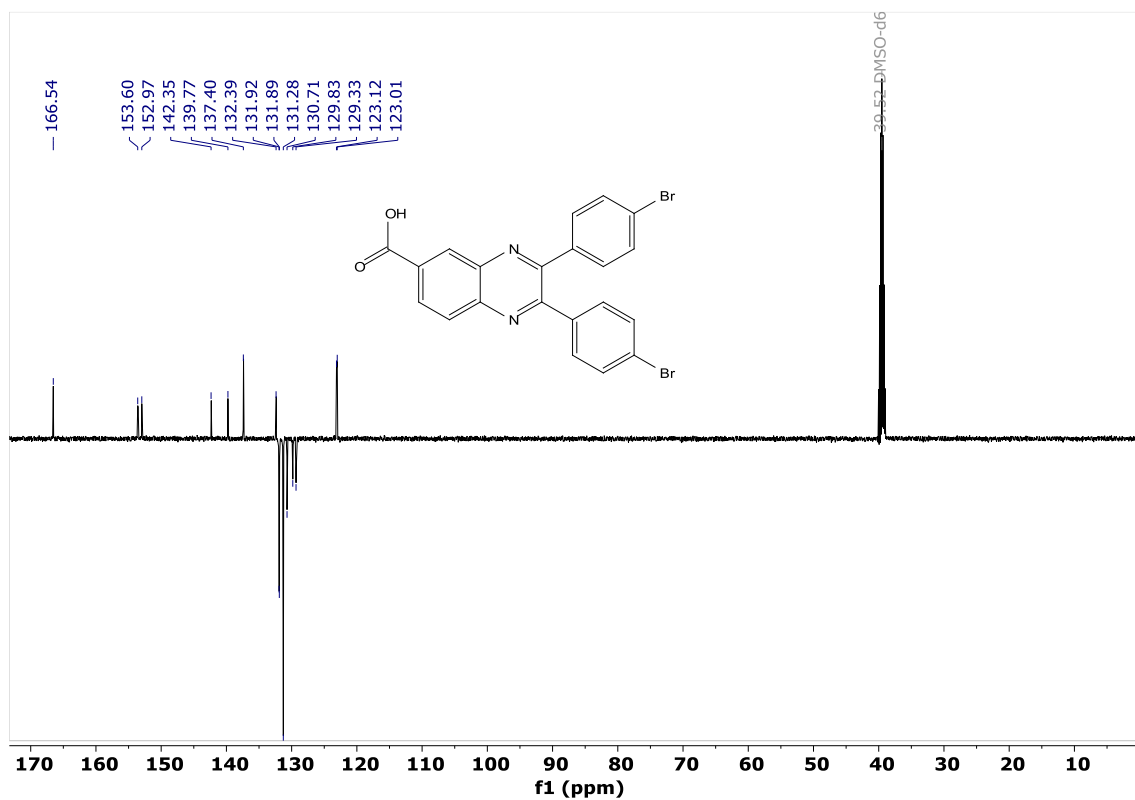
**Figura A.16** – Espectro de massas do composto **QX4**



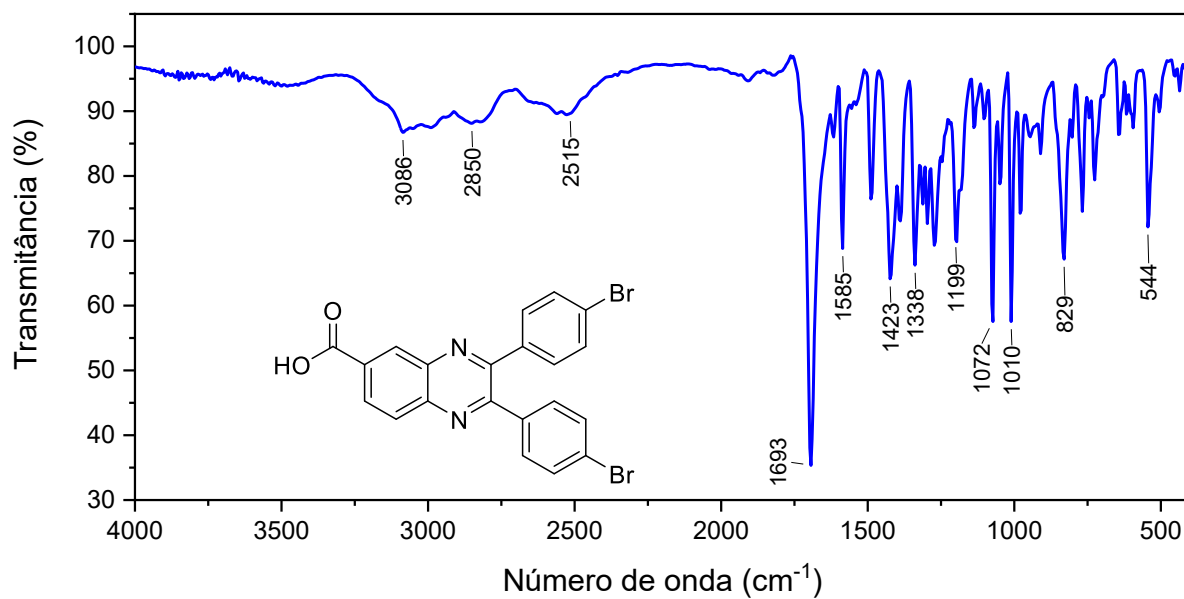
**Figura A.1760** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QX5**



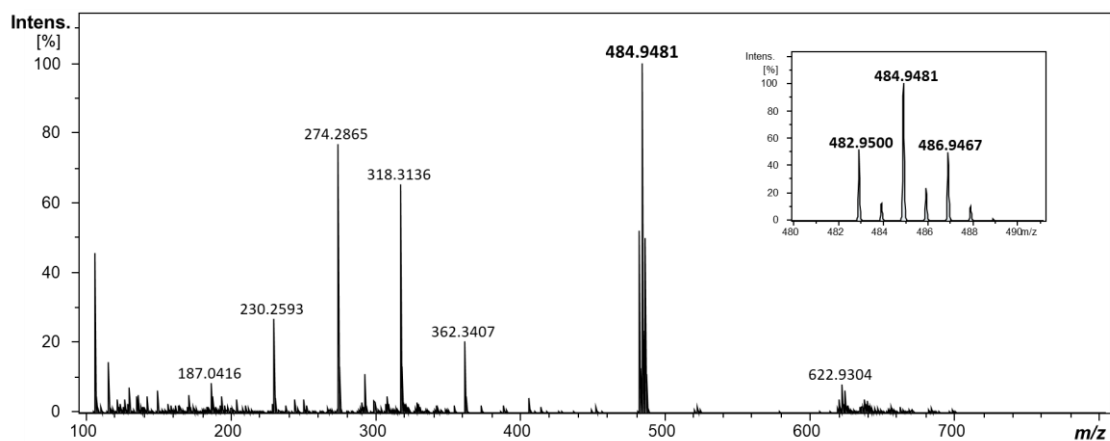
**Figura A.18** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QX5**



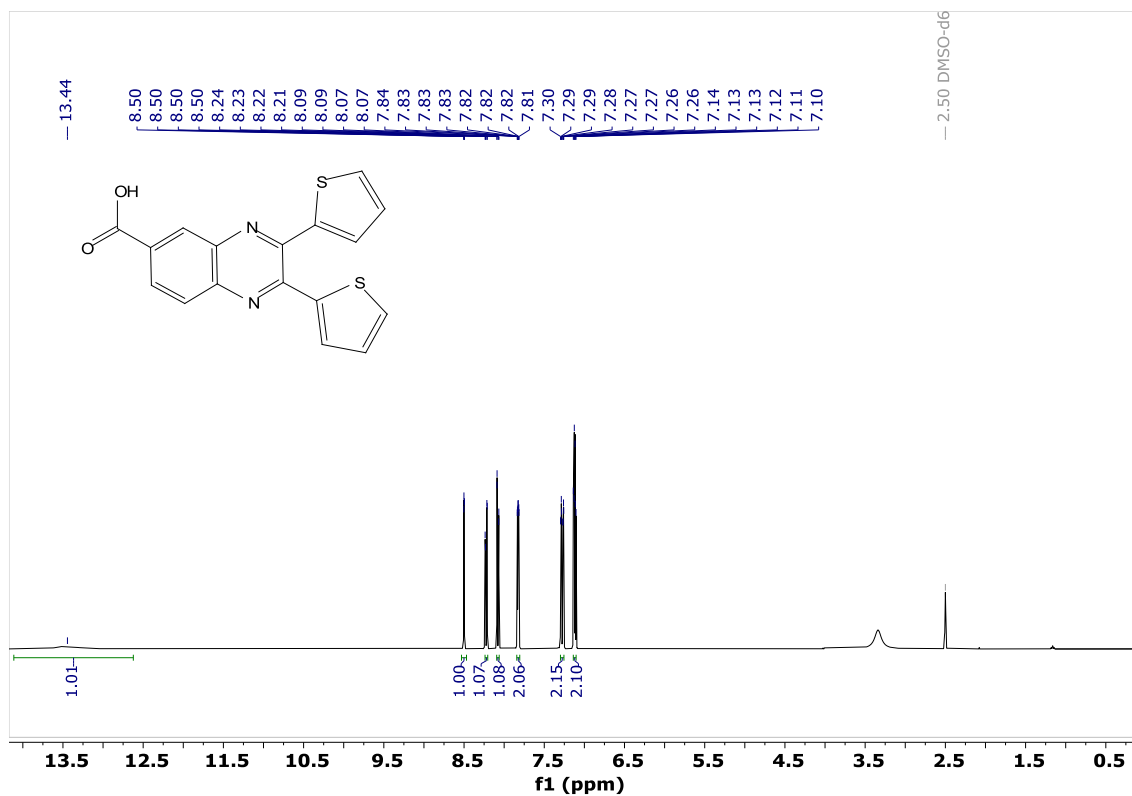
**Figura A.19** – Espectro de IV do composto **QX5** realizado em pastilha de KBr



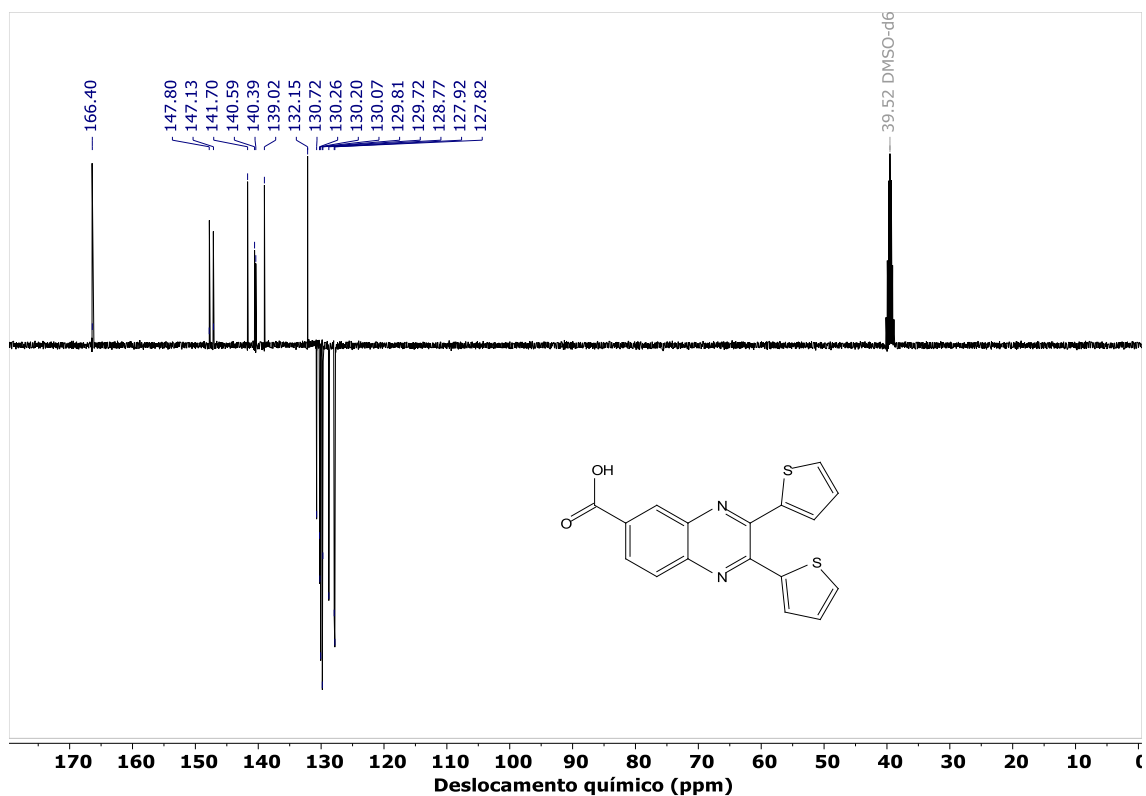
**Figura A.20** – Espectro de massas do composto **QX5**



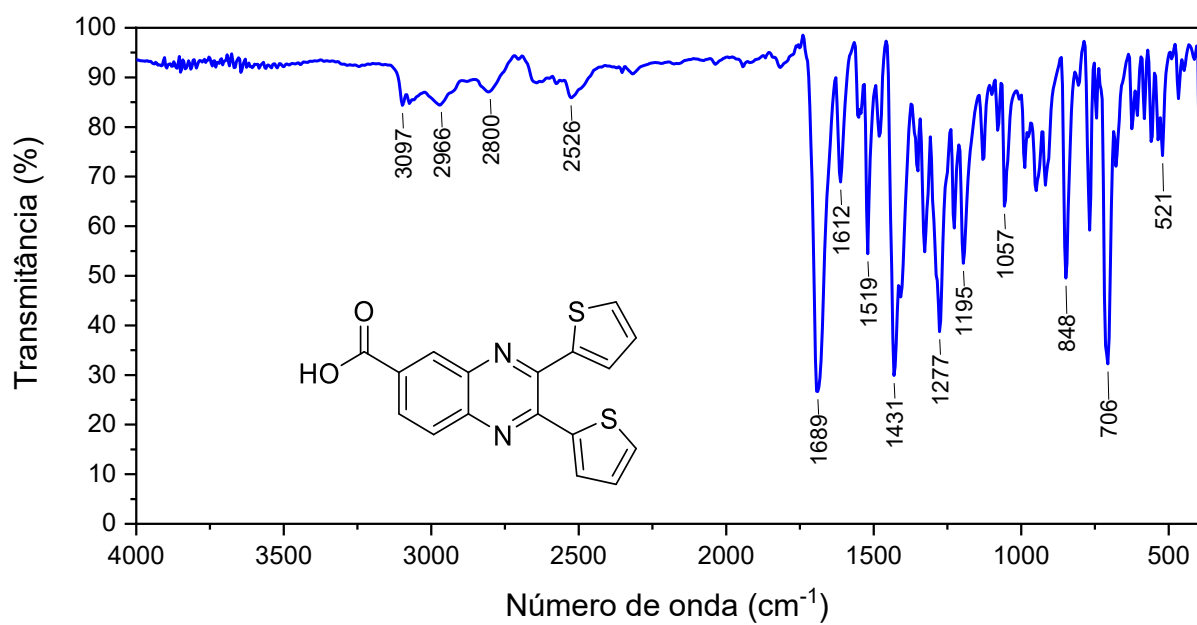
**Figura A.2161** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do composto **QX6**



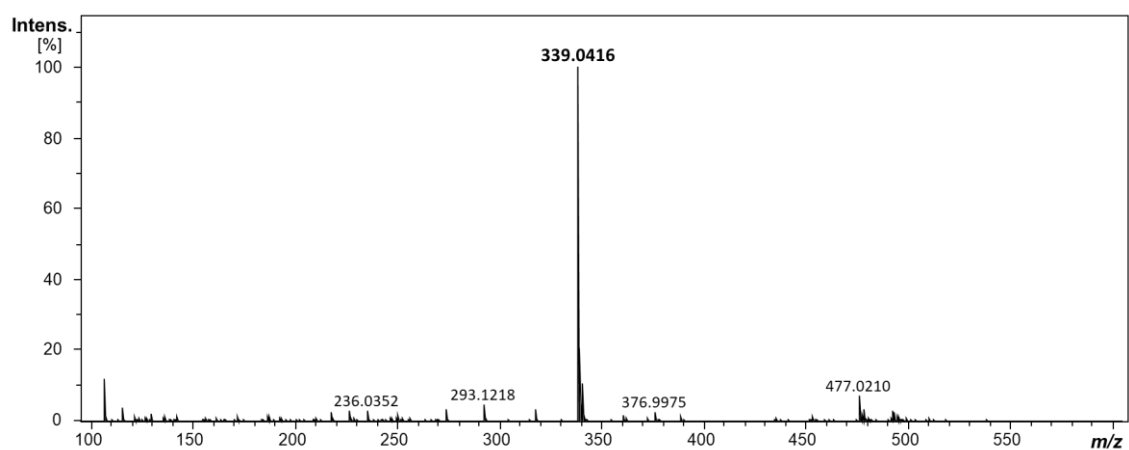
**Figura A.2262** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QX6**



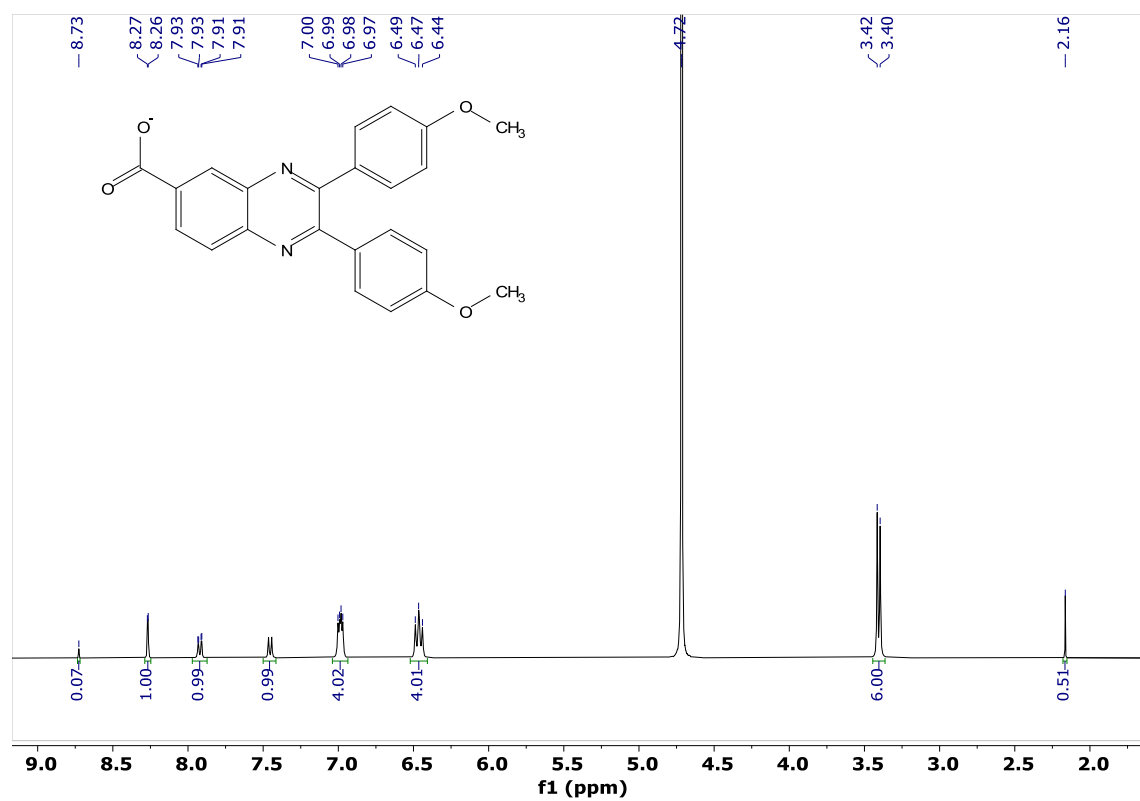
**Figura A.2363** – Espectro de IV do composto **QX6** realizado em pastilha de KBr



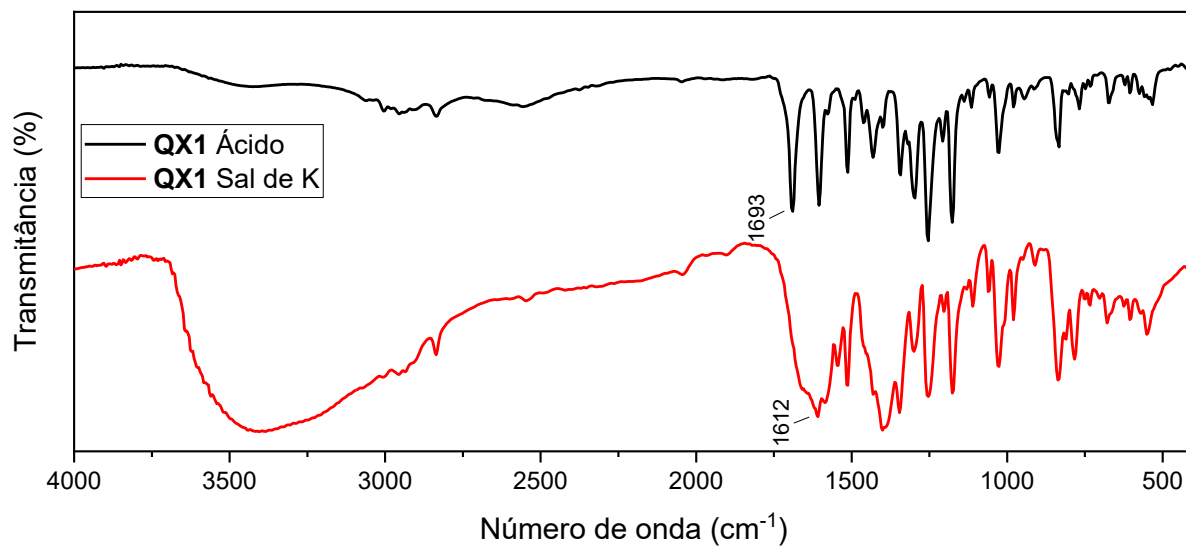
**Figura A.2464** – Espectro de massas do composto **QX6**



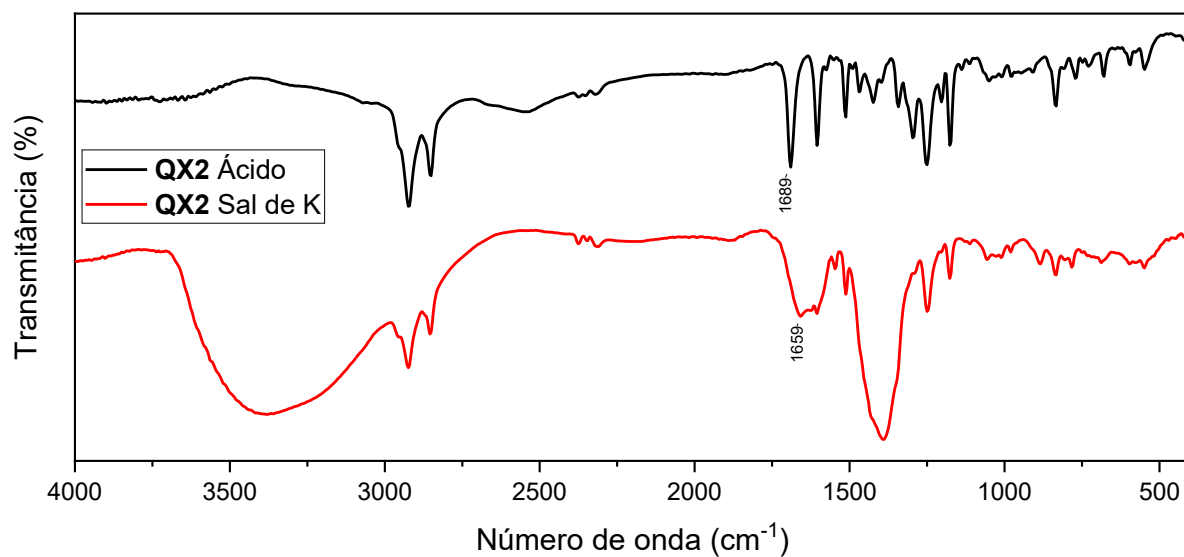
**Figura A.2565** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{D}_2\text{O}$  do composto **QX1** na forma de sal



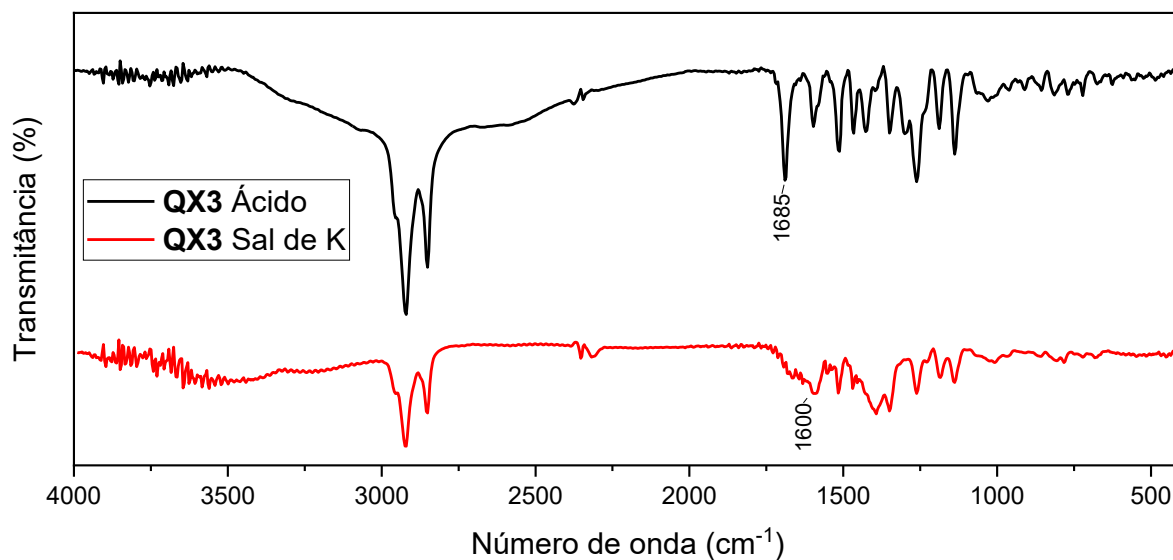
**Figura A.26** – Espectro de IV do composto **QX1** nas formas ácida e sal de potássio realizado em pastilha de KBr evidenciando o deslocamento da banda carbonila



**Figura A.27** – Espectro de IV do composto **QX2** nas formas ácida e sal de potássio realizado em pastilha de KBr evidenciando o deslocamento da banda carbonila

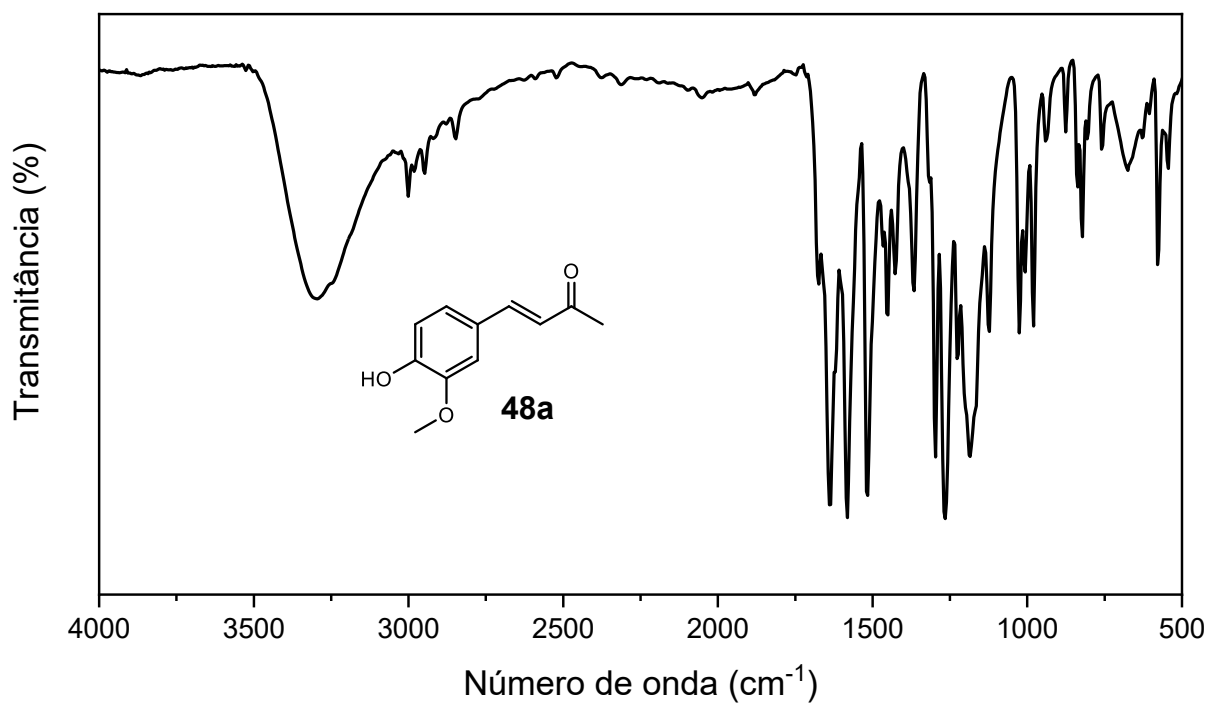


**Figura A.28** – Espectro de IV do composto **QX3** nas formas ácida e sal de potássio realizado em pastilha de KBr evidenciando o deslocamento da banda carbonila

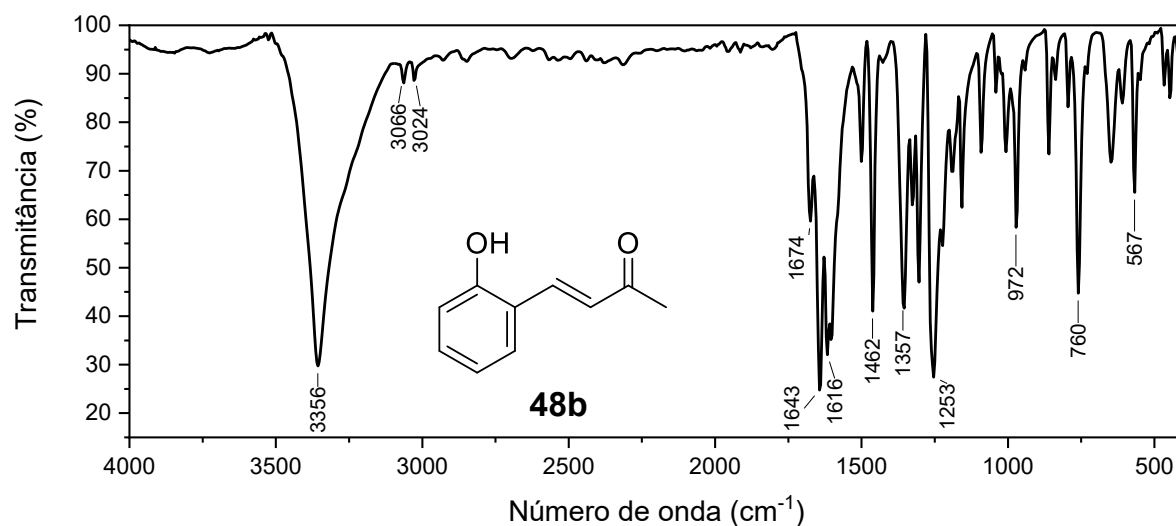


## 1.2. Quinolinas

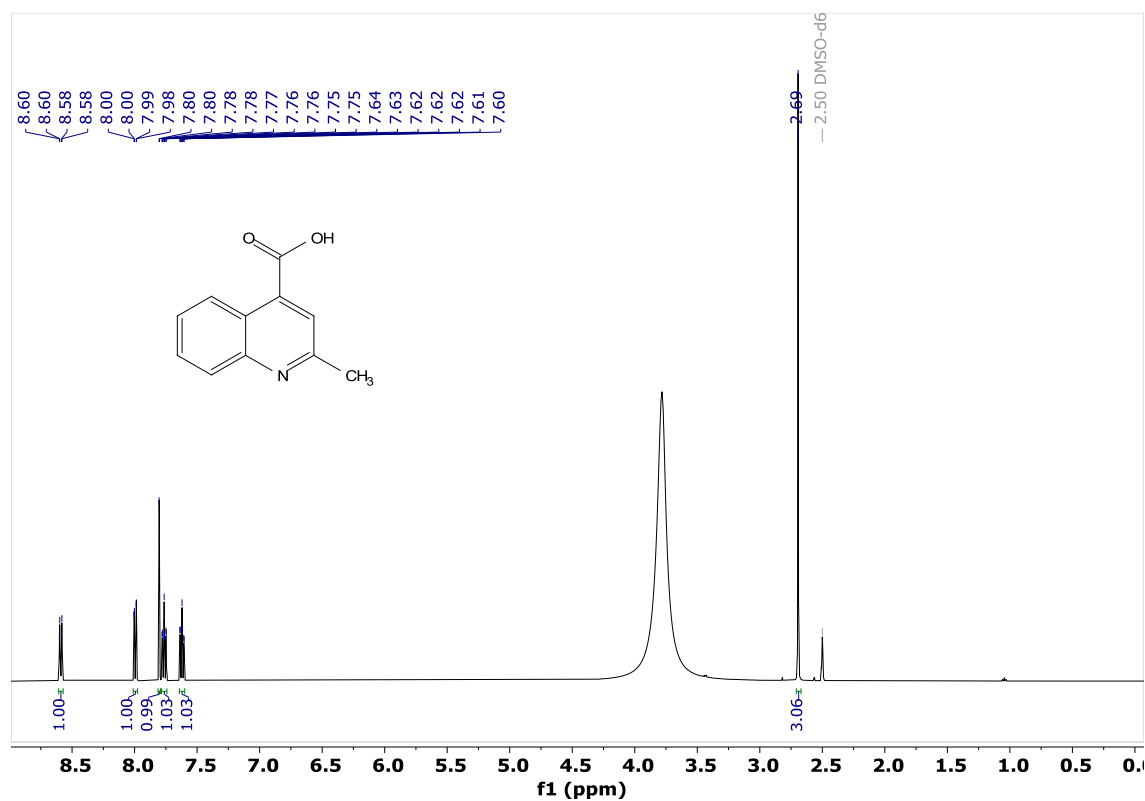
**Figura A.29** – Espectro de IV do composto **48a** realizado em pastilha de KBr



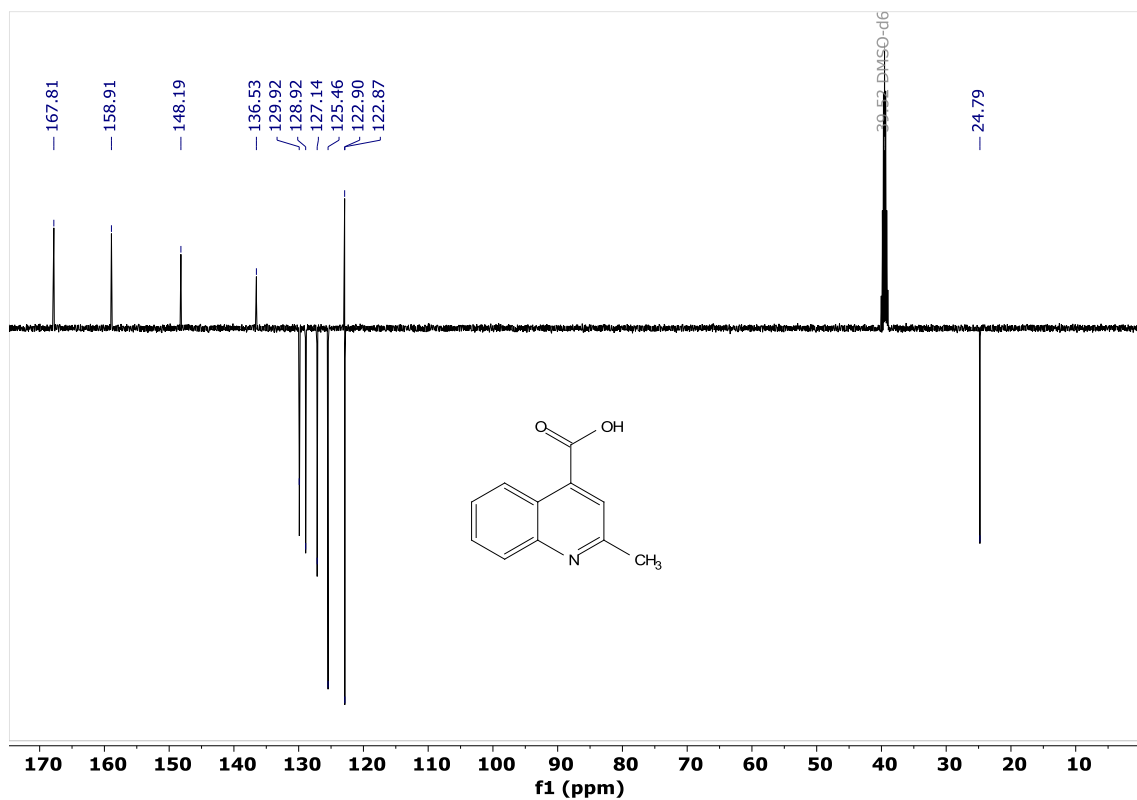
**Figura A.30** – Espectro de IV do composto **48b** realizado em pastilha de KBr



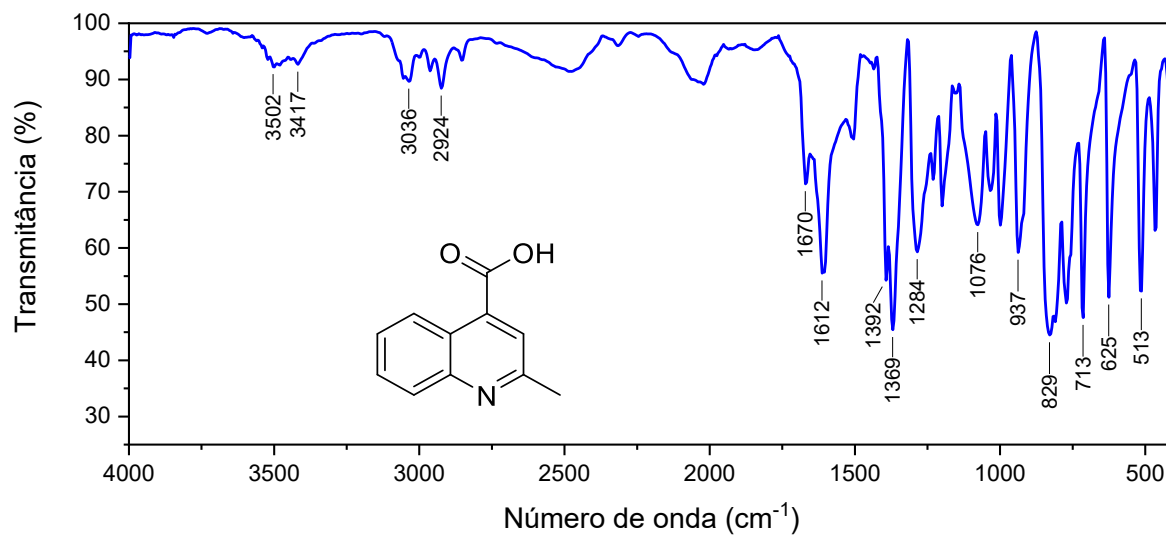
**Figura A.3166** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **50**



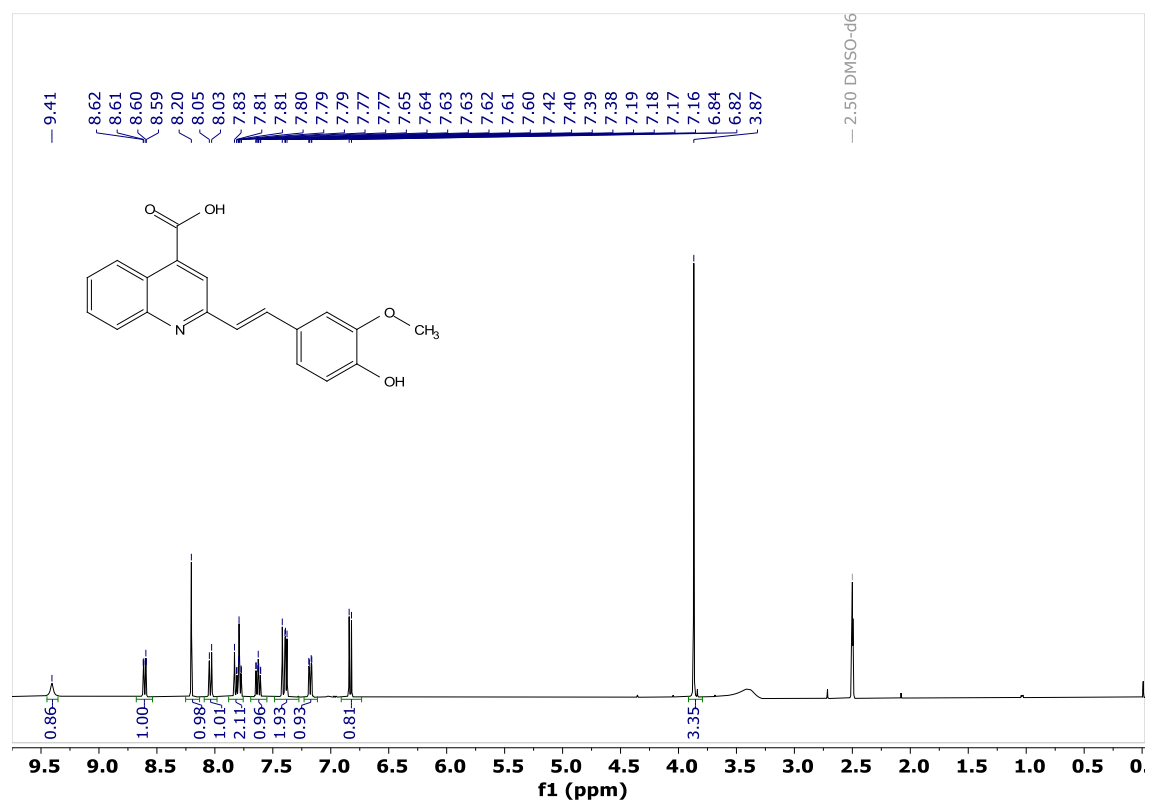
**Figura A.32** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  –APT (100 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do composto **50**



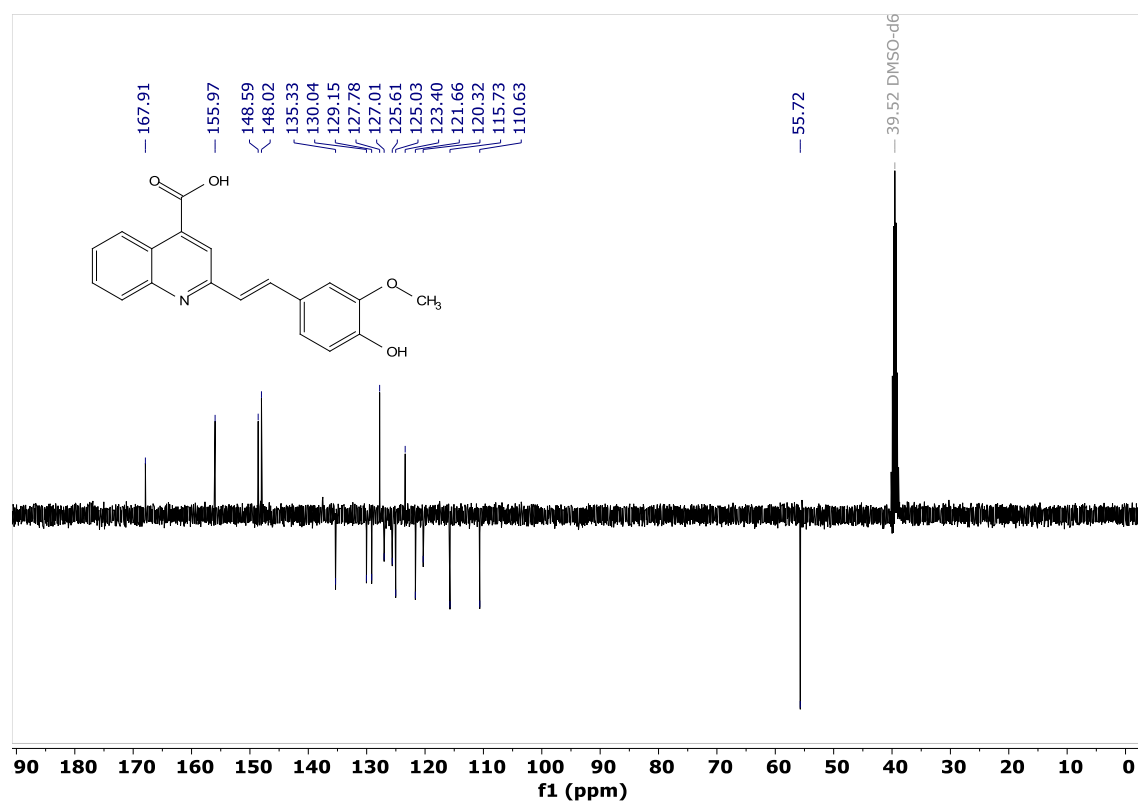
**Figura A.3367** – Espectro de IV do composto **50** realizado em pastilha de KBr



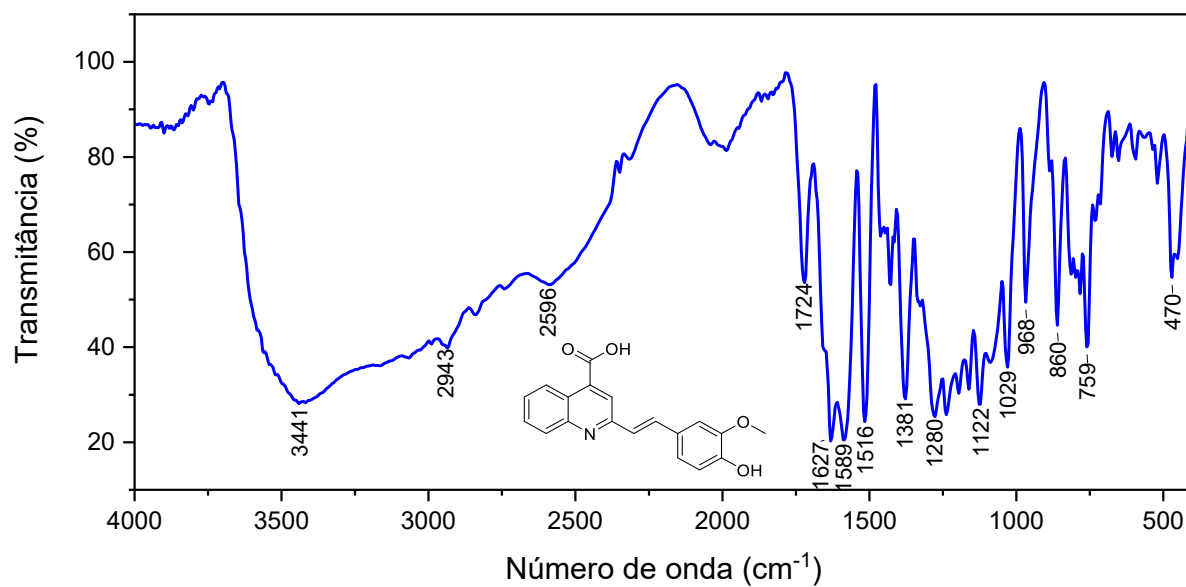
**Figura A.3468** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL1-A**



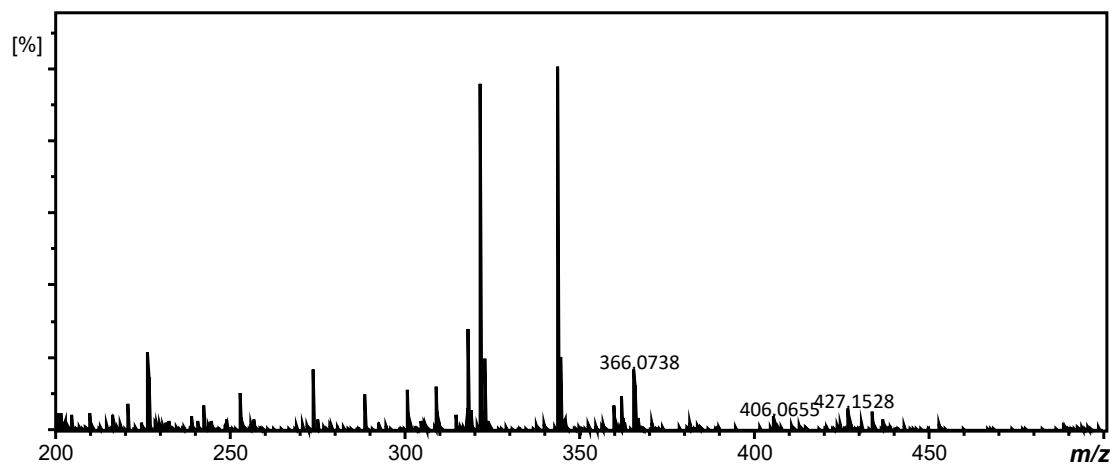
**Figura A.35** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  –APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL1-A**



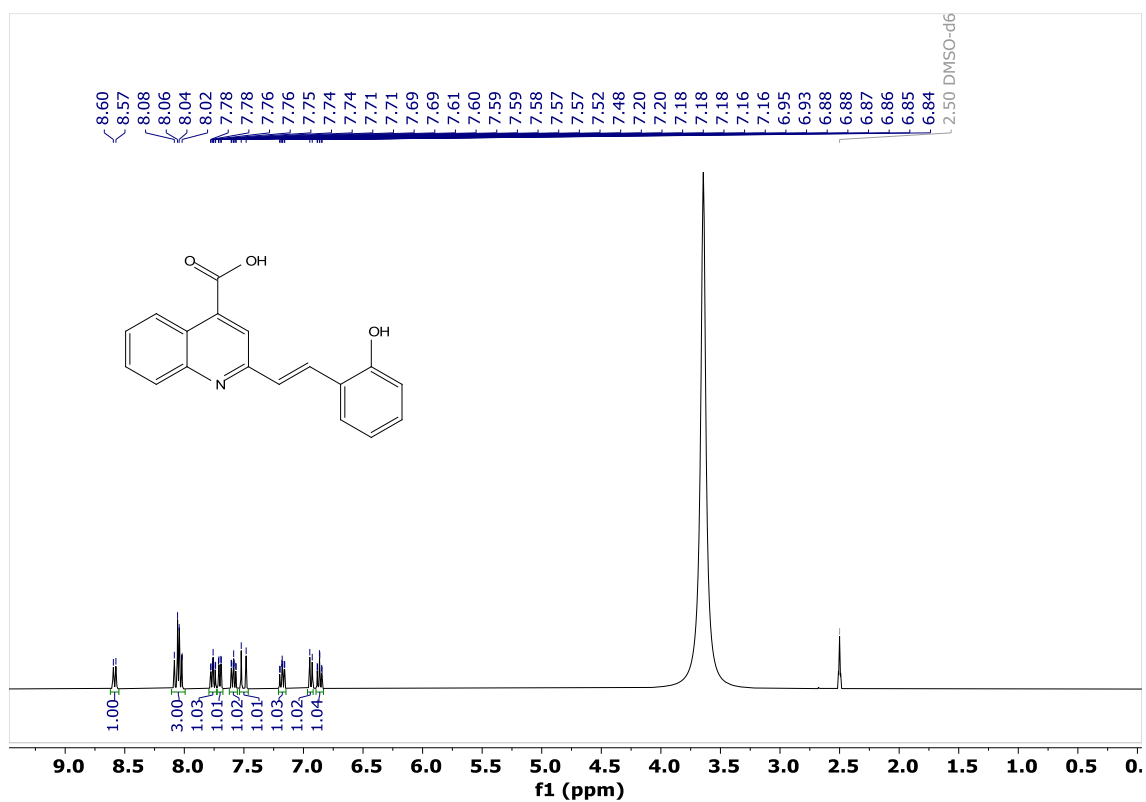
**Figura A.36** – Espectro de IV do composto **QL1-A** realizado em pastilha de KBr



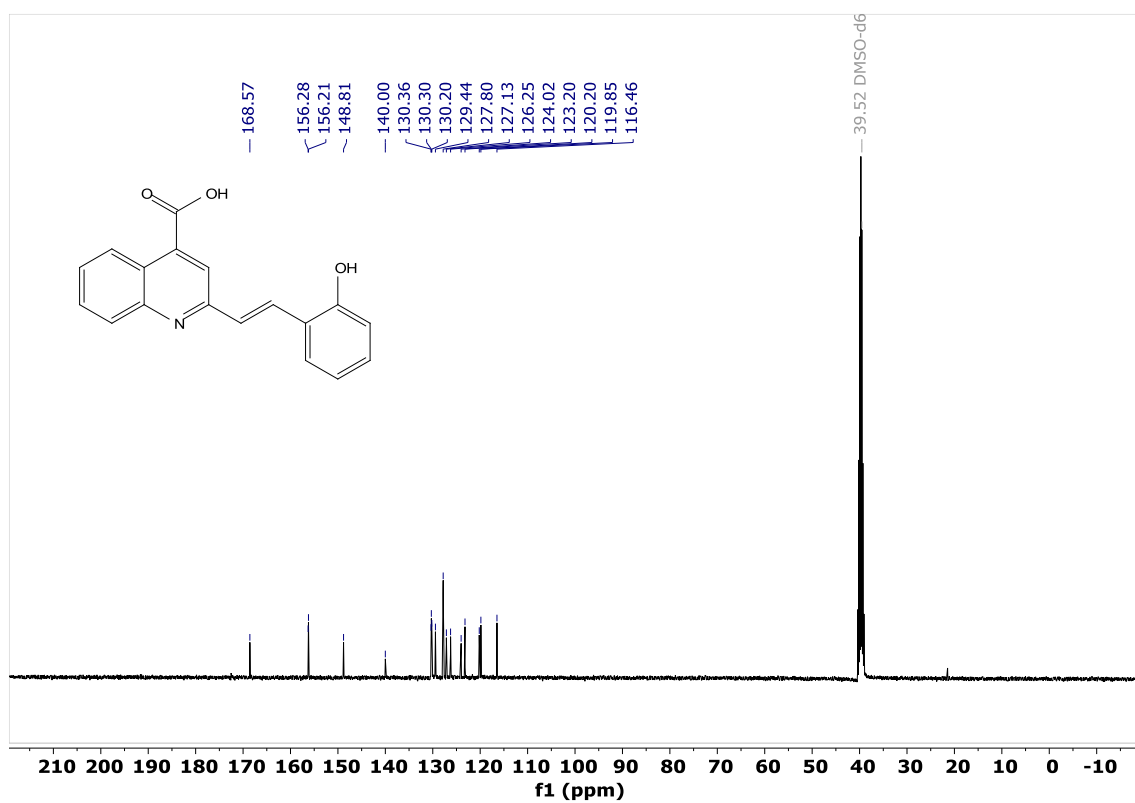
**Figura A.3769** – Espectro de massas do composto **QL1-A**



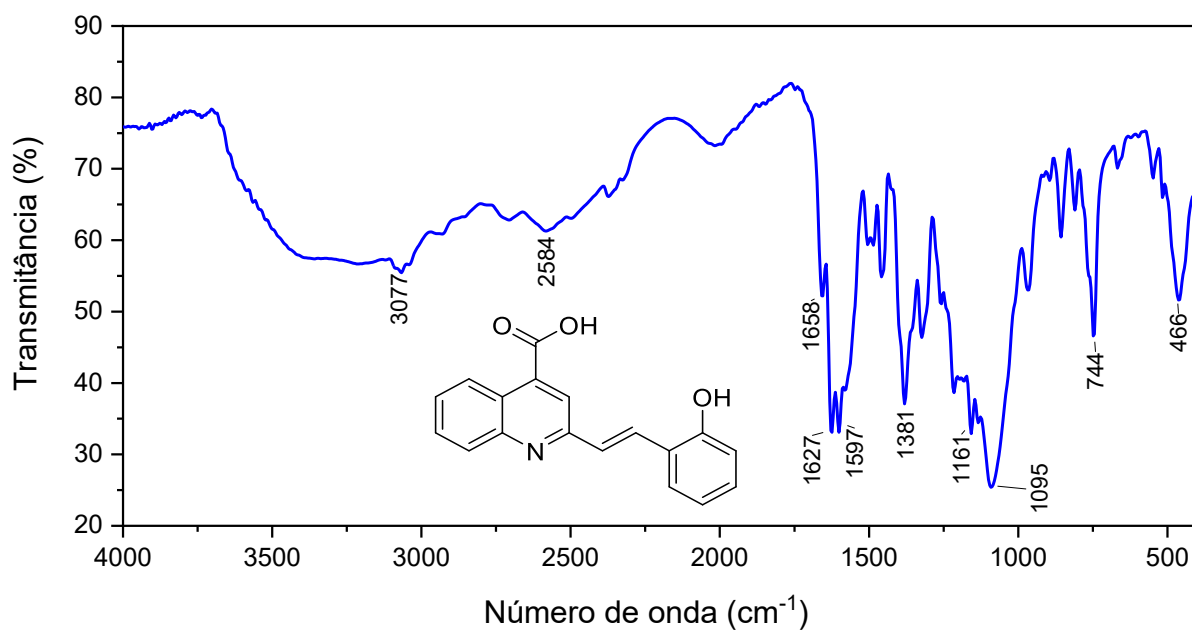
**Figura A.38** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL2-A**



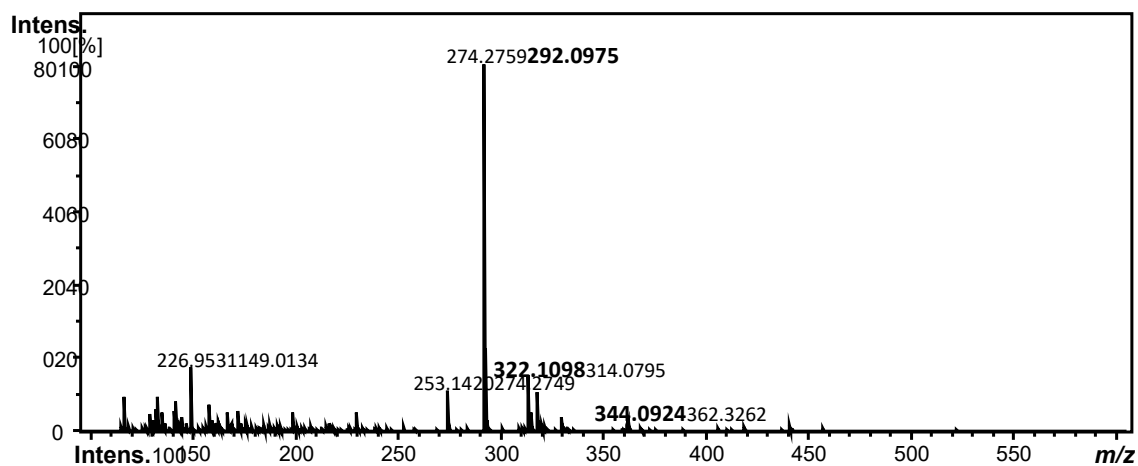
**Figura A.3970** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL2-A**



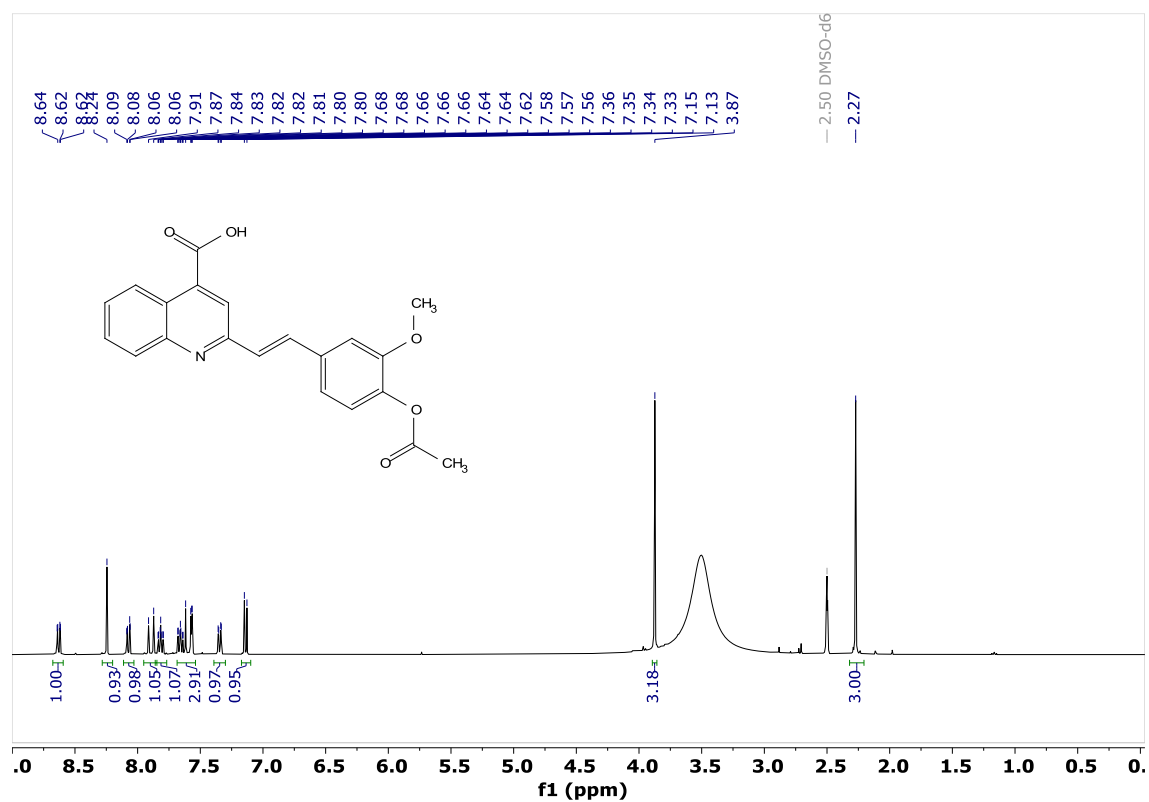
**Figura A.4071** – Espectro de IV do composto **QL2-A** realizado em pastilha de KBr



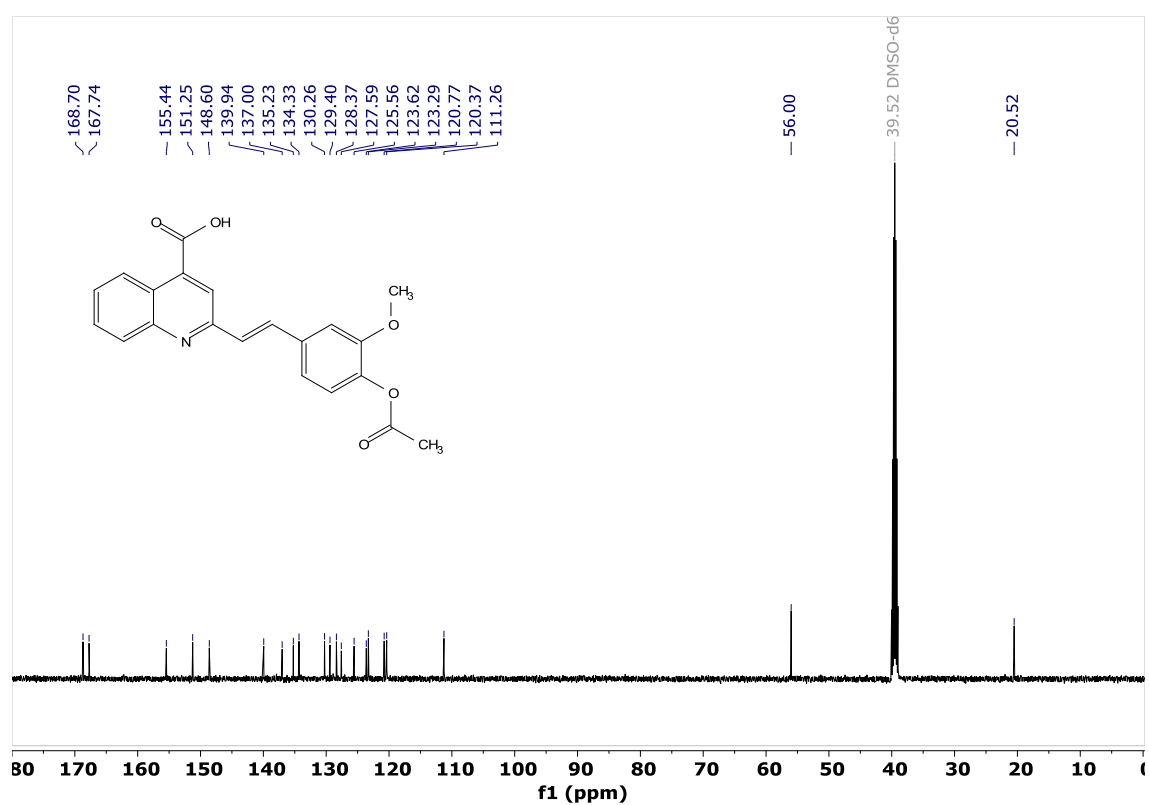
**Figura A.41** – Espectro de massas do composto **QL2-A**



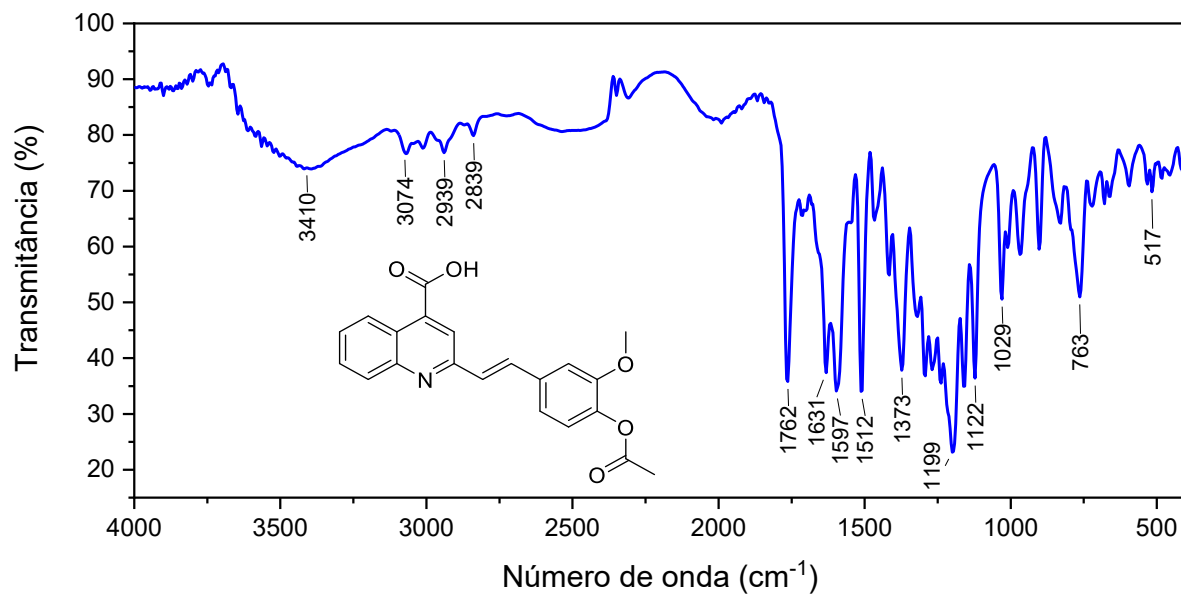
**Figura A.42** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL3-B**



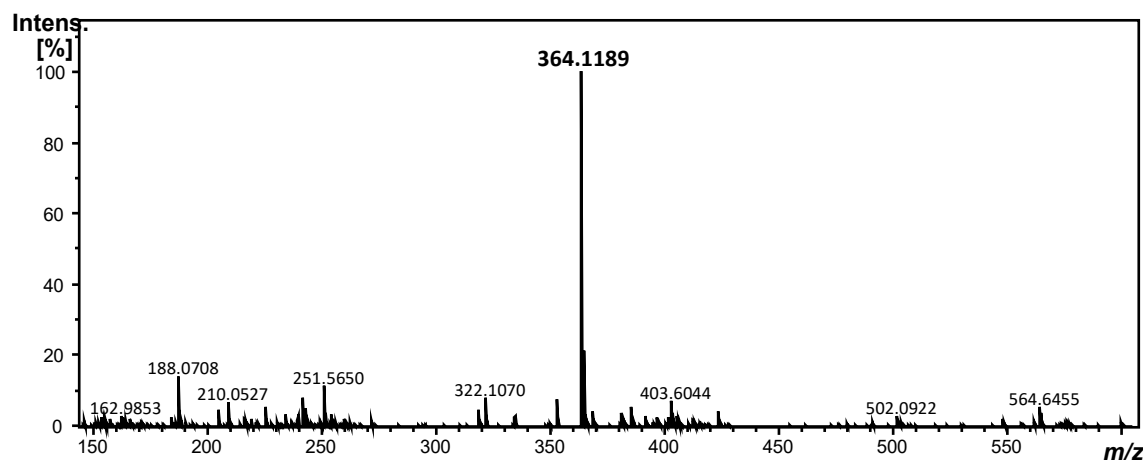
**Figura A.43** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL3-B**



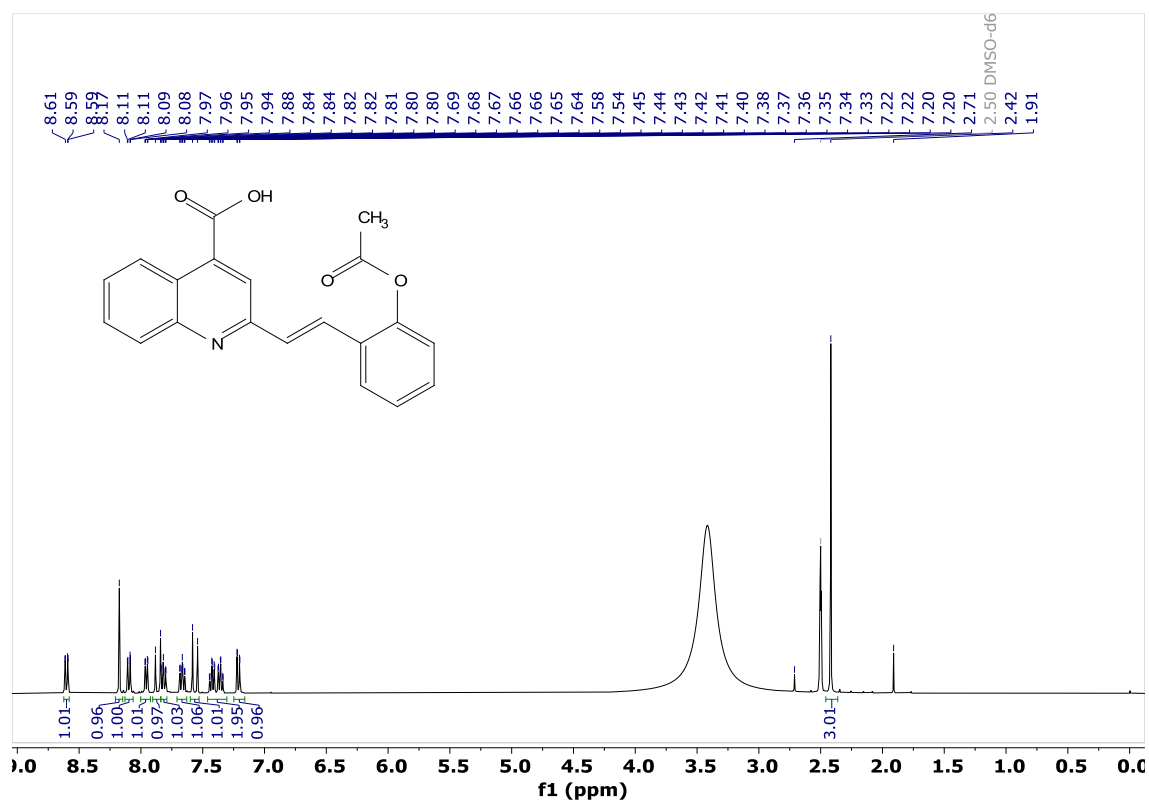
**Figura A.4472** – Espectro de IV do composto **QL3-B** realizado em pastilha de KBr



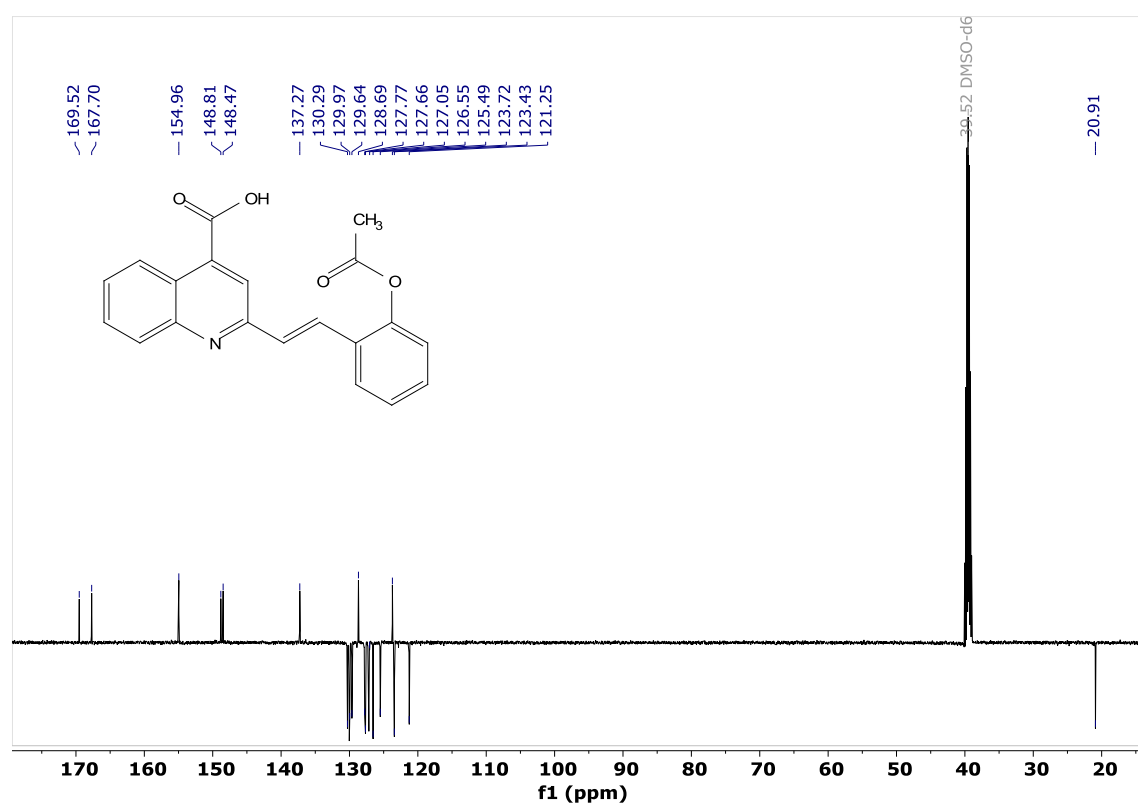
**Figura A.45** – Espectro de massas do composto **QL3-B**



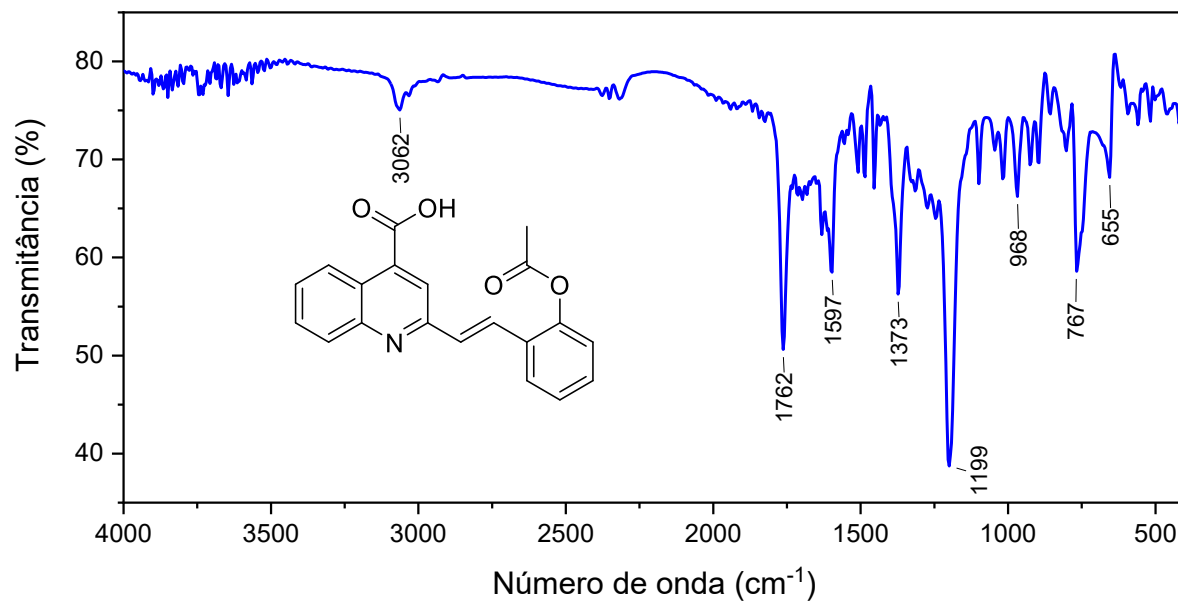
**Figura A.46** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL4-B**



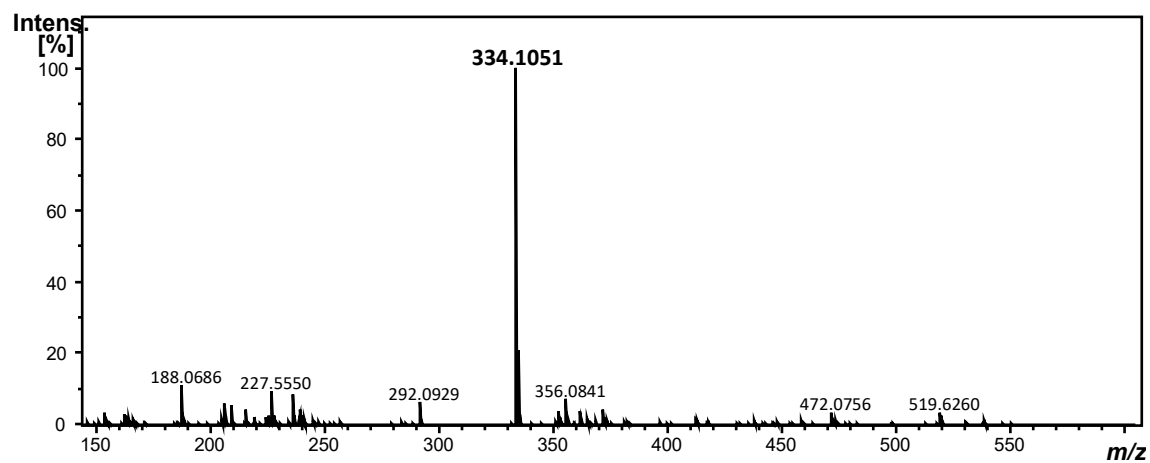
**Figura A.4773** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL4-B**



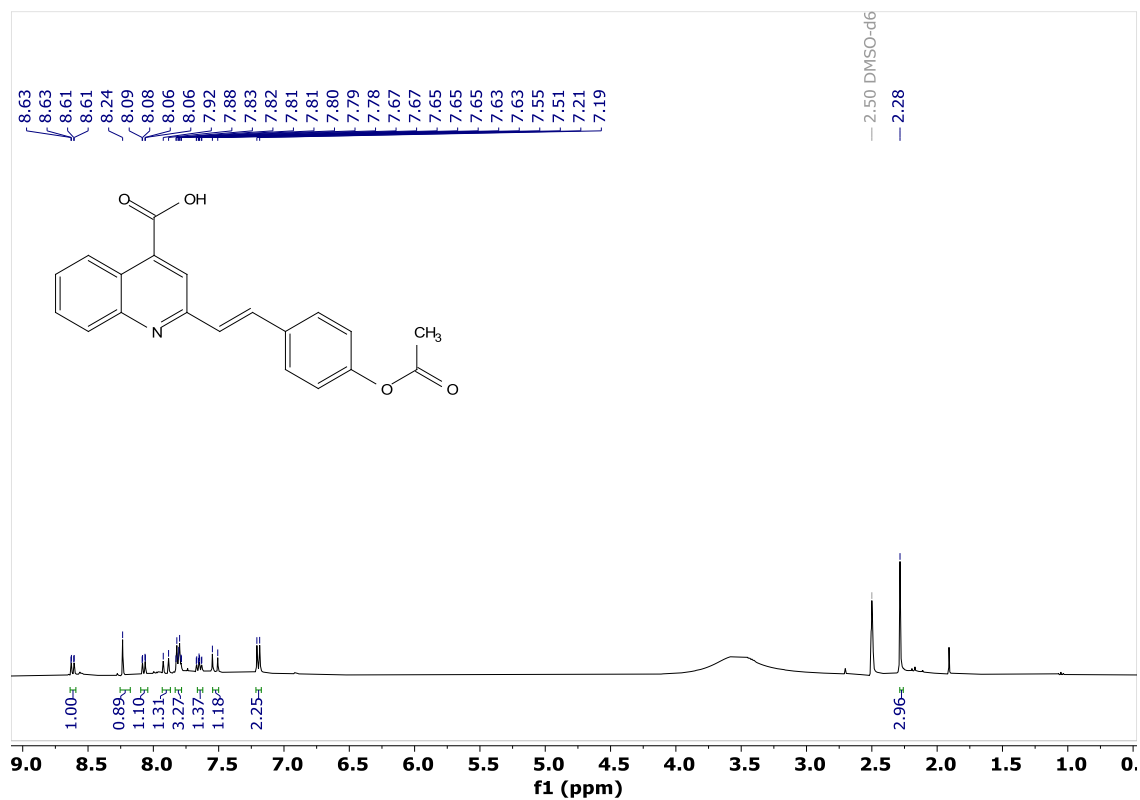
**Figura A.48** – Espectro de IV do composto **QL4-B** realizado em pastilha de KBr



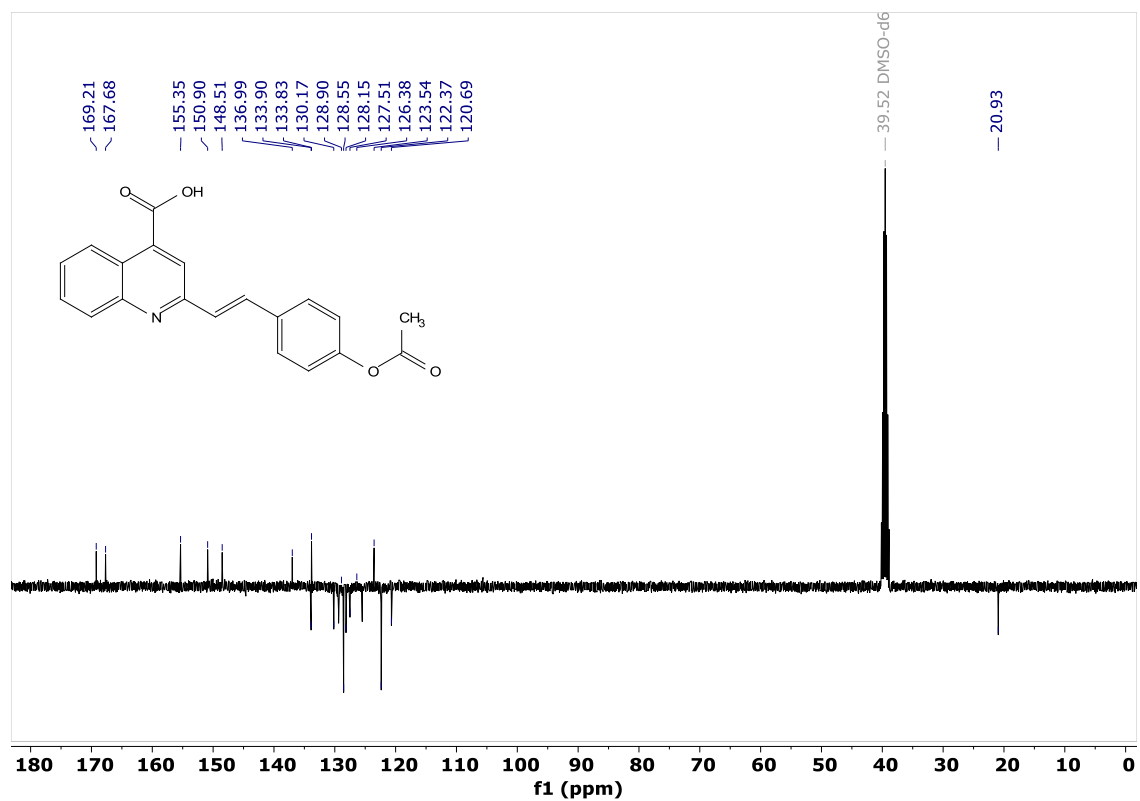
**Figura A.49** – Espectro de massas do composto **QL4-B**



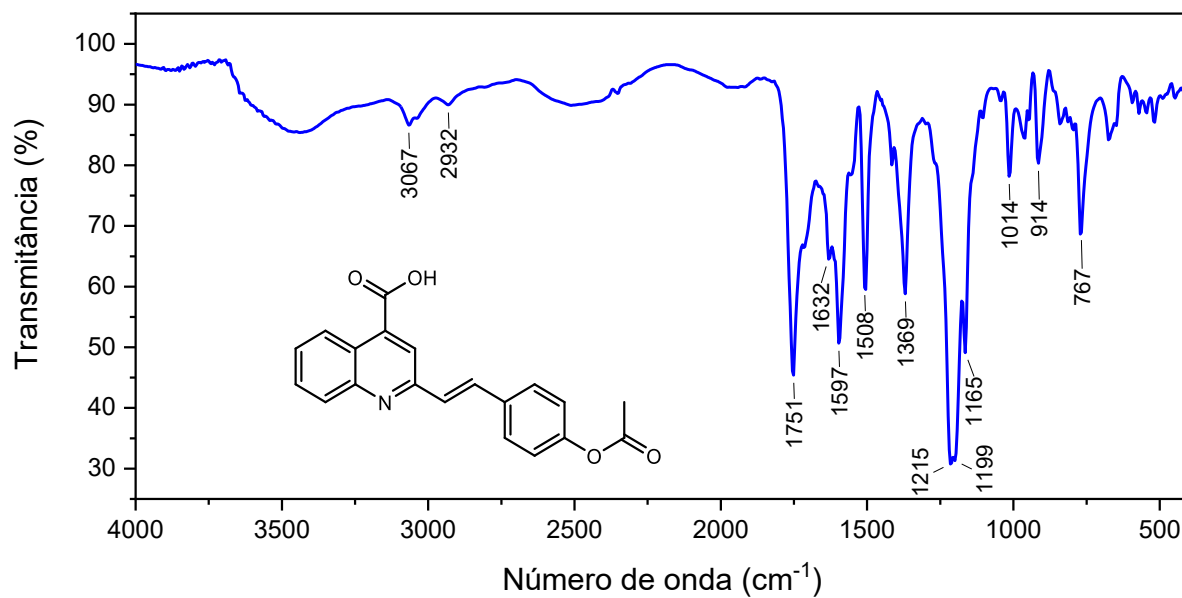
**Figura A.5074** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL5-B**



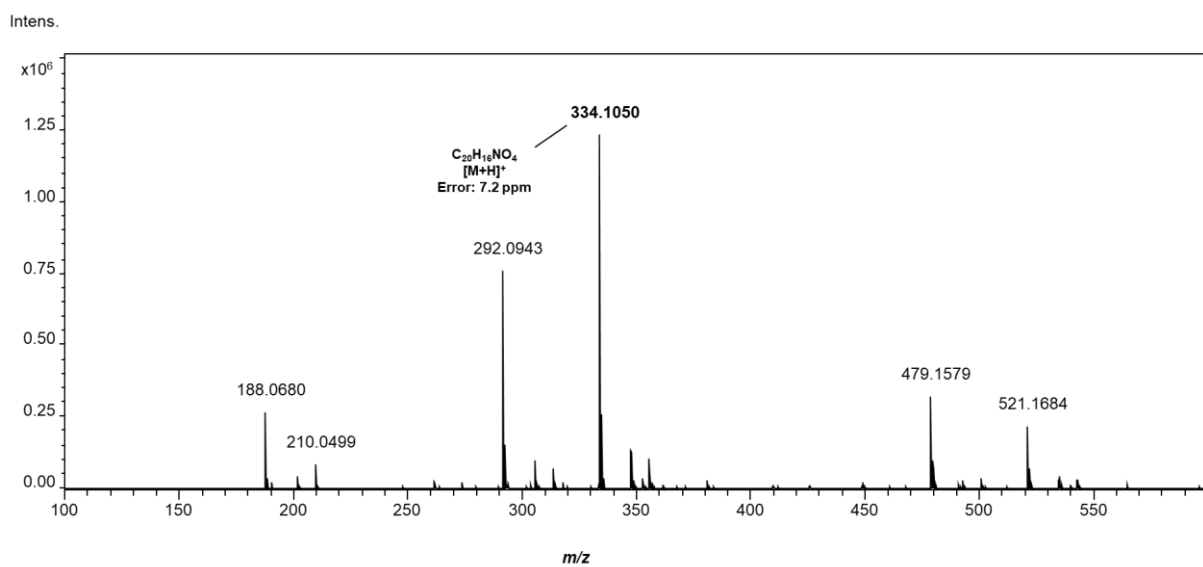
**Figura A.51** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  –APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL5-B**



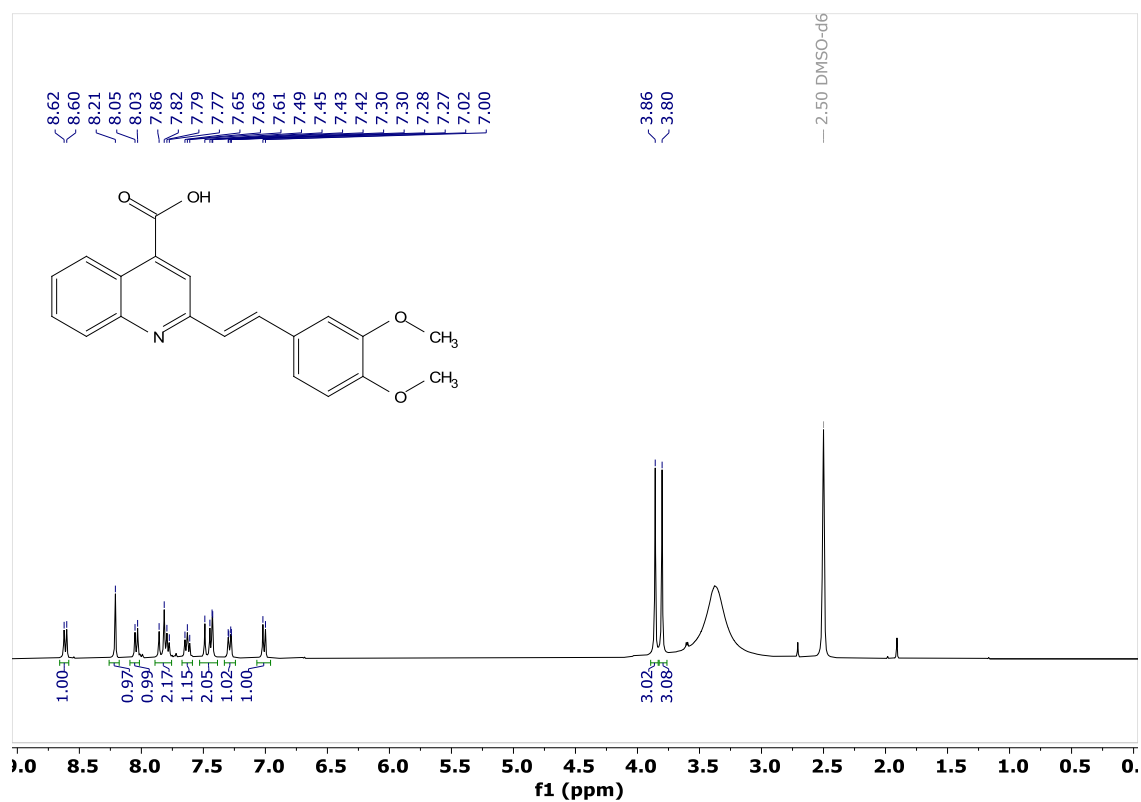
**Figura A.5275** – Espectro de IV do composto **QL5-B** realizado em pastilha de KBr



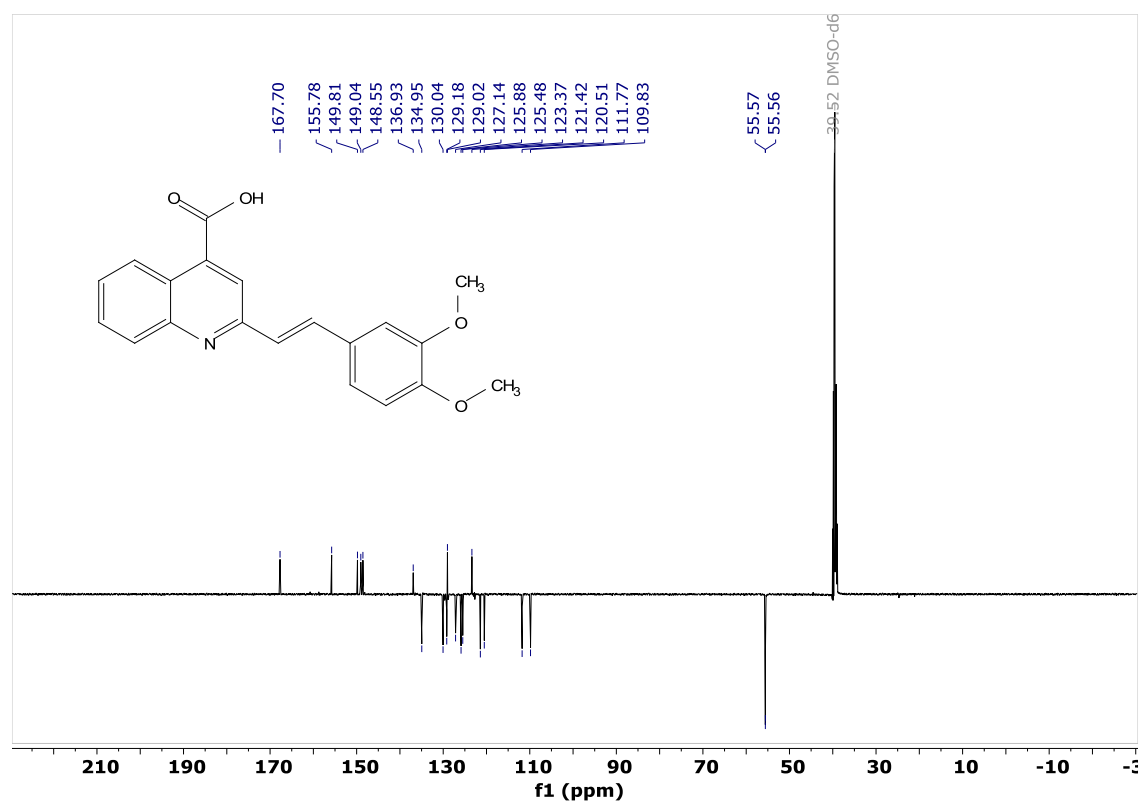
**Figura A.5376** – Espectro de massas do composto **QL5-B**



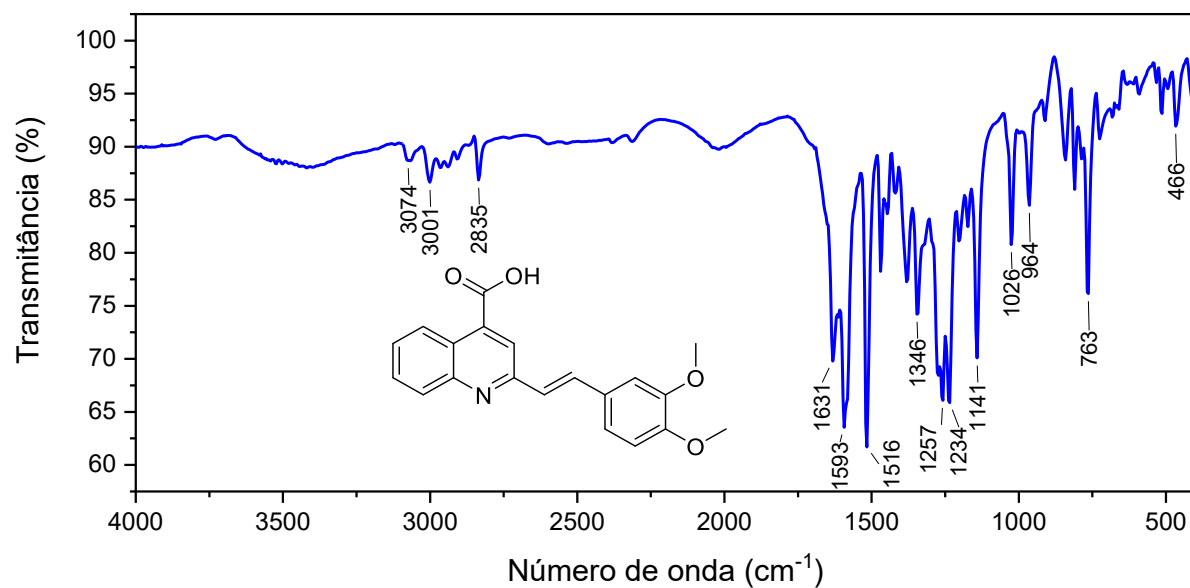
**Figura A.5477** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL6-C**



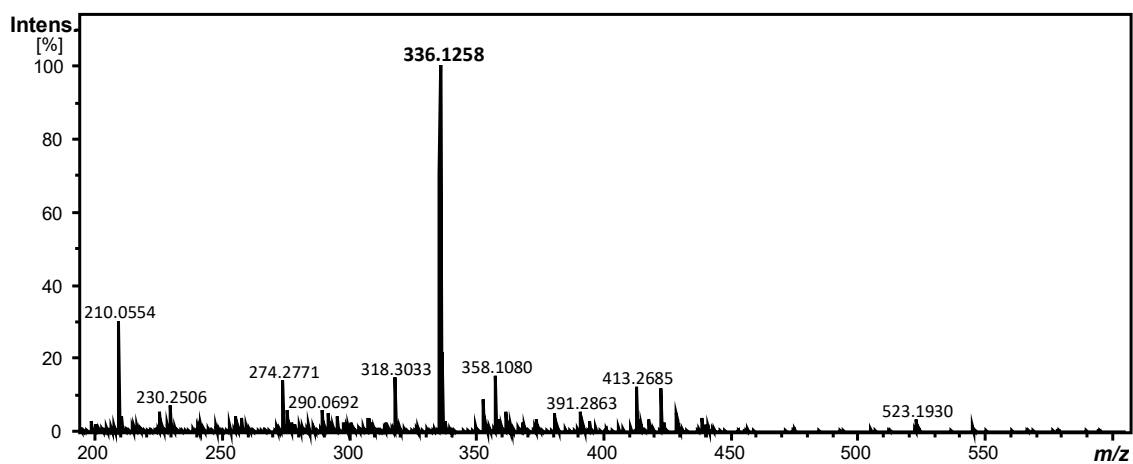
**Figura A.5578** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL6-C**



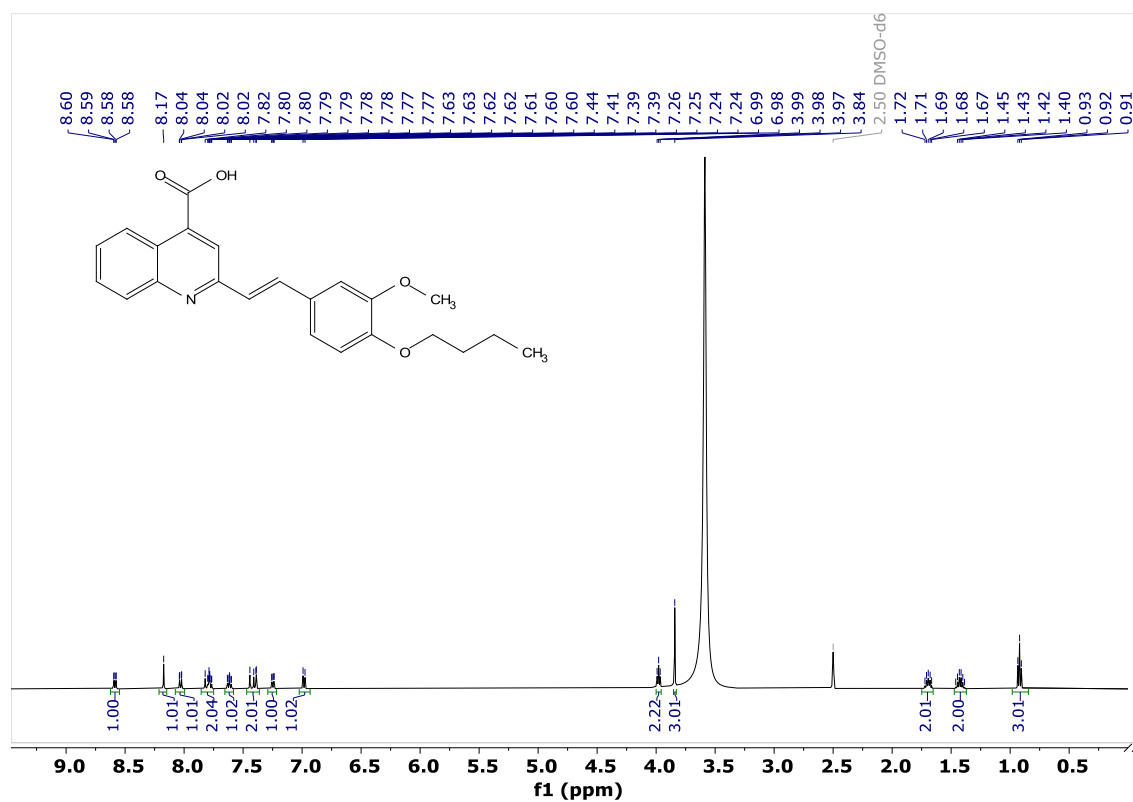
**Figura A.5679** – Espectro de IV do composto **QL6-C** realizado em pastilha de KBr



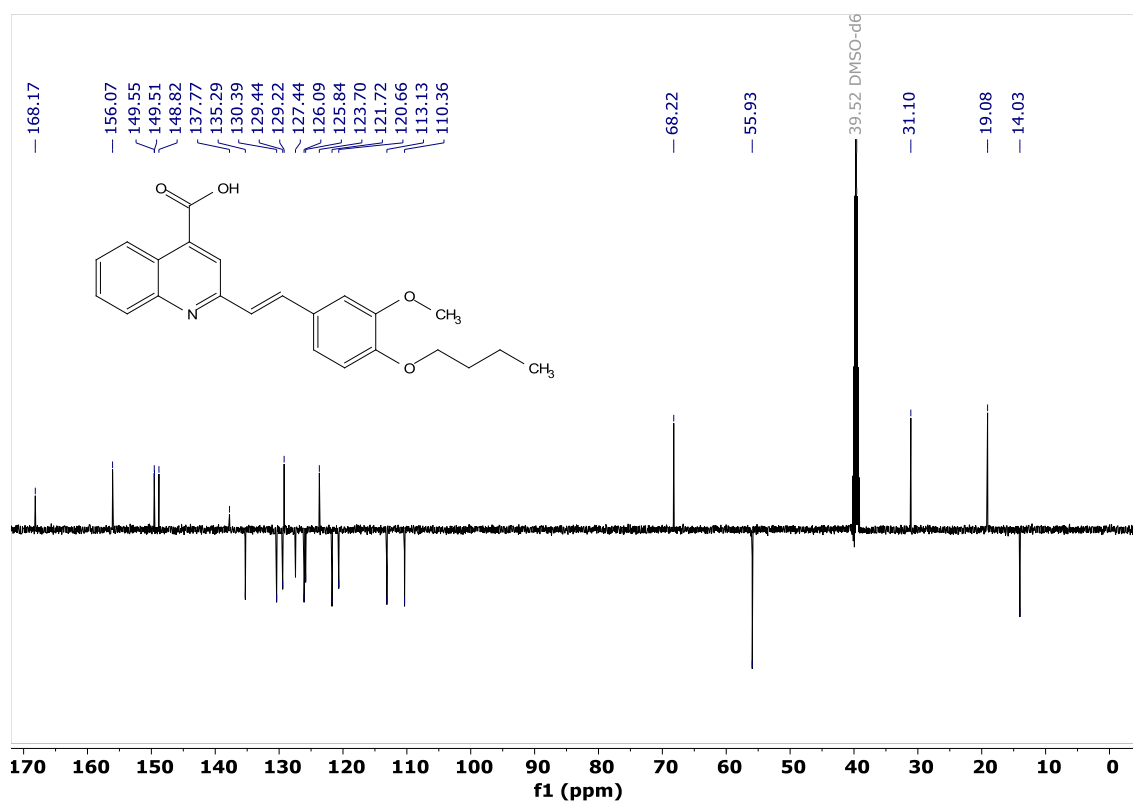
**Figura A.5780** – Espectro de massas do composto **QL6-C**



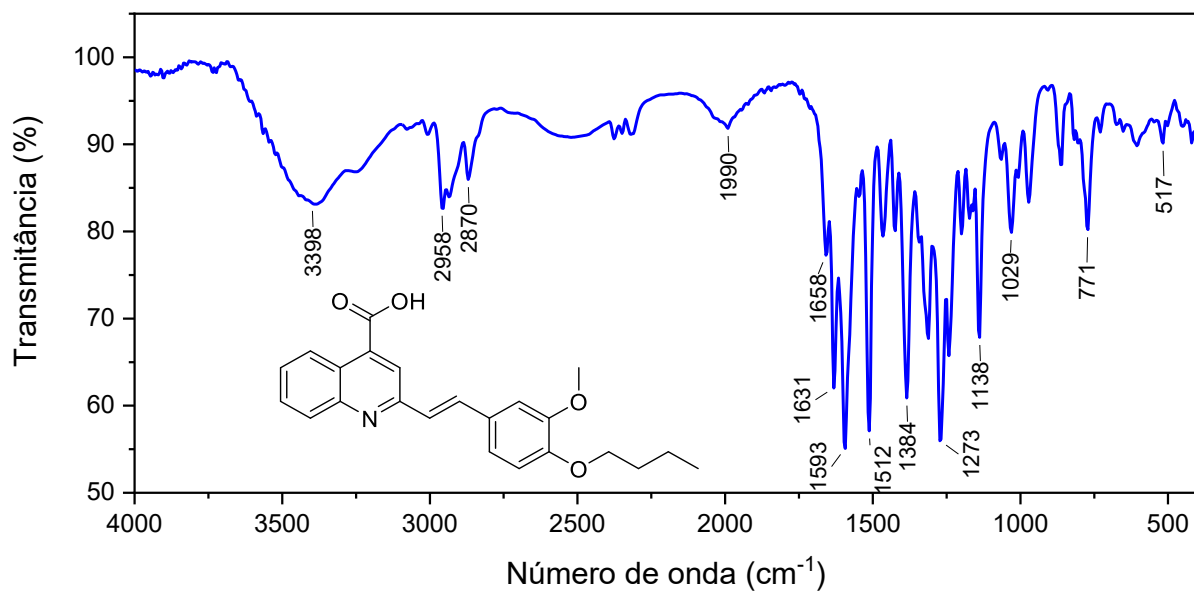
**Figura A.5881** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL7-C**



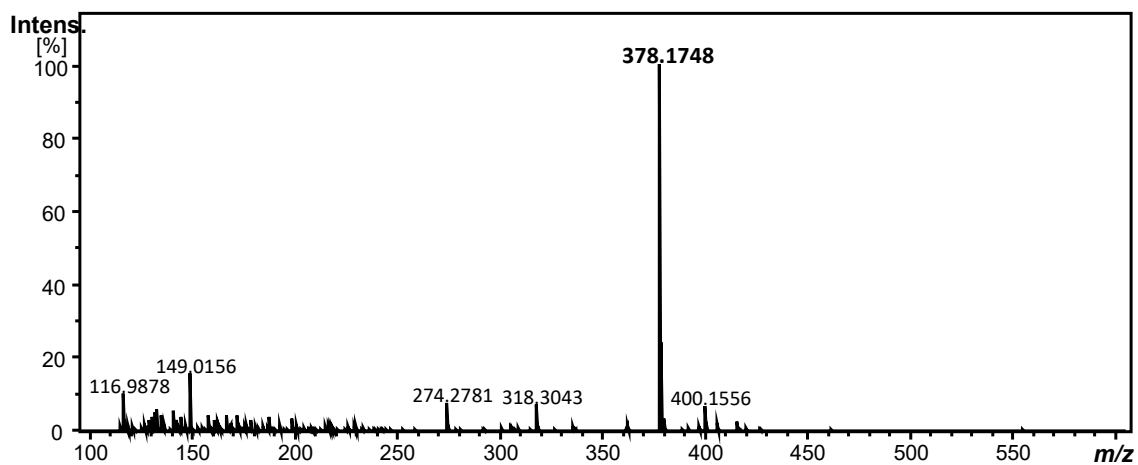
**Figura A.5982** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL7-C**



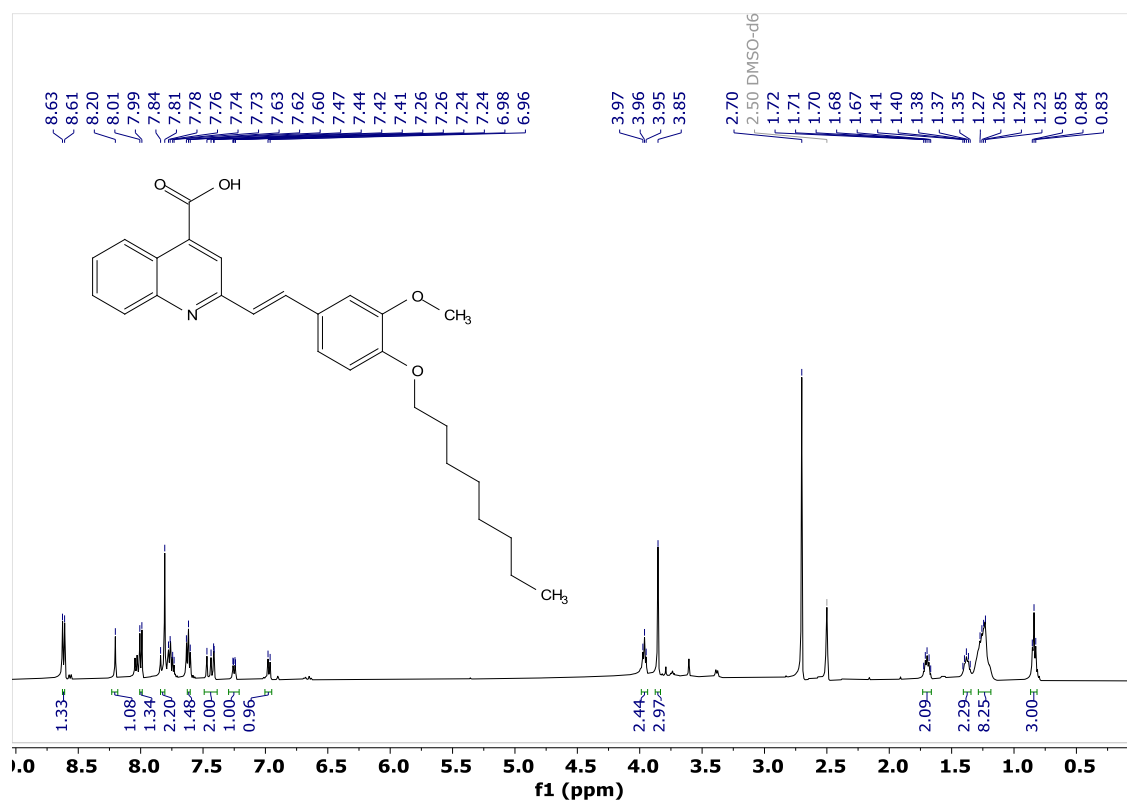
**Figura A.6083** – Espectro de IV do composto **QL7-C** realizado em pastilha de KBr



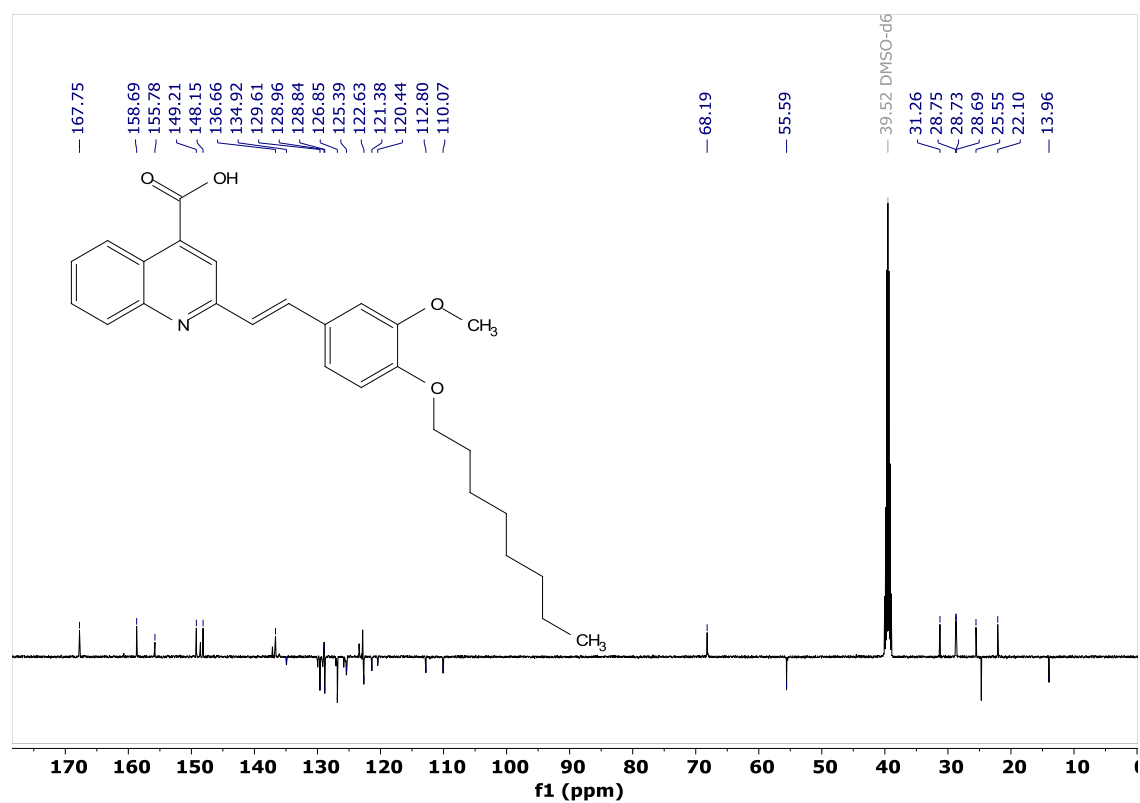
**Figura A.6184** – Espectro de massas do composto **QL7-C**



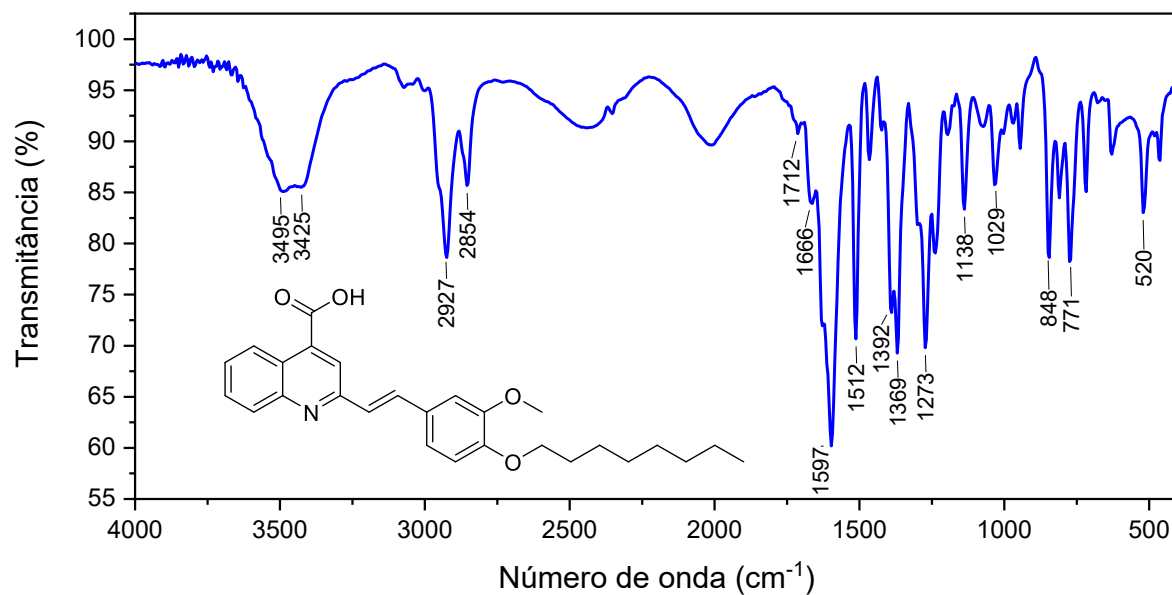
**Figura A.62** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL8-C**



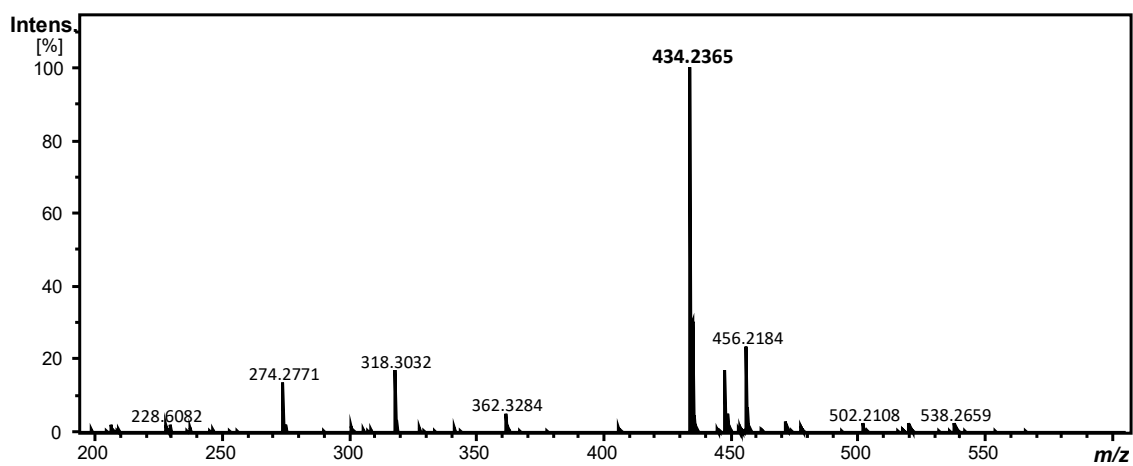
**Figura A.6385** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL8-C**



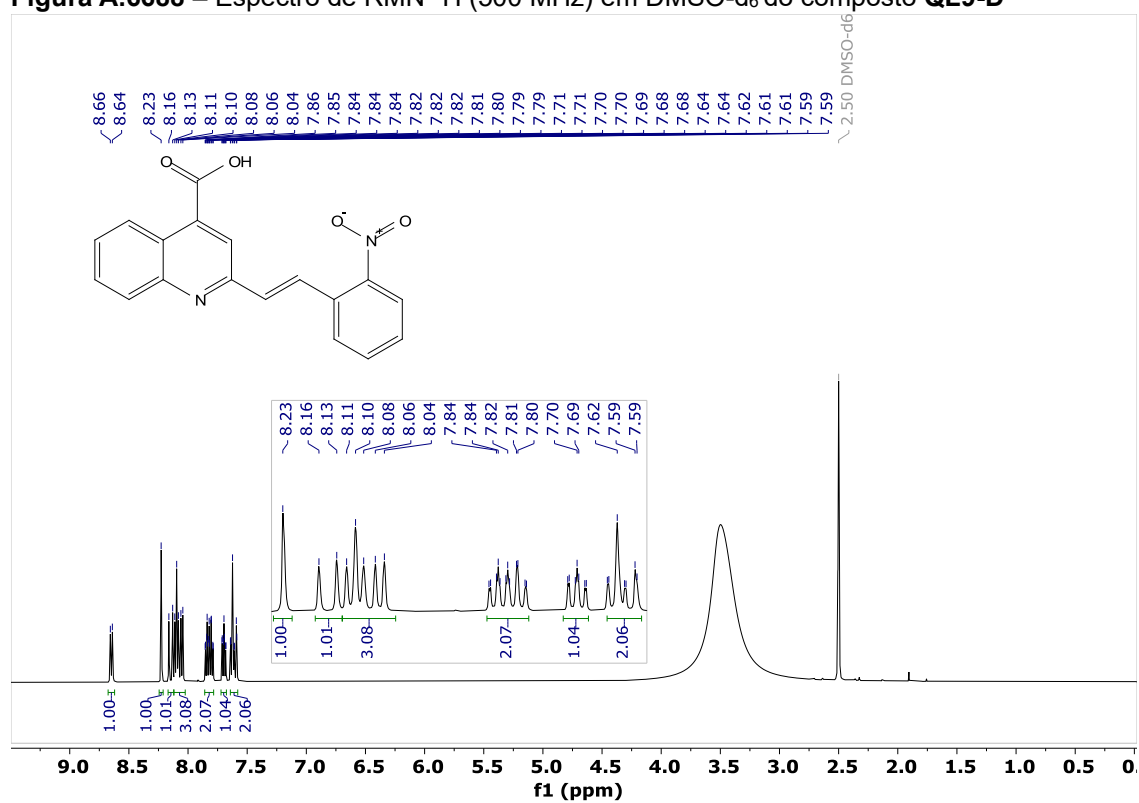
**Figura A.6486** – Espectro de IV do composto **QL8-C** realizado em pastilha de KBr



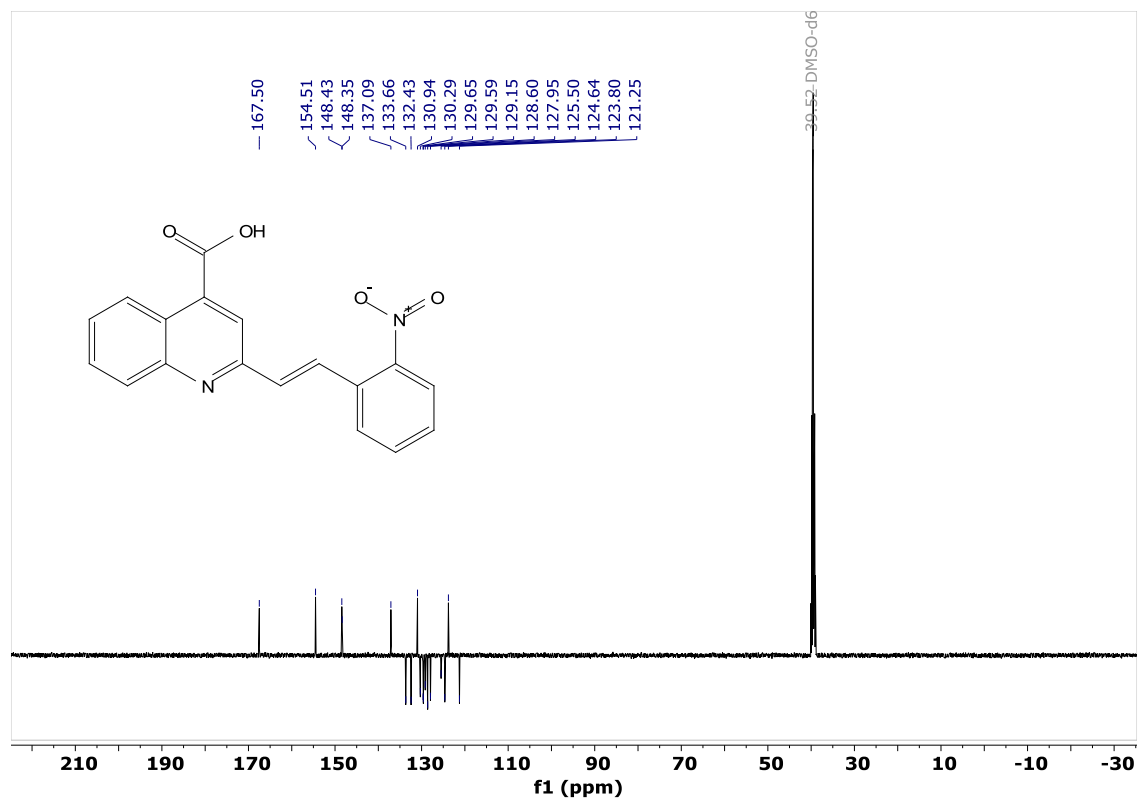
**Figura A.6587** – Espectro de massas do composto **QL8-C**



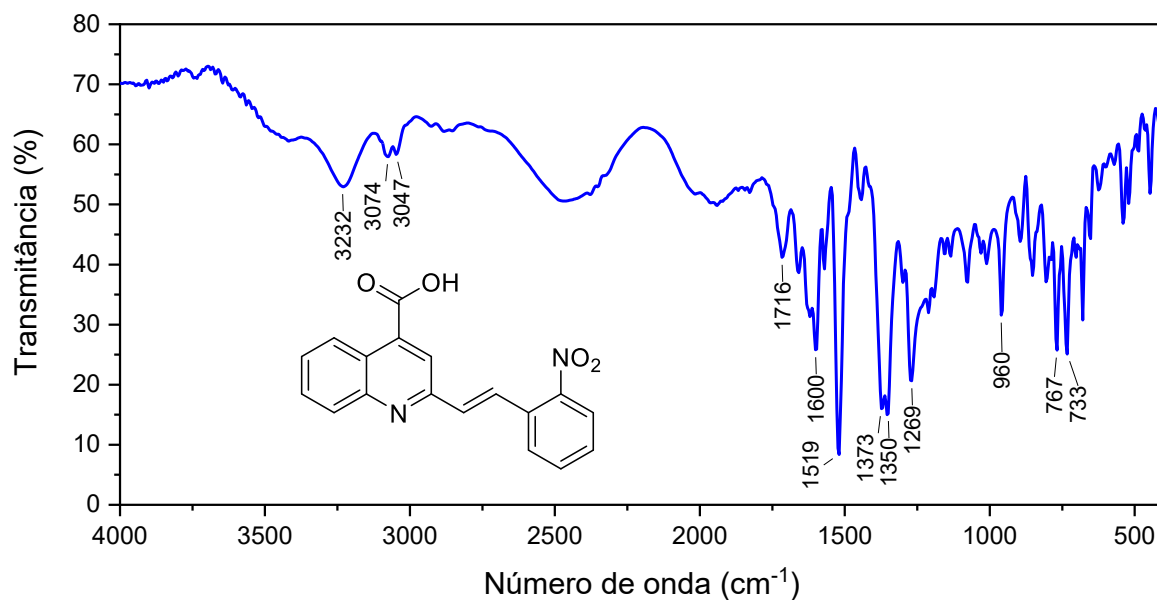
**Figura A.6688** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL9-D**



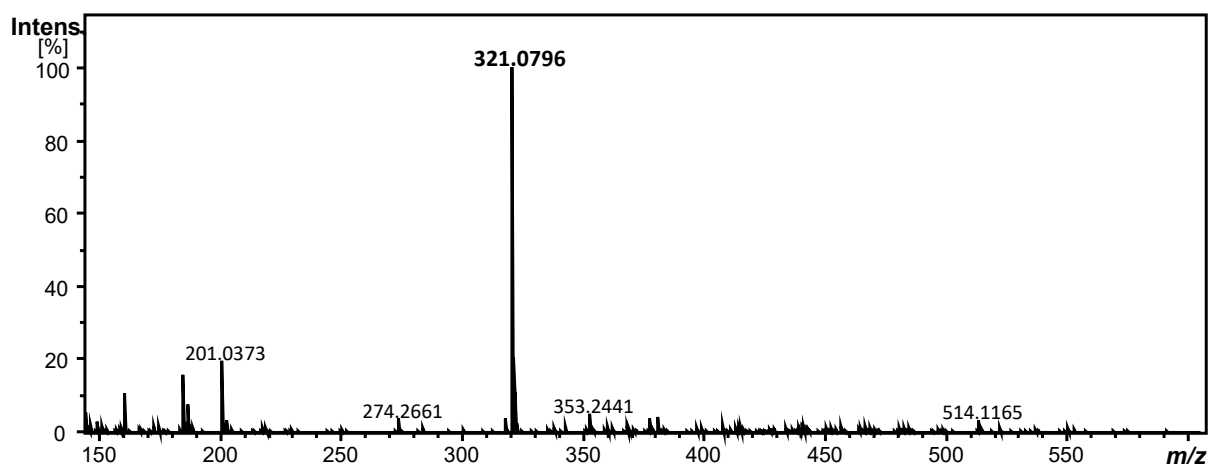
**Figura A.6789** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL9-D**



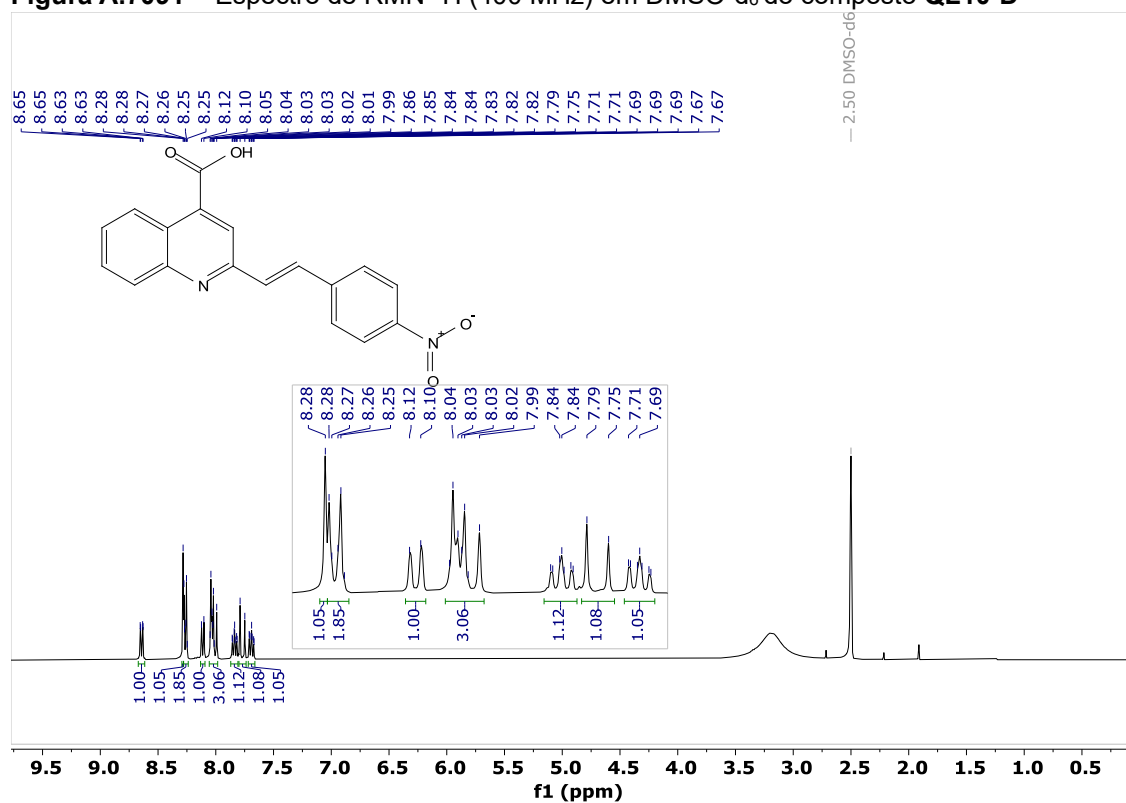
**Figura A.6890** – Espectro de IV do composto **QL9-D** realizado em pastilha de KBr



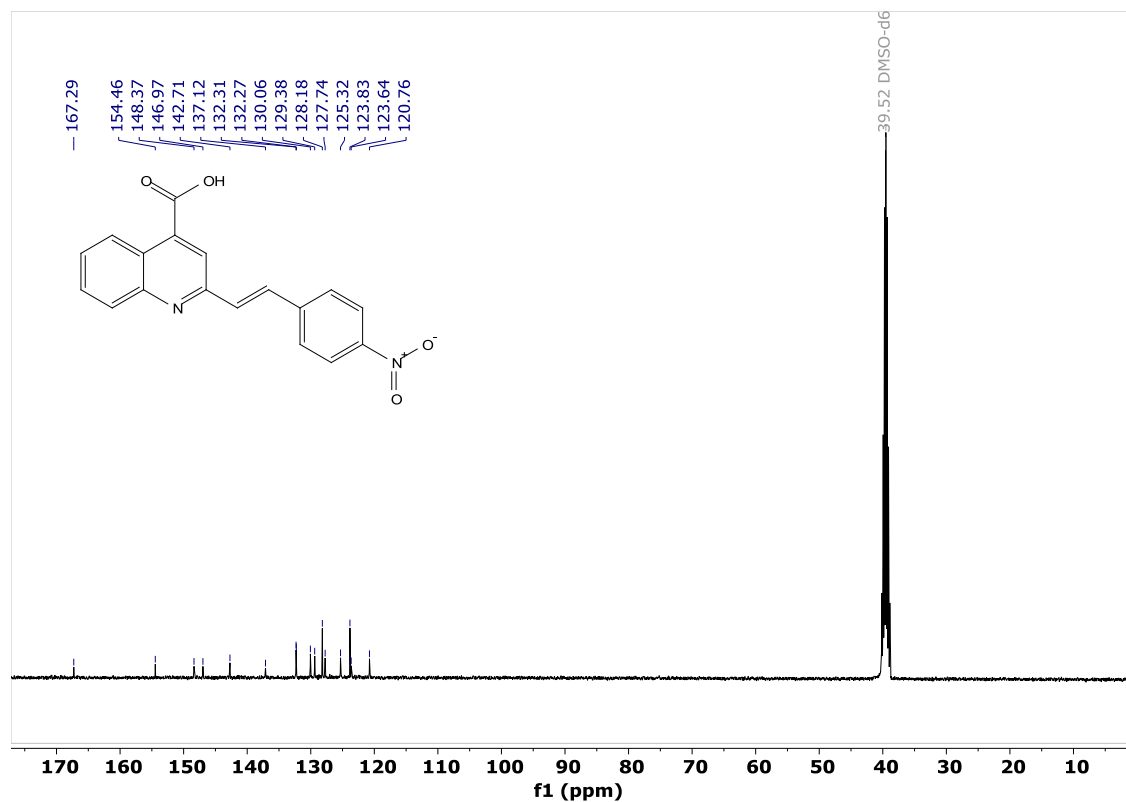
**Figura A.69** – Espectro de massas do composto **QL9-D**



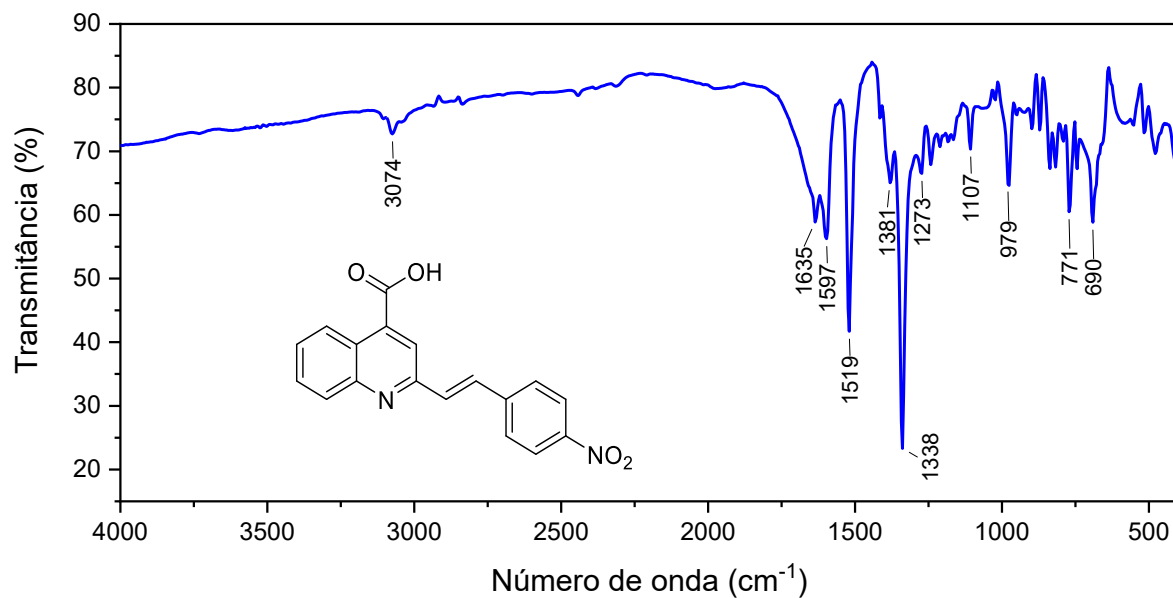
**Figura A.7091** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL10-D**



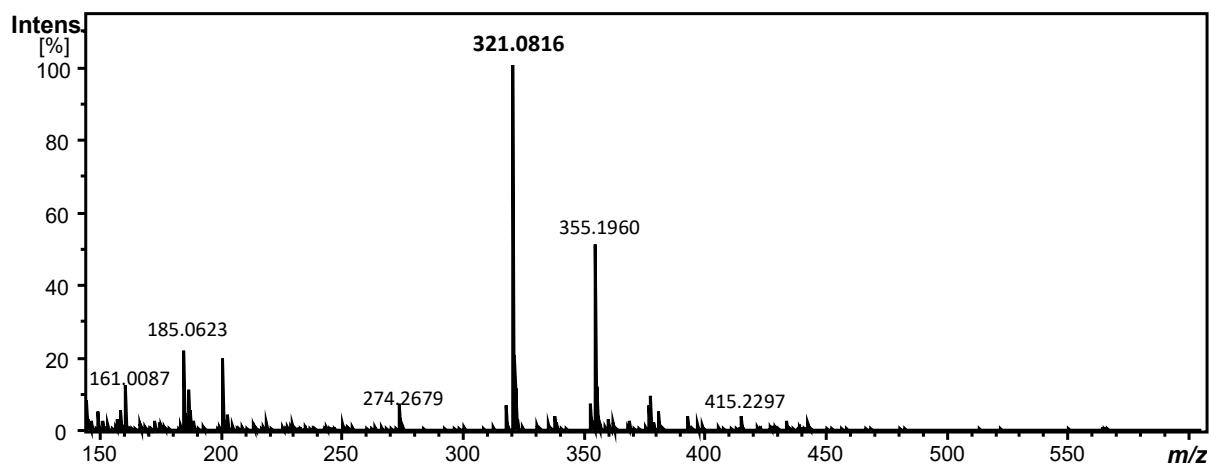
**Figura A.7192** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – BB (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **QL10-D**



**Figura A.7293** – Espectro de IV do composto **QL10-D** realizado em pastilha de KBr

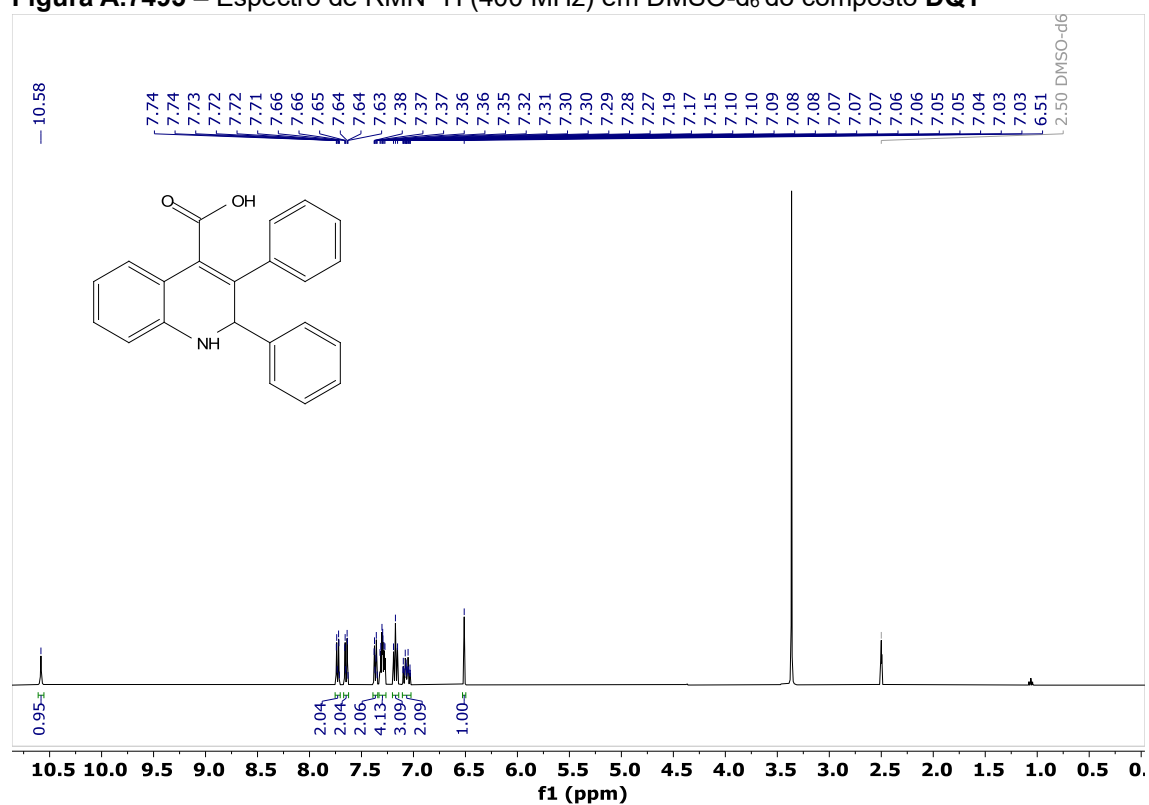


**Figura A.7394** – Espectro de massas do composto **QL10-D**

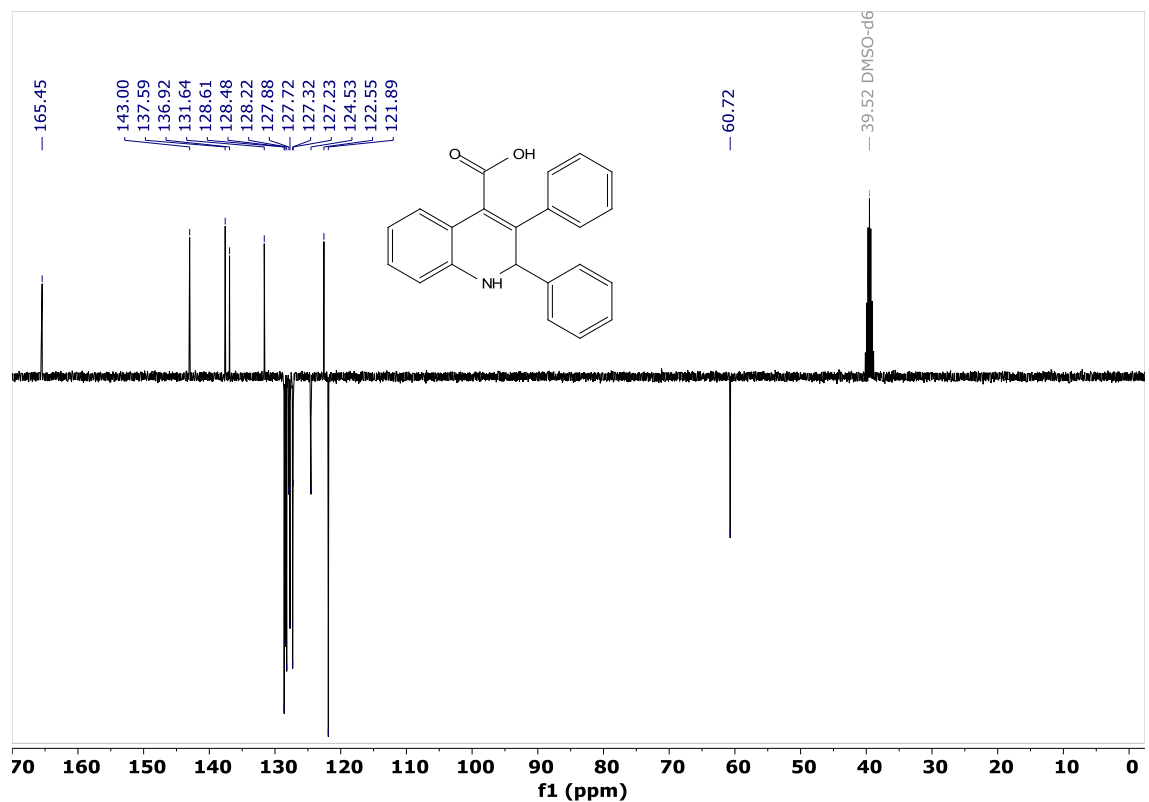


### 1.3. Di-hidroquinolinas

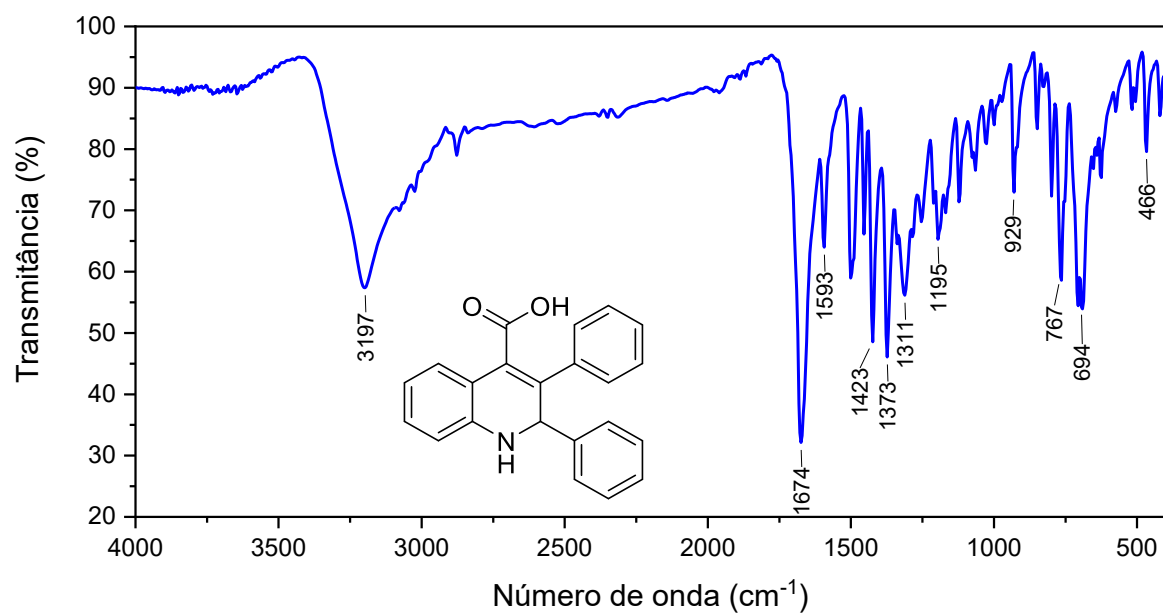
**Figura A.7495** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **DQ1**



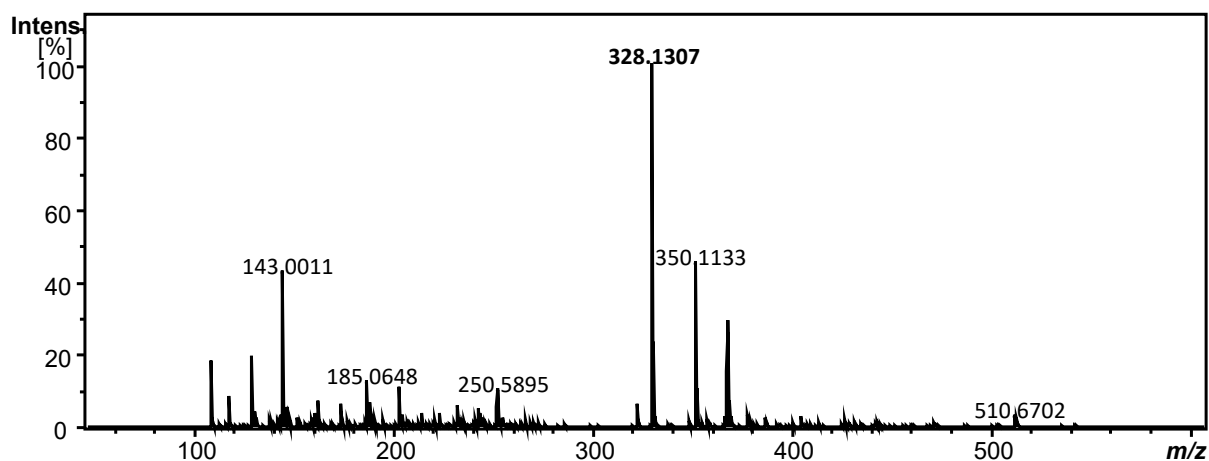
**Figura A.7596** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **DQ1**



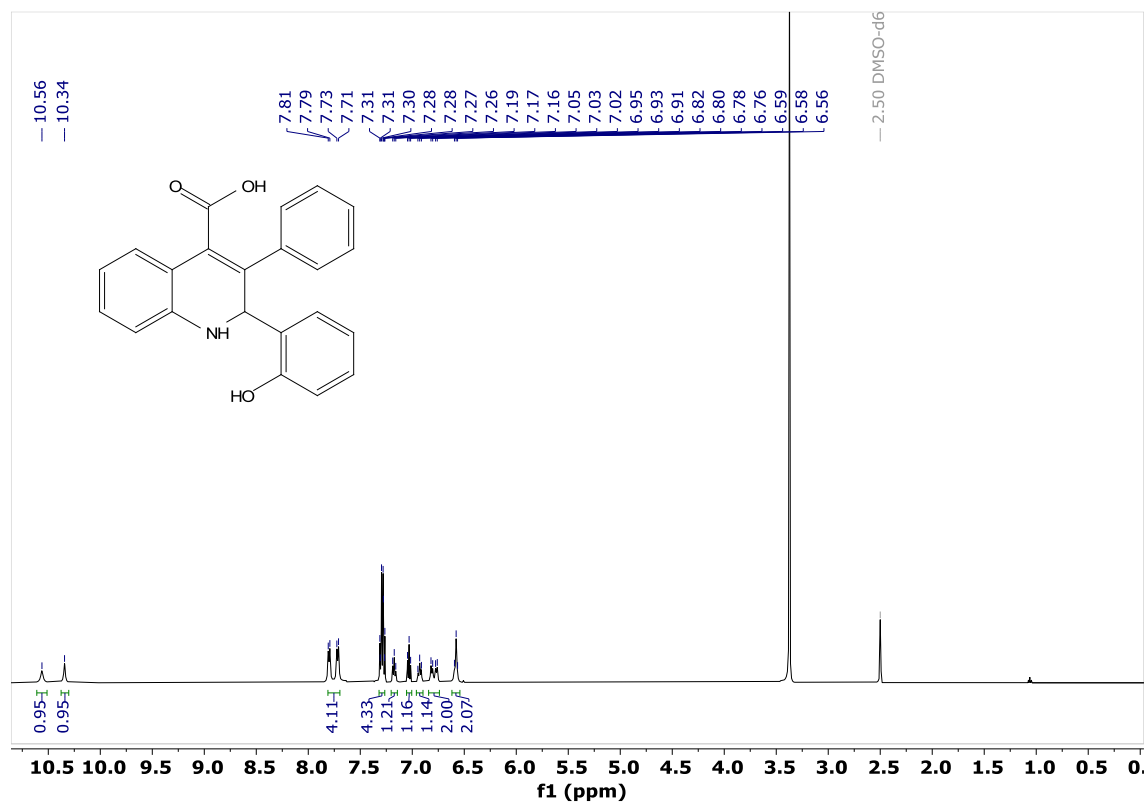
**Figura A.7697** – Espectro de IV do composto **DQ1** realizado em pastilha de KBr



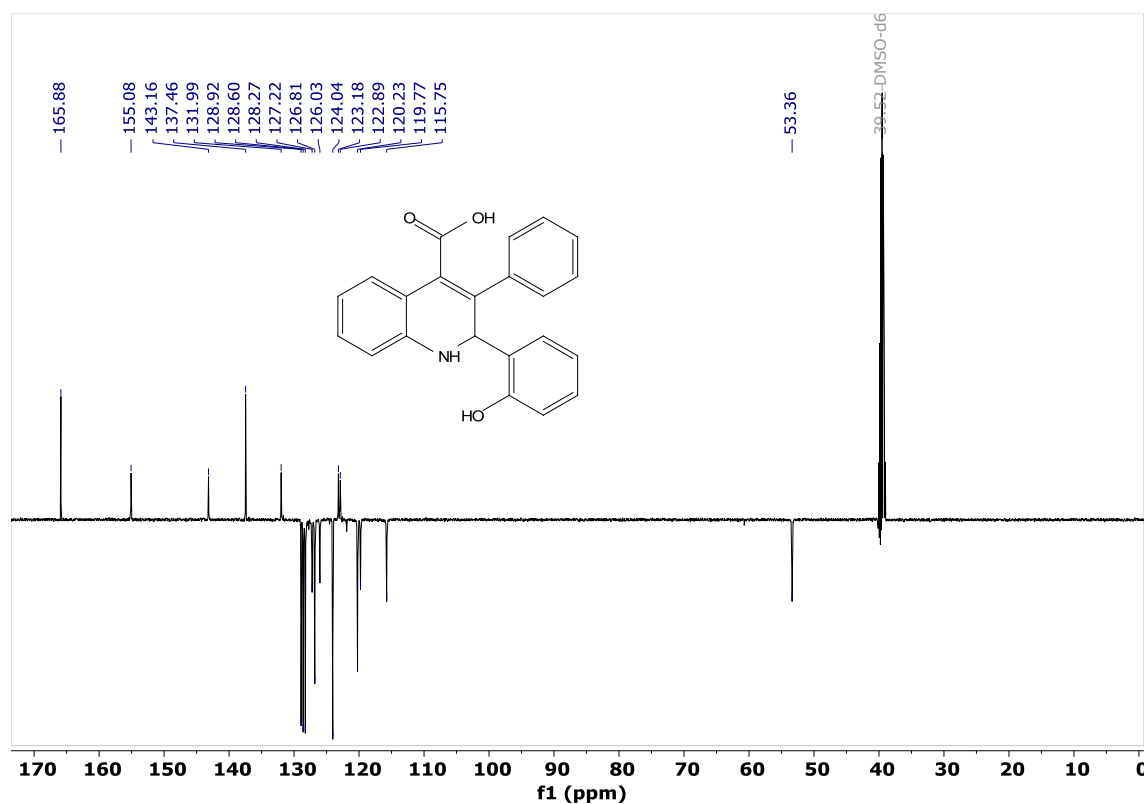
**Figura A.7798** – Espectro de massas do composto **DQ1**



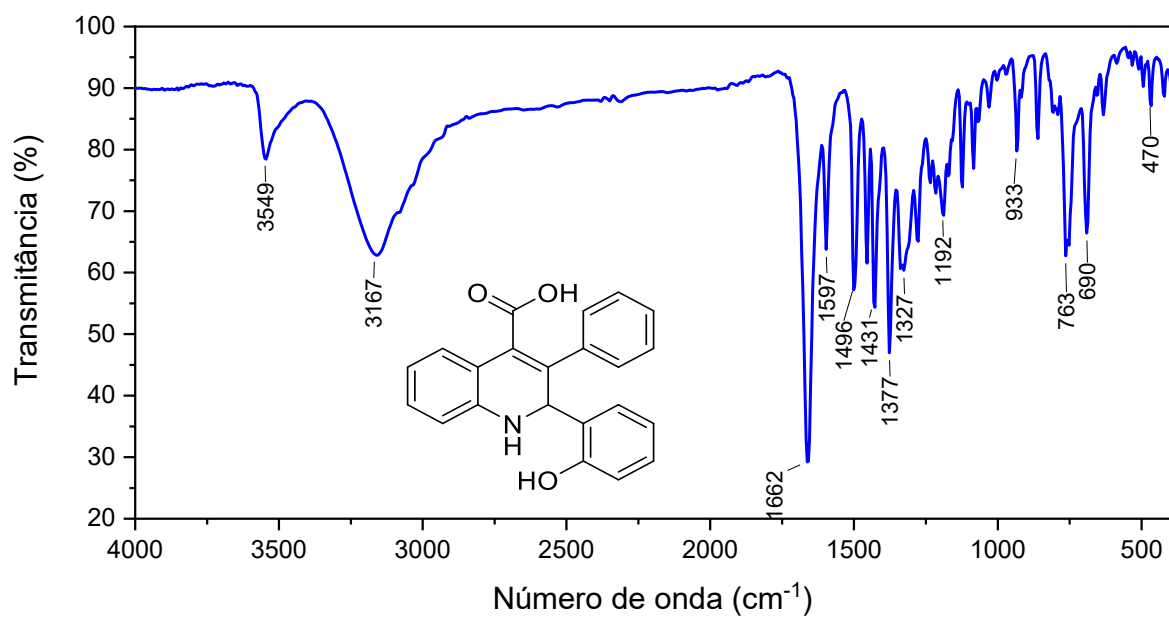
**Figura A.7899** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do composto **DQ2**



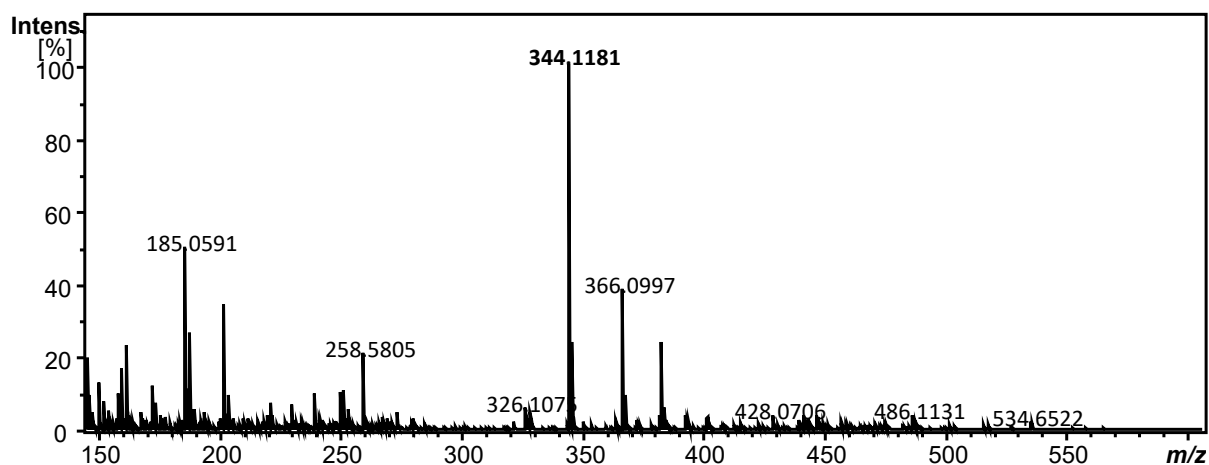
**Figura A.79** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  –APT (100 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do composto **DQ2**



**Figura A.80100** – Espectro de IV do composto **DQ2** realizado em pastilha de KBr

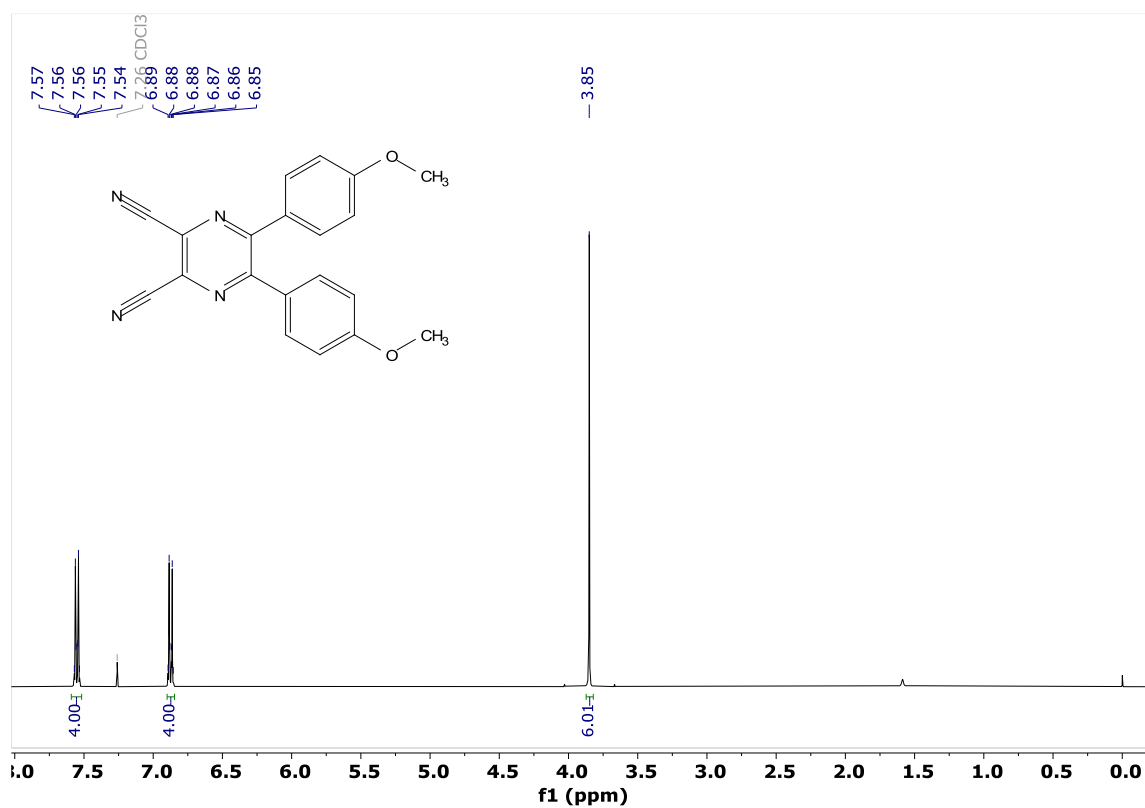


**Figura A.81101** – Espectro de massas do composto **DQ2**

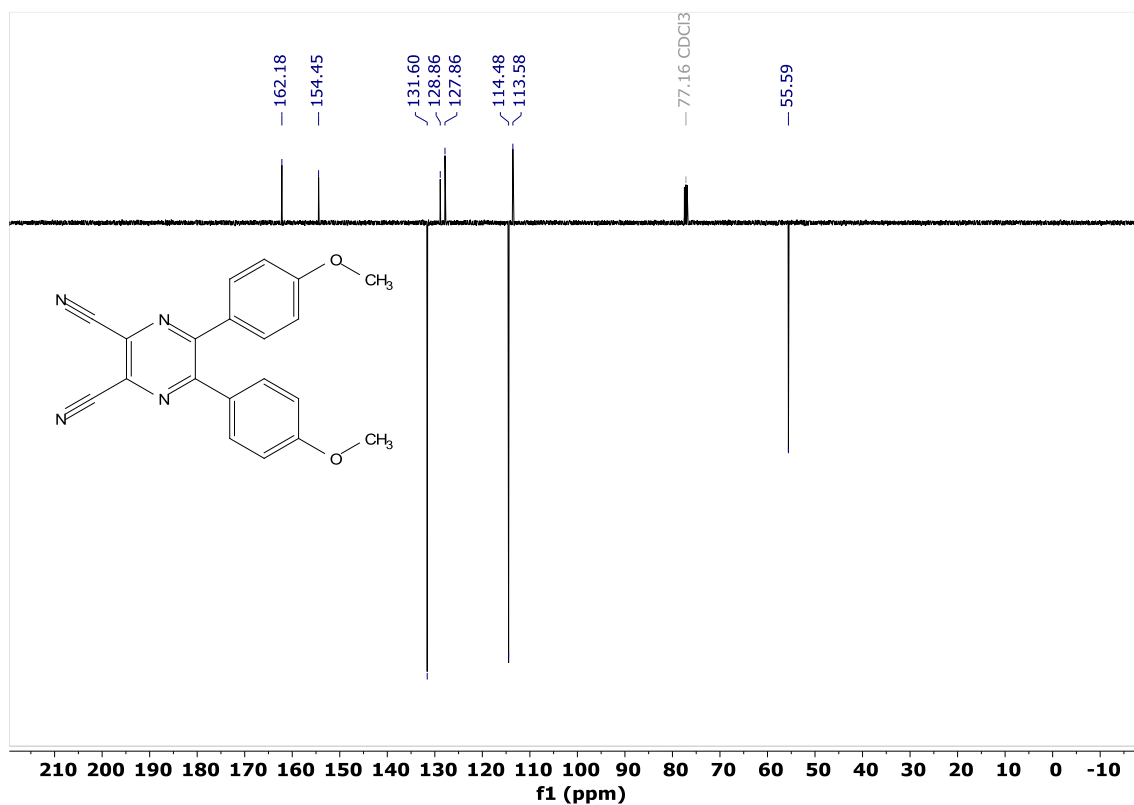


#### 1.4. Pirazinas

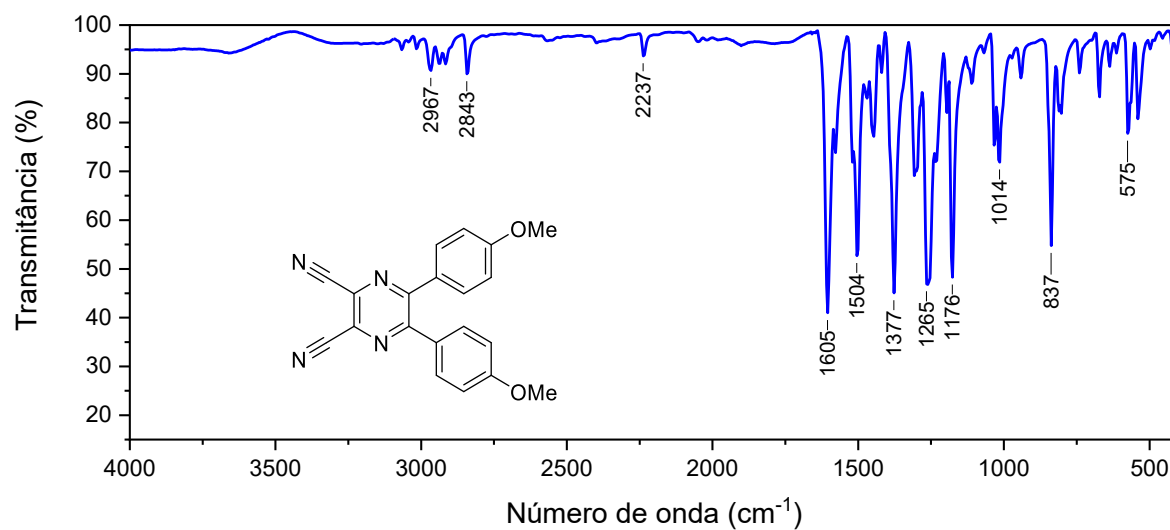
**Figura A.82** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ1**



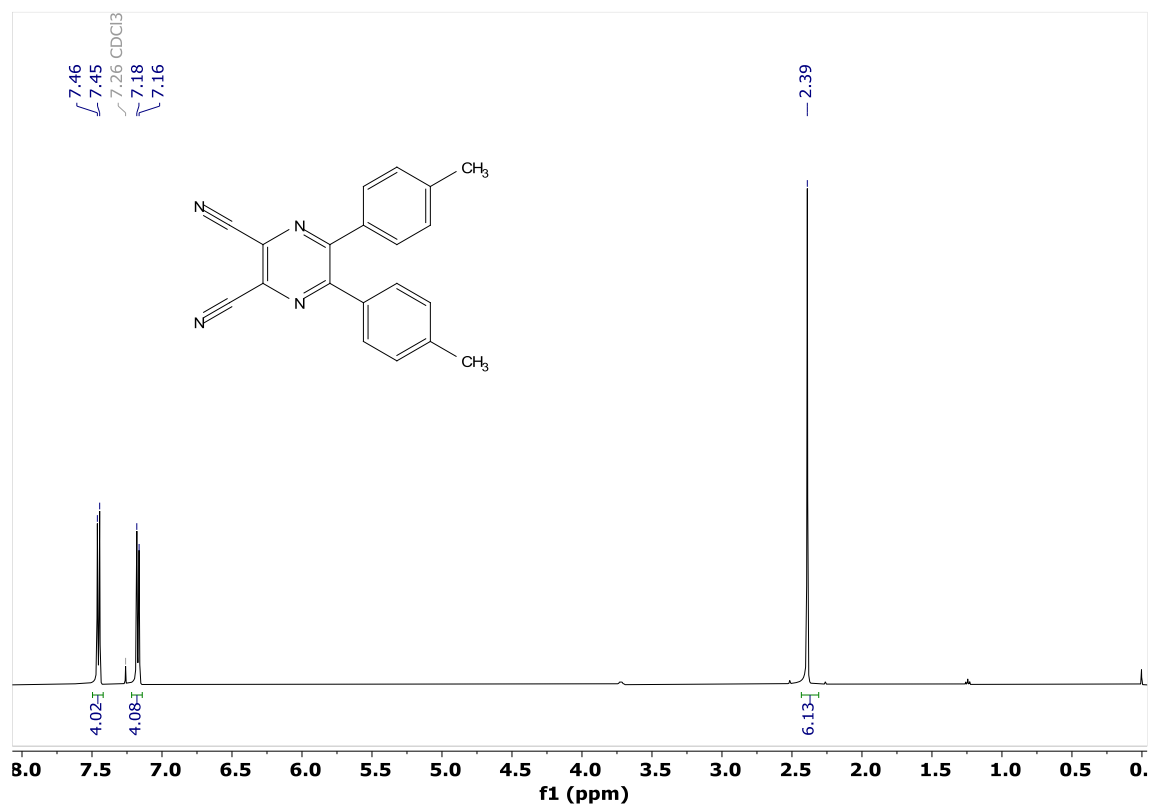
**Figura A.83102** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ1**



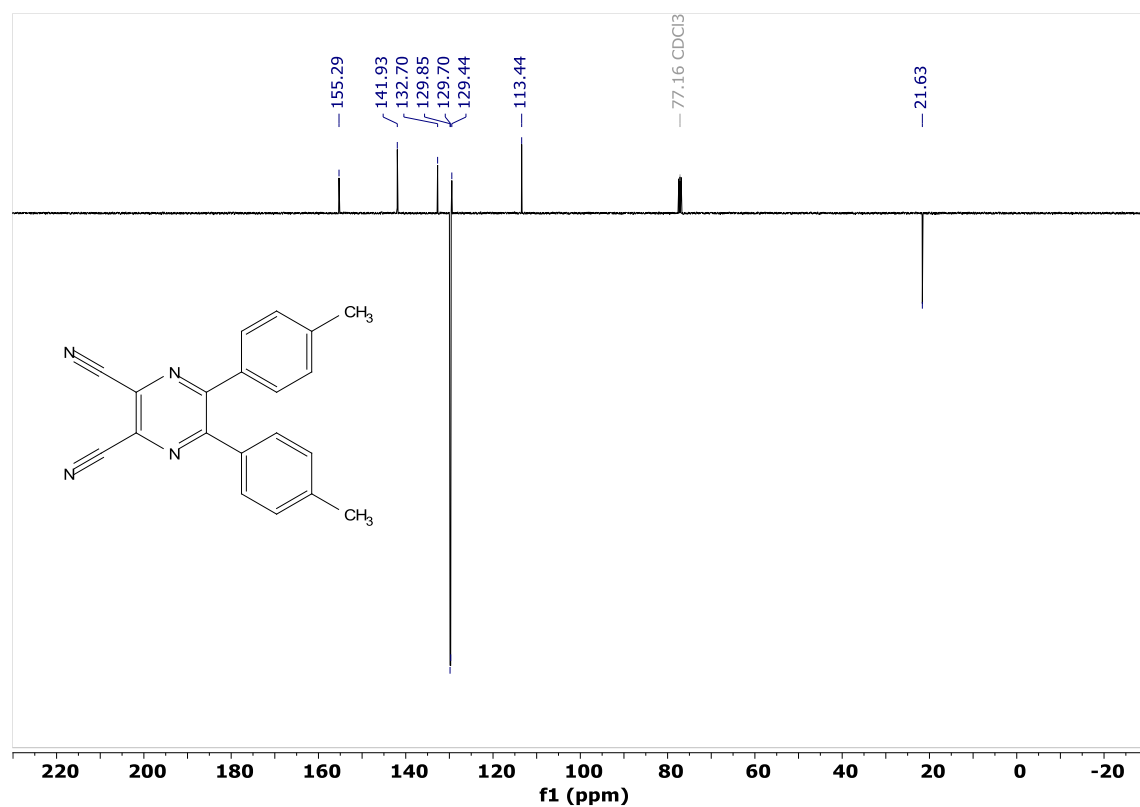
**Figura A.84103** – Espectro de IV do composto **PZ1** realizado em pastilha de KBr



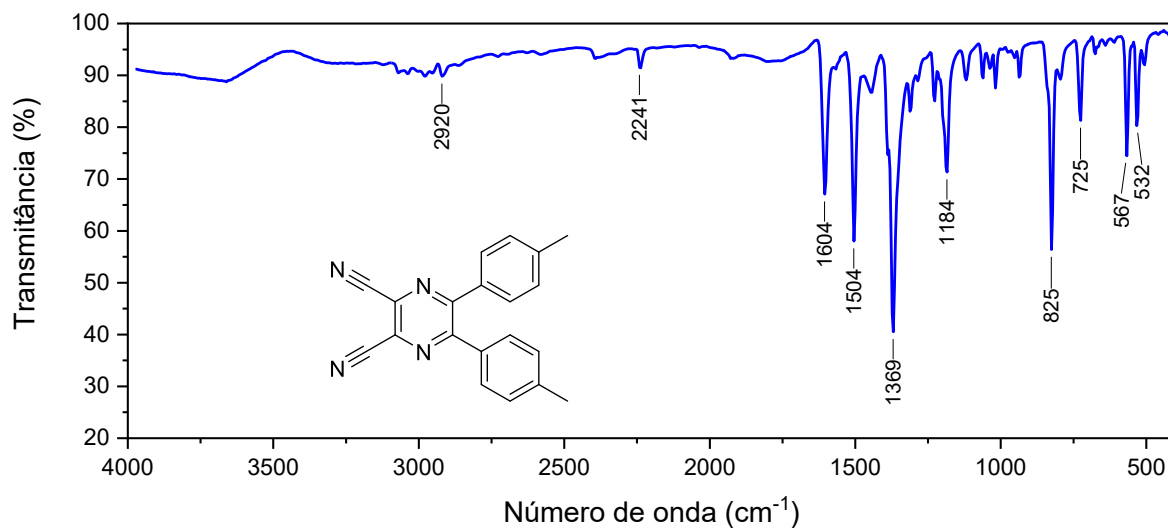
**Figura A.85104** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ2**



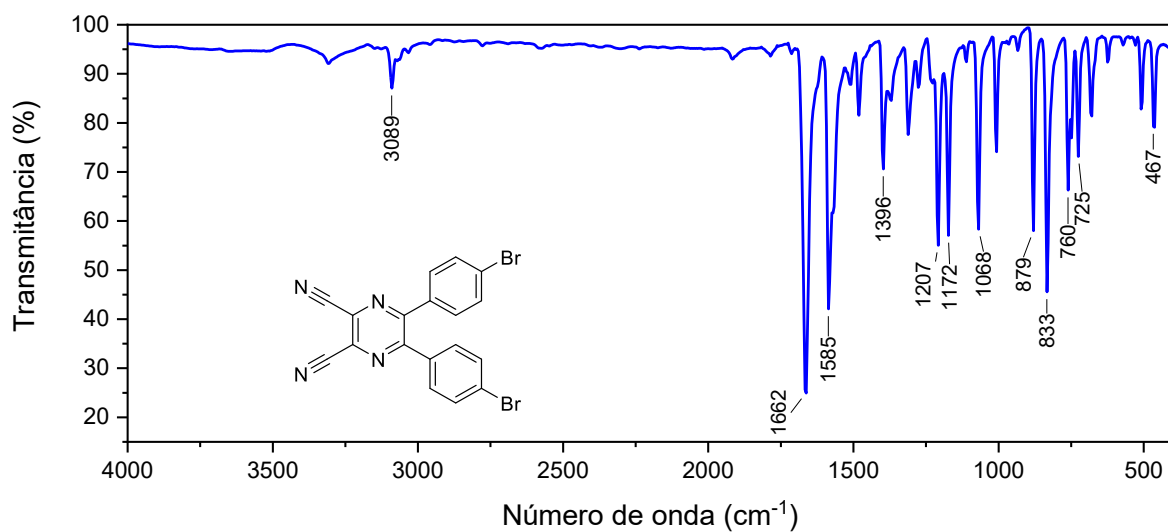
**Figura A.86105** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ2**



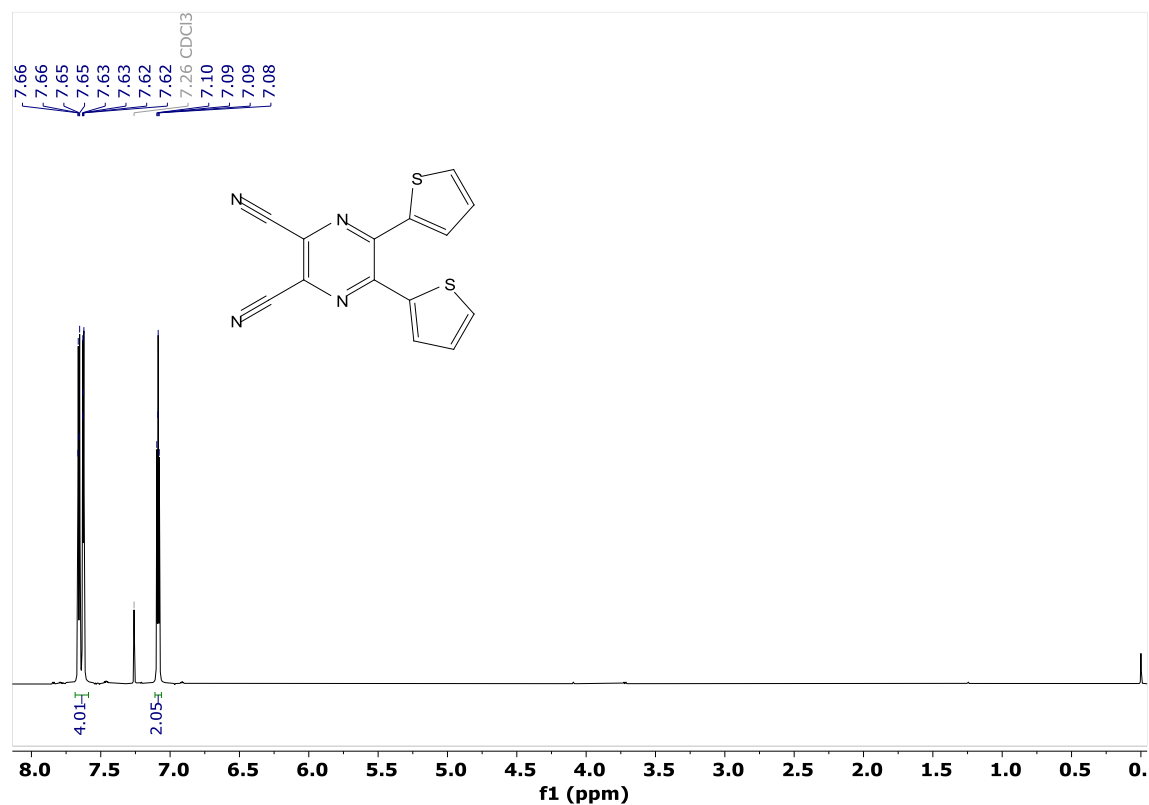
**Figura A.87106** – Espectro de IV do composto **PZ2** realizado em pastilha de KBr



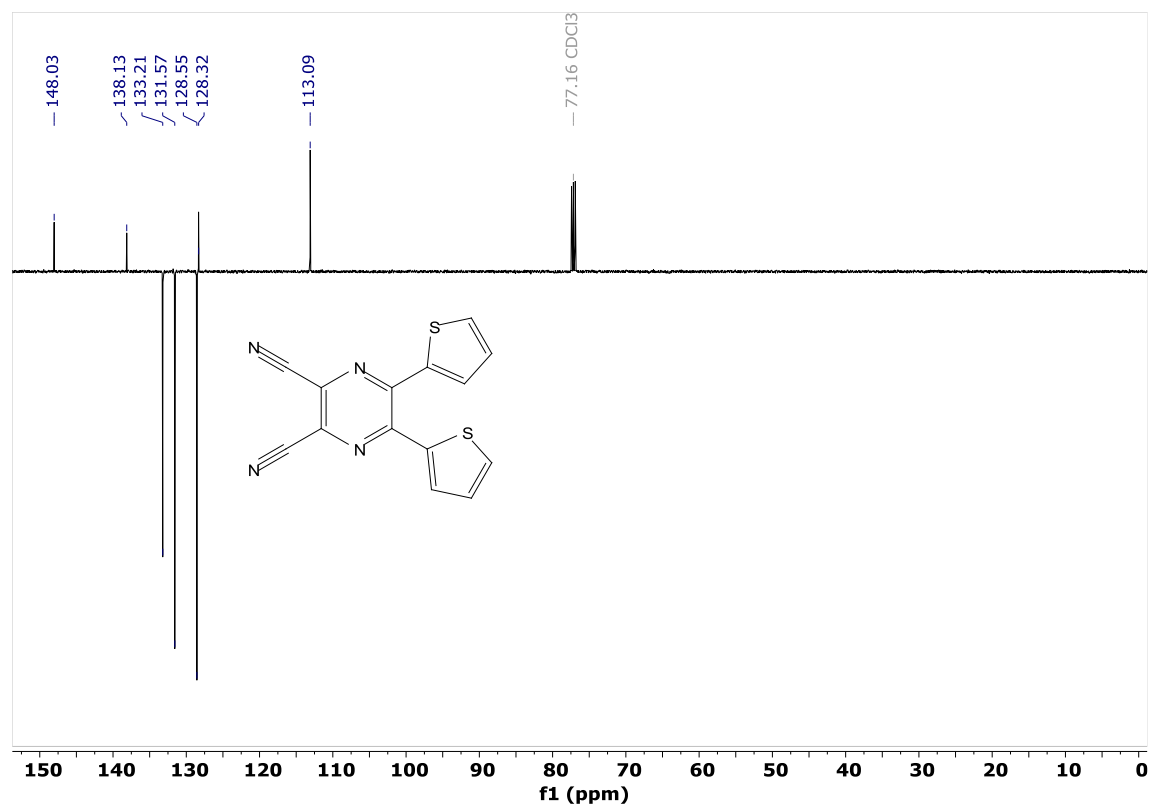
**Figura A.88107** – Espectro de IV do composto **PZ3** realizado em pastilha de KBr



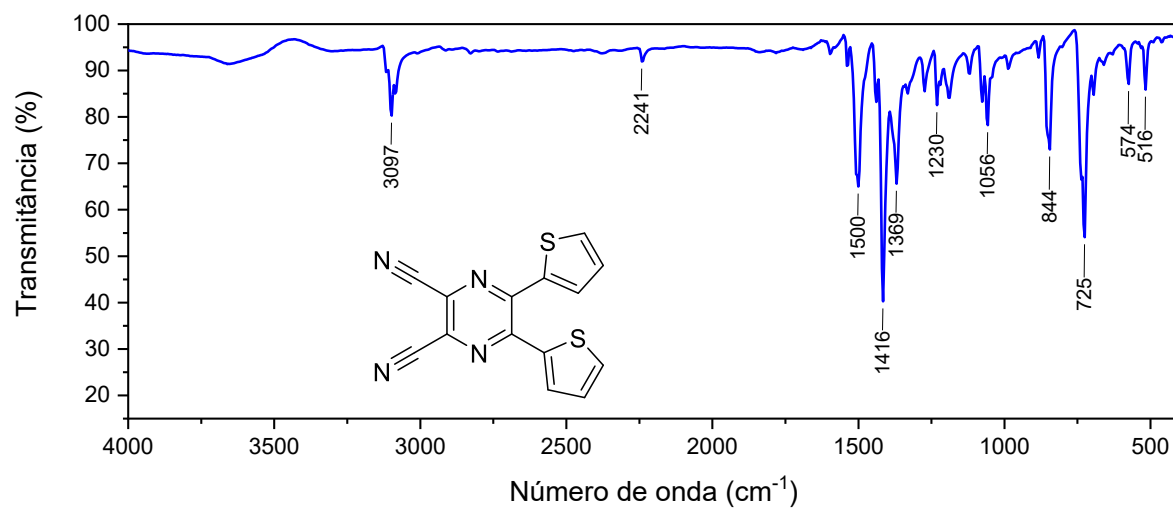
**Figura A.89108** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ4**



**Figura A.90109** – Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (100 MHz) em  $\text{CDCl}_3$  do composto **PZ4**



**Figura A.91110** – Espectro de IV do composto **PZ4** realizado em pastilha de KBr



## 2. Propriedades ópticas

### 2.1. Quinoxalinas

Figura A.92111 – Espectros de UV-vis de QX1, QX2, QX3 e QX4

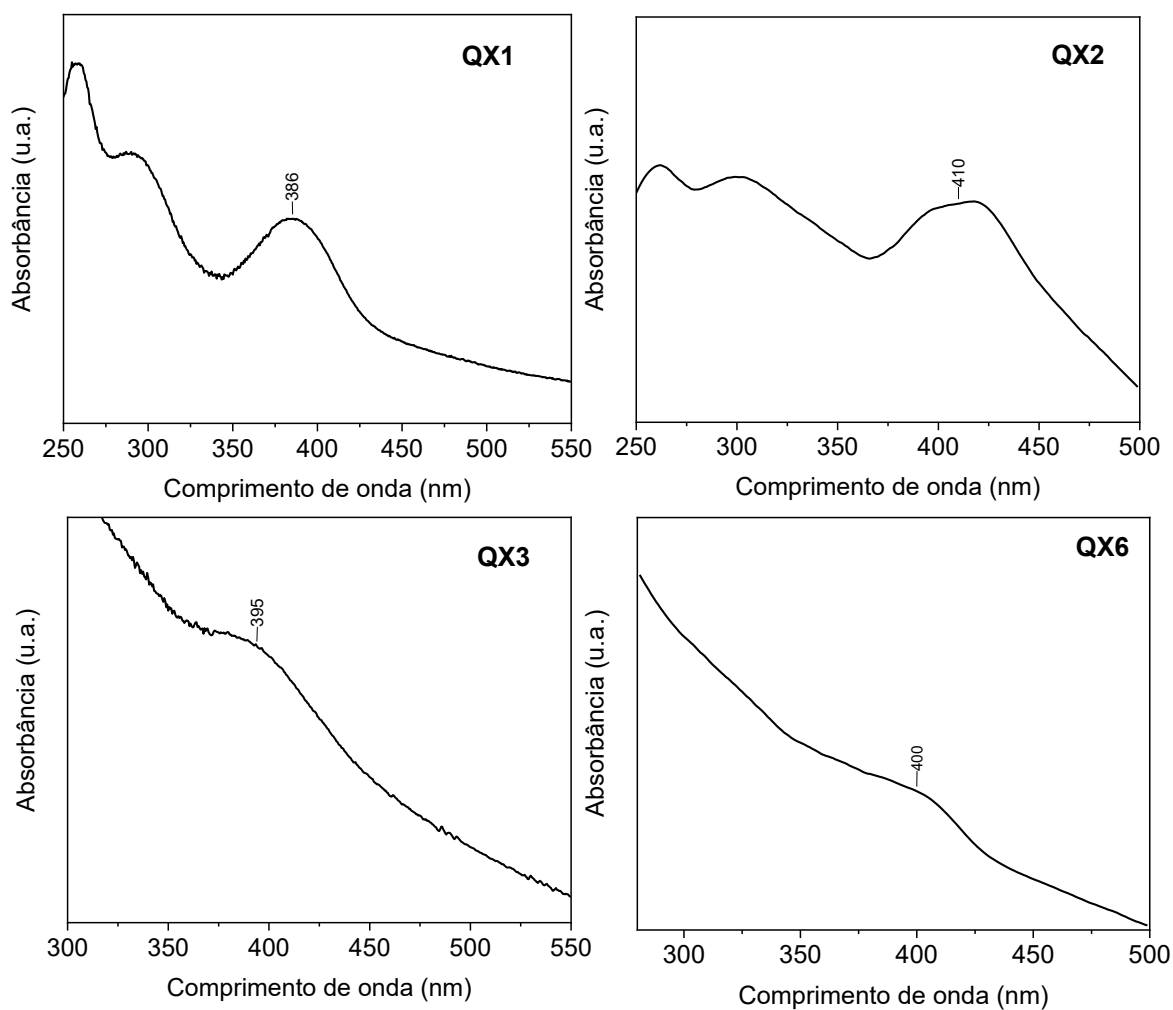
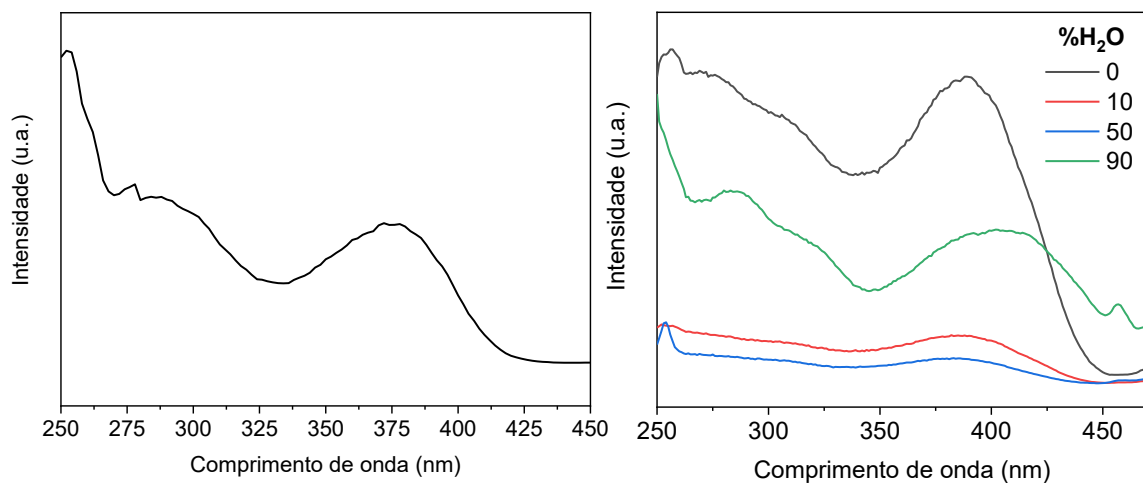


Figura A.93 – Fotografia das soluções de QX6 em diferentes solventes sob lâmpada UV (365 nm)



**Figura A.94** – Espectros de excitação do composto **QX1** em MeCN (esquerdo) e do composto **QX3** em algumas misturas de THF/água (direito)



**Figura A.95** – Espectros de UV-vis (a) e fluorescência (b) do composto **QX1** em soluções de THF/água; (c): fotografia das soluções sob lâmpada UV (360 nm)

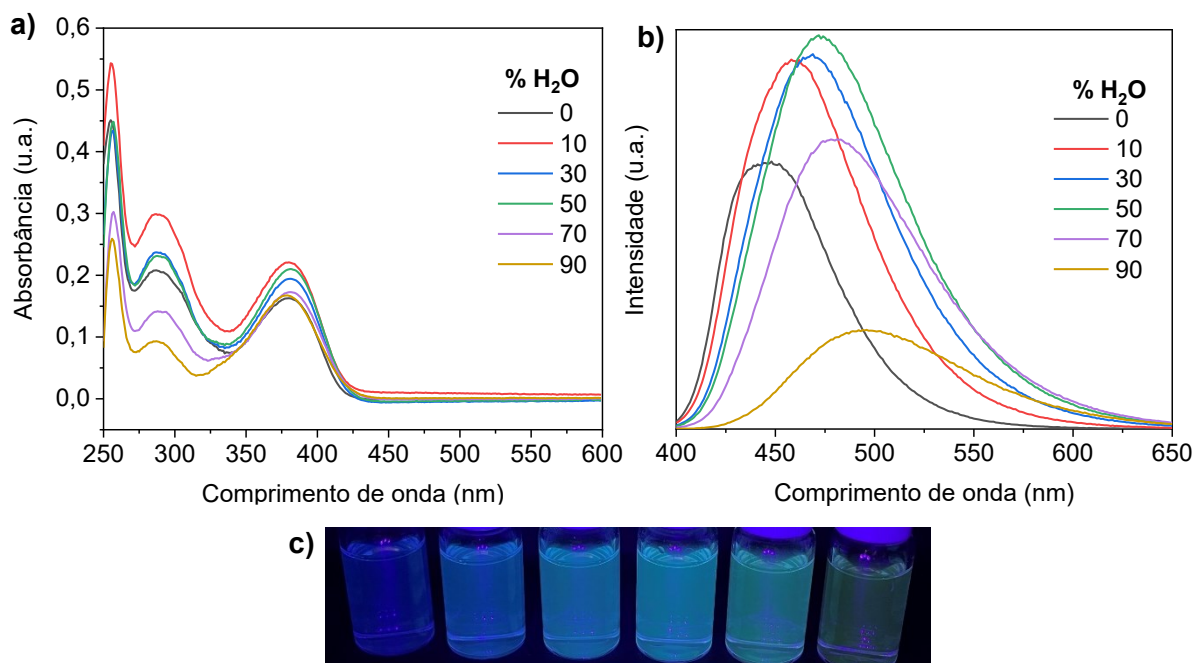


Figura A.96 – Rendimento quântico absoluto de QX1 na forma de pó amoro

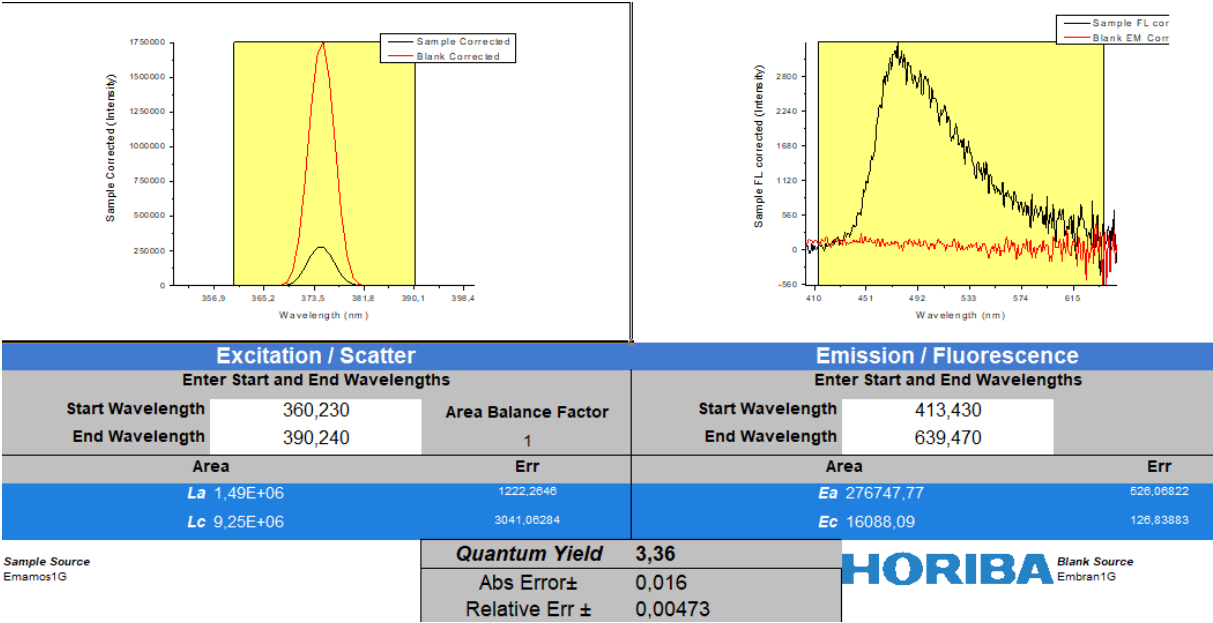


Figura A.97112 – Rendimento quântico absoluto do filme fino de QX1

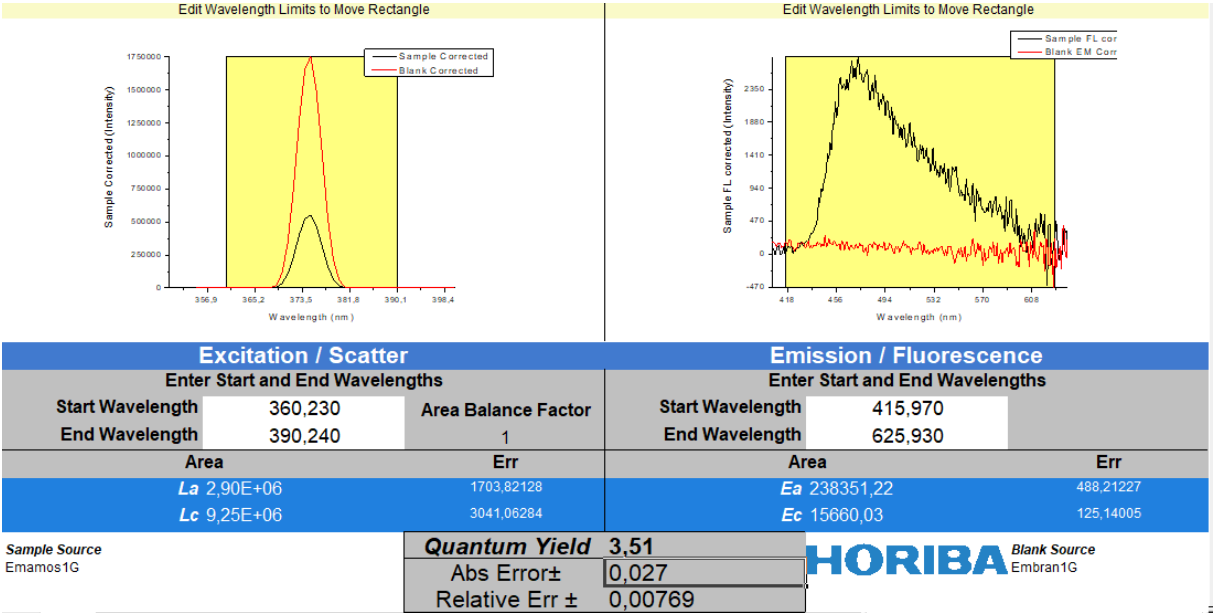


Figura A.98113 – Rendimento quântico absoluto de QX3 na forma de pó amorfo

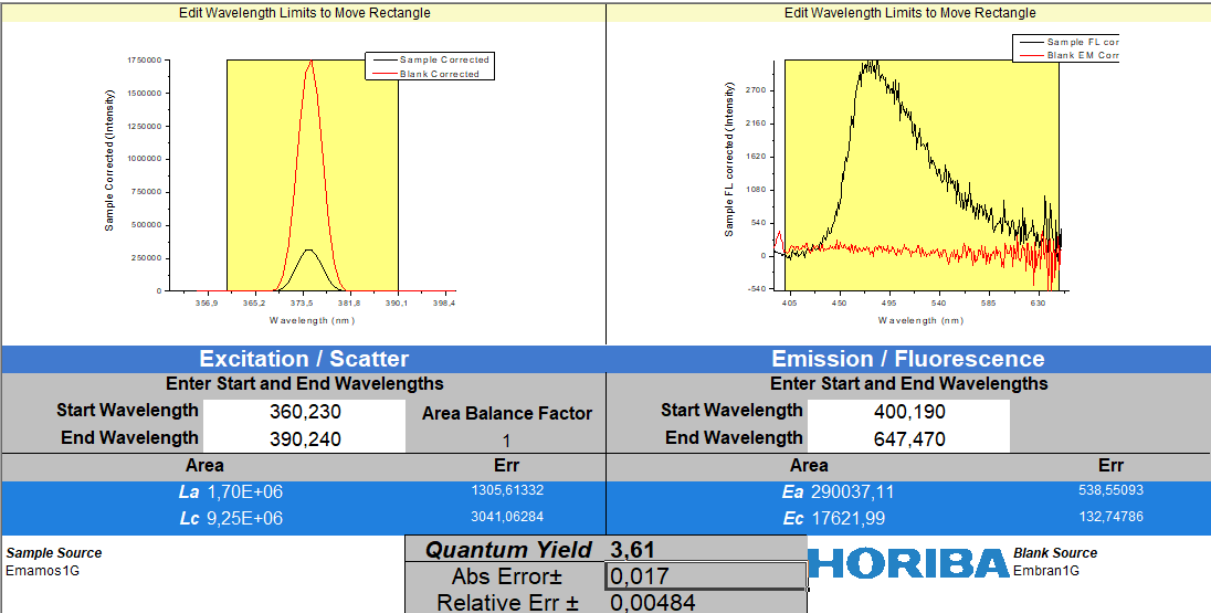
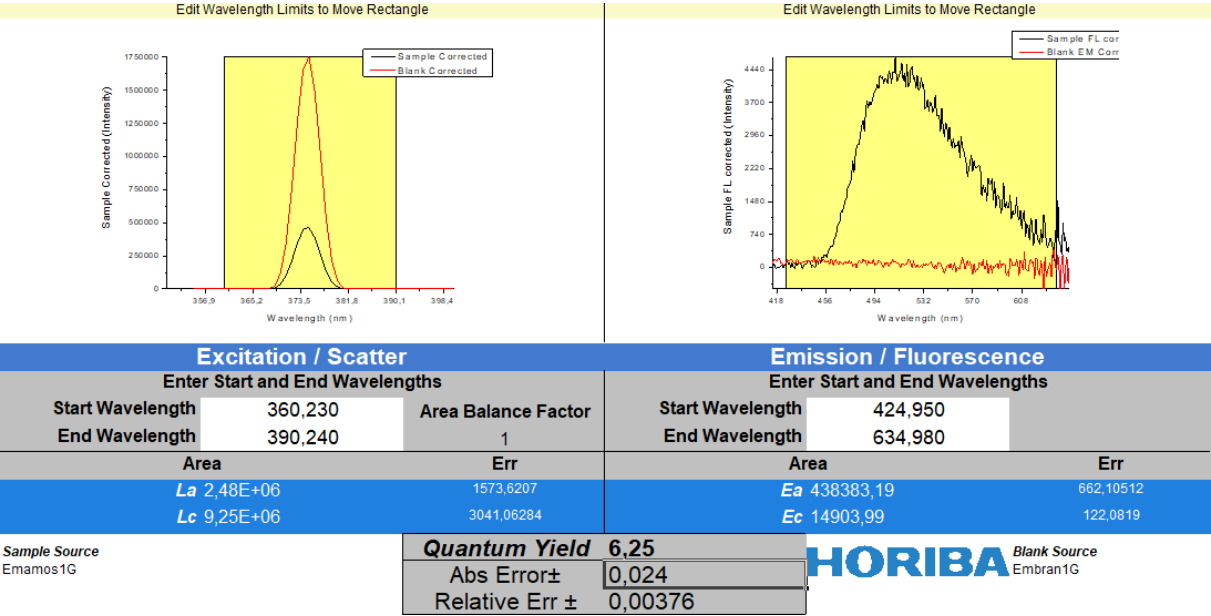
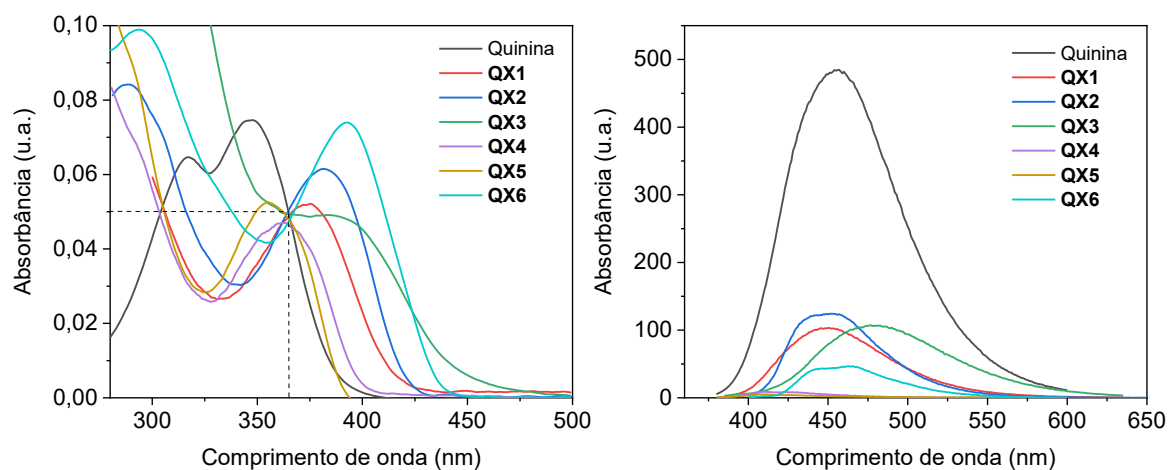


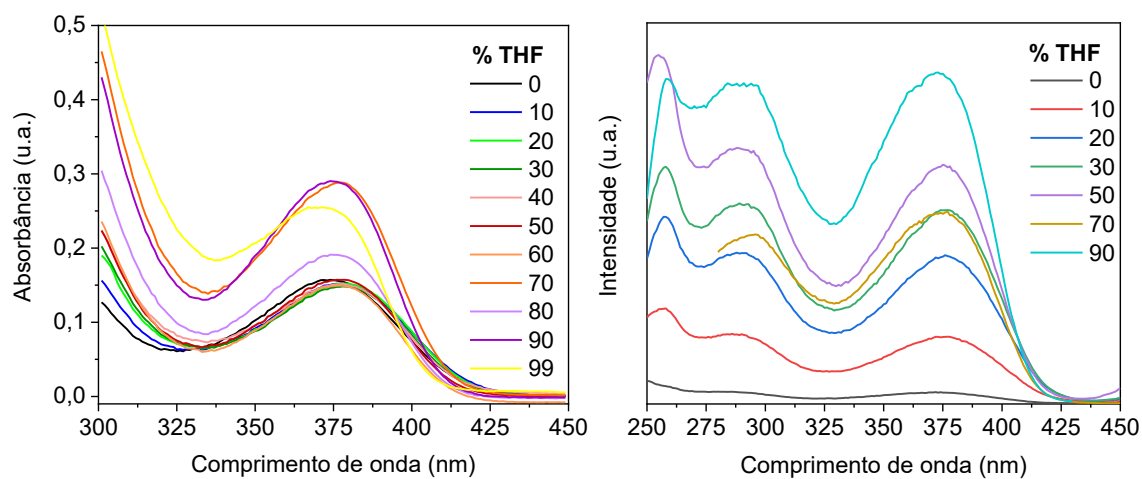
Figura A.99114 – Rendimento quântico absoluto do filme fino de QX3



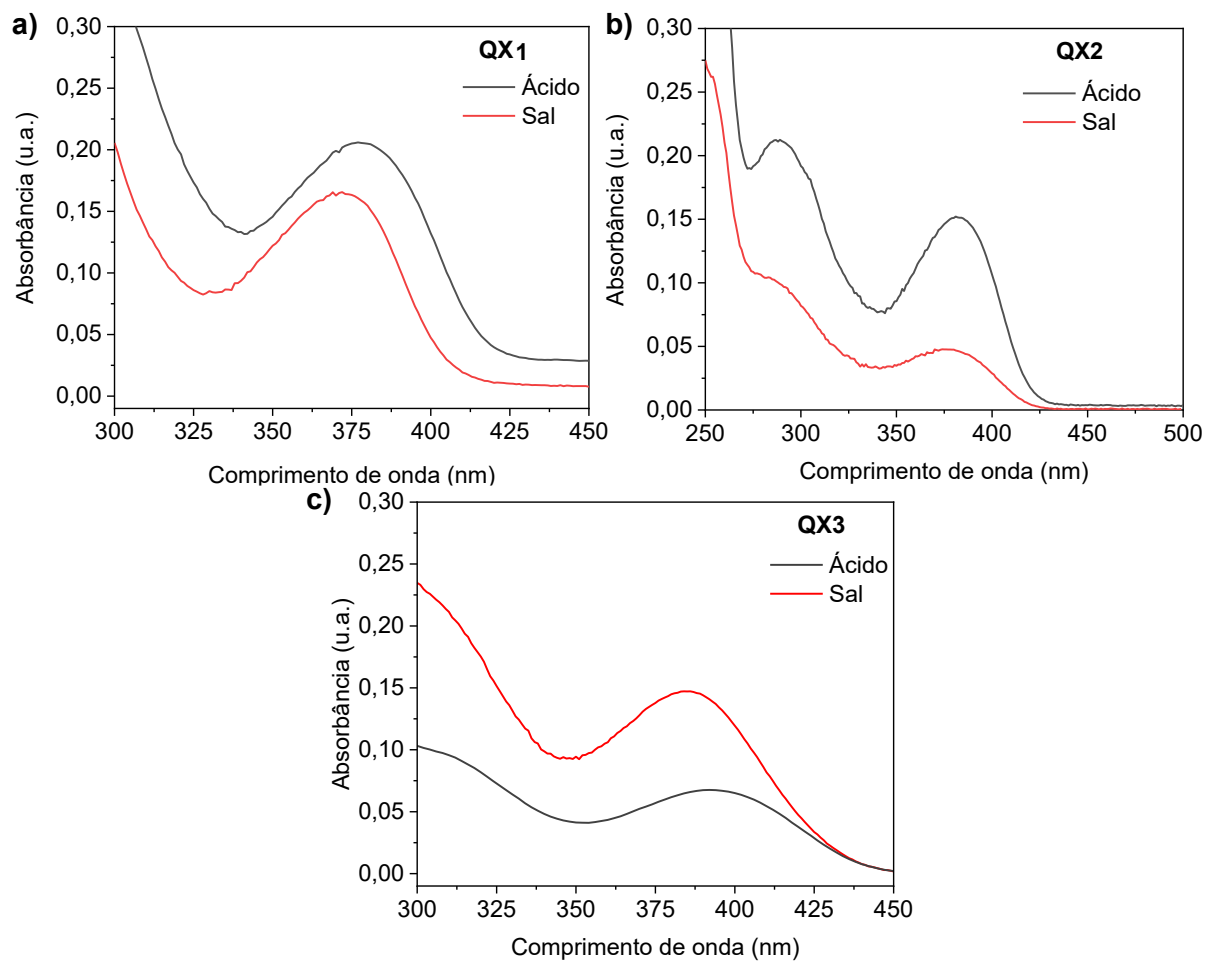
**Figura A.100115** – Espectros de UV-vis (esquerdo) e fluorescência (direito) do sulfato de quinina (solvente: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,5 M) e dos compostos **QX1-6** utilizados para determinação do rendimento quântico relativo de fluorescência ( $\lambda_{exc}$  = 365nm)



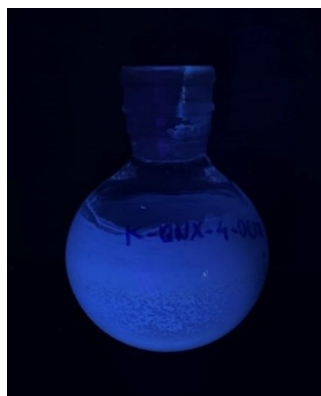
**Figura A.101** – Espectros de UV-vis (esquerdo) e de excitação (direito) do composto **QX1** na forma de sal em soluções de água/THF com aumento na fração de THF



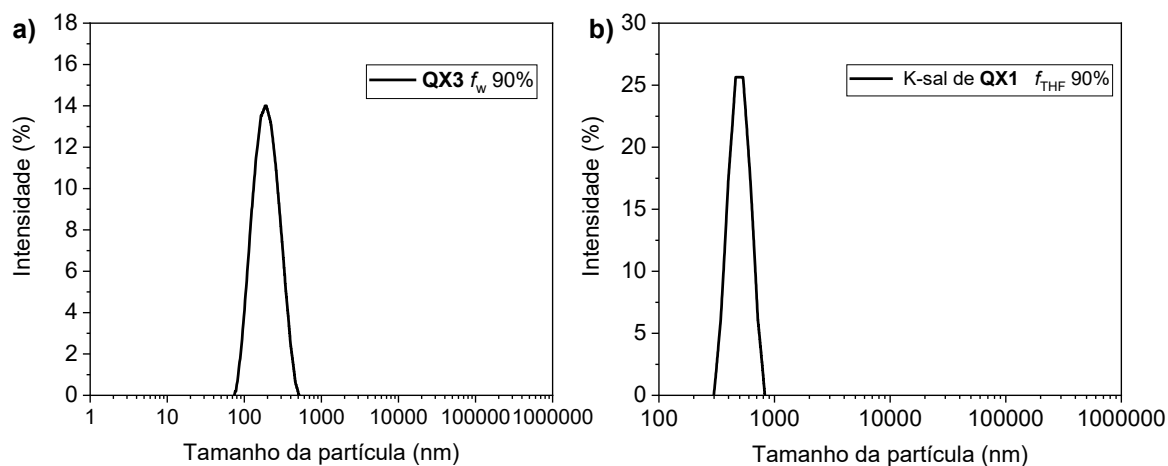
**Figura A.102** – Espectros de UV-vis de (a) **QX1**; (b) **QX2**; e (c) **QX3** em THF em suas respectivas formas de ácido carboxílico e sal carboxilato ( $10^{-5}$  M)



**Figura A.103** – Fotografia de **QX1** na forma de sal carboxilato no estado sólido sob lâmpada UV (365 nm)



**Figura A.104** – Perfil de distribuição de tamanho de partícula medido por DLS de (a) **QX3** em THF/água ( $10^{-5}$  M) com fração de água de 90% e (b) **QX1** na forma de sal de potássio em água/THF com fração de THF de 90%

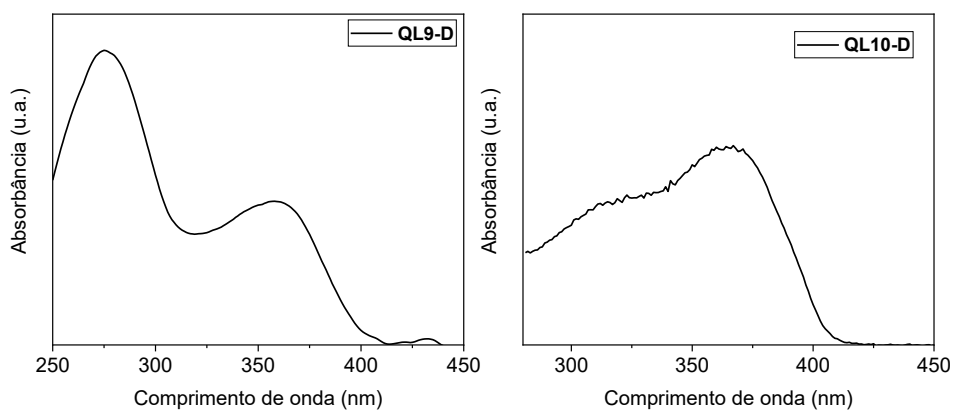


**Tabela A.1** – Tamanhos das partículas das soluções mistas de **QX3** e **QX1** na forma de sal de potássio ( $10^{-5}$  M) determinado por DLS

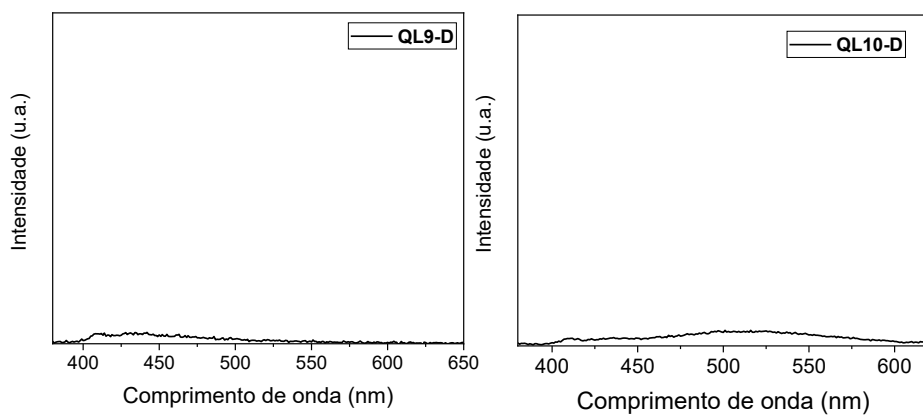
| Composto/solução                  | Tamanho (nm) | Z-average (nm) | PDI   |
|-----------------------------------|--------------|----------------|-------|
| <b>QX3</b> $f_w$ 90%              | 204          | 179            | 0,141 |
| K-sal de <b>QX1</b> $f_{THF}$ 90% | 502          | 940            | 0,571 |

## 2.2. Quinolinas

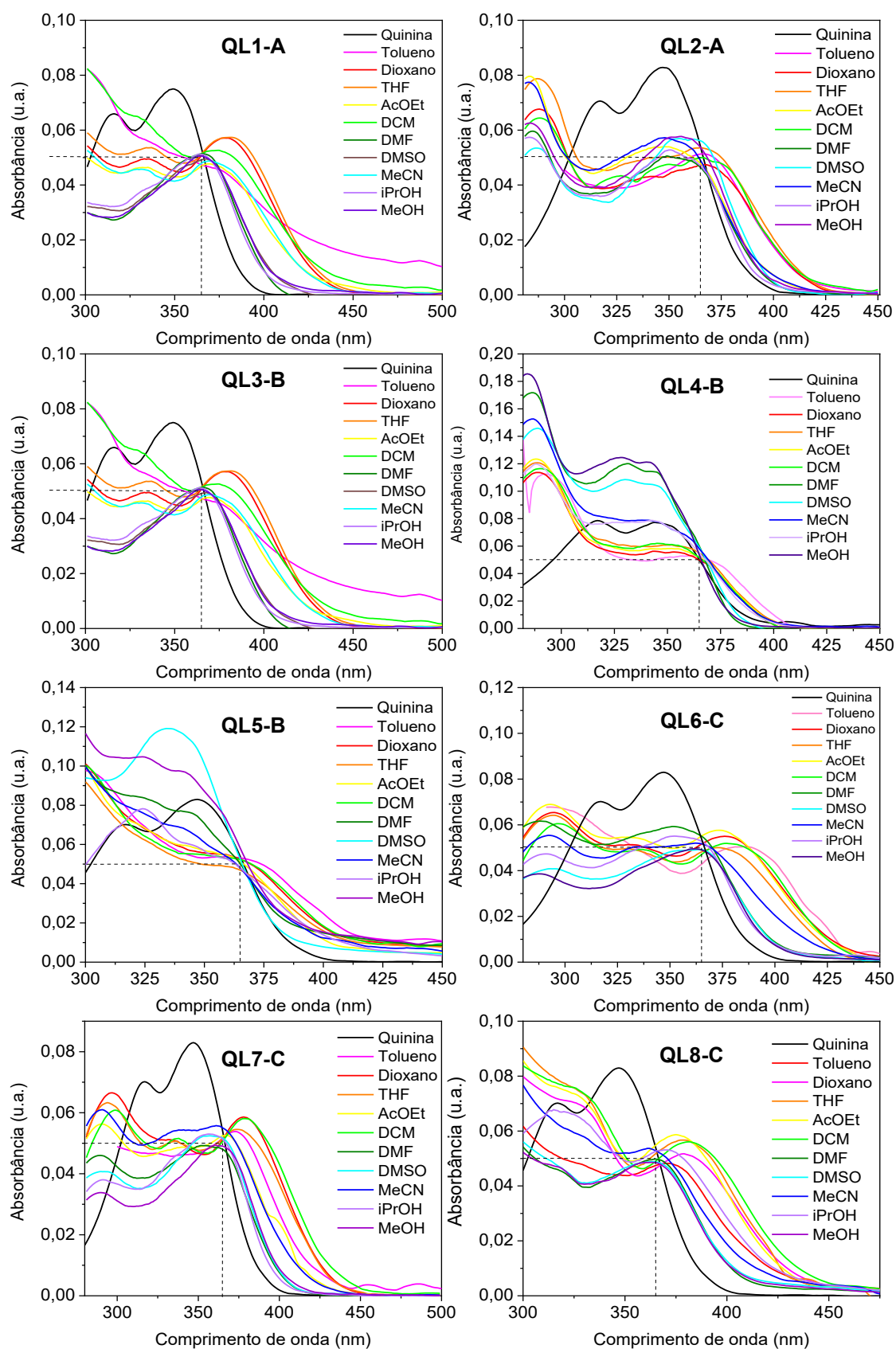
**Figura A.105116** – Espectros de UV-vis dos compostos **QL9-D** e **QL10-D** em DCM



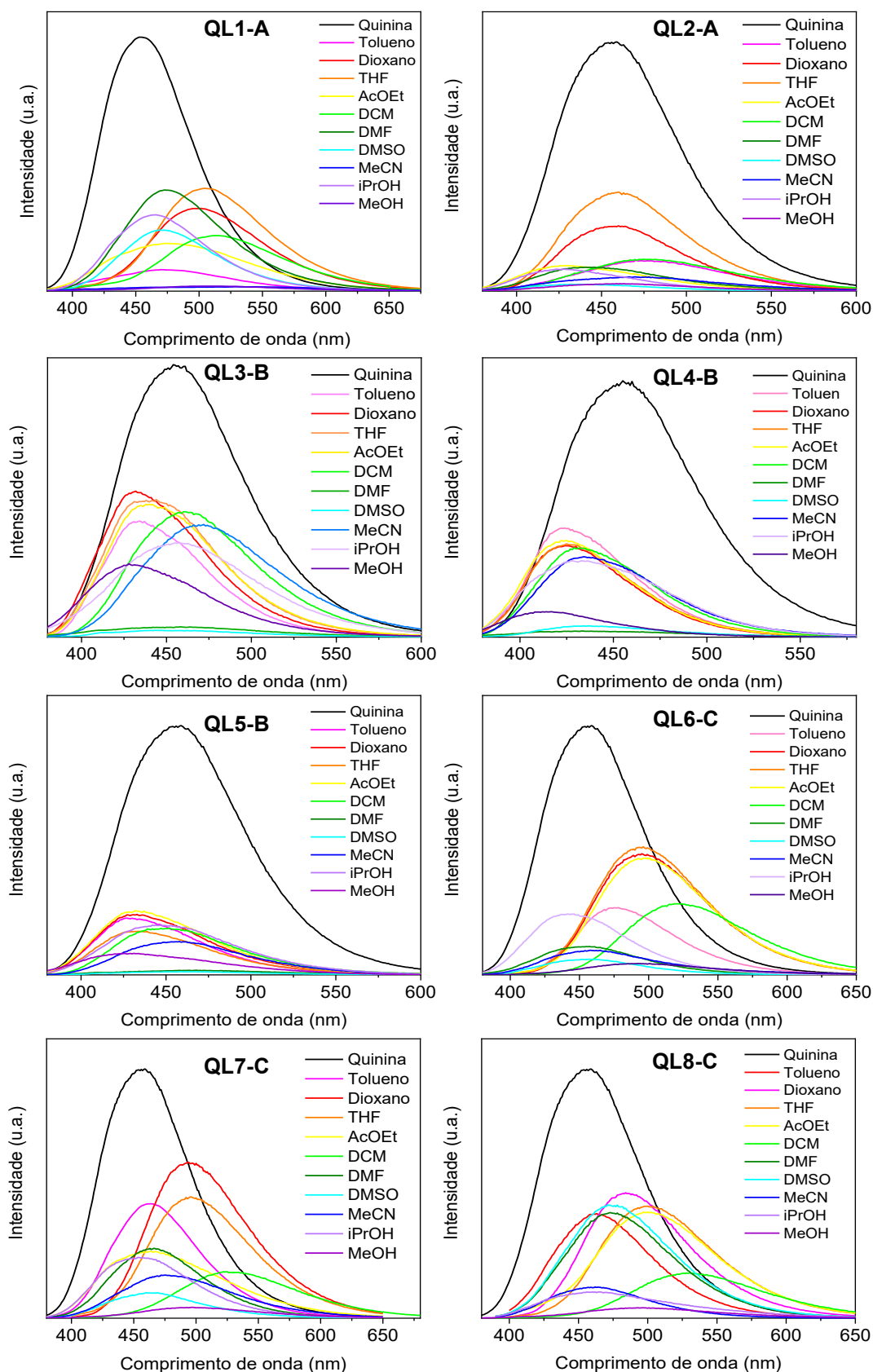
**Figura A.106** – Espectros de emissão dos compostos **QL9-D** e **QL10-D** em DCM



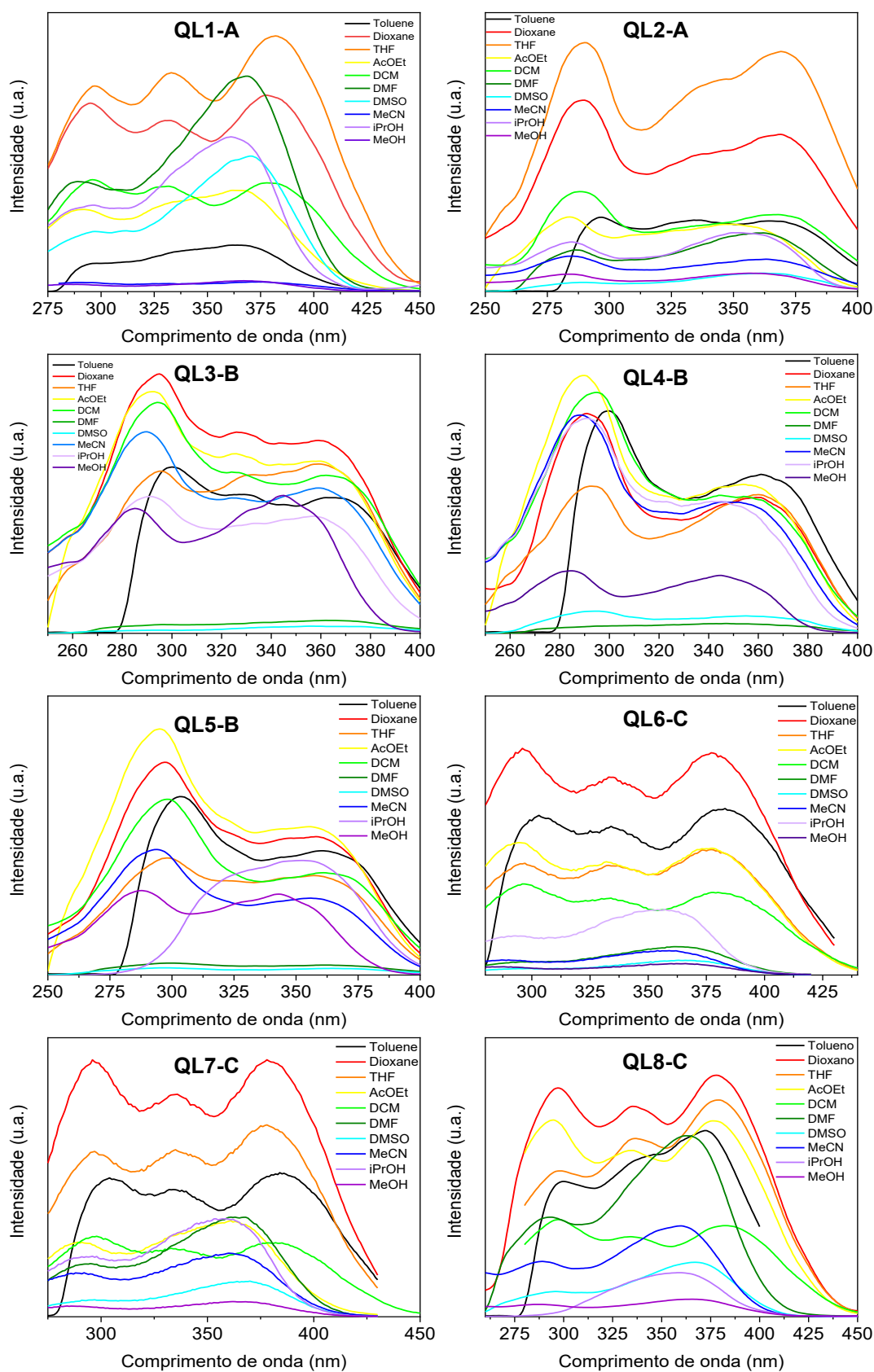
**Figura A.107** – Espectros de UV-vis do sulfato de quinina (solvente:  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0,5 M) e dos compostos **QL1-8** em diferentes solventes utilizados para determinação do rendimento quântico relativo de fluorescência



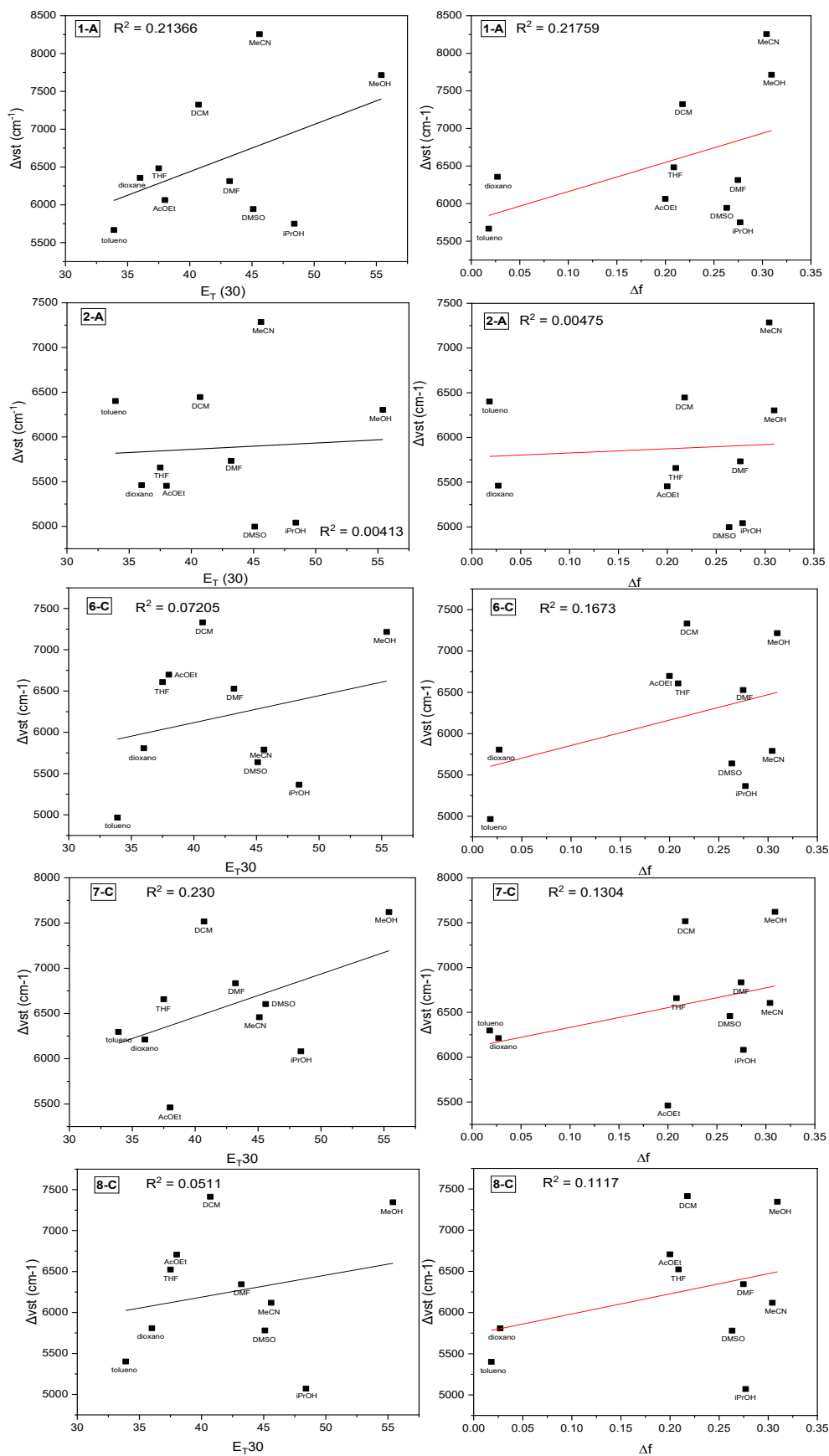
**Figura A.108117** – Espectros de emissão de fluorescência do sulfato de quinina e dos compostos **QL1-8** ( $\lambda_{exc} = 365\text{nm}$ ) diferentes solventes utilizados para determinação do rendimento quântico relativo de fluorescência



**Figura A.109** – Espectros de excitação dos compostos **QL1-8** em diferentes solventes



**Figura A.110118 – (Esquerda) Função  $E_T(30)$  e (Direita) gráficos de Lippert-Mataga dos compostos das séries A e C**

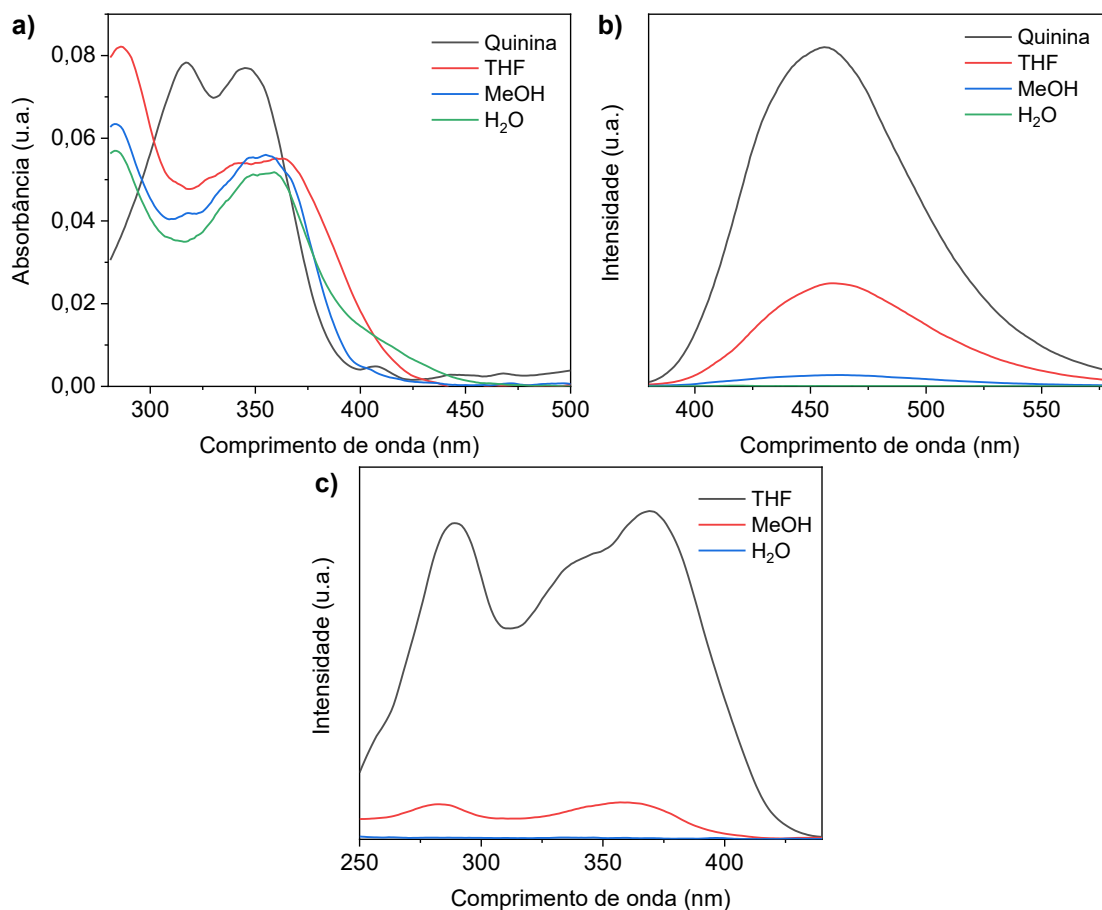


**Tabela A.2** – Valores dos parâmetros de polaridade do solvente usados para análises de regressão multilinear de solvatocromismo [149].

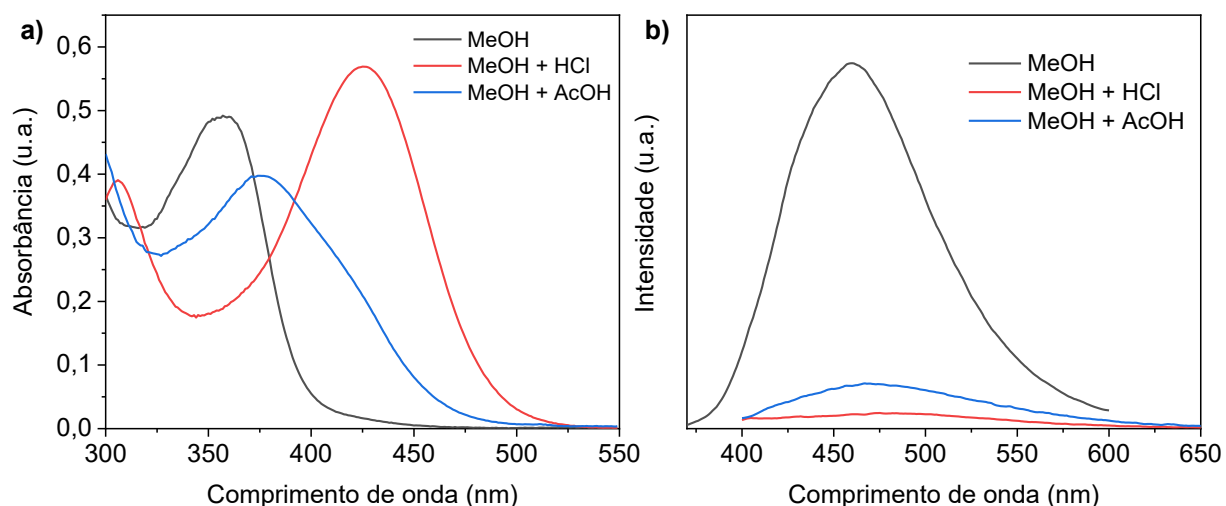
| Solvente | SP    | SdP   | SA    | SB    |
|----------|-------|-------|-------|-------|
| tolueno  | 0,782 | 0,284 | 0     | 0,128 |
| dioxano  | 0,737 | 0,312 | 0     | 0,444 |
| THF      | 0,714 | 0,634 | 0     | 0,591 |
| AcOEt    | 0,656 | 0,603 | 0     | 0,542 |
| DCM      | 0,761 | 0,769 | 0,04  | 0,178 |
| DMF      | 0,759 | 0,977 | 0,031 | 0,613 |
| DMSO     | 0,83  | 1     | 0,072 | 0,647 |
| MeCN     | 0,645 | 0,974 | 0,044 | 0,286 |
| iPrOH    | 0,633 | 0,808 | 0,283 | 0,83  |
| MeOH     | 0,608 | 0,904 | 0,605 | 0,545 |

SP = polarizabilidade; SdP = dipolaridade; SA = acidez do solvente; SB = basicidade do solvente

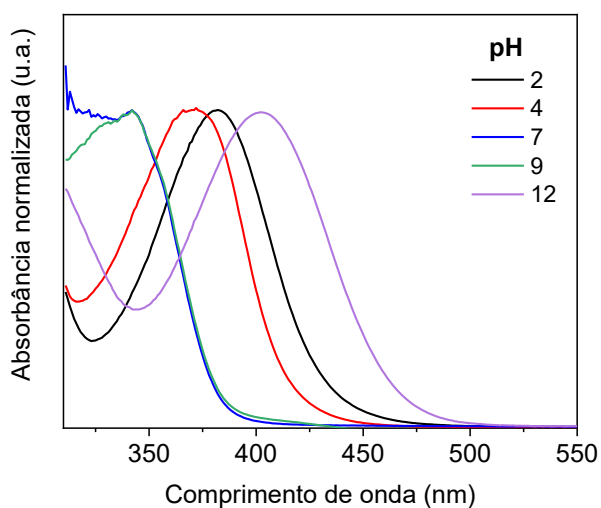
**Figura A.111** – Espectros de (a) UV-vis e (b) emissão de fluorescência do sulfato de quinina e de **QL4-B** na forma de sal em soluções de THF, MeOH e H<sub>2</sub>O (10<sup>-5</sup> M); (c) espectros de excitação das soluções do composto



**Figura A.112** – Espectros de (a) UV-vis e (b) fluorescência de **QL2-A** ( $10^{-5}$  M) em soluções de MeOH e com adição de 50  $\mu$ L de HCl e AcOH

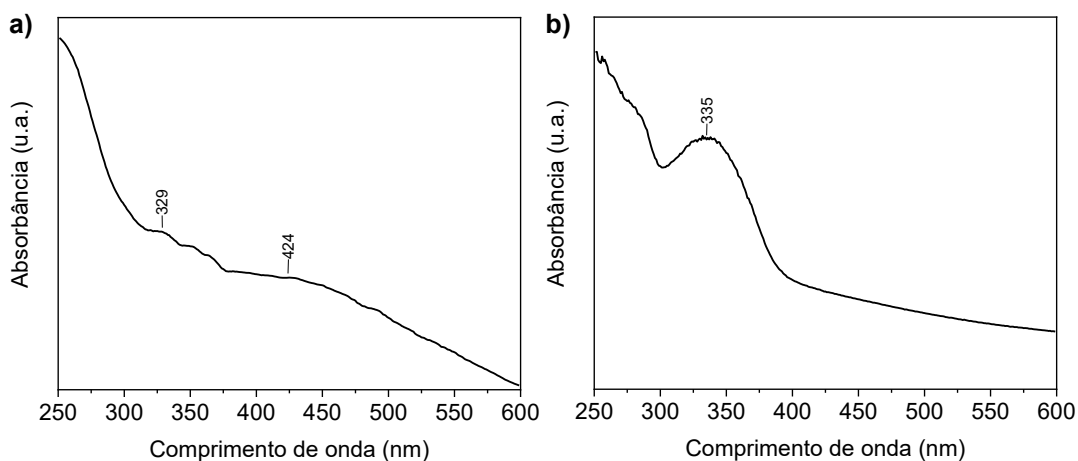


**Figura A.113** – Espectros de UV-vis de **QL4-B** em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Uma solução estoque  $5 \times 10^{-5}$  M em DMSO foi diluída por soluções tampão 0,01 M correspondentes. As soluções finais continham 5% de DMSO com uma concentração do composto de  $5 \times 10^{-5}$  M. Soluções tampão: pH 2 (HCl), pH 4 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 7 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 9 (tampão  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ ), pH 12 (NaOH)

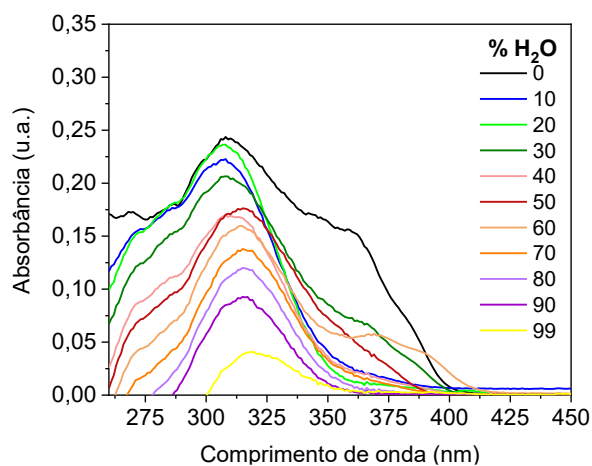


### 2.3. Di-hidroquinolinas

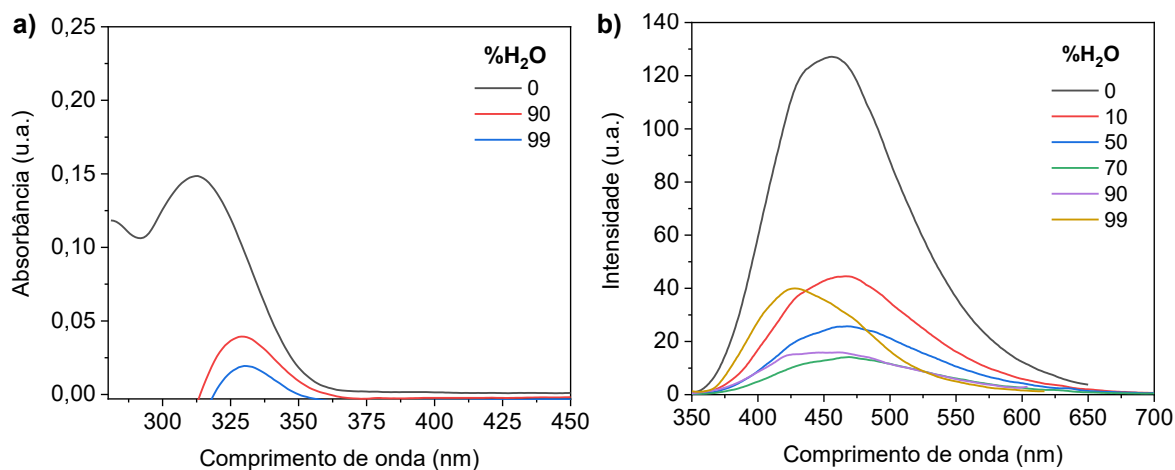
**Figura A.114** – Espectros de UV-vis dos filmes de (a) **DQ1** e (b) **DQ2**



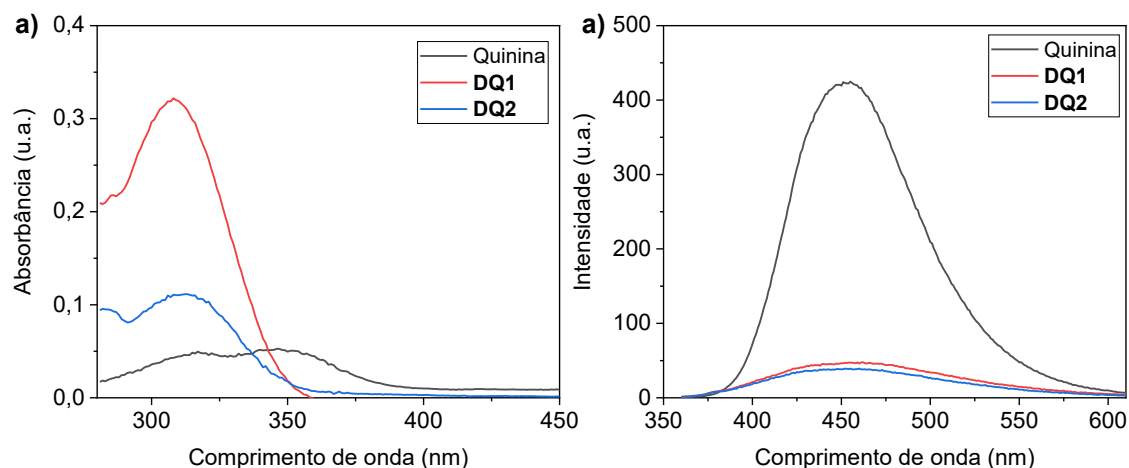
**Figura A.115** – Espectros de UV-vis de **DQ1** em misturas de THF/água ( $10^{-5}$  M)



**Figura A.116** – (a) Espectros de UV-vis de **DQ2** em THF e em  $f_{\text{água}}$  90% e 99% ( $10^{-5}$  M) e (b) Espectros de emissão de **DQ2** em THF e com diferentes  $f_w$  ( $6 \times 10^{-5}$  M,  $\lambda_{\text{exc}} = \lambda_{\text{max,abs}}$ )



**Figura A.117** – Espectros de (a) UV-vis e (b) emissão do sulfato de quinina (em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M) e dos compostos **DQ1** e **DQ2** em THF ( $\lambda_{\text{exc}} = 340$  nm) usados para cálculo do rendimento quântico relativo de fluorescência

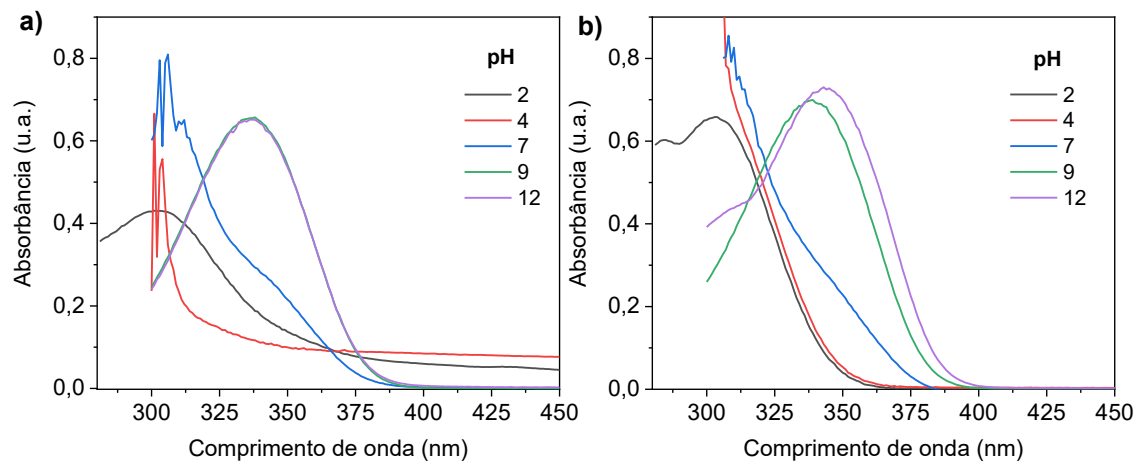


**Tabela A.3** – Propriedades espectroscópicas de UV-vis e fluorescência dos compostos **DQ1** e **DQ2** em misturas de THF/água (vol %,  $6 \times 10^{-5}$  M) e no estado sólido. ( $\lambda_{\text{exc}} = \lambda_{\text{max.abs}}$ )

|            |                | $\lambda_{\text{max.abs}}$<br>(nm) | $\epsilon^a$ | $\lambda_{\text{max.em}}$<br>(nm) | $\Delta\nu_{\text{st}}$<br>(cm <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup> | $I_F^c$ | $\Phi_F^d$<br>(%) |
|------------|----------------|------------------------------------|--------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------|-------------------|
| <b>DQ1</b> | THF $f_w 0\%$  | 310                                | 4021         | 458                               | 10424                                                       | 23098   | 10.7              |
|            | THF $f_w 90\%$ | 315                                | 1546         | 466                               | 10287                                                       | 1628    | 0.8               |
|            | THF $f_w 99\%$ | 318                                | 673          | 442                               | 8822                                                        | 18847   | 8.7               |
|            | Film           | 345                                | -            | 427                               | 5566                                                        | -       | -                 |
| <b>DQ2</b> | THF $f_w 0\%$  | 313                                | 2475         | 456                               | 10019                                                       | 16367   | 8.7               |
|            | THF $f_w 90\%$ | 329                                | 657          | 460                               | 8656                                                        | 2219    | 1.2               |
|            | THF $f_w 99\%$ | 330                                | 323          | 428                               | 6939                                                        | 4298    | 2.3               |
|            | Film           | 335                                | -            | 418                               | 5927                                                        | -       | -                 |

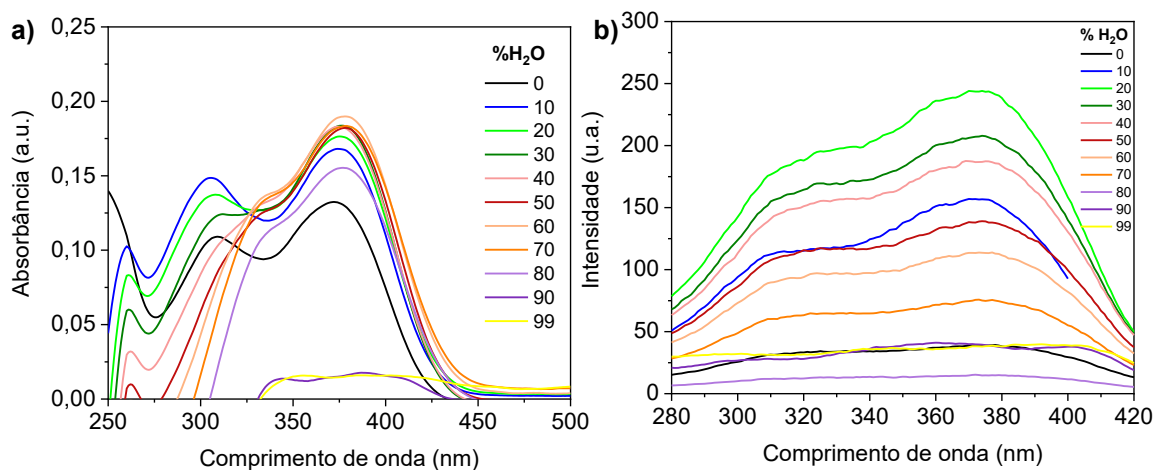
<sup>a</sup> Coeficiente de absortividade molar, unidade: L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; <sup>b</sup> Deslocamento de Stokes; <sup>c</sup> Intensidade de fluorescência, unidade: u.a.; <sup>d</sup> Rendimento quântico de fluorescência relativo ao padrão sulfato de quinina ( $\Phi_F = 0,546$  em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M)

**Figura A.118** – Espectros de UV-vis de (a) **DQ1** e (b) **DQ2** em soluções aquosas tamponadas em diferentes pHs ( $\lambda_{exc.} = \lambda_{max. abs.}$ ). Uma solução estoque  $5 \times 10^{-5}$  M em DMSO foi diluída por soluções tampão 0,01 M correspondentes. As soluções finais continham 5% de DMSO com uma concentração de cada composto de  $5 \times 10^{-5}$  M. Soluções tampão: pH 2 (HCl), pH 4 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 7 (tampão ácido cítrico/fosfato), pH 9 (tampão  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ ), pH 12 (NaOH).

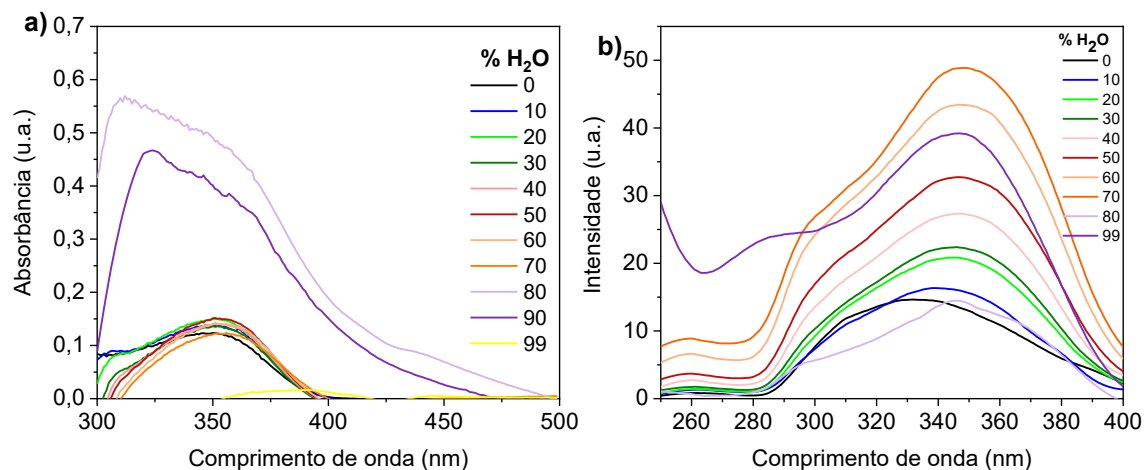


## 2.4. Pirazinas

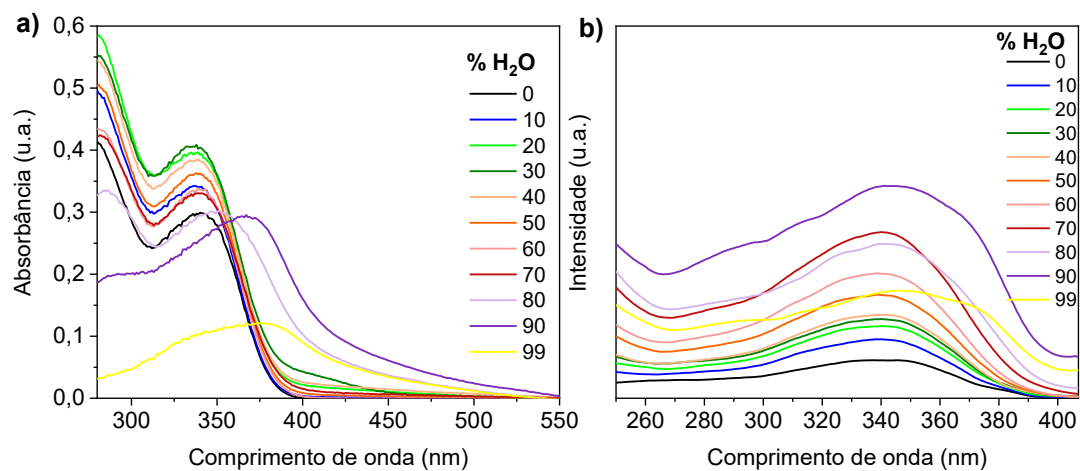
**Figura 119** – Espectros de (a) UV-vis e de (b) excitação do composto **PZ1** em soluções de THF/água com aumento na fração de água



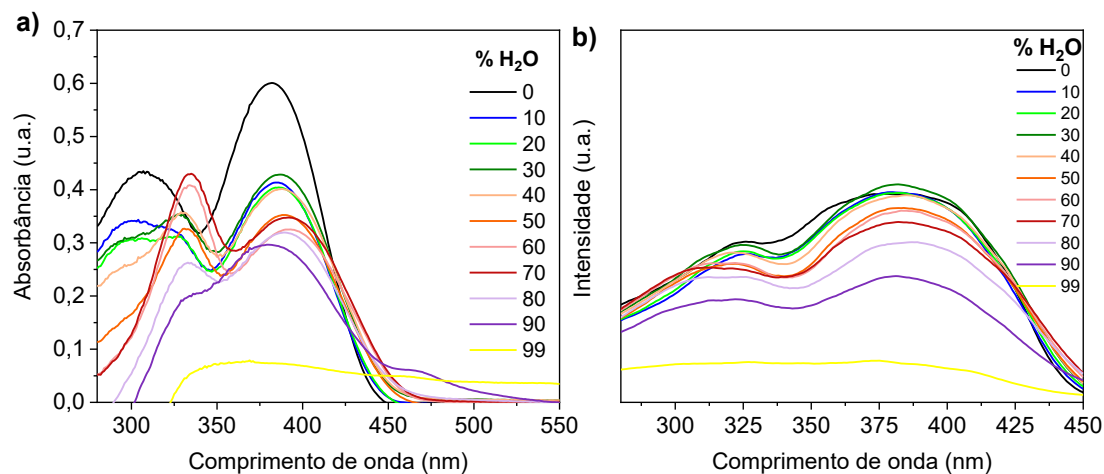
**Figura 120** – Espectros de (a) UV-vis e de (b) excitação do composto **PZ2** em soluções de THF/água com aumento na fração de água



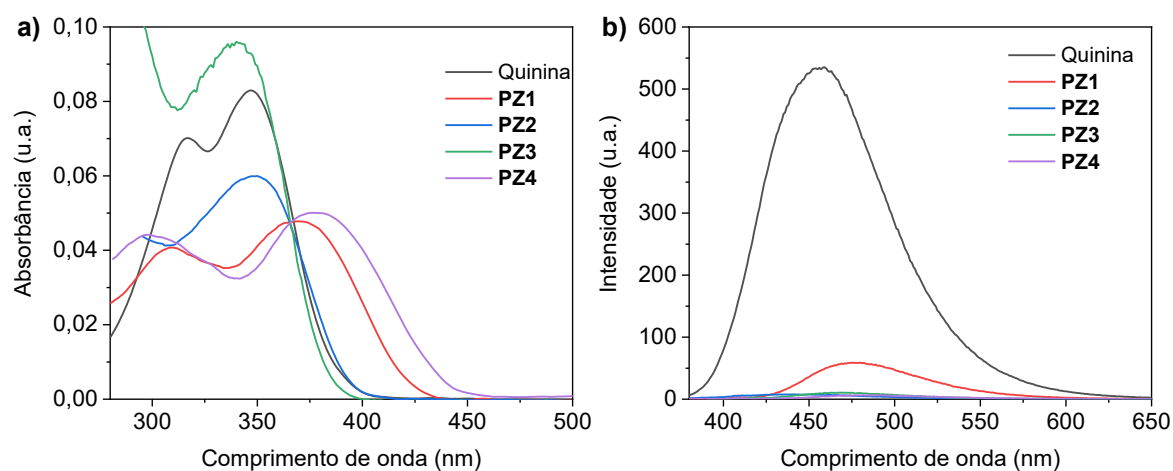
**Figura 121** – Espectros de (a) UV-vis e de (b) excitação do composto **PZ3** em soluções de THF/água com aumento na fração de água



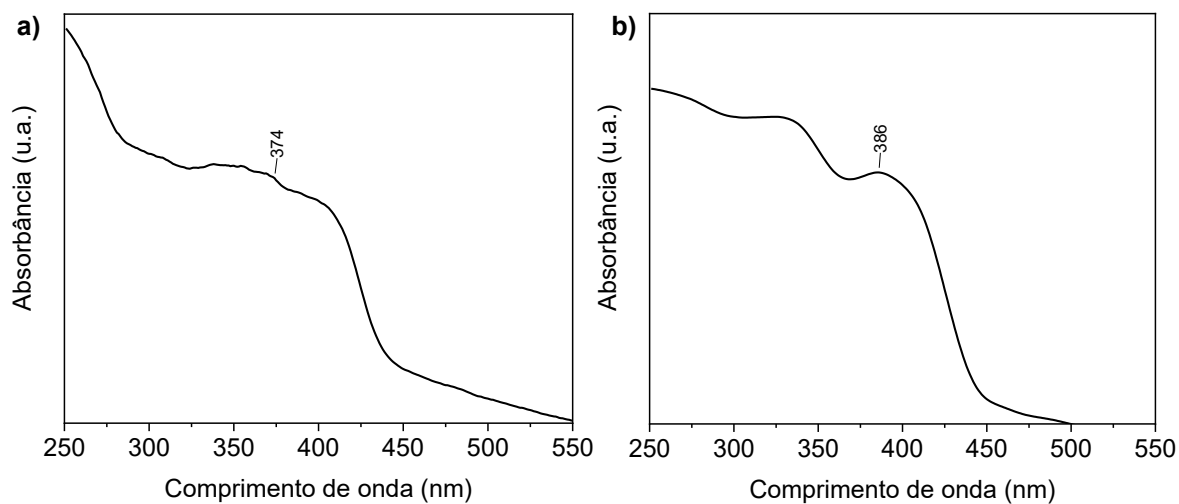
**Figura 122** – Espectros de (a) UV-vis e de (b) excitação do composto **PZ4** em soluções de THF/água com aumento na fração de água



**Figura A.123** – Espectros de (a) UV-vis e (b) emissão do sulfato de quinina (em  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5 M) e dos compostos **PZ1-4** em THF ( $\lambda_{\text{exc}} = 365$  nm) usados para cálculo do rendimento quântico relativo de fluorescência

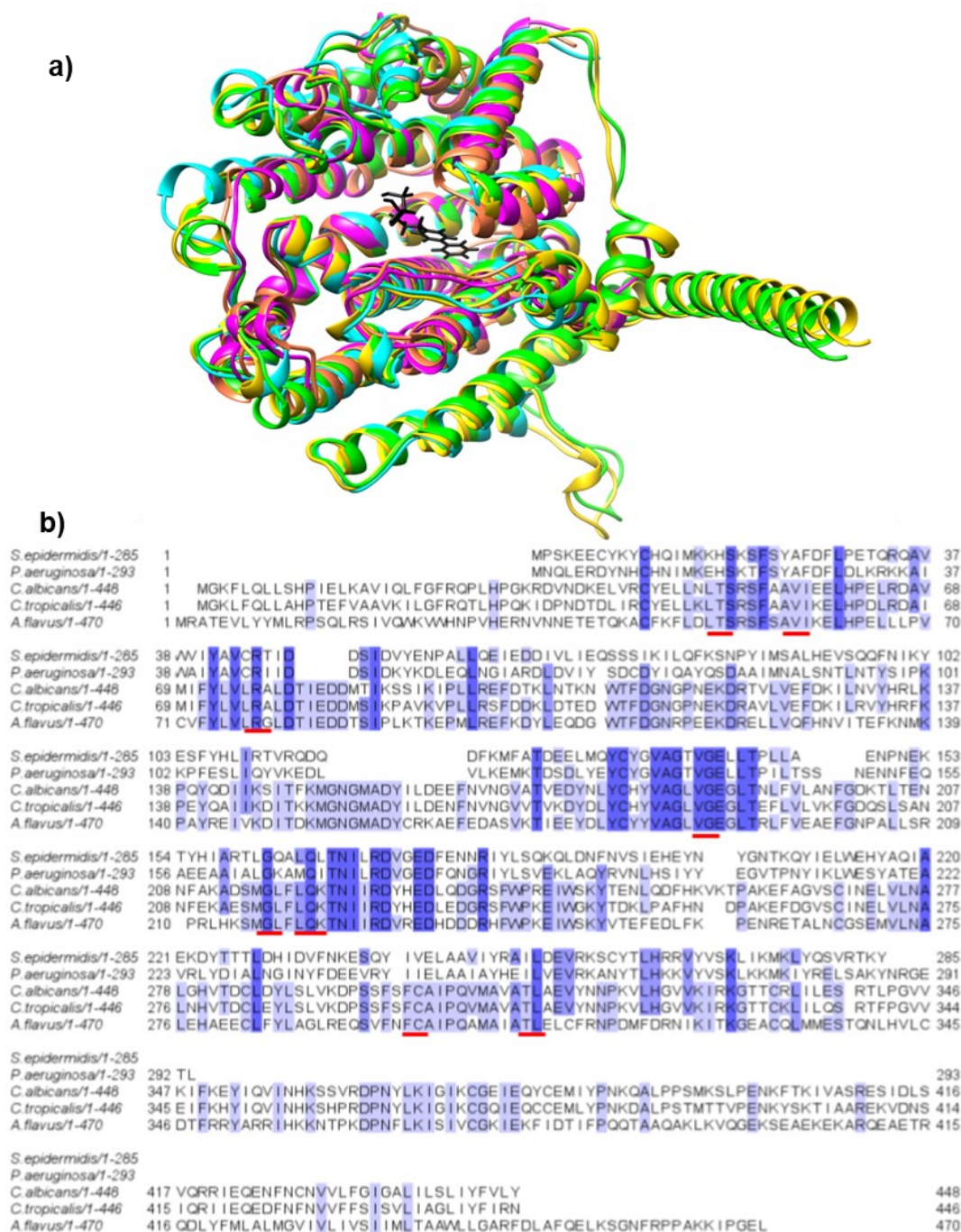


**Figura A.124119** – Espectros de UV-vis dos filmes de (a) **PZ1** e (b) **PZ4**



### 3. Estudos computacionais

**Figura A.12025** – Alinhamento das enzimas SQS e DQS das espécies estudadas. A) Alinhamento estrutural, onde *S. aureus* é colorido em vermelho, *S. epidermidis* em coral, *P. aeruginosa* em magenta, *C. albicans* em verde, *C. tropicalis* em dourado e *A. flavus* em ciano. O ligante do código PDB 2ZCS é mostrado em preto no sítio ativo. B) Alinhamento de sequência, onde regiões comuns são destacadas em roxo e o sítio catalítico é demarcado em vermelho.



**Tabela A.4** – Validação do melhor modelo de DQS e SQS para cada espécie avaliada.

| Modelo                | <i>P. aeruginosa</i> | <i>A. flavus</i>                        |
|-----------------------|----------------------|-----------------------------------------|
| MolProbity score      | 0.99                 | 1.15                                    |
| Ramachandran Favored  | 97.25%               | 98.85%                                  |
| Ramachandran Outliers | 0.34%<br>Asp73       | 0.29%<br>Val184                         |
| Bad Bonds             | 0.00%                | 1 / 2952<br>Asp81                       |
| Rotamer Outliers      | 0.00%                | 2.84%<br>Lys357, Glu165, Lys172, Glu167 |

### 3.1. Quinoxalinas

**Tabela A.5** – Representação das interações observadas para os diferentes complexos e seus respectivos valores de pontuação para a melhor posição. Os valores de score estão em kcal/mol

| Complexo                       | Ligação de H                 | Interações $\pi$                      | Score |
|--------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|-------|
| <i>S. aureus</i> - ligante PDB | His18, Arg45, Gln165, Tyr248 | Val137, Leu160, Leu164, Ile241        | -10.1 |
| <i>S. aureus</i> – QX4         | Arg45, Arg265                | Phe22, Val137, Leu160, Leu164, Ile241 | -9.9  |
| <i>S. aureus</i> – QX5         | -                            | Phe22, Asp48, Val137                  | -8.7  |
| <i>S. epidermidis</i> – QX4    | Arg45, Arg265                | Phe22, Val137, Leu160, Leu164, Ile241 | -9.9  |
| <i>S. epidermidis</i> – QX5    | -                            | Phe22, Asp48, Val137                  | -8.7  |
| <i>P. aeruginosa</i> – QX4     | Tyr41, Arg45                 | Phe22, Phe26, Cys44, Val137, Leu141   | -9.5  |
| <i>P. aeruginosa</i> – QX5     | -                            | Phe22, Cys44, Val137, Leu141, Met167  | -9.1  |
| <i>C. albicans</i> – QX4       | Arg76, Asn223                | Phe53, Leu75, Met151, Val186          | -10.2 |
| <i>C. albicans</i> – QX5       | Arg76                        | Phe53, Leu75, Val186                  | -9.2  |
| <i>C. tropicalis</i> – QX4     | Arg76, Asn223                | Phe53, Leu75, Met151, Val186          | -9.9  |
| <i>C. tropicalis</i> – QX5     | Arg76                        | Phe53, Leu75, Val186                  | -9.4  |
| <i>A. flavus</i> – QX4         | Gln165                       | Phe55, Val70, Phe73, Tyr74, Val188,   | -10.0 |

|                        |   |                               |      |
|------------------------|---|-------------------------------|------|
|                        |   | Leu192                        |      |
| <i>A. flavus</i> – QX5 | - | Phe55, Ala185, Val188, Leu192 | -9.5 |

### 3.2. Quinolinas

**Tabela A.6** – Representação das interações observadas para os diferentes complexos e seus respectivos valores de pontuação para a melhor posição. Os valores de score estão em kcal/mol

| Complexo                       | Ligação de H                          | Interações $\pi$                      | Score |
|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------|
| <i>S. aureus</i> - ligante PDB | His18, Arg45, Gln165, Tyr248          | Ala25, Val137, Leu160, Leu164, Ile241 | -10.1 |
| <i>S. aureus</i> - 3B          | His18, Arg45, Tyr248                  | Phe22, Val137, Leu160, Leu164         | -9.2  |
| <i>S. aureus</i> - 4B          | His18, Arg45, Tyr248                  | Leu160, Leu164                        | -9.3  |
| <i>S. epidermidis</i> - 3B     | His18, Arg45, Tyr248                  | Phe22, Val137, Leu160, Leu164         | -9.2  |
| <i>S. epidermidis</i> - 4B     | His18, Arg45, Tyr248                  | Leu160, Leu164                        | -9.3  |
| <i>P. aeruginosa</i> - 3B      | Tyr41, Arg45                          | Cys44, Val137, Leu141, Met167         | -9.0  |
| <i>P. aeruginosa</i> - 4B      | -                                     | Cys44, Tyr41, Val137, Leu141, Ile243  | -8.5  |
| <i>C. albicans</i> - 3B        | Glu82, Gln220, Asp227, Asp231, Arg236 | Phe53, Tyr72, Val186                  | -9.4  |
| <i>C. albicans</i> - 4B        | Glu82                                 | Phe53, Tyr72, Leu75, Val186           | -9.0  |
| <i>C. tropicalis</i> - 3B      | Glu82, Gln220, Asp227, Asp231, Arg236 | Phe53, Tyr72, Val186                  | -9.4  |
| <i>C. tropicalis</i> - 4B      | Glu82                                 | Phe53, Tyr72, Leu75, Val186           | -9.1  |
| <i>A. flavus</i> - 3B          | Phe55, Gln221, Asn224, Cys298         | Leu192, Val188, Met216, Pro301        | -9.1  |
| <i>A. flavus</i> - 4B          | Phe55                                 | Phe73, Leu77, Val188                  | -8.8  |