

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese, caracterização e aplicações de fluoróforos derivados do
BODIPY**

Lucas Cunha Dias de Rezende

Ribeirão Preto

2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese, caracterização e aplicações de fluoróforos derivados do
BODIPY**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientado: Lucas Cunha Dias de Rezende

Orientador: Prof. Dr. Flavio da Silva Emery

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 23/03/2016. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto

2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Rezende, Lucas Cunha Dias

Síntese, caracterização e aplicações de fluoróforos derivados do BODIPY. Ribeirão Preto, 2016.

181 p.; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: **Emery, Flavio da Silva.**

1. Fluorescência. 2. BODIPY. 3. Síntese. 4. Espectroscopia
5. Sonda

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lucas Cunha Dias de Rezende

Síntese, caracterização e aplicações de fluoróforos derivados do BODIPY

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Flavio da Silva Emery

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicado aos meus pais e à
minha esposa

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Prof. Flavio da Silva Emery pela oportunidade de trabalhar numa área de pesquisa tão interessante e pela confiança no meu trabalho.

Agradeço à minha família pelo carinho e apoio às minhas decisões.

Agradeço à minha esposa pela companhia e o afeto que tornam qualquer jornada menos penosa.

Ik dank Prof. Wim Dehaen dat zijn laboratorium geopend voor deze vruchtbare samenwerking

Agradeço aos colegas do QHETEM por tornarem o dia a dia de trabalho agradável.

I also thank the colleagues from KULeuven for the pleasant company.

Agradeço aos professores, técnicos e funcionários da FCFRP que me ajudaram direta ou indiretamente no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por ter financiado esta tese de doutorado por meio dos processos 2011/23342-9 e 2013/24408-9.

Resumo

Rezende, L. C. D. **Síntese caracterização e aplicações de fluoróforos derivados do BODIPY**. 2016. 172f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

O desenvolvimento de técnicas analíticas, espectroscópicas e de imagem baseadas na detecção da fluorescência está associado com a necessidade por marcadores fluorescentes com variadas características e aplicabilidades. Dentre os diversos marcadores fluorescentes disponíveis, os derivados de borodipirrometenos (BODIPY), descobertos no final da década de 1960, passaram a ser amplamente utilizados desde o final da década de 1980. Esta tese de doutorado se trata de um estudo pioneiro no Brasil, envolvendo a síntese, modificação química e caracterização fotofísica de BODIPYs. Na primeira etapa do projeto métodos de obtenção de BODIPYs foram estabelecidos e aplicados na síntese de uma biblioteca de sondas fluorescentes. O estudo fotofísico dessa biblioteca de fluoróforos nos possibilitou identificar e estudar particularidades de alguns fluoróforos, como o solvatocromismo, halocromismo e ionocromismo. A segunda etapa do projeto envolveu o estabelecimento de métodos de modificação química de BODIPYs visando a diversificação fotofísica e estrutural da biblioteca de compostos. Foram sintetizados BODIPYs reativos que foram submetidos a reações de substituição nucleofílica, Suzuki, Sonogashira, Knoevenagel e arilação direta, levando à obtenção de compostos com propriedades ópticas diversas. Por fim, na terceira etapa do projeto, está descrito o desenvolvimento de novos métodos de modificação química de fluoróforos BODIPY. Foi desenvolvido um método simples de tiocianação direta dessa classe de compostos com bons rendimentos, baseado na utilização de tiocianato de amônio e oxone[®]. O escopo e as limitações do novo método de tiocianação foi estudado em BODIPYs com propriedades eletrônicas diversas. Foi mostrada ainda a conversão de BODIPYs tiocianados a derivados tioalquilados com características ópticas particulares. Em conclusão, com esta tese de doutorado foi estabelecida uma linha de pesquisa inovadora envolvendo a síntese e modificação química de uma classe de compostos com ampla aplicação tecnológica.

Palavras-chave: Fluorescência, BODIPY, síntese, espectroscopia, sonda.

Abstract

Rezende, L. C. D. **Synthesis, characterization and applications of BODIPY-derived fluorophores**. 2016. 172f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

The development of fluorescence-based analytical, spectroscopic and image techniques is associated with the necessity of fluorescent probes with diverse properties and applications. Among the available fluorescent probes, borondipyrromethene (BODIPY) derivatives, discovered in the late 1960`s, became widely applied since the late 1980`s. This PhD thesis is a pioneering study in Brazil, concerning the synthesis, chemical modification and photophysical characterization of BODIPYs. In the first stage of the project some methods for the synthesis of BODIPYs were established and then applied in the development of a library of fluorescent probes. The photophysical study of this fluorophore library enabled us to identify and further study particularities of some fluorophores, such as solvatochromism, halochromism and ionochromism. The second stage of the project involved the establishment of methods for the chemical modification BODIPYs, aiming at the photophysical and structural diversification of the library. Reactive BODIPYs were synthesized and subjected to reactions such as nucleophilic substitution, Suzuki, Sonogashira, Knoevenagel and direct arylation, resulting in the obtainment of compounds with diverse optical properties. Finally, in the third stage of the project, it is described the development of new methods for the chemical modification of BODIPY fluorophores. It was developed a simple and high yielding method for the direct thiocyanation of this class of compounds, based on the use of ammonium thiocyanate and oxone®. The scope and limitations of the new thiocyanation method has been studied in BODIPYs with different electronic properties. It was also shown the conversion of thiocyanated BODIPYs to thioalkylated derivatives bearing particular optical characteristics. In conclusion, in this PhD thesis an innovative research line involving the synthesis and chemical modification of a class of compounds with broad technological application has been established.

Key words: Fluorescence, BODIPY, synthesis, spectroscopy, probe.

Lista de Figuras

Figura 1. Representação do diagrama de Jablonski	2
Figura 2. Exemplos de compostos orgânicos fluorescentes de ocorrência natural.	6
Figura 3. Estrutura do núcleo xanteno e de alguns derivados xantêmicos utilizados como sondas fluorescentes.	8
Figura 4. Estrutura da cumarina e de alguns derivados utilizados como sondas fluorescentes.	9
Figura 5. Estrutura do naftaleno e do pireno com alguns derivados utilizados como sondas fluorescentes.	10
Figura 6. Estrutura do esqueleto básico das cianinas e merocianinas e de alguns derivados utilizados como sondas fluorescentes.	10
Figura 7. Estrutura de diversos esqueletos encontrados em fluoróforos disponíveis comercialmente	11
Figura 8. Quantidade anual de publicações científicas descrevendo fluoróforos BODIPY nos 40 anos seguindo a publicação do primeiro BODIPY.	12
Figura 9. Acima: Estrutura básica do núcleo BODIPY mostrando as formas de ressonância e a numeração do anel. Abaixo: Estrutura de outros derivados pirrólicos relevantes.	13
Figura 10. Estrutura química e comprimento de onda de máxima absorção e emissão de alguns BODIPYs disponíveis comercialmente.	14
Figura 11. Padrão de sinais de RMN de ^1H observado para os compostos 1 , 2 , 3 , 4 .	28
Figura 12. Espectro de RMN bidimensional HSQC (em cima) e HMBC (em baixo) obtidos para o composto 1 .	30
Figura 13. Espectros de absorção e emissão normalizados de soluções em diclorometano dos compostos 3 , 4 , 5 e 6 , mostrando algumas das propriedades ópticas tipicamente observadas para os BODIPYs desenvolvida nesta parte do projeto.	35
Figura 14. Solvatocromismo de alguns dos BODIPYs sintetizados.	36
Figura 15. Efeito do pH sobre a emissão de fluorescência dos compostos 5 , 10 e 11 .	37
Figura 16. Efeito da adição de 250 μM de diversos cátions sobre a emissão da fluorescência de soluções aquosas a 50 μM dos compostos 3 , 4 , 5 e 10 .	39

- Figura 17. Gráficos de Stern-Volmer obtidos para o composto **5** (esquerda) e **10** (direita) em três condições de temperatura. 40
- Figura 18. Gráficos de Stern-Volmer obtidos para o composto **5** (esquerda) e **10** (direita) em três condições de acidez. 41
- Figura 19. Emissão de fluorescência dos compostos **15**, **19**, **26** – **31** mostrando o efeito batocrômico da inserção do grupo morfolino e do grupo propanotiol. 49
- Figura 20. Diversidade na emissão de fluorescência de soluções em THF dos derivados substituídos por estiril ou fenilacetileno. 52
- Figura 21. Emissão de fluorescência de solução em THF dos BODIPYs **48**, **49**, **56** e **57**, ($\lambda_{exc} = 520$ nm) substituídos com grupo aril. 55
- Figura 22. Espectros de RMN condizentes com a reação de tiocianação do BODIPY **1**. 57
- Figura 23: Espectro de absorção no Infravermelho (esquerda) e o espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (direita), obtidos para o composto tiocianado **58**. 58
- Figura 24. Espectros de RMN que levaram à confirmação estrutural do composto **66**. 63
- Figura 25. Atribuições dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C que nos permitiram definir a regioquímica da inserção do grupo tiocianato no BODIPY **27**. 67
- Figura 26. Efeito da tiocianação na absorção e emissão de BODIPYs. 72
- Figura 26. Absorção e emissão de BODIPYs tiocianados e tioalquilados. 73

Lista de Esquemas

- Esquema 1. Rota sintética proposta por Treibs e Kreuzer para acetilação do pirrol que resultou na obtenção sintética do primeiro BODIPY. 11
- Esquema 2. Estrutura, formas de ressonância e reatividade do pirrol, heterociclo usado como material de partida para a síntese de BODIPYs. 14
- Esquema 3. Síntese de BODIPYs a partir da reação de uma unidade pirrólica e um aldeído aromático pelo método de Lindsey. 15
- Esquema 4. Síntese de BODIPYs a partir da reação de uma unidade pirrólica com haletos ácidos ou anidridos cíclicos. 16
- Esquema 5. Síntese de BODIPYs a partir da reação de uma unidade pirrólica com outra unidade pirrólica formilada ou acilada. 17
- Esquema 6. Síntese de BODIPYs a partir da autocondensação de duas unidades pirrólicas formiladas. 17
- Esquema 7. Funcionalização de BODIPYs através da diversificação do aldeído aromático. 19
- Esquema 8. Funcionalização de BODIPYs através da diversificação da unidade pirrólica. 20
- Esquema 9. Exemplos de abordagens sintéticas visando a modificação do material de partida para a síntese de BODIPYs halogenados e com conjugação estendida. 21
- Esquema 10. Exemplo de substituições eletrofílicas (em cima, à esquerda) e nucleofílicas (em cima, à direita) do anel BODIPY. 22
- Esquema 11. Exemplos da aplicação de BODIPYs halogenados (esquerda) e não halogenados (direita) para a funcionalização direta do anel. 23
- Esquema 12. Modificação química de metilas ligadas ao núcleo BODIPY. 24
- Esquema 13. Métodos para realizar substituições no centro borônico de BODIPYs. 25
- Esquema 14. Síntese dos compostos **1**, **2**, **3** e **4**. 27
- Esquema 15. Síntese de uma pequena biblioteca de BODIPYs a partir da reação do 2,4-dimetilpirrol com aldeídos aromáticos. 31
- Esquema 16. Esquerda: Desproteção do BODIPY **9** para obtenção de composto catecol-substituído **10**. Direita: Mecanismo sensorial de **10** frente a estímulos oxidativos. 32

- Esquema 17. Conversão do BODIPY nitro-substituído **7** ao derivado aminado **11**.
Estão mostradas ainda duas abordagens aplicadas sem sucesso na obtenção de BODIPYs tio-substituídos a partir de **11**. 33
- Esquema 18. Conversão do BODIPY aminado **11** ao derivado **12** funcionalizado com um grupo isotiocianato. A partir da reação de **12** com cisteamina não foi possível isolar o composto desejado **13**, uma vez que ele é prontamente ciclizado levando à formação de **14**. 34
- Esquema 19. Síntese de BODIPYs não metilados nas posições 1, 3, 5, ou 7. 42
- Esquema 20. Síntese dos BODIPYs **19** e **20** a contendo átomos de cloro nas posições 3 e 5 do anel. 43
- Esquema 21. Acetilação e halogenação do pirrol para formação do intermediário **21**, utilizado na síntese do BODIPY halogenado **22**. 43
- Esquema 22. Cloração regioseletiva do BODIPY **15** para formação de **23**. 44
- Esquema 23. Substituição nucleofílica dos BODIPYs **16** e **15** utilizando respectivamente a piperidina e o α -cloroacetato de metila como nucleófilos. 45
- Esquema 24. Aplicação da substituição nucleofílica de BODIPYs halogenados para a síntese de novas sondas funcionalizadas. 48
- Esquema 25. Condensação de Knoevenagel aplicada aos BODIPYs **7** e **14**. 50
- Esquema 26. Reação de Suzuki aplicando ácido *trans*-estiril borônico para conversão de BODIPY iodado **22** ao derivado **39**. 51
- Esquema 27. Redução do BODIPY nitrado **44** ao derivado aminado **50** seguida da conversão ao isotiocianato **51**. 54
- Esquema 28. Aplicação da reação de Trofimov na formação de 4,5-dihidrobenzoindóis a utilização deles na síntese de BODIPYs. 54
- Esquema 29. Duas propostas mecanísticas para a reação de tiocianação de BODIPYs. 60
- Esquema 30. Aplicação da reação de tiocianação em BODIPYs não metilados. 62
- Esquema 31. Proposta mecanística que explica a tiocianação na posição 5 do BODIPY 3-piperidino-substituído **24**. 64
- Esquema 32. Proposta mecanística para a monotiocianação e ditiocianação dos BODIPYs **27**, **29** e **31**. 67

- Esquema 33: Aplicação sem sucesso do método de tiocianação em BODIPYs 3-aril e 3,5-diaril substituídos. 68
- Esquema 34: Tentativas sem sucesso de reduzir o BODIPY **60** ao respectivo tiol e de realizar a arilação pela reação de Liebeskind-Srogl. 69
- Esquema 35. Proposta do mecanismo da reação de tioalquilação de **60** com formação dos produtos desejados (**75-79**) e do subproduto com a ponte de dissulfeto (**80**). 71

Lista de Tabelas

Tabela 1. Informações gerais sobre algumas das técnicas laboratoriais baseadas em fluorescência disponíveis atualmente.	5
Tabela 2. Reações de substituição nucleofílica com o composto 19 .	46
Tabela 3. Reações de substituição nucleofílica com o composto 23 .	47
Tabela 4. Reação de Sonogashira do composto 20 com fenilacetileno.	51
Tabela 5. Arilação de BODIPYs com sais de fenil diazônio.	53
Tabela 6. Otimização da tiocianação do composto 1 .	56
Tabela 7. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C por espectroscopia de RMN bidimensional para o BODIPY tiocianado 58 .	59
Tabela 8. Tiocianação direta de uma biblioteca de 1,3,5,7 tetrametil BODIPYs.	61
Tabela 9. Estudos para otimização da ditiocianação do BODIPY 3 .	62
Tabela 10. Tiocianação de BODIPYs 3-substituídos	65
Tabela 11. Tiocianação de BODIPYs 3,5 disubstituídos.	66
Tabela 12. Formação de derivados tioalquilados a partir de BODIPYs tiocianados.	69

Lista de Abreviaturas e Siglas

- AMC: 7-Amino-4-methylcoumarin
- ANS: 8-Anilino-naphthalene-1-sulfonic acid
- BCECF: (2',7'-Bis-(2-carboxyethyl)-5-(and-6)-carboxyfluorescein)
- BODIPY: borodipirrometeno
- CCD: Cromatografia em camada delgada
- COSY: Correlation spectroscopy
- DAF-2: 4,5-Diaminofluorescein
- DCM: diclorometano
- DDQ: 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
- DEPT: Distortionless enhancement by polarization transfer
- DIPEA: diisopropiletilamina
- DiFMU: (6,8-Difluoro-7-Hydroxy-4-Methylcoumarin)
- DHR-123: Dihydrorhodamine 123
- DMA: dimetilacetamida
- DMF: dimetilformamida
- DMSO: dimetilsulfóxido
- EI: Electron ionization
- ESI: Electrospray ionization
- FAD: Flavin adenine dinucleotide
- FITC: Fluorescein isothiocyanate
- FWHM: Full width at half maximum (largura a meia altura)
- GFP: green fluorescent protein
- HMBC: Heteronuclear multiple-bond correlation
- HPTS: 8-Hydroxypyrene-1,3,6-Trisulfonic Acid
- HRMS: High-resolution mass spectrometry

HSQC: Heteronuclear single quantum correlation

IR: Infravermelho

Ka: Constante de ionização de ácido

Ksv: Constante de Stern-Volmer

LDA: lítio diisoproilamida

LRMS: Low-resolution mass spectrometry

LUMO: Lowest unoccupied molecular orbital

NBD: nitrobezoxidiazol

NCS: N-clorosuccinimida

NADH: Nicotinamide adenine dinucleotide

FRET: Fluorescence resonance Energy Transfer

PCR: Polymerase chain reaction

PET: Photoinduced electron transfer

p.f.: ponto de fusão

pH: potencial hidrogeniônico

pKa: potencial constante de ionização de ácido

RMN: Ressonância magnética nuclear

SN: Substituição nucleofílica

SNAr: Substituição nucleofílica aromática

t.a.: temperatura ambiente

TDP: 1,1'-Tiocarbonildi-2(1H)-piridona

TEA: trietilamina

TFA: ácido trifluoroacético

THF: tetrahidrofurano

TMS: tetrametilsilano

UV: Ultravioleta

Sumário

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de Figuras	iii
Lista de Esquemas	v
Lista de Tabelas	viii
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Fluorescência: Teoria e aplicabilidade analítica	1
1.2 Sondas Fluorescentes.....	5
<i>1.2.1 Pequenas moléculas orgânicas</i>	<i>7</i>
1.3 BODIPYs: Estrutura e propriedades gerais	11
1.4 Rotas de obtenção do BODIPY	14
1.5 Funcionalização e modificação química e de BODIPYs	18
<i>1.5.1 Modificação dos materiais de partida e intermediários</i>	<i>18</i>
<i>1.5.2 Modificação direta dos BODIPYs</i>	<i>21</i>
2. OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo geral.....	26
2.2 Objetivos específicos.....	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
3.1. Estabelecimento de métodos de síntese de BODIPYs	27
3.2 Biblioteca de BODIPYs 1,3,5,7 tetrametilados	31
<i>3.2.1 Síntese.....</i>	<i>31</i>
<i>3.2.2 Propriedades ópticas e analíticas</i>	<i>34</i>
3.3 Modificação química e diversificação fotofísica de BODIPYs	41
<i>3.3.1 Síntese de novos materiais de partida</i>	<i>41</i>
<i>3.3.2 Reações de Substituição</i>	<i>44</i>
<i>3.3.3 Condensações e acoplamentos</i>	<i>49</i>
<i>3.3.4 BODIPYs arilados</i>	<i>53</i>
3.4 Tiocianação direta de BODIPYs: Nova abordagem visando funcionalização	56
<i>3.4.1 Desenvolvimento de um método de Tiocianação</i>	<i>56</i>
<i>3.4.2 Tiocianação de BODIPYs 3,5-substituídos</i>	<i>64</i>
<i>3.4.3 Modificação química de BODIPYs tiocianados</i>	<i>68</i>

3.4.4 Propriedades Fotofísicas.....	71
4. CONCLUSÕES GERAIS.....	74
5. EXPERIMENTAL	76
5.1 Síntese	76
5.1.1 Procedimentos gerais.....	76
5.1.2 Síntese e descrição espectroscópica.....	76
5.2 Caracterização Fotofísica.....	117
6. REFERÊNCIAS	119
APÊNDICES.....	131

1. INTRODUÇÃO

1.1 Fluorescência: Teoria e aplicabilidade analítica

O termo “luminescência” foi introduzido no final do século XIX para descrever fenômenos luminosos que, em oposição à incandescência, não estão relacionados com aumento de temperatura.^{1,2} Em termos atuais, a luminescência pode ser descrita como a liberação de fótons a partir de um estado eletrônico excitado.¹ O estado excitado pode ser alcançado em resposta a diversos estímulos que são levados em conta para classificação dos tipos de luminescência. A eletroluminescência, por exemplo, é a luminescência em resposta a um estímulo elétrico, enquanto a bioluminescência ocorre em resposta a um processo bioquímico. Nesse contexto, a fluorescência, assim como a fosforescência, se insere no conceito de fotoluminescência, ou seja, ambos são fenômenos de liberação de fótons no qual o estado eletrônico excitado é obtido após excitação luminosa.^{1,3}

Em geral, a primeira descrição do fenômeno da fluorescência é atribuída a Nicolas Monardes, um botânico espanhol que já no século XVI descreveu o aparecimento de uma cor azul peculiar em uma infusão medicinal conhecida como *Lignum Nephriticum*.⁴ Todavia, apenas em meados do século XIX, após estudo minucioso do fenômeno da fluorescência em soluções de sulfato de quinina, que John Herschel publicou um tratado acerca do fenômeno, descrito por ele como refrangibilidade da luz.^{1,3,5} Pouco depois, Sir George Gabriel Stokes se aprofundou no estudo de soluções de sulfato de quinina e publica uma série de observações acerca do fenômeno, propondo pela primeira vez o uso do termo “fluorescência”, cunhado a partir de *fluorspath*, nome dado a uma rocha que também emite fluorescência.^{1,3,6}

Em 1933, em um artigo publicado na *Nature*,⁷ Jablonski propõe um diagrama de níveis energéticos que pode ser visto como precursor de diagramas de transições eletrônicas modernos, conhecidos até hoje como diagramas de Jablonski.⁸ Esse tipo de diagrama é utilizado como modelo para explicar os processos físicos que ocorrem no fenômeno de fotoluminescência.

Segundo o modelo (Figura 1), com a absorção de um fóton a espécie fluorescente passa de um estado singlete não excitado (estado S0) para um dos níveis vibracionais de um estado singlete excitado (níveis S1, S2), num processo que ocorre na ordem de 10^{-15} segundos. A fluorescência resulta do retorno ao estado fundamental que ocorre na ordem de 10^{-9} segundos. Processos não radiativos de conversão interna e relaxação vibracional ocorrem na ordem de 10^{-12} segundos, de maneira que a transição radiativa da fluorescência ocorre a partir do nível vibracional 0 do

estado S1, caracterizando a regra de Kasha.⁹ Na fosforescência, antes da transição radiativa, ocorre um cruzamento inter-sistemas levando a espécie química a um estado tripleto, cuja transição radiativa ocorre na ordem de 10^{-3} segundos^{1,3}.

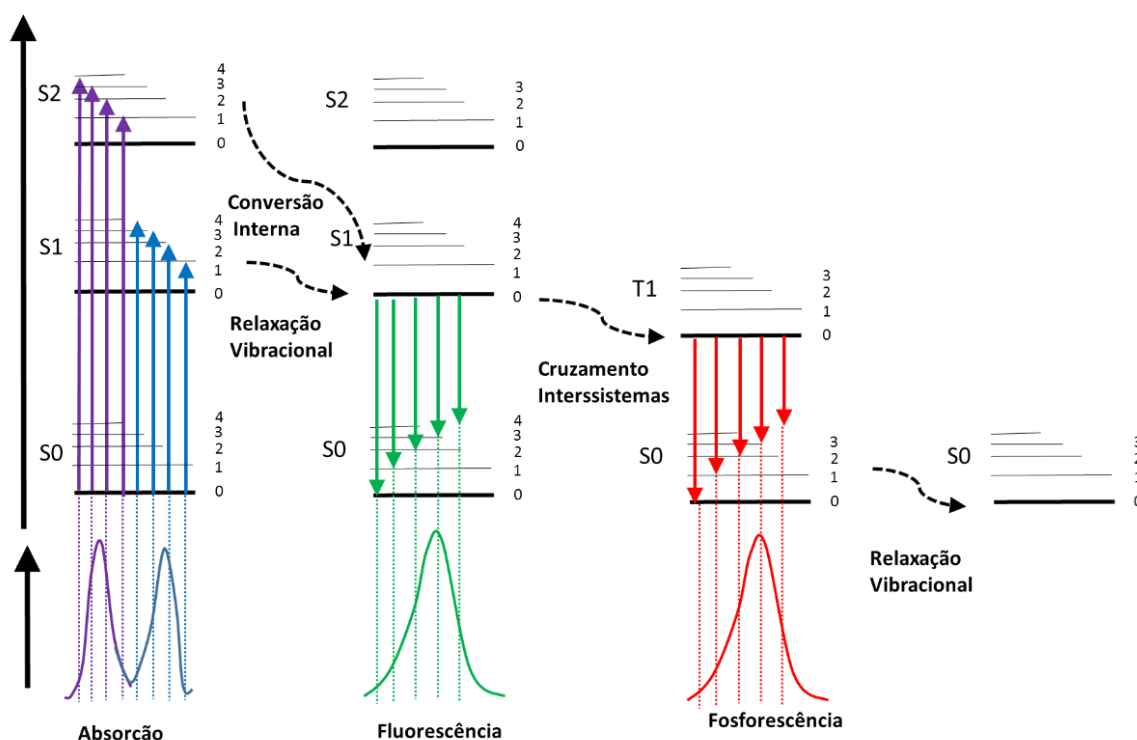


Figura 1. Representação do diagrama de Jablonski. Estão mostrados: absorção com excitação aos níveis S1 (roxo) e S2 (azul); emissão de fluorescência a partir do nível S1 (verde); e emissão de fosforescência a partir do nível T1 (vermelho). Transições não radiativas estão mostradas na forma de setas tracejadas pretas.

Em seus experimentos com sulfato de quinina, Sir Stokes foi perspicaz em observar que a emissão de fluorescência depende da natureza da luz utilizada para excitação.^{3,6} Ocorre que a fluorescência é observada sempre em comprimentos de onda maiores do que a fonte de excitação, resultado da perda energética relacionada aos processos não radiativos. Devido à perda energética resultante do cruzamento inter-sistemas, espera-se um desvio ainda maior na emissão da fosforescência. Em homenagem aos seus estudos pioneiros, a diferença entre o comprimento de onda de máxima absorção (λ_{abs}) e o de máxima emissão (λ_{abs}) é conhecido como o desvio de Stokes.^{1,3}

Nem todos os fótons absorvidos resultam em emissão de fluorescência, uma vez que transições não radiativas competem com transições radiativas. A razão entre fótons emitidos e fótons absorvidos é conhecido como rendimento quântico de fluorescência (Φ_f), grandeza que, assim como o coeficiente de absorvidade molar, determina o brilho de um fluoróforo. O tempo médio que a espécie fluorescente permanece no estado excitado antes da transição radiativa

também é uma propriedade importante, conhecida como tempo de vida de fluorescência (τ). Ambas são propriedades determinadas pela natureza da espécie fluorescente e o meio em que está dissolvida.^{1,3}

Além dos seus trabalhos pioneiros acerca do fenômeno de fluorescência, Sir George Stokes também pode ser considerado o primeiro a propor a fluorescência como uma importante ferramenta analítica.¹⁰ Em um discurso realizado aos colegas da sociedade de química no ano de 1864¹¹ o pesquisador previu que a fluorescência teria potencial analítico. Em 1867, Goppelsroder publicou¹² a primeira análise fluorimétrica da história,¹⁰ ao explorar a fluorescência do complexo entre o cátion Al(III) e o flavonol morina para a determinação do cátion em questão. Nesse artigo é introduzido o termo “Fluoreszenzanalyse”, que pode ser traduzido do alemão como “análise por fluorescência”, “análise fluorimétrica” ou “fluorimetria”, marcando o início dessa ciência.

O uso de técnicas baseadas em fluorescência traz uma série de vantagens em relação a outras técnicas. Quando comparado a métodos colorimétricos baseados na absorbância, técnicas fluorimétricas são muito mais sensíveis e seletivas.¹⁰ Além disso, a baixa prevalência de espécies fluorescentes em relação às espécies cromofóricas também está relacionado com melhor desempenho da fluorescência como técnica analítica.¹⁰ Cabe salientar, ainda, que a fluorescência é um fenômeno muito influenciado pelo meio, fator explorado no desenvolvimento de sensores de diversos tipos.^{13,14}

A natureza do solvente pode ter efeitos profundos na emissão de um fluoróforo, caracterizando o fenômeno de solvatocromismo. Em geral, o efeito de solventes resulta do fenômeno de relaxação induzida por solventes, no qual a reorganização das moléculas de solvente leva à estabilização do estado excitado e diminuição da energia do sistema.^{1,3} Solventes mais polares estabilizam de maneira mais eficiente o estado excitado, de maneira que uma das principais aplicações do solvatocromismo é o estudo da polaridade local de macromoléculas.^{3,13,14}

A supressão ou “*quenching*” da fluorescência é um fenômeno no qual a fluorescência de uma espécie fluorescente é suprimida na presença de algum analito, devido a colisões (*quenching* dinâmico) ou complexação (*quenching* estático) entre analito e fluoróforo.^{3,15} No *quenching* dinâmico, a colisão do analito com a espécie fluorescente no estado excitado resulta na sua deexcitação por uma via não radiativa, enquanto no *quenching* estático um complexo não fluorescente entre a espécie fluorescente e o analito é formado.³ O *quenching* da fluorescência é uma abordagem muito explorada no desenho de sensores fluorescentes, principalmente para cátions e ânions.^{3,16} Métodos analíticos baseados na diminuição da intensidade da fluorescência

são conhecidos como métodos “*turn-off*”, enquanto a abordagem oposta, no qual observa-se o aumento da fluorescência, é conhecida como método “*turn-on*”.

Outro fenômeno com aplicações analíticas é a transferência de energia de ressonância por fluorescência, ou FRET (do inglês *Fluorescence Resonance Energy Transfer*).³ Esse fenômeno ocorre entre uma espécie doadora no estado excitado que, por interação dipolar, excita uma espécie aceptora, resultando por fim na emissão da fluorescência desta última espécie.¹⁷ Para que o processo ocorra é necessário um *overlap* entre o espectro de emissão do doador e o espectro de absorção do acceptor, todavia sem que haja emissão de fóton pelo doador ou absorção pelo acceptor. A dependência entre a transferência de energia e a distância entre doador e acceptor é utilizada extensivamente como base para desenvolvimento de métodos analíticos.¹⁷ Uma das aplicações mais comuns do FRET é na medição da distância entre dois pontos de uma macromolécula,¹⁸ sendo uma técnica muito utilizada na determinação estrutural deste tipo de compostos, no desenho de sensores fluorescentes de alta seletividade e no estudo espacial e temporal das interações moleculares por microscopia.¹⁹

A intensidade da emissão é um parâmetro comumente utilizado em técnicas analíticas, todavia outra vantagem da fluorescência é a sua multidimensionalidade, de maneira que diversos parâmetros podem ser analisados.²⁰ Em algumas situações, desvios no espectro de emissão de fluorescência são utilizados como parâmetro analítico. Algumas sondas fluorescentes são desenhadas para que ocorra desvio espectral na presença de um analito, conhecidas como sondas ratiométricas.²¹ A polarização, ou anisotropia, da luz emitida por fluorescência é um outro parâmetro utilizado em métodos analíticos.²² e a sua aplicação se baseia na relação inversa entre o grau de rotação de um sistema e polarização da fluorescência emitida.²³ O tempo de vida de fluorescência também é utilizado como parâmetro analítico com algumas vantagens. O tempo de vida independe da concentração e da intensidade de emissão da espécie fluorescente,³ sendo uma maneira eficaz de evitar a necessidade de medições quantitativas da intensidade da fluorescência.

O século XX acompanhou um crescimento tanto na quantidade quanto na complexidade de métodos analíticos baseados na fluorescência, de maneira que é seguro dizer que grande parte do progresso científico desse período não existiria sem a aplicação da fluorescência como ferramenta analítica. Nas áreas biológicas e da saúde a fluorescência encontra aplicação na microscopia, imunoenaios, biologia molecular, engenharia genética, análises clínicas, análises toxicológicas dentre outras áreas, e a tabela 1 sumariza algumas das principais técnicas baseadas em fluorescência.

Tabela 1. Informações gerais sobre algumas das técnicas laboratoriais baseadas em fluorescência disponíveis atualmente.

Técnica	Desenvolvimento	Observações gerais
Microscopia de fluorescência	Início do séc. XX	- Alternativa viável para aumentar a especificidade e o contraste das técnicas microscópicas ²⁴ - Diversas técnicas avançadas de microscopia por fluorescência estão disponíveis atualmente
Imunofluorescência ²⁵	Década de 1950	- Microscopia baseada em anticorpos fluorescentes - Visualização de estruturas celulares específicas
Microscopia confocal ²⁶	Segunda metade do séc. XX	- Desenvolvida após a descoberta do laser e a focalização pontual - Alta resolução e melhor contraste - Estudos de amostras vivas em tempo real - Possibilidade de imagens tridimensionais
Microscopia de dois fótons ^{27,28}	Aplicada partir da década de 1990	- Excitação por dois fótons de baixa energia ao invés de um fóton de alta energia, com menos dano à amostra - Emissão com desvio anti-Stokes - Imagens de alta resolução em espécies vivas - Eliminação da contaminação do laser de excitação
Microscopia por tempo de vida de fluorescência ^{29,30}	Década de 1990	- Imagem é obtida a partir do tempo de vida de fluorescência ao invés da intensidade de fluorescência - Menos dano à amostra e contaminação - Imagens de alta resolução em espécies vivas
Imunoensaios por fluorescência ^{31,32}	Década de 1970	- Baseados na utilização de anticorpos fluorescentes - Alternativa segura a ensaios com radioisótopos - Existem ensaios baseados em anisotropia, ³³ tempo de vida ³⁴ e FRET ³⁵
Citometria de fluxo ³⁶	Década de 1970	- Análise de suspensões de células baseada na fluorescência - Muito utilizada na análise de células sanguíneas
PCR em tempo real ³⁷	Fim do século XX	- Adaptação da técnica de PCR utilizando sondas fluorescentes para análises quantitativas

1.2 Sondas Fluorescentes

O desenvolvimento de diversas classes de espécies fluorescentes foi fundamental para disseminação da fluorescência como parâmetro analítico. A fluorescência não é um fenômeno corriqueiro, de maneira que sondas fluorescentes são primordiais para grande maioria das técnicas laboratoriais baseadas em fluorescência. A exceção são os experimentos baseados na fluorescência intrínseca de algumas amostras ou biomoléculas (Figura 2). O sulfato de quinina,³⁸ produto natural isolado no séc. XIX de espécies da cinchona³⁹ e explorado por Stokes e Herschel em seus estudos, é considerado o primeiro fluoróforo quimicamente definido

da história.⁴⁰ Outros produtos naturais com fluorescência endógena incluem aminoácidos aromáticos, como o triptofano, tirosina e fenilalanina; vitaminas, como o retinol, ácido fólico; coenzimas como NADH e FAD; e pigmentos como melanina e clorofila.³

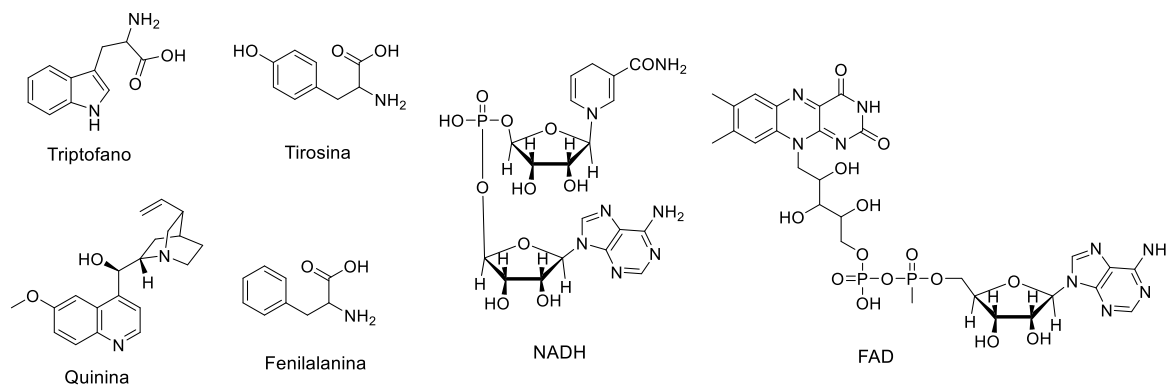


Figura 2. Exemplos de compostos orgânicos fluorescentes de ocorrência natural.

Na grande maioria das vezes o analito de interesse não possui fluorescência intrínseca, sendo necessário a aplicação de fluoróforos para realização de ensaios baseados em fluorescência. Atualmente vários tipos de fluoróforos são conhecidos e, no que se refere à diversidade estrutural e ao número de publicações, as sondas fluorescentes são principalmente pequenas moléculas orgânicas aromáticas. Todavia, outros tipos de sondas fluorescentes estão disponíveis atualmente.⁴¹

Em geral, cátions metálicos não são fluorescentes, todavia, duas exceções a essa regra têm sido exploradas como sondas fluorescentes: európio (Eu^{3+}) e térbio (Tb^{3+}).⁴² A emissão desses lantanídeos, resultante de transições eletrônicas envolvendo o orbital $4f$, possui duas características peculiares: tempo de vida de fluorescência longo e desvio de Stokes grande,⁴³ o que estimulou a aplicação em bioensaios e microscopia baseados no tempo de vida de fluorescência. A aplicação de lantanídeos possibilita filtrar o sinal da autofluorescência presente em amostras biológicas, uma vez que decaimento temporal da autofluorescência ocorre na escala de nanossegundos. Ao ajustar o detector para coleta de emissão mais tardia é possível obter resultados com alta sensibilidade sem a interferência da autofluorescência.⁴³

Outra espécie fluorescente de origem inorgânica são os *quantum dots*, termo que engloba uma série de nanocristais de materiais semicondutores, como cádmio, enxofre, selênio, telúrio, cujas características fotofísicas variam com a composição e o tamanho.⁴⁴ Uma das peculiaridades dos *quantum dots* é a larga banda no espectro de absorção e excitação, o que possibilita a sua excitação eficiente numa faixa extensa do espectro eletromagnético. Essa característica possibilita, por exemplo, a excitação simultânea e eficiente de diversos *quantum dots* distintos

utilizando um mesmo feixe de excitação. Outra aplicação relacionada à banda de excitação é o uso de *quantum dots* como aceptores em sistemas de transferência de energia. Quanto à fluorescência, a banda de emissão é bem estreita e relativamente fácil de manipular, sendo possível construir *quantum dots* com características de emissão desejadas com modificações pontuais no processo de síntese.⁴⁵

Proteínas fluorescentes possuem grande importância como sondas fluorescentes, principalmente na área biológica. Esta aplicação somente se tornou possível e viável após a descoberta, determinação estrutural e clonagem da GFP (*green fluorescent protein*), isolada de espécies marinhas bioluminescentes.⁴⁶ Atualmente, outras proteínas fluorescentes similares à GFP já foram descritas e são utilizadas na rotina laboratorial. Em geral, essas proteínas possuem um cromóforo formado a partir de uma reação de ciclização do esqueleto proteico que forma um anel do tipo imidazol ou imidazolona, e pequenas modificações nesses cromóforos estão por trás de desvios espectrais em algumas proteínas da família do GFP.⁴⁷ A natureza proteica dessas sondas abre a possibilidade de diversificação da emissão através de mutagênese, a partir da qual diversas proteínas fluorescentes nunca isoladas na natureza e com emissão diversificada já foram obtidas. Outra vantagem é a possibilidade de clonar os genes e expressar essas proteínas em sistemas biológicos, sendo que esses genes são rotineiramente aplicados como gene repórter e a obtenção de linhagens celulares fluorescentes possibilita diversos estudos aplicando técnicas baseada na fluorescência.

1.2.1 Pequenas moléculas orgânicas

Apesar da importância das sondas citadas anteriormente, pequenas moléculas orgânicas constituem o principal tipo de sondas fluorescentes disponíveis e por muitas décadas a fluorescência foi estudada exclusivamente nesse tipo de composto⁴⁸. A emissão do *Lignum Nephriticum* descrita por Nicolas Monardes, por exemplo, ocorria devido à presença de matlalina que, assim como o sulfato de quinina utilizado por Herschel e Stokes, é uma pequena molécula orgânica fluorescente. A existência de insaturações em um sistema planar, que possibilite a formação de longos sistemas pi conjugados, é um pré-requisito estrutural para corantes fluorescentes orgânicos.⁴⁹ Diversos padrões estruturais desse tipo são conhecidos e aplicados como fluoróforos, e nesta sessão serão introduzidos os principais cromóforos fluorescente utilizados extensivamente como sondas.

Dentre as pequenas moléculas orgânicas, derivados sintéticos da xantona, como a fluoresceína e a rodamina, estão entre as sondas mais populares (Figura 3). A fluoresceína foi sintetizada

pela primeira vez em 1871 por acilação de Friedel Crafts a partir do resorcinol e do anidrido ftálico.⁵⁰ A rodamina se diferencia estruturalmente da fluoresceína pela substituição dos oxigênios ligado ao anel xantona por átomos de nitrogênio, tendo sido sintetizada pela primeira vez em 1905, numa reação similar partindo *meta*-amino fenóis.⁵¹ Uma peculiaridade da fluoresceína e da rodamina é a formação de uma espirolactona não fluorescente cuja reação de abertura já foi extensivamente explorada em ensaios analíticos do tipo “*turn-on*”.⁵²

A importância analítica dessa classe de compostos é bem refletida pela quantidade e diversidade de derivados xantênicos disponíveis comercialmente. O isotiocianato da fluoresceína, mais conhecido como FITC, é provavelmente a sonda fluorescente para marcação de biomoléculas mais conhecida, e se baseia na reatividade do grupo isotiocianato frente a aminas biológicas. O Texas Red, e muitos dos fluoróforos comercializados sob a marca AlexaFluor® e CAL Fluor®, também são derivados xantênicos. Outros fluoróforos derivados do xanteno incluem a pironina Y, um corante fluorescente para ácidos nucleicos; o DHR123, cuja a fluorescência só é observada após oxidação por espécies reativas de oxigênio; o BCECF, utilizado na medição de pH citoplasmático; e o DAF-2, sensor de óxido nítrico.

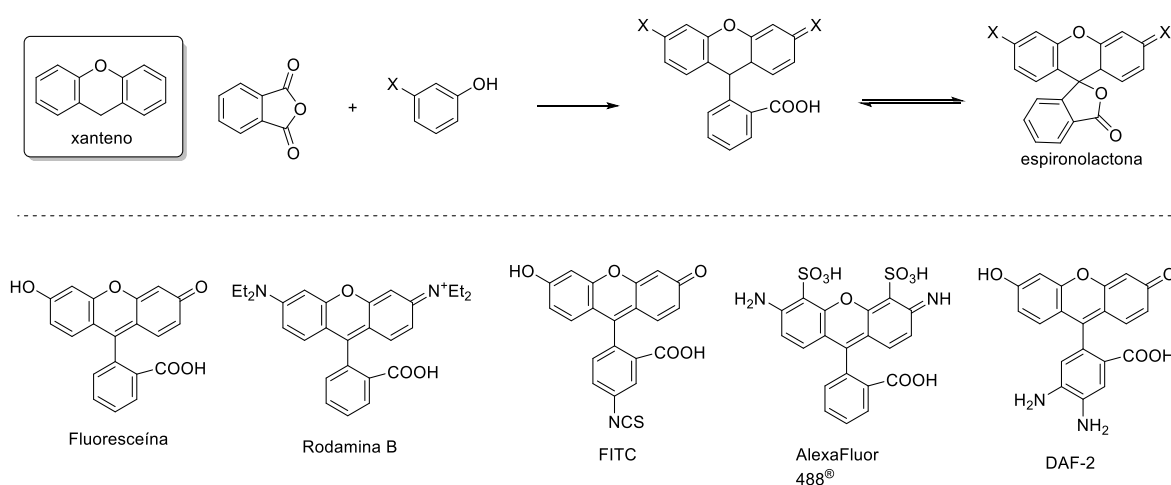


Figura 3. Estrutura do núcleo xanteno e de alguns derivados xantênicos utilizados como sondas fluorescentes. O método geral de síntese de fluoróforos xantênicos e a formação da forma espirolactona também estão mostrados.

Derivados α -benzopirona, mais conhecidos como cumarinas, são caracterizados por um anel benzeno fundido a um anel pirona, e emitem fluorescência azulada relativamente intensa, sendo muito aplicados como sondas fluorescentes (Figura 4).^{53,54} Ainda que diversas cumarinas de origem natural sejam conhecidas, métodos sintéticos de obtenção são conhecidos desde o século XIX^{55,56} e amplamente aplicados na síntese de sensores fluorescentes.⁵⁷ Além da própria cumarina, diversos outros derivados cumarínicos, são conhecidos, sendo que derivados da umbeliferona e da 7-amino cumarina estão entre os mais populares. Os fluoróforos

AlexaFluor350®, DiFMU, Pacific Blue®, AMC são todos derivados cumarínicos.

Diversos substratos enzimáticos, sintetizados a partir da estrutura da cumarina, estão disponíveis e refletem bem o desenho racional de sondas fluorescentes. Uma abordagem bastante empregada na construção de substratos enzimáticos é a modificação da hidroxila livre da umbeliferona, que resulta numa espécie menos fluorescente. Nesse caso, a conversão enzimática resulta na liberação da umbeliferona com o reestabelecimento da fluorescência. Cumarinas desenhadas especificamente para bioconjugação (funcionalizadas com succinimidil éster ou iodoacetamida) e para coloração de células (como a linha de fluoróforos CellTracker®), também são utilizadas frequentemente em ensaios biológicos.

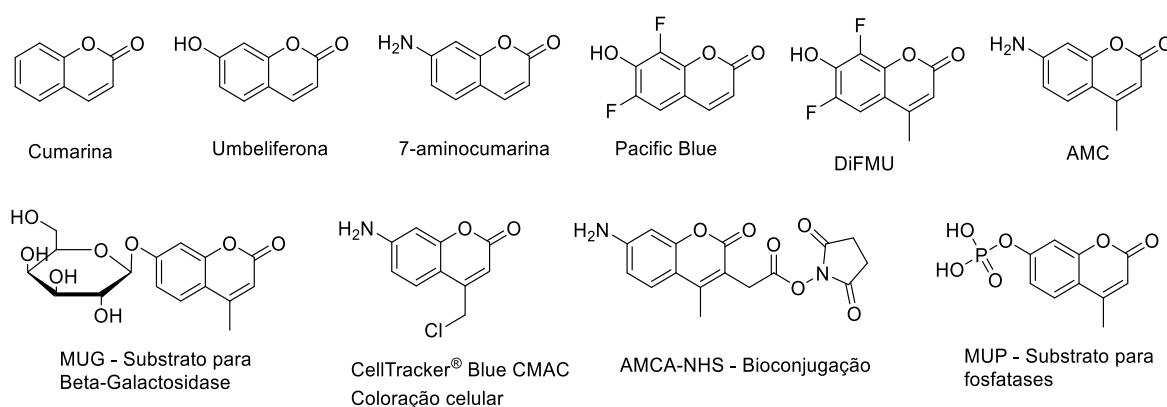


Figura 4. Estrutura da cumarina e de alguns derivados utilizados como sondas fluorescentes.

Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são muito conhecidos como poluentes ambientais, todavia, a emissão de fluorescência é uma característica comum nesse grupo de compostos (Figura 5).⁵⁸ A espectroscopia de fluorescência é amplamente utilizada como um método simples e barato para detecção ambiental desses compostos,⁵⁸ todavia alguns hidrocarbonetos aromáticos policíclicos encontraram aplicações analíticas com sondas fluorescentes exógenas.

O naftaleno e o pireno podem ser citados como os hidrocarbonetos aromáticos mais utilizados como sondas fluorescentes em diversas aplicações. Fluoróforos naftalênicos de uso comum incluem a sonda tio-reativa Badan, e o sensor de fluidez membranar laurdan.⁵⁹ Outro exemplo é o ANS,⁶⁰ cujo solvatocromismo é explorado até hoje na caracterização de sítios hidrofóbicos em proteínas.⁶¹ O amarelo lúcifer e as sondas da classe dansyl também possuem o anel naftaleno em sua estrutura. Dentre os fluoróforos pirênicos, derivados sulfonados como o ácido pirenossulfônico, o AlexaFluor405® e o HPTS são muito utilizados.

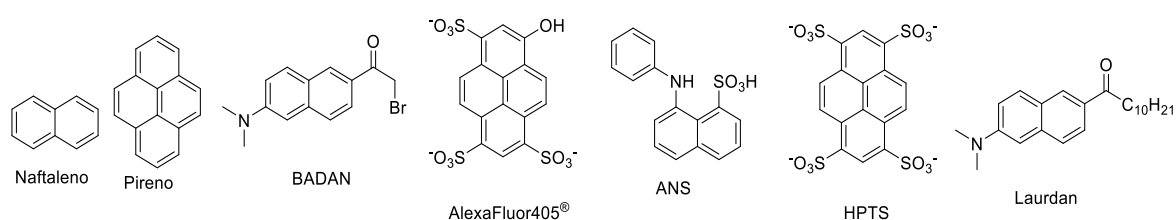


Figura 5. Estrutura do naftaleno e do pireno com alguns derivados utilizados como sondas fluorescentes.

As cianinas são corantes formados por um nitrogênio quaternário e um terciário, geralmente partes de uma estrutura heterocíclica, ligados por uma cadeia polimetínica ressonante com número ímpar de carbonos a um nitrogênio neutro (Figura 6).⁶² Sintetizadas pela primeira vez em 1856, são utilizados desde o século XIX em diversas aplicações tecnológicas e mais recentemente como sondas fluorescentes.⁶³ As merocianinas são compostos similares no qual um dos nitrogênios é substituído por um oxigênio, com a forma neutra e zwitterionica em ressonância.⁶⁴

Dentre as cianinas utilizadas como sondas fluorescentes, derivados da indocianina, contendo o núcleo indólico estão entre as mais difundidas e podem ser exemplificadas pelos fluoróforos da linha “Cy”, comercializados pela *Molecular Probes*® e os fluoróforos da linha “quasar” comercializados pela Biosearch Technologies (Figura 6). Cianinas com a estrutura fechada, como o Cy3b em geral possuem melhores propriedades fotofísicas devido à rigidez do sistema. Sondas cianínicas derivadas do benzoxazol, como o DiOC5(3), DiOC6(3) e DODC; do benzimidazol, como JC-1; e do benzotiazol, como o DiSC2(3) e o DTDCI também são encontrados. Entre as merocianinas, vale citar a merocianina 540, um corante fluorescente aplicado na coloração do axônio.

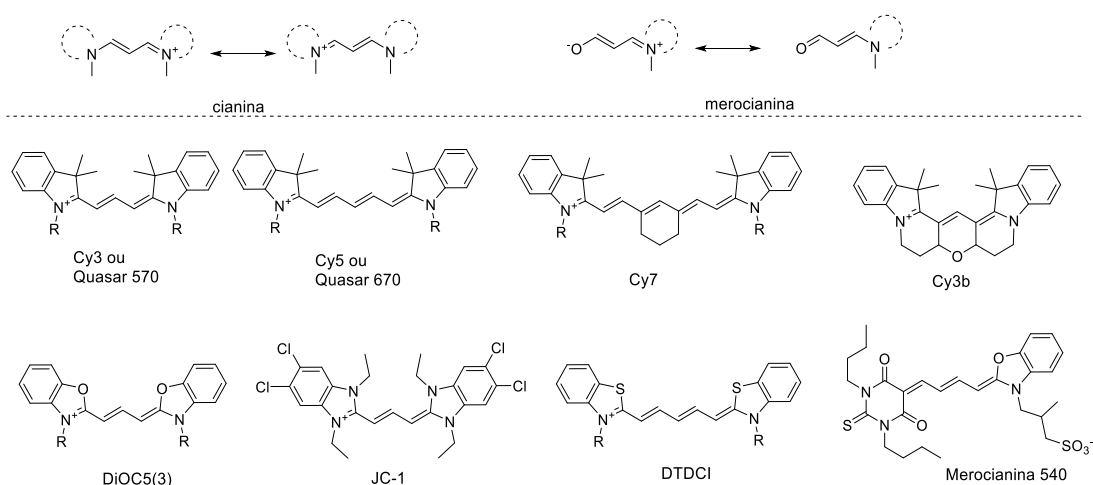


Figura 6. Estrutura do esqueleto básico das cianinas e merocianinas e de alguns derivados utilizados como sondas fluorescentes

Além das classes de fluoróforos orgânicos citadas, diversos outros compostos encontraram aplicações como sondas fluorescentes. Outros núcleos presentes em corantes fluorescentes disponíveis comercialmente incluem a acridina, acridona, fenoxazina, fenantridina, bimane, bisbenzimidazina, indol, esquaraina, diarilmetano, nitrobezoxidiazol (NBD), oxonol dentre outros (Figura 7). O foco do nosso grupo de pesquisa e desse relatório são derivados borodipirrometenos, que serão mais discutidos nas próximas sessões.

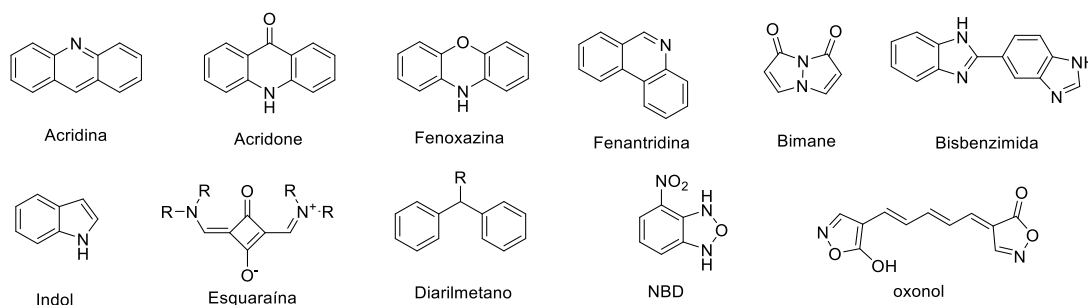
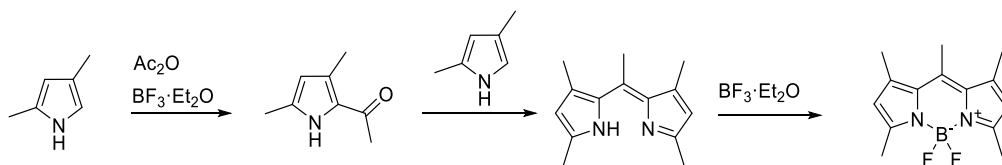


Figura 7. Estrutura de diversos esqueletos encontrados em fluoróforos disponíveis comercialmente

1.3 BODIPYs: Estrutura e propriedades gerais

Os borodipirrometenos são compostos contendo o núcleo 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno, mais conhecidos pelo acrônimo “BODIPY”, termo que será utilizado nesse texto para se referir a esse grupo de fluoróforos.⁶⁵ Os BODIPYs estão entre os fluoróforos mais conhecidos e com aplicação mais difundida, e são o objeto de estudo do nosso grupo de pesquisa e o tema principal desta tese de doutorado. A descoberta desse núcleo fluorescente ocorreu em 1968, quando Treibs e Kreuzer,⁶⁶ na tentativa de realizar a acetilação do 2,4-dimetil pirrol com anidrido acético e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, obtiveram um produto desconhecido fluorescente. A estrutura desse composto inesperado foi elucidada como sendo o primeiro BODIPY (Esquema 1).



Esquema 1. Rota sintética proposta por Treibs e Kreuzer para acetilação do pirrol que resultou na obtenção sintética do primeiro BODIPY

Embora conhecidos desde o final da década de 1960, poucos artigos científicos abordando esse novo grupo de compostos foram publicadas nas duas décadas seguintes. Foi apenas em 1987, com a publicação de uma patente⁶⁷ da *Molecular Probes*®, empresa especializada em comércio de produtos fluorescentes, que esta classe de fluoróforos teve sua aplicação tecnológica reconhecida e difundida. A *Molecular Probes*®, atualmente subsidiária do conglomerado *Life*

Technologies®, continua sendo a principal companhia envolvida na comercialização de BODIPYs. Com o reconhecimento da aplicabilidade desses compostos, observou-se um aumento exponencial na quantidade de artigos científicos e patentes descrevendo compostos desta classe (Figura 8).⁶⁸

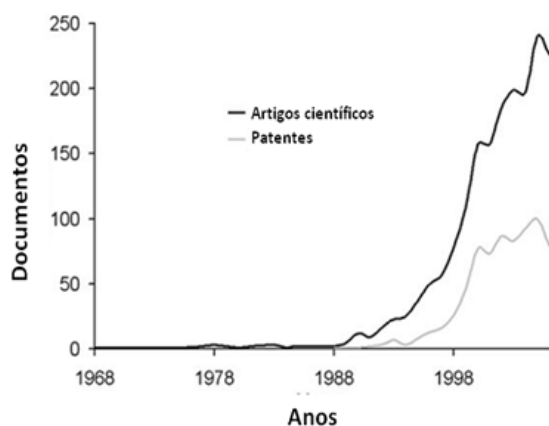


Figura 8. Quantidade anual de publicações científicas descrevendo fluoróforos BODIPY nos 40 anos seguindo a publicação do primeiro BODIPY (adaptado de Ulrich et al., 2008, com permissão da editora).⁶⁸

Estruturalmente, os BODIPYs possuem um núcleo formado por duas unidades pirrólicas, unidas por uma ponte metino, que estão complexadas, através do par de elétrons não ligantes do nitrogênio pirrólico, a um átomo de boro (geralmente um grupo difluoroboril),⁶⁹ sendo derivados pirrólicos similares a porfirinas, porfirazinas e ftalocianinas (Figura 9). As dipirrininas, assim como as porfirinas, são conhecidas pela capacidade de complexação com íons metálicos. Ainda que diversos complexos metálicos de dipirrininas com propriedades interessantes tenham sido publicados,⁷⁰ em geral as propriedades fotofísicas dos BODIPYs são superiores às de outros complexos, o que estimulou o interesse maior por essa classe.

As formas canônicas do núcleo BODIPY (Figura 9) se assemelham às de um corante cianina monometínico,⁷¹ todavia com rigidez estrutural resultante da complexação.⁶⁸ A ausência de fluorescência nas dipirrininas reflete a necessidade da complexação para a obtenção de uma espécie fluorescente. Acredita-se que a rigidez estrutural do núcleo BODIPY esteja por trás dos seus altos rendimentos quânticos de fluorescência, o que, aliado ao coeficiente de absorvidade molar relativamente alto, confere brilho intenso a esse grupo de fluoróforos.⁶⁸ O sucesso do BODIPY estimulou a utilização da coordenação com boro tetravalente como meio de fixar a estrutura de outros cromóforos com o intuito de obter novos corantes com propriedades fotofísicas melhoradas.⁷²

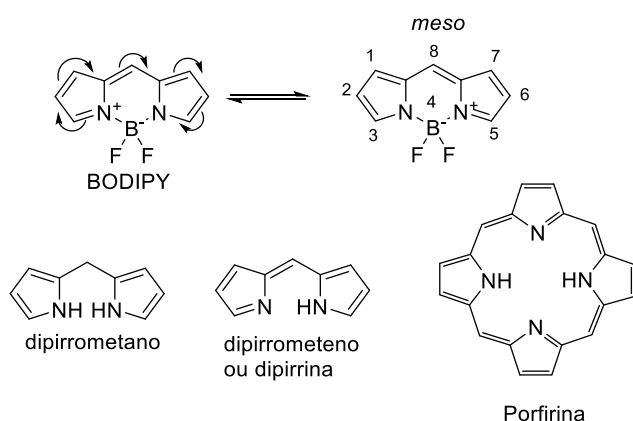


Figura 9. Acima: Estrutura básica do núcleo BODIPY mostrando as formas de ressonância e a numeração do anel. Abaixo: Estrutura de outros derivados pirrólicos relevantes

Além do brilho intenso, algumas outras características típicas dos BODIPYs estão relacionadas com sua ampla aplicação como sondas fluorescentes. Em geral, observa-se um pico intenso de absorção na região visível do espectro eletromagnético referente à transição S_0-S_1 ($\pi-\pi^*$) entre 500 e 525 nm (coeficiente de absorvidade molar entre 40.000 a 80.000 $M^{-1}cm^{-1}$). A transição vibracional 0-1 é em geral observada como um ombro do pico principal e a transição S_0-S_2 pode ser observada como uma banda larga e pouco intensa de absorção abaixo de 480 nm.⁷³ A emissão é observada como um pico fino e intenso com desvio de Stokes pequeno.⁷³⁻⁷⁵ Com algumas exceções^{76,77} o estado triplete dos BODIPYs é raramente populado e a fosforescência não é comumente observada. Vale citar que os BODIPYs são relativamente estáveis, bem como solúveis em solventes orgânicos e em geral não formam agregados.

A versatilidade química é sem dúvida um outro ponto positivo dos BODIPYs. Atualmente existem diversos métodos de modificação química do núcleo BODIPY que são aplicados para funcionalização e diversificação fotofísica. A biblioteca de BODIPYs disponíveis comercialmente na *Molecular Probes*® (Figura 10) reflete não só a importância dos BODIPYs como sondas fluorescentes, mas também a possibilidade de obtenção de BODIPYs com propriedades diversas através de modificações pontuais na estrutura do núcleo BODIPY. Métodos de síntese e modificação química e fotofísica dos BODIPYs serão abordados com mais detalhes posteriormente.

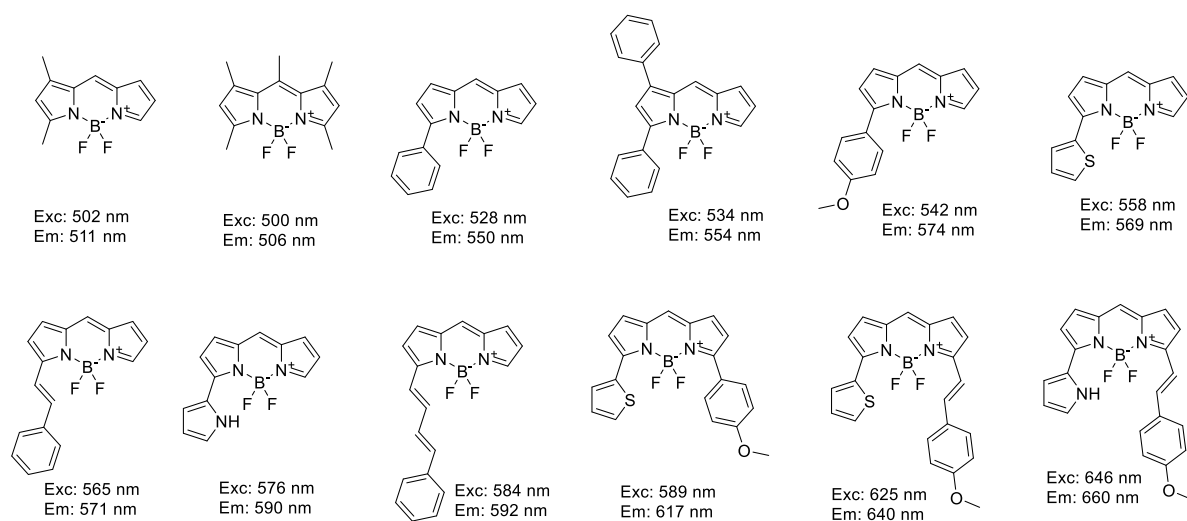
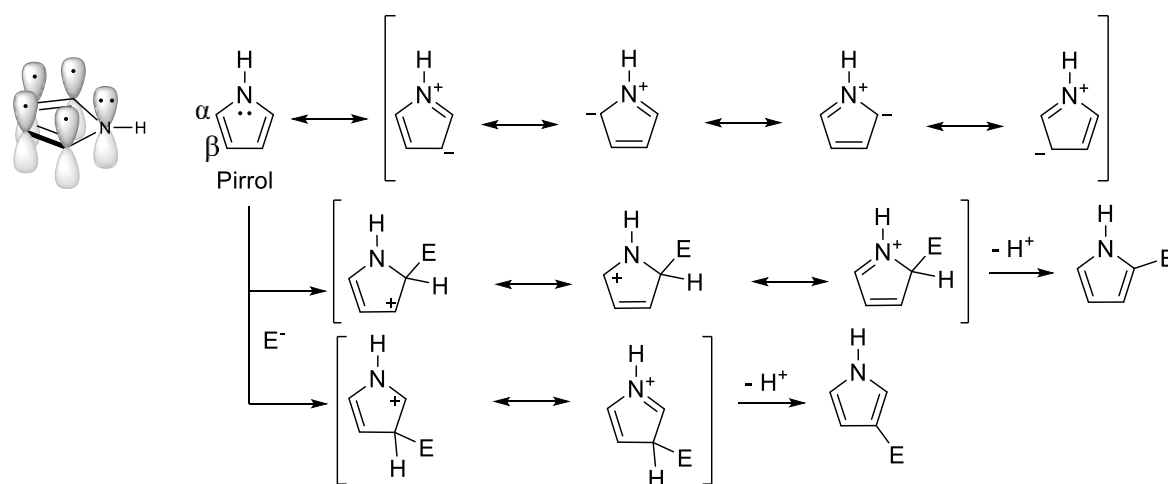


Figura 10. Estrutura química e comprimento de onda de máxima absorção e emissão de alguns BODIPYs disponíveis comercialmente. É possível notar que modificações estruturais no núcleo BODIPY possibilitam o desenho de sondas com emissão de fluorescência em uma faixa extensa do espectro eletromagnético

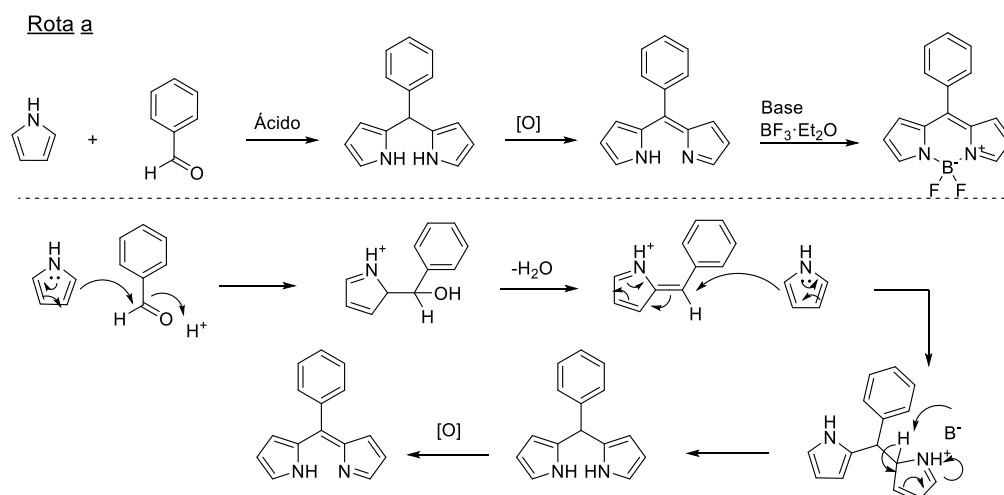
1.4 Rotas de obtenção do BODIPY

A síntese de BODIPYs é realizada a partir de derivados pirrólicos, explorando a nucleofilicidade da posição α desse heterociclo. O pirrol é um heterociclo aromático de cinco átomos, contendo um nitrogênio cujo par de elétrons não ligante está em ressonância com as insaturações, assemelhando-se em reatividade às enaminas. O caráter doador do nitrogênio no pirrol faz dele um heterociclo rico em elétrons e com alta propensão a reações de substituição eletrofílica (Esquema 2). Como pode ser visto nas formas de ressonância do pirrol, todas as posições possuem caráter nucleofílico, todavia a posição α é mais propensa a substituição eletrofílica devido à maior estabilidade do intermediário formado (Esquema 2).⁷⁸



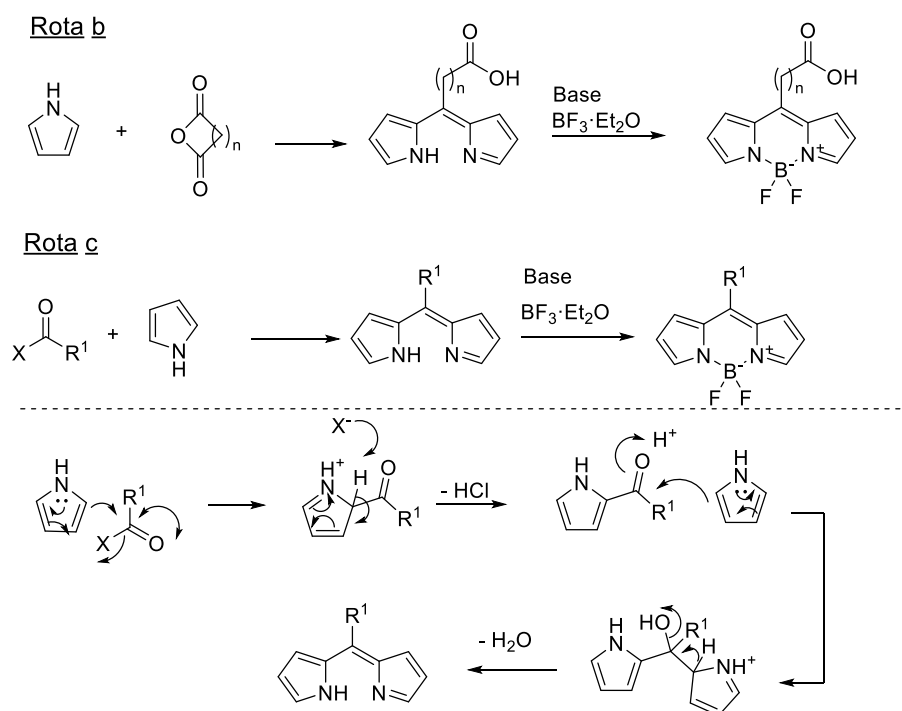
Esquema 2. Estrutura, formas de ressonância e reatividade do pirrol, heterociclo usado como material de partida para a síntese de BODIPYs.

BODIPYs *meso*-substituídos podem ser obtidos a partir da reação de unidades pirrólicas com aldeídos aromáticos, cloretos ácidos ou anidridos cíclicos (Esquema 3, rota a). A reação de unidades pirrólicas com aldeído aromático em meio ácido resulta na formação de um dipirrometano *meso*-substituído, método geralmente conhecido como método de Lindsey.^{70,79-81} A oxidação do dipirrometano, normalmente realizada com DDQ ou cloranil, leva à formação da dipirrina,⁷⁰ que pode ser convertida ao BODIPY numa reação de complexação com $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, em meio básico. A polimerização de pirrol é uma reação paralela muito comum que pode dificultar a purificação e afetar o rendimento do produto desejado. Uma adaptação metodológica utilizada para driblar esses problemas é a utilização de grande excesso de pirrol, que em geral possibilita a obtenção do produto desejado com rendimentos melhores. O uso de unidades pirrólicas com uma das posições α protegida é comumente empregado na síntese de BODIPYs, pois são menos propícias a polimerização e não demandam a utilização de grande excesso do heterociclo.^{65,68,69}



Esquema 3. Síntese de BODIPYs a partir da reação de uma unidade pirrólica e um aldeído aromático pelo método de Lindsey.

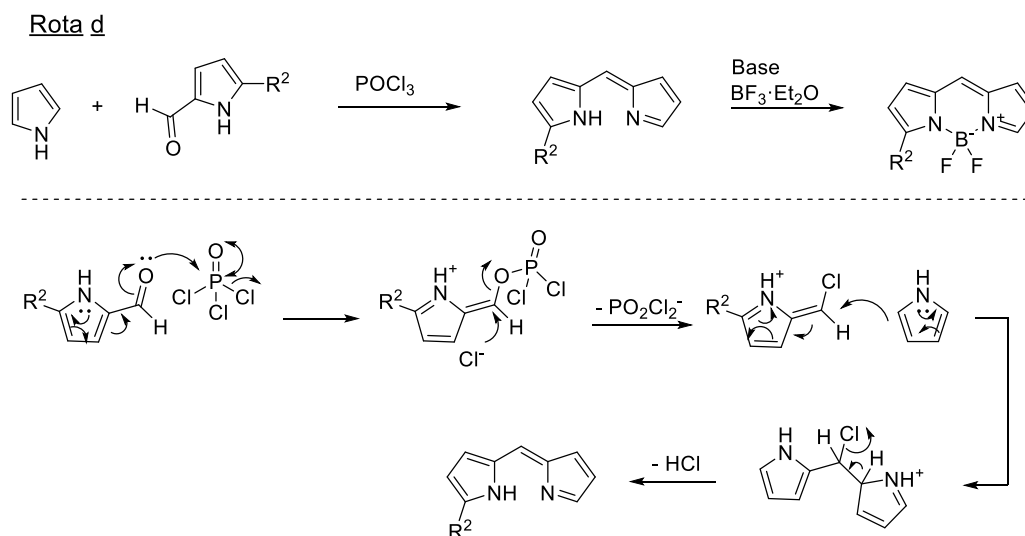
Diferentemente da rota citada anteriormente, a reação com anidrido cíclico (Esquema 4, rota b) ou cloreto de acila (Esquema 4, rota c) geralmente não demanda a utilização de um ácido para catalisar a reação.^{82,83} Outra diferença está no fato de que com essas abordagens observa-se a formação direta da dipirrina, o que pode ser uma vantagem. A ausência de etapa de oxidação permite a síntese de BODIPYs com substituintes *meso* não-aromático, que são impossíveis de serem obtidos a partir de aldeídos, uma vez que a oxidação de dipirrometanos com substituintes *meso* não-aromáticos em geral não é trivial.⁶⁵ A preparação de BODIPYs a partir de anidridos cíclicos, como anidrido maleico, anidrido succínico e anidrido ftálico, é uma rota valiosa pois possibilita a obtenção de BODIPYs carboxilados, que podem ser aplicados em acoplamentos.⁸²



Esquema 4. Síntese de BODIPYs a partir da reação de uma unidade pirrólica com haletos ácidos ou anidridos cíclicos.

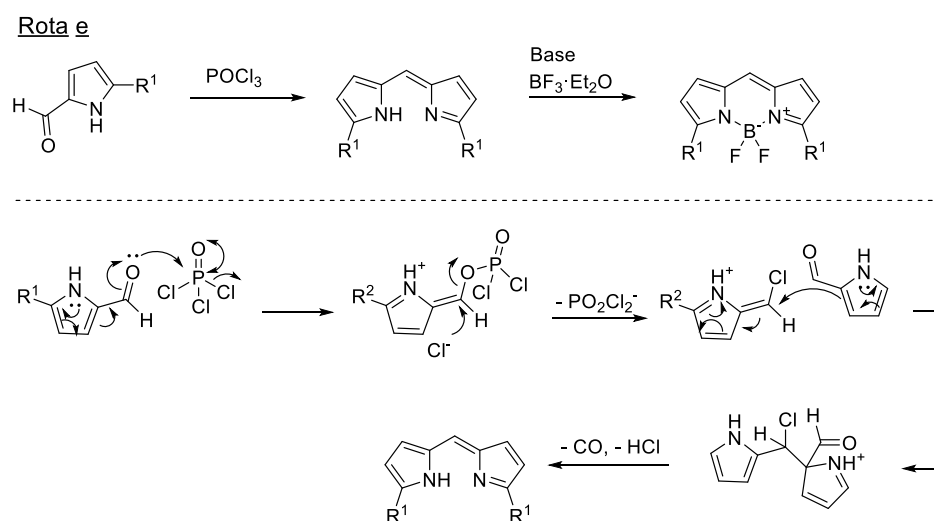
Outra rota explorada para síntese de BODIPYs se baseia na utilização unidades pirrólicas carboniladas na posição α do anel. O ataque nucleofílico de uma outra unidade pirrólica, geralmente na presença de cloreto de fosforila (POCl_3), resulta na formação da dipirrina que é por fim convertida ao BODIPY (Esquema 5, rota d).⁸⁴ O POCl_3 reage com a carbonila por um mecanismo semelhante às etapas iniciais da reação de *Vilsmeier-Haack*, a partir do qual um intermediário halogenado eletrofílico é obtido e convertido à dipirrina após o ataque da segunda unidade pirrólica.

Os materiais de partida para essa síntese pode ser uma unidade pirrólicas formilada, sendo um BODIPY não *meso*-substituído formado,⁸⁴ enquanto o uso de unidades pirrólicas aciladas resulta em um BODIPY *meso*-substituído.⁸⁵ A vantagem dessa abordagem está na possibilidade de sintetizar BODIPYs assimétricos, ou seja, com diferentes substituintes em cada unidade pirrólica.



Esquema 5. Síntese de BODIPYs a partir da reação de uma unidade pirrólica com outra unidade pirrólica formilada ou acilada.

Mais recentemente uma rota baseada na autocondensação de unidades pirrólicas formiladas para a síntese de BODIPYs foi descoberta casualmente (Esquema 6, rota e). Foi demonstrado que a partir da reação de dois equivalentes de 2-formil pirróis com 1 equivalente de POCl_3 um BODIPY simétrico não *meso*-substituído pode ser obtido. Essa reação pode ser aplicada em diversos derivados pirrólicos α -formilados e é um tanto inesperada, por se basear no ataque do carbono α formilado de uma das unidades pirrólicas sobre a um intermediário pirrólico helogenado, obtido da reação com POCl_3 . Após a eliminação de monóxido de carbono e ácido clorídrico é obtida a dipirrina (Esquema 6, rota e).⁸⁶



Esquema 6. Síntese de BODIPYs a partir da autocondensação de duas unidades pirrólicas formiladas.

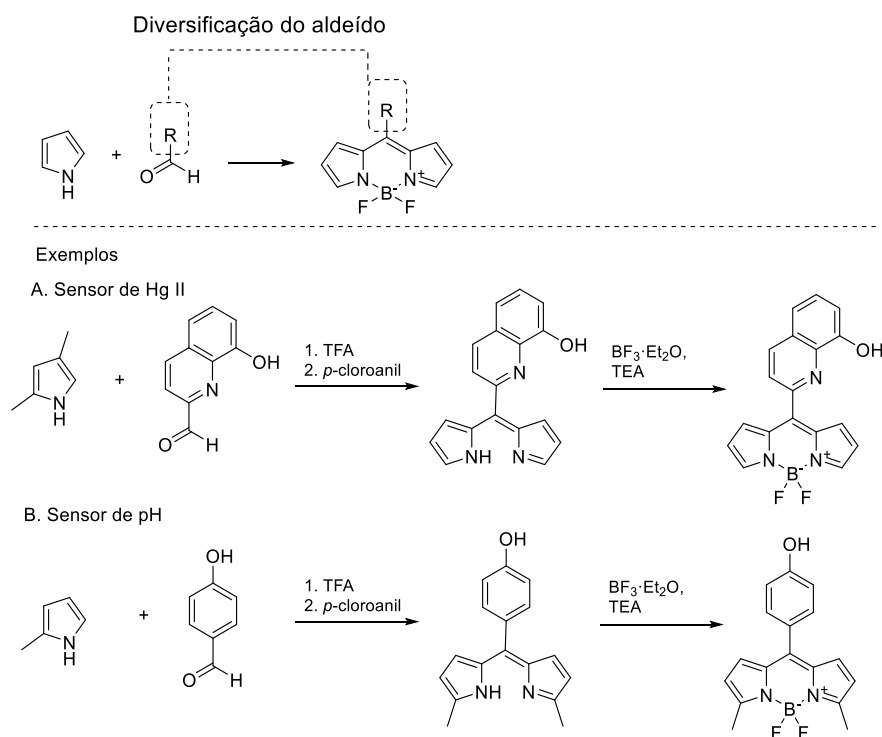
1.5 Funcionalização e modificação química e de BODIPYs

Desde a descoberta do BODIPY, diversos grupos de pesquisa trabalharam no desenvolvimento de métodos visando a modificação estrutural de BODIPYs. Em geral modificações na estrutura química do BODIPYs são necessárias para a derivatização de sondas para aplicações específicas e para a diversificação das propriedades fotofísicas. Nesta seção algumas das principais rotas utilizadas visando a modificação de BODIPYs serão abordadas.

1.5.1 Modificação dos materiais de partida e intermediários

A diversificação do material de partida utilizado na síntese de BODIPYs ou dos intermediários da reação, é uma estratégia muito utilizada na obtenção de sondas fluorescente. Os métodos de modificação direta só começaram a surgir recentemente, sendo que a diversificação do material de partida foi por algum tempo a maneira mais viável de preparar derivados dos BODIPYs. Essa é uma abordagem versátil utilizada até hoje na preparação de BODIPYs funcionalizados.

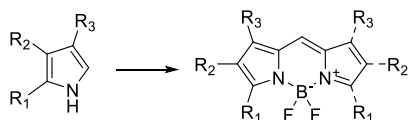
Várias sondas foram obtidas simplesmente aplicando o método de Lindsey com aldeídos contendo o grupo desejado. A partir da reação do 2,4-dimetil pirrol com a 8-hidroxiquinolina-2-carboxaldeído pelo método de Lindsey, por exemplo, foi sintetizado um sensor fluorescente para o cátion mercúrio II, no qual o grupo 8-hidroxiquinolina atua como unidade sensorial. Uma abordagem semelhante foi explorada para sintetizar o sensor “DAMBO”, no qual um grupo 3,4-diaminofenil serve como unidade sensorial para o óxido nítrico,⁸⁸ e também um sensor de pH,⁸⁹ com um grupo 4-hidroxifenil na posição *meso*. A aplicação de aldeídos aromáticos para posterior modificação também está presente na literatura, dentre os quais, vale citar a aplicação de derivados halogenados,⁹⁰ a exploração de alcinos em reações do tipo *click chemistry*,⁹¹ e a utilização de ácidos carboxílicos⁹² aromáticos na formação de ésteres e amidas (esquema 7).



Esquema 7. Funcionalização de BODIPYs através da diversificação do aldeído aromático. Os exemplos mostram a aplicação dessa abordagem para a síntese de um sensor de Hg II e de um sensor de pH.

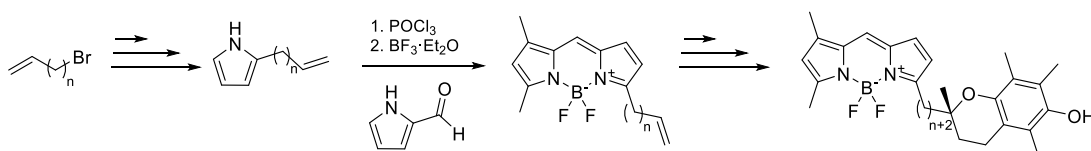
Outra estratégia bastante utilizada é a modificação do pirrol, estimulada pela existência de diversos métodos de modificação conhecidos para esse heterociclo. Muitas das sondas fluorescentes destinadas à bioconjugação presentes na patente⁶⁷ seminal da *Molecular Probes*®, e comercializadas até hoje em dia, foram obtidas a partir de pirróis funcionalizados. Um outro exemplo da modificação do pirrol para obtenção de BODIPYs foi a síntese de um pirrol substituído com um grupo azida, que foi posteriormente aplicado na obtenção de um BODIPY aplicável em reações do tipo “*click chemistry*”⁹³. Outro exemplo que vale citar é a síntese de um derivado fluorescente do tocoferol, cuja estrutura permitiu a ligação no sítio de ligação do tocoferol da proteína ligadora de tocoferol.⁹⁴ Esse composto, com potencial aplicação biotecnológica, foi obtido a partir de um derivado pirrólico funcionalizado com um alceno terminal, mostrando a aplicabilidade da modificação de unidades pirrólicas para síntese de fluoróforos funcionais (Esquema 8).

Funcionalização do pirrol

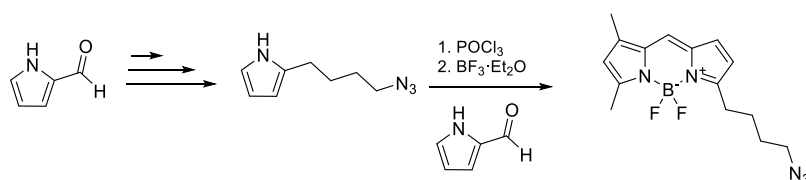


Exemplos

A. Síntese de um derivado fluorescente do tocoferol



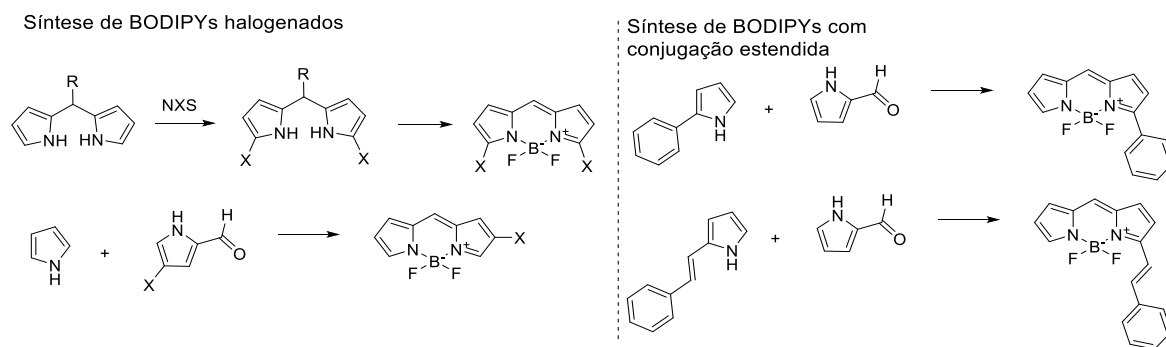
B. Síntese de uma sonda fluorescente para click chemistry



Esquema 8. Funcionalização de BODIPYs através da diversificação da unidade pirrólica. Os exemplos mostram a aplicação dessa abordagem para a síntese de um derivado fluorescente do tocoferol e de uma sonda fluorescente para *click chemistry*.

BODIPYs halogenados podem ser vistos como ótimos materiais de partida, pois possibilitam a funcionalização do fluoróforo aplicando reações de substituição nucleofílica ou de acoplamento cruzado. Uma das abordagens mais utilizadas para esse fim é a halogenação do dipirrometano que, após as etapas de oxidação e complexação, possibilita a obtenção de BODIPYs 3,5-dihalogenados (Esquema 9).⁹⁵ Mais recentemente, a síntese de BODIPYs mono halogenados em posições específicas do anel foram descritas. Esses métodos, baseados na utilização de 2-acetil halopirróis, aumentaram consideravelmente o arsenal sintético disponível para o desenho de sondas baseadas nos BODIPYs.^{96,97}

As primeiras abordagens para a diversificação das propriedades ópticas do BODIPY se baseavam na utilização de pirróis com extensão de conjugação. A inserção de grupos aromáticos na posição *meso* não é eficiente para esse fim, devido à falta de coplanaridade entre os grupos *meso*-aromáticos e anel BODIPY, sendo que as posições 3 e 5 são as mais exploradas para esse fim. Antes do desenvolvimento de métodos mais modernos para funcionalização direta do BODIPY, derivados 2-estiril pirrol,⁹⁸ 2-aryl pirrol,^{99,100} isoindólicos, dentre outros pirróis com extensão de conjugação¹⁰¹, foram aplicados na síntese de BODIPYs com emissão desviada para o vermelho (Esquema 9).



Esquema 9. Exemplos de abordagens sintéticas visando a modificação do material de partida para a síntese de BODIPYs halogenados e com conjugação estendida.

1.5.2 Modificação direta dos BODIPYs

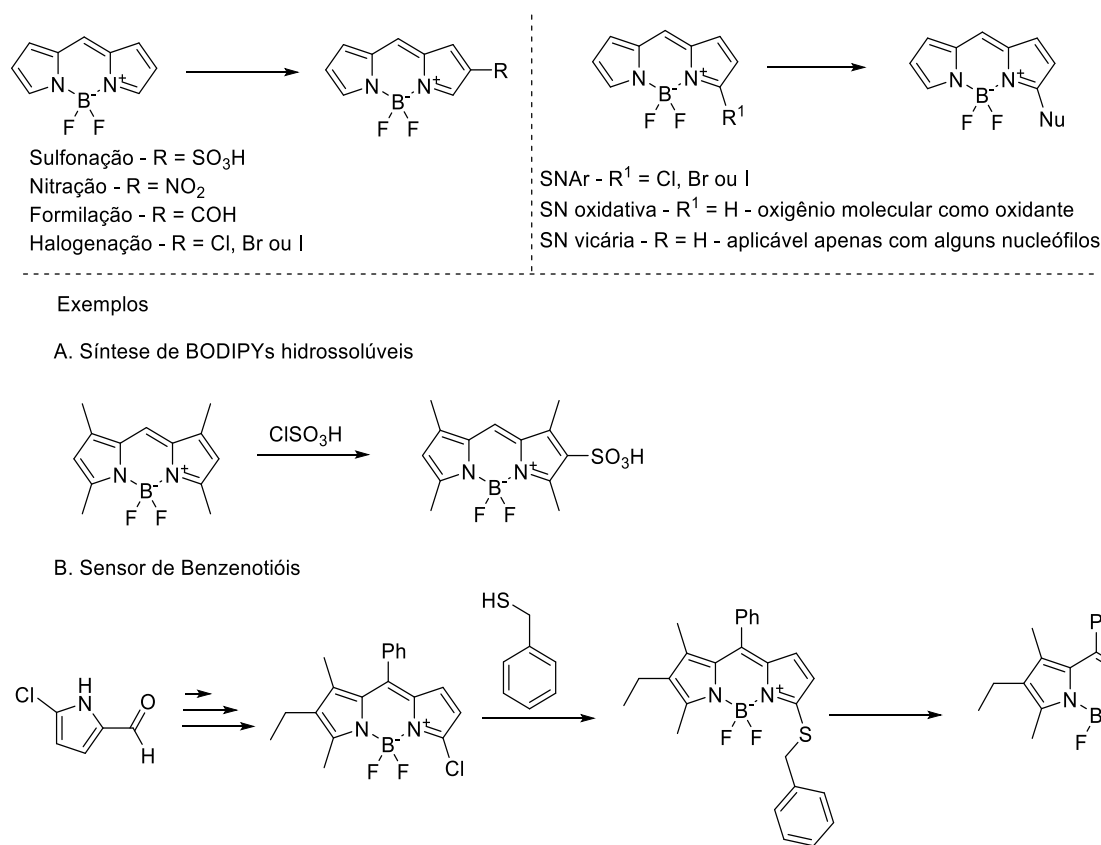
Dentre as poucas publicações envolvendo BODIPYs no início da década 1980, está a descrição do primeiro método de modificação direta de BODIPYs, a reação com cloreto de sulfonila para obtenção de derivados sulfonados.¹⁰² Baseada no ataque dos carbonos 2 e 6 do anel ao eletrófilo em questão, essa reação possibilitou a síntese dos primeiros BODIPYs hidrossolúveis. Esta é uma estratégia ainda muito empregada na obtenção de sondas fluorescentes para aplicações em meio aquoso.

Outras reações de substituição eletrofílica estão descritas na literatura (Esquema 6, esquerda), em geral nas posições 2 e 6 do anel BODIPY.⁶⁸ A nitração do BODIPY com ácido nítrico já foi relatada,¹⁰³⁻¹⁰⁵ assim como reações de bromação,¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ cloração¹⁰⁹ e iodação,¹⁰⁹ que, em geral, ocorrem preferencialmente nas posições 2 e 6. A nucleofilicidade dessas posições também já foi explorada em reações de formilação pelo método de Vilsmeier, que permite a obtenção de sondas formiladas¹¹⁰.

A partir de derivados halogenados reações de substituições nucleofílicas são amplamente utilizadas na síntese de sondas fluorescentes. Essas reações ocorrem principalmente, mas não exclusivamente, nas posições 3 e 5 do anel (Esquema 10, direita), tendo sido realizada com nucleófilos de nitrogênio, oxigênio, enxofre e carbono.^{95,97,111-114} A alta eletrofilicidade das posições 3 e 5 do anel possibilitam a aplicação de substituição nucleofílica direta no anel não-halogenado, utilizando alguns nucleófilos específicos (substituição nucleofílica vicária)^{115,116} ou um oxigênio molecular como aditivo (substituição nucleofílica oxidativa).^{117,118}

Para exemplificar a aplicação dos métodos expostos na síntese de compostos funcionais, vale relatar o desenvolvimento de um sensor para benzenotióis, cuja propriedade sensorial se baseia na redução do grupo sulfóxido por benzenotióis. A síntese se inicia com a aplicação de uma

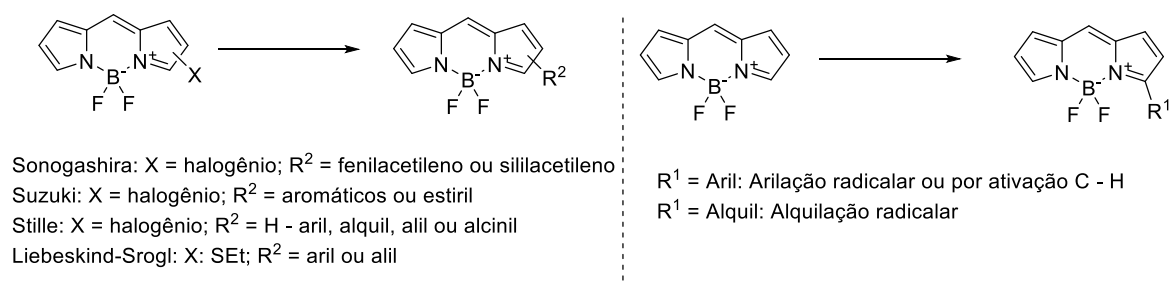
unidade 2-formil pirrólica halogenada, que é aplicada na síntese de um BODIPY halogenada. Em uma reação de substituição nucleofílica com α -toluenotiol o intermediário tio éter é obtido e, finalmente, oxidado ao sensor em questão.¹¹³ O desenvolvimento dessa sonda fluorescente é um bom exemplo da versatilidade sintética de BODIPYs aplicada à síntese de sondas fluorescentes inovadoras.



Esquema 10. Exemplo de substituições eletrofílicas (em cima, à esquerda) e nucleofílicas (em cima, à direita) do anel BODIPY.

Além das reações de substituição nucleofílica, os BODIPYs halogenados também são bons substratos para a aplicação de acoplamentos catalisados por metais de transição (Esquema 11). Em geral, é possível encontrar a aplicação dessas reações em todas as posições do anel BODIPY.^{97,112} Derivados do fenilacetileno e de sililacetileno foram utilizados com sucesso na inserção de alcinos, através da reação de Sonogashira.^{107,112,119,120} A reação de Suzuki, baseada em derivados do ácido borônico, foi utilizada para inserção de grupos aril ou estiril,^{106,112,121} enquanto estananas possibilitam também a inserção de grupos alil, alcil e alquil pela reação de Stille.^{97,112,122} Outro acoplamento que merece menção, devido ao seu amplo uso na química de BODIPYs, é a reação de Liebeskind-Srogl, na qual derivados tioalquílicos funcionam como pseudohaletos, reagindo tanto com ácidos borônicos quanto com estananas.¹²³⁻¹²⁵

Outras reações permitem explorar a reatividade das posições 3 e 5 de BODIPYs não-halogenados. Já foi mostrada que a ativação da ligação C – H catalisada por paládio permite a aplicação de brometos aromáticos para inserção de substituintes aromáticos nessas posições do anel.¹²⁶ Outra abordagem para arilação direta de BODIPYs é a aplicação de um método radicalar baseado em sais de diazônio,¹²⁷ sendo que recentemente um método de alquilação radicalar com trifluorboratos também foi descrito na literatura.¹²⁸

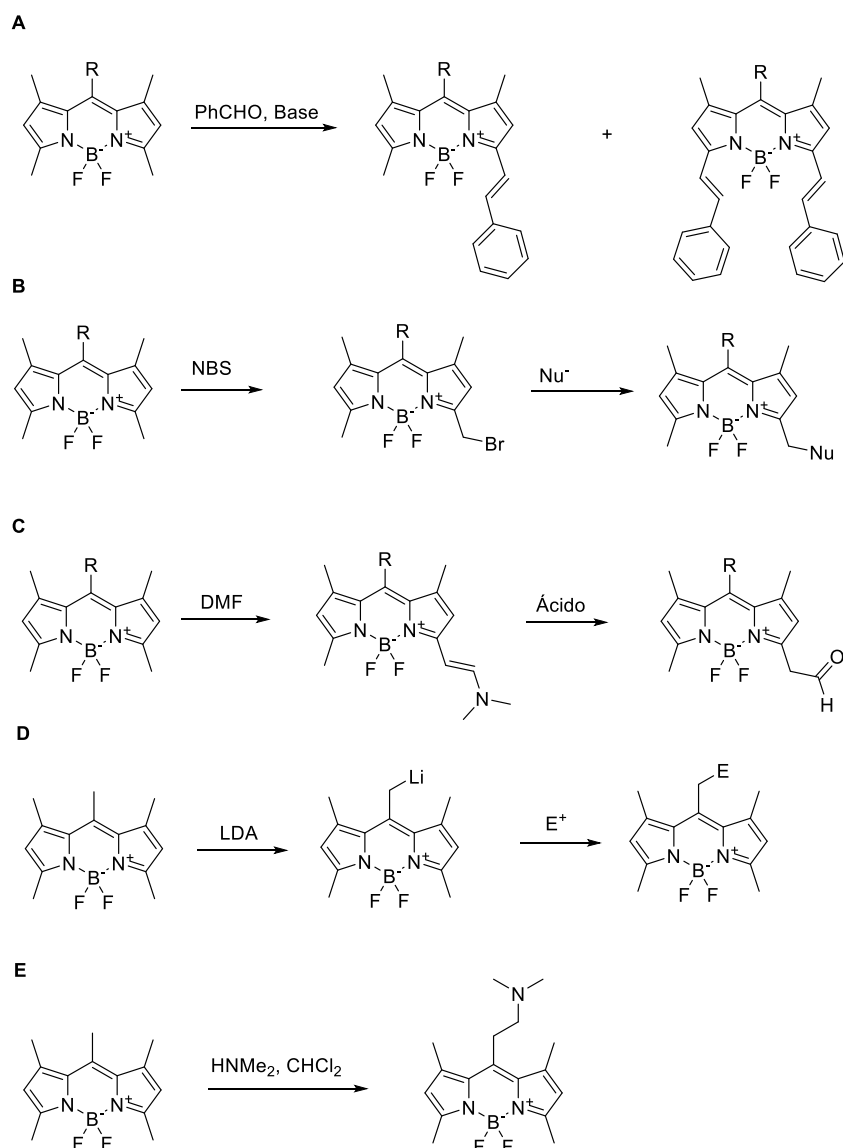


Esquema 11. Exemplos da aplicação de BODIPYs halogenados (esquerda) e não halogenados (direita) para a funcionalização direta do anel.

Muito comumente BODIPYs metilados são preferidos, devido à maior estabilidade e a síntese relativamente mais simples. Ainda que a estrutura de BODIPYs metilados impeça a aplicação de uma série de abordagens para modificação molecular, existem alguns métodos descritos para modificação dessas metilas. Uma das reações aplicadas há mais tempo na modificação de BODIPYs é a condensação das metilas na posição 3 e 5 com aldeídos aromáticos, numa reação similar à condensação de Knoevenagel (Esquema 12A). Ainda que não ocorra com bons rendimentos, esse tipo de condensação é muito explorado, principalmente devido ao efeito batocrômico na emissão dos produtos obtidos, BODIPYs 3,5 estiril-substituídos.¹²⁹⁻¹³¹

A reatividade de metilas ligadas às posições 3 e 5 de BODIPYs também permite a sua bromação direta, de maneira que o brometo formado se mostrou um bom substrato para reações de substituição nucleofílica (Esquema 12B).¹³² Outra abordagem é a formação de uma enamina a partir da reação com o dimetil acetal da dimetilformamida, que pode ser convertida a um aldeído^{133,134} (Esquema 12C).

Reações em metilas na posição *meso* também estão descritas na literatura. BODIPYs *meso*-metilados reagem com LDA para formação de derivados *meso* metileno litiados (Esquema 12D). Esse tipo de estrutura serve como um bom material de partida para reação de substituição com eletrófilos¹³⁵. Cabe mencionar que *meso* metilas são suscetíveis a uma reação tipo Mannich, na qual aminas secundárias são inseridas nessa posição de BODIPYs (Esquema 12E).¹³⁶

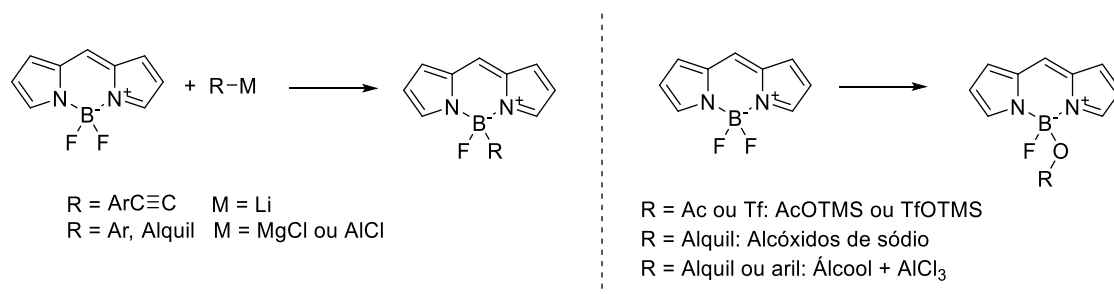


Esquema 12. Modificação química de metilas ligadas ao núcleo BODIPY. A: Reação de Knoevenagel aplicada a metilas de BODIPYs para obtenção de derivados estiril-substituídos. B: Bromação de metilas na posição 3 do BODIPY seguida de substituição por nucleófilos. C: Reação de metilas para formação de uma enamina e conversão a um aldeído. D: Litação de *meso*-metila seguida de substituição nucleofílica. E: Reação tipo Mannich resultando na aaminação de *meso*-metilas.

Além das modificações nos carbonos do anel BODIPY, o centro borônico também pode ser explorado para modificação molecular de BODIPYs (Esquema 13). A partir da reação de BODIPYs com derivados etinil-litiados o átomo de boro pode ser substituído por um grupo benzoetinil.^{137,138} A reação de BODIPYs com reagentes de Grignard é um método eficiente para substituição dos átomos de flúor ligado ao boro por grupos alquílicos ou arílicos.¹³⁸⁻¹⁴⁰

Nucleófilos de oxigênio também podem ser utilizados para substituição dos átomos de flúor dos BODIPYs, formando espécies conhecidas como O-BODIPYs. O acetato ou triflato de

trimetil silil, por exemplo, já foram utilizados para realizar a adição de um acetil ou triflato ao centro borônico de BODIPYs.^{141,142} Derivados alcóxi ou fenóxi substituídos também podem ser obtidos através da aplicação de alcóxidos de sódio, utilização de álcool na presença de cloreto de alumínio, ou ainda por substituição do grupo triflato.^{143,144}



Esquema 13. Métodos para realizar substituições no centro borônico de BODIPYs. São conhecidas reações com nucleófilos de carbono (esquerda) ou oxigênio (direita).

Neste contexto, o interesse desta tese de doutorado foi de explorar a química de BODIPYs no desenvolvimento de sondas fluorescentes. Até recentemente a química de BODIPYs nunca havia sido explorada por grupos de pesquisa brasileiros, tendo sido pioneirizada pelo nosso grupo. Neste trabalho estão descritas as diversas etapas do projeto, desde o estabelecimento dos métodos sintéticos até o desenvolvimento de novas abordagens para a modificação química de BODIPYs, passando pela diversificação estrutural, estudo das propriedades ópticas e potenciais aplicações desse tipo de sondas fluorescentes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste projeto de doutorado foi estabelecer métodos de síntese e modificação de sondas fluorescentes do tipo BODIPY, bem como avaliar suas características fotofísicas e aplicabilidades analíticas. Para tal, delineamos algumas objetivos específicos.

2.2 Objetivos específicos.

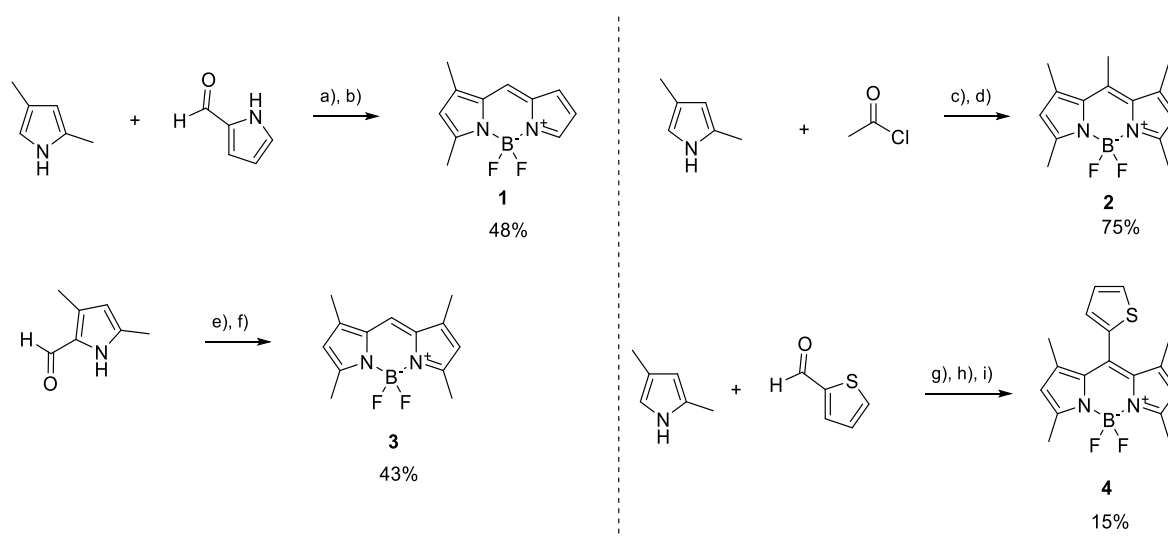
- Estabelecer métodos de síntese de BODIPYs,
- Sintetizar BODIPYs funcionalizados para aplicações em áreas diversas das Ciências Farmacêuticas,
- Estabelecer métodos de modificação química e diversificação fotofísica de BODIPYs,
- Desenvolver um método inédito de tiocianação direta de BODIPYs,
- Analisar e avaliar as características fotofísicas e aplicações analíticas de BODIPYs.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estabelecimento de métodos de síntese de BODIPYs

A primeira etapa do projeto foi estabelecer alguns dos métodos sintéticos existentes para a síntese de derivados BODIPYs, classe de compostos em estudo neste projeto. Foram planejadas quatro estratégias sintéticas diferentes, todas mostradas anteriormente no esquema 3, na seção 1.4: i) Condensação entre um derivado pirrólico e um derivado 2-formil-pirrol; ii) reação de um derivado pirrólico com um cloreto de acila; iii) aplicação do método de Lindsey para condensação de um derivado pirrólico com um aldeído aromático; iv) autocondensação de um derivado formil pirrólico.

A aplicação das estratégias sintéticas mencionadas anteriormente nos permitiu sintetizar os BODIPYs **1** a **4** (Esquema 14). O composto **1** foi sintetizado com 48% de rendimento, a partir da condensação do 2,4-dimetilpirrol com o 2-formil pirrol na presença de POCl_3 , seguido da complexação com $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ na presença de trietilamina (TEA). A síntese de **2**, com 75% de rendimento, foi alcançada a partir da reação do 2,4-dimetilpirrol com cloreto de acetila, enquanto **3** foi sintetizado com 43% de rendimento a partir da autocondensação do 2,4-dimetil-5-formilpirrol, na presença de POCl_3 . Por fim, o método de Lindsey foi aplicado para a síntese do BODIPY **4**, com 15% de rendimento, a partir do 2,4-dimetilpirrol e do tiofeno-2-carbaldeído.



Esquema 14. Síntese dos compostos **1**, **2**, **3** e **4**. Regentes e condições: a) POCl_3 , DCM, N_2 , -10°C , 2 h, t.a., 30 min. b) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TEA, t.a., 1,5 h. c) DCM, refluxo, 6 h. d) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TEA, t.a., 1,5 h. e) 1. POCl_3 , DCM, N_2 , -10°C , 3 h. f) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, DIPEA, t.a., 1 h. g) TFA, N_2 , 40 min. h) DDQ, 6 h. i) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TEA t.a., 1 h.

A elucidação estrutural desses compostos foi realizada aplicando métodos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas, sendo que os detalhes experimentais e espectroscópicos estão mostrados na sessão experimental. Vale a pena, todavia, mostrar alguns dos padrões observados nos espectros de RMN de ^1H dos compostos **1**, **2**, **3** e **4**, que auxiliaram posteriormente na elucidação de outros fluoróforos intéditos descritos neste trabalho.

Com exceção dos hidrogênios das metilas, cujo deslocamento químico ocorre geralmente entre 1,5 e 2,5 ppm, os sinais de RMN de ^1H em CDCl_3 desses quatro compostos são observados em alta frequência devido à aromaticidade dos compostos **1**, **2**, **3** e **4** (Figura 11). A comparação entre os espectros de **2**, **3** e **4** mostram que o hidrogênio na posição 2 do anel BODIPY aparece como um simpleto entre 6,0 e 6,2 ppm, enquanto o hidrogênio na posição 8 (*meso*) aparece como um simpleto próximo a 7.0 ppm.

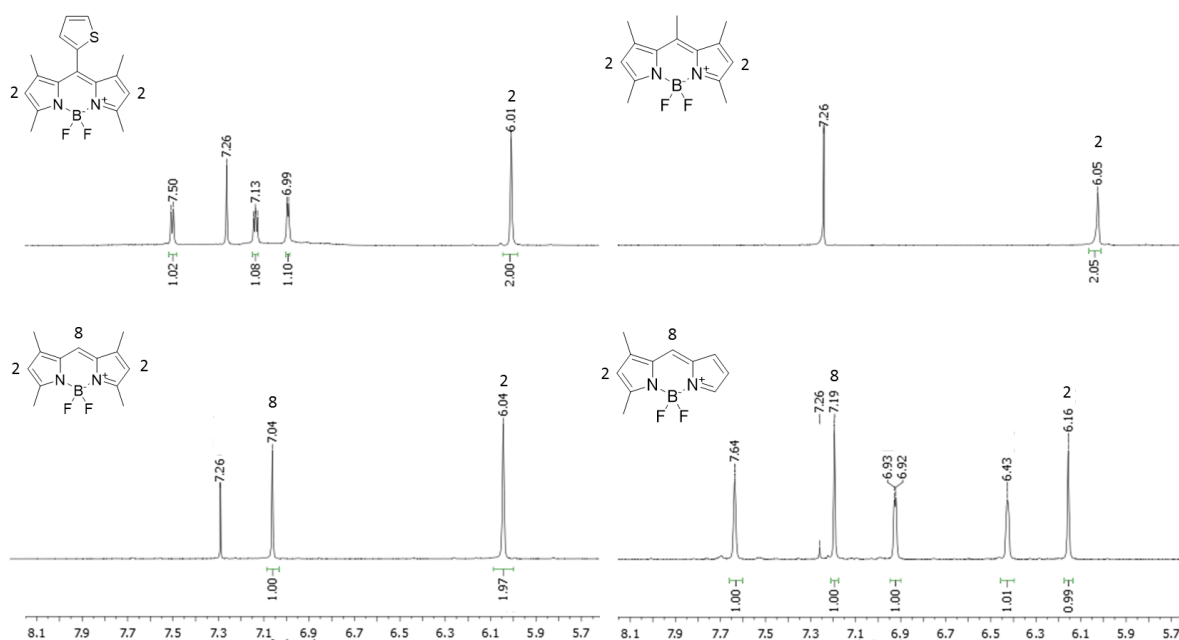


Figura 11. Padrão de sinais de RMN de ^1H observado para os compostos **1**, **2**, **3**, **4**.

A análise do espectro de **1** mostra que, mesmo para sinais de hidrogênios vicinais, o acoplamento ^3J frequentemente não é observado em BODIPYs. Para um entendimento mais detalhado dos sinais referentes aos hidrogênios de BODIPYs e visando o assinalamento estrutural correto em compostos desenvolvidos neste trabalho, realizamos ensaios de RMN bidimensional *Heteronuclear single quantum correlation* (HSQC) e *Heteronuclear multiple-bond correlation* (HMBC) no composto **1**.

O espectro de HMBC do composto **1** mostra claramente que o sinal de ^1H em δ 6,2 é o único que se correlaciona com os sinais dos carbonos das metilas (RMN de ^{13}C , δ 15 e 13), possibilitando inferir que este se refere ao hidrogênio na posição 2 entre os carbonos metilados. As correlações observadas no HMBC e HSQC para os sinais de ^1H em δ 6,2 e para os hidrogênios das metilas, em δ 2,3 e em δ 2,6, nos permitiram assinalar os sinais do RMN de ^{13}C em δ 163, 15, 121, 146, 13 e 137 de acordo com o que está mostrado na estrutura assinalada (Figura 12).

A observação de que, além do sinal de ^1H em δ 6,2, o sinal de ^1H em δ 7,2 é o único que mostra correlação com os sinais do RMN de ^{13}C em δ 137 e 146, nos permite concluir que tal sinal se refere ao hidrogênio na posição 8 (*meso*) do anel BODIPY. As outras correlações observadas para o sinal de RMN de H em δ 7,2 nos permitiu assinalar o sinal do RMN de ^1H δ 6,9 como aquele referente ao hidrogênio da posição 7 do anel BODIPY do composto **1**. Por fim, analisando as relações observadas no HSQC, e baseados no deslocamento químico, foi possível assinalar os sinais de ^1H em δ 6,4 e 7,6 bem como os sinais de ^{13}C em δ 133, 127, 116 e 139 (Figura 12).

Nessa etapa do projeto foi possível estabelecer métodos de síntese de BODIPYs baseados em unidades pirrólicas metiladas. Uma das principais dificuldades sintéticas envolvendo derivados pirrólicos como porfirinas e dipirrininas é a purificação, devido à formação de produtos indesejados resultantes da polimerização do pirrol em meio ácido. Nessa primeira parte preferimos utilizar unidades pirrólicas metiladas devido à maior estabilidade, tanto do material de partida quanto do fluoróforo, o que facilita a síntese e purificação. Vale ressaltar que os rendimentos obtidos nessas reações iniciais foram geralmente regulares ou baixos, todavia essas observações estão de acordo com o que é normalmente relatado na literatura para as reações de síntese de BODIPYs.

Além do estabelecimento de métodos de síntese de BODIPYs, essa etapa foi importante para o estudo dos espectros de RMN de alguns fluoróforos dessa classe. O assinalamento dos sinais observados facilitou a determinação estrutural de outros BODIPYs cuja síntese será mostrada em sessões posteriores deste documento.

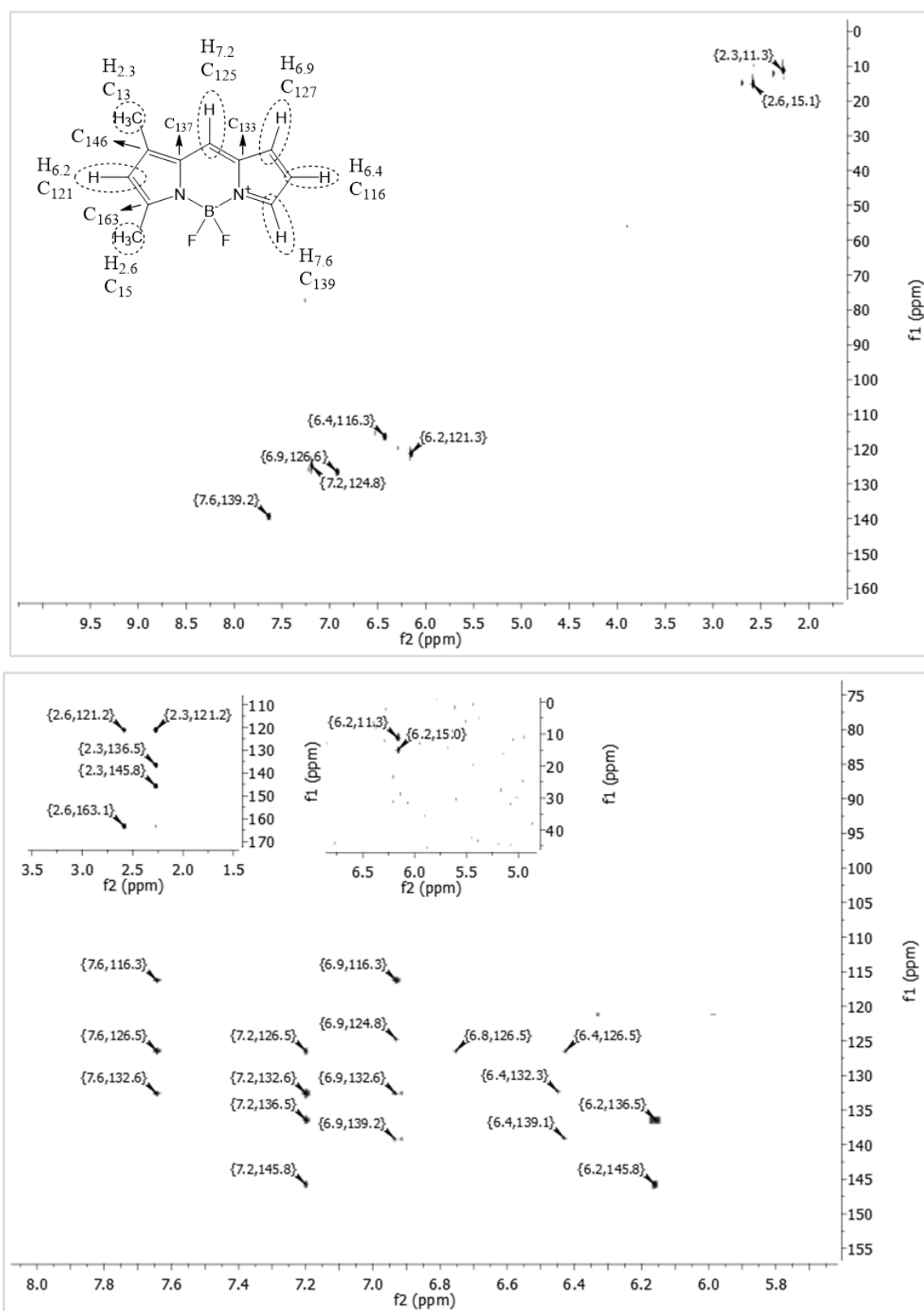


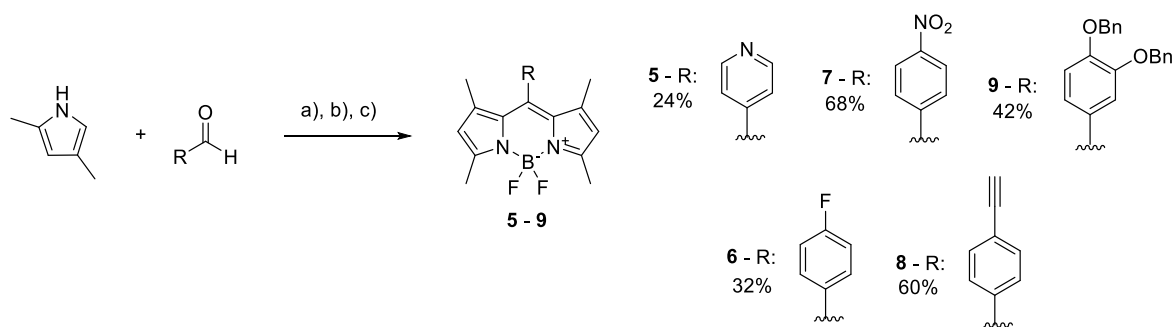
Figura 12. Espectro de RMN bidimensional HSQC (em cima) e HMBC (em baixo) obtidos para o composto 1. A estrutura do composto com o assinalamento dos sinais também está mostrada

3.2 Biblioteca de BODIPYs 1,3,5,7 tetrametilados

Uma vez estabelecidos métodos para síntese de BODIPYs a partir de unidades pirrólicas metiladas, concentramos os esforços na utilização dessas abordagens sintéticas para o desenvolvimento de uma pequena biblioteca de fluoróforos. Nesta sessão mostraremos a síntese dessa biblioteca de compostos, bem como o estudo fotofísico e de potenciais aplicabilidades analíticas de alguns desses compostos.

3.2.1 Síntese

Aplicamos o método de Lindsey para a síntese de 1,3,5,7-tetrametil BODIPYs *meso*-substituídos, utilizando aldeídos aromáticos específicos, visando futuras aplicações pelo nosso grupo ou por colaboradores (Esquema 15). O composto **5**, contendo um anel piridina na posição meso, foi sintetizado em 24% de rendimento, com o intuito de explorar a sua complexação com rutênio por colaboradores; enquanto o derivado contendo um alcino terminal (**8** – obtido em 60% de rendimento) foi sintetizado como um precursor para reações de cicloadição do tipo *click chemistry*. O composto fluorado **6**, obtido com 32% de rendimento, foi sintetizado a fim de explorar reações de substituição nucleofílica aromática, todavia tentativas posteriores visando tal aplicação não obtiveram sucesso.

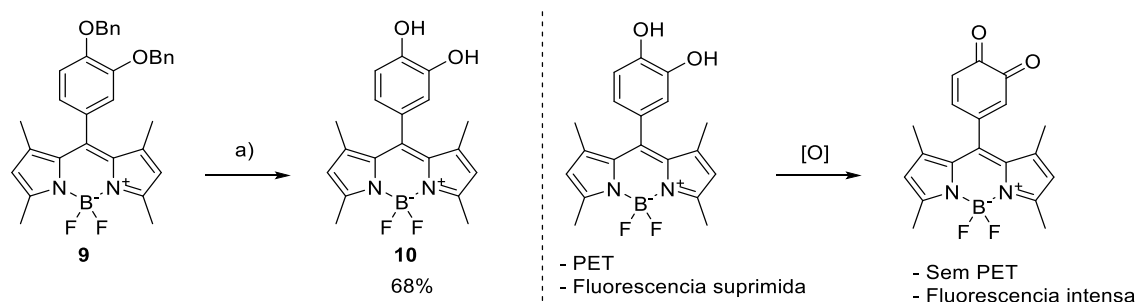


Esquema 15. Síntese de uma pequena biblioteca de BODIPYs a partir da reação do 2,4-dimetilpirrrol com aldeídos aromáticos. Reagentes e Condições: a) TFA. b) DDQ. c) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TEA.

O composto **9** se trata de um fluoróforo com grupo catecol cujas hidroxilas estão protegidas por grupos benzila. Após hidrogenólise com gás hidrogênio e paládio sobre carbono (Pd/C), o BODIPY catecólico **10** foi obtido com 68% de rendimento (Esquema 16, esquerda). Interessante notar que a fluorescência relativamente intensa do composto **9**, é extinguida após a reação de desproteção. Essa supressão da fluorescência do BODIPY **10** é resultante de um processo de transferência de elétrons fotoinduzida (PET), com potencial aplicação no desenvolvimento de sensores fluorescentes¹⁴⁵.

Estudos anteriores acerca da fluorescência do composto **10** mostraram que a oxidação do grupo

catecol a um grupo 1,2-quinoidal restaura a fluorescência do BODIPY (Esquema 16, direita), de maneira que esse composto pode ser considerado um sensor para oxidação.^{145,146} De fato, o composto **10** foi estudado como potencial sensor fluorescente em células tumorais pelo grupo de pesquisa do Prof. Chris Morris, School of Pharmacy, UEA, todavia com sucesso limitado. Ainda assim, nosso grupo explorou mais a fundo as propriedades do composto **10** como potencial sensor fluorescente, o que será mais detalhado nas próximas sessões.

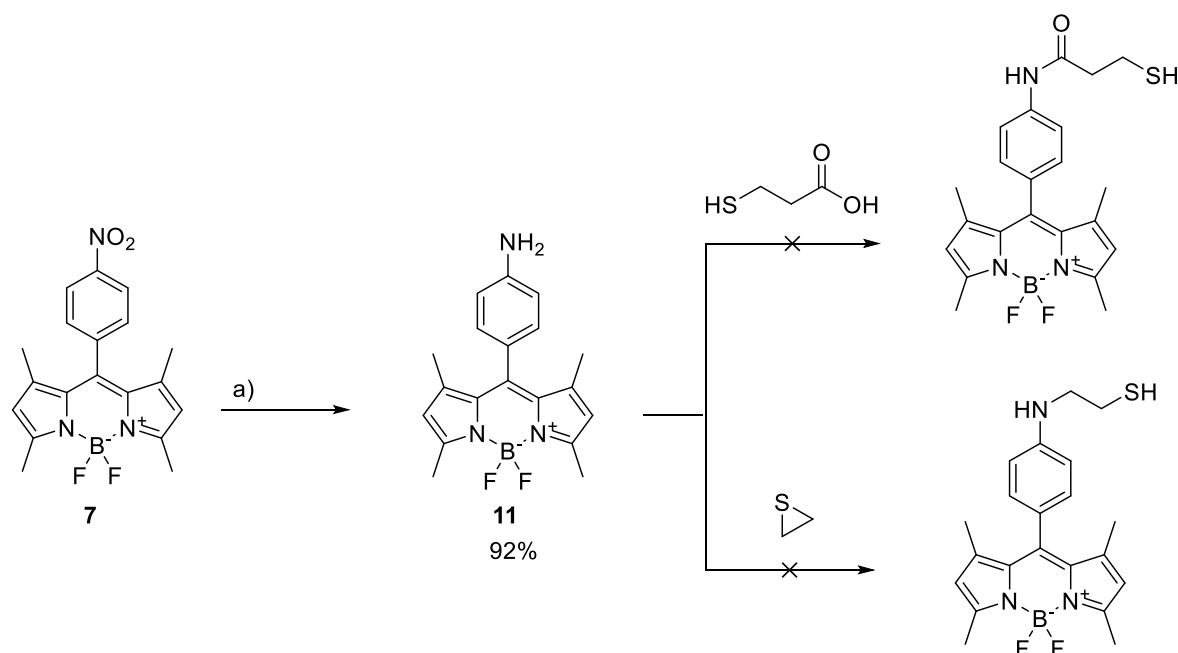


Esquema 16. Esquerda: Desproteção do BODIPY **9** para obtenção de composto catecol-substituído **10**. Direita: Mecanismo sensorial de **10** frente a estímulos oxidativos. Reagentes e condições: a) H₂, Pd/C, 30 minutos.

Assim como o BODIPY **9**, o derivado nitro-substituído **7** foi sintetizado como um importante precursor para outras sondas fluorescentes, uma vez que a redução do grupo nitro possibilitaria a síntese de um fluoróforo amino-substituído, após reação de redução. A conversão de **7** ao derivado aminado **11** foi alcançada através de hidrogenação catalítica (H₂, Pd/C) com 92% de rendimento (Esquema 17).

O composto **11** é um intermediário importante devido à presença de uma amina livre, tendo sido utilizado como material de partida em algumas reações visando obter BODIPYs com um grupo tiol livre. Um fluoróforo contendo esse grupo reativo poderia ter aplicação na marcação de produtos naturais. Algumas lactonas sesquiterpênicas de origem vegetal, estudadas por grupos de pesquisa colaboradores, são reativas frente a tióis via adição de Michael¹⁴⁷, e um fluoróforo com essa funcionalização pode ser uma ferramenta importante.

A fim de obter um BODIPY tio-substituído testamos alguns métodos visando a amidiação de **11** com o ácido mercaptopropiônico, todavia não obtivemos sucesso. Outra abordagem testada foi a utilização da tiirana, um heterociclo de três membros contendo um átomo de enxofre, como eletrófilo. Infelizmente, a conversão desejada mais uma vez não foi observada (Esquema 17). Aparentemente, considerando os ensaios realizados, a amina de **11** é pouco nucleofílica para participar das reações testadas.

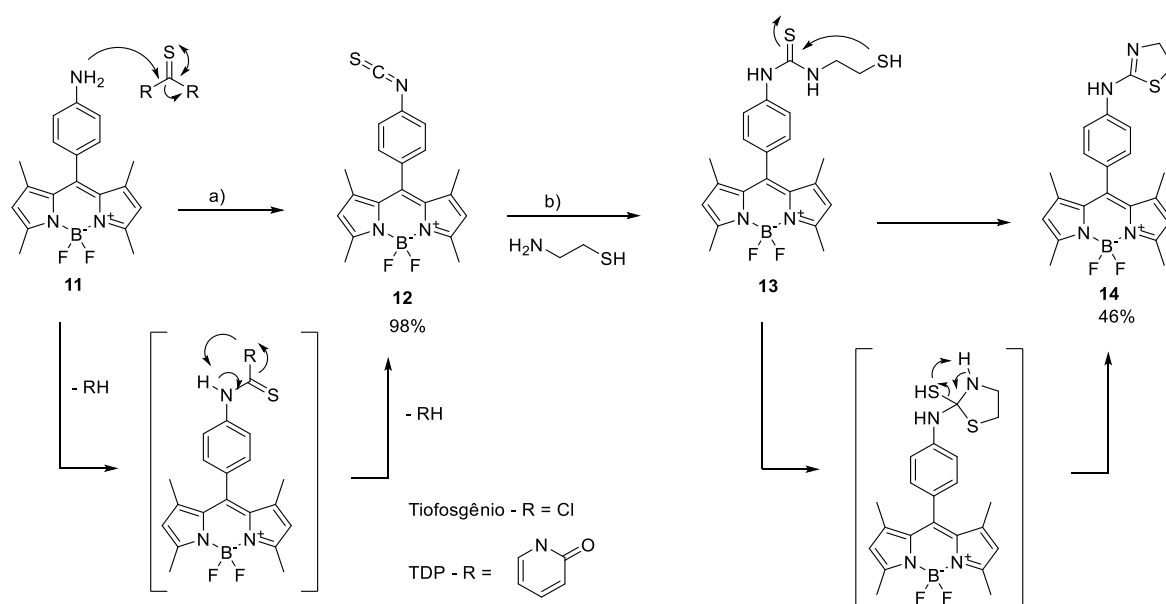


Esquema 17. Conversão do BODIPY nitro-substituído **7** ao derivado aminado **11**. Estão mostradas ainda duas abordagens aplicadas sem sucesso na obtenção de BODIPYs tio-substituídos a partir de **11**. Reagentes e condições: a) H₂, Pd/C, 50 minutos.

Apesar da baixa reatividade sob as condições utilizadas, o BODIPY aminado **11** foi convertido com sucesso ao derivado isotiocianado **12** (Esquema 18). O grupo isotiocianato é uma função orgânica importante que, devido a sua alta reatividade frente a aminas livres, é muito explorada em reações de bioconjugação. Compostos funcionalizados com grupo isotiocianato reagem com aminas resultando na formação de uma ligação do tipo tiouréia, sendo o FITC um exemplo de fluoróforo isotiocianato-substituído amplamente aplicado em bioconjugações.¹⁴⁸

O método clássico aplicado na conversão de aminas primárias a um grupo isotiocianato se baseia na utilização de tiofosgênio, todavia, aplicando 1,1'-tiocarbonildi-2(1*H*)-piridona (TDP) como um substituto do tiofosgênio^{149,150}, foi realizada a conversão de **11** ao BODIPY **12** com 98% de rendimento (Esquema 18). Cabe salientar que a nesse caso observa-se a reação da amina, provavelmente devido à utilização de um eletrófilo mais forte.

Sabendo da reatividade de **12** frente a aminas livres, exploramos a reação desse composto com cisteamina a fim de obter um BODIPY funcionalizado com um tiol livre. A reação em questão de fato resulta na conversão total do material de partida, todavia, os resultados das análises espectroscópicas indicaram que outro produto foi obtido. Do ponto de vista de mecanismo, é possível que após a formação da tiouréia **13** ocorra heterociclicização intramolecular, que resulta na formação do derivado diidrotiazólico **14**, inviabilizando a aplicação dessa abordagem para a síntese de uma sonda com grupo tiol livre.



Esquema 18. Conversão do BODIPY aminado **11** ao derivado **12** funcionalizado com um grupo isotiocianato. A partir da reação de **12** com cisteamina não foi possível isolar o composto desejado **13**, uma vez que ele é prontamente ciclizado levando à formação de **14**. R = piridona. Reagentes e condições: a) TDP, CHCl₃, 1,5 hora. b) cisteamina, TEA, 40 minutos.

3.2.2 Propriedades ópticas e analíticas

Além da síntese, foi realizado também um estudo óptico dos compostos sintetizados. Essa etapa do projeto foi importante para compreendermos em detalhes as propriedades ópticas gerais dos BODIPYs sintetizados. Foi realizada caracterização fotofísica de soluções dos compostos mostrados anteriormente em diversos solventes. Nesta sessão serão mostrados e discutidos alguns dos dados obtidos, sendo que uma tabela contendo todos os resultados obtidos está mostrada no apêndice 1.

Na figura 13 estão mostrados os espectros de absorção e emissão dos compostos **3**, **4**, **5**, e **6** dissolvidos em diclorometano. No espectro de absorção observa-se uma banda fina, com largura à meia altura (FWHM) geralmente inferior a 1000 cm⁻¹, e com máximo de absorção entre 500 e 510 nm referente à transição S₀ – S₁, além de uma banda pequena e larga próxima a 350 nm atribuída à transição S₀ – S₂.⁷³ A emissão de fluorescência é observada como uma banda fina (em geral FWHM menor do que 1000 cm⁻¹); e com desvio de Stokes pequeno, geralmente abaixo de 20 nm.

A inserção de substituintes na posição *meso* de BODIPYs não resulta em desvios espectrais relevantes, devido à ausência de ressonância entre o substituinte e o anel BODIPY.¹⁵¹ Essa observação resulta da ausência de coplanaridade entre o núcleo BODIPY e o substituinte *meso*-aromático, sendo que, devido às metilas nas posições 1 e 7, o núcleo BODIPY e o *meso*-

substituinte estão em uma configuração quase perpendicular.¹⁵² Dados teóricos publicados anteriormente sugerem que o efeito batocrômico sutil dos substituintes *meso*-aromáticos pode ser creditado a estabilização do orbital LUMO.¹⁵¹ Dessa maneira, a inserção de um substituinte na posição 8 resulta na diminuição da diferença energética entre HOMO e LUMO, resultando no desvio observado.

O rendimento quântico de fluorescência do composto **3** possui valor próximo a unidade em diversos solventes, enquanto o valor observado para os compostos substituídos por grupos aromáticos na posição *meso* são invariavelmente menores. Para os compostos **4**, **5** e **6**, por exemplo, os rendimentos quânticos de fluorescência observados em diclorometano são 0,07; 0,32 e 0,75 respectivamente.

O tempo de vida de fluorescência segue um padrão semelhante, sendo que para o composto **3**, o tempo de vida de fluorescência está entre 5 e 6 ns, enquanto para os BODIPY **4**, **5** e **6** o tempo de vida de fluorescência foi de aproximadamente 0,5; 2 e 4 ns, respectivamente. Esses resultados indicam que a inserção de um substituinte aromático na posição *meso* de BODIPYs resulta em uma nova via não radiativa de decaimento do estado excitado, aumentando o coeficiente de transições não-radiativas.

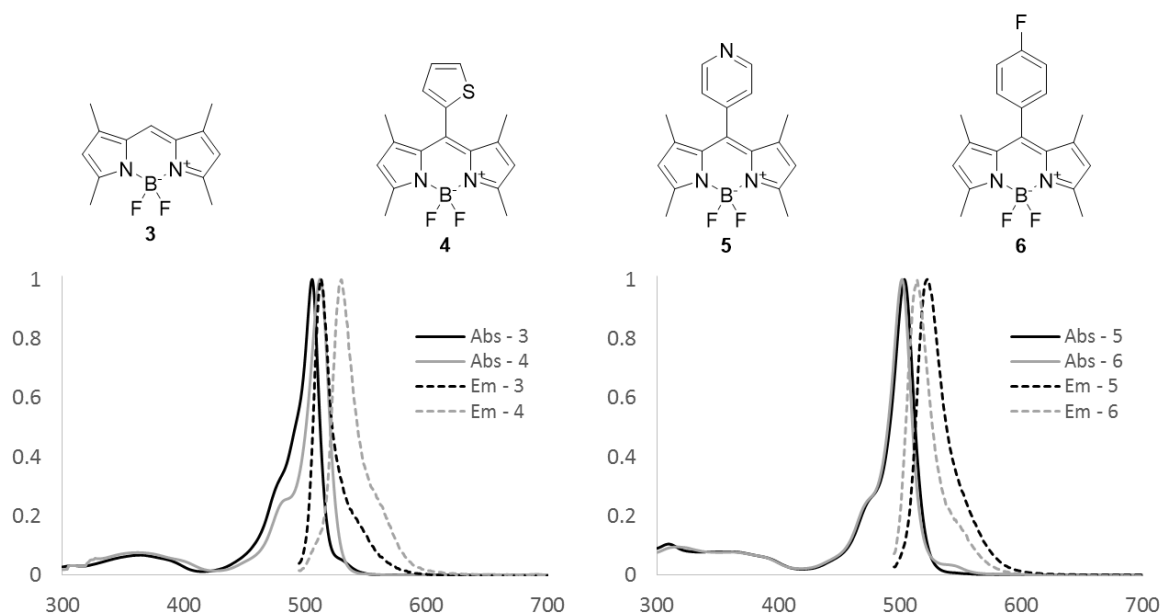


Figura 13. Espectros de absorção e emissão normalizados de soluções em diclorometano dos compostos **3**, **4**, **5** e **6**, mostrando algumas das propriedades ópticas tipicamente observadas para a os BODIPYs desenvolvida nesta parte do projeto.

Como comentado na introdução, o solvatocromismo é uma propriedade importante para sondas fluorescentes, pois está relacionado com o desenvolvimento de sensores de polaridade. O efeito do solvente sobre as propriedades ópticas pode ser observado em alguns dos compostos

sintetizados.¹⁵³ Em relação ao comprimento de onda do pico máximo de absorção (λ_{abs}) e emissão (λ_{em}), o solvatocromismo foi muito sutil, de maneira que os valores observados variaram muito pouco em função da natureza do solvente. A polaridade de solventes pode influenciar a emissão de fluorescência devido a relaxação induzida pelo solvente, no qual a reorganização das moléculas do solvente em torno do fluoróforo no estado excitado diminui a energia do sistema resultando num efeito batocrômico.³ Esse efeito é especialmente observado em fluoróforos polares, de maneira que a baixa polaridade típica dos BODIPYs explica o efeito muito sutil observado.³

Para a maioria dos compostos mostrados o rendimento quântico de fluorescência foi pouco influenciado pela natureza do solvente, as exceções foram para os compostos **7**, **10** e **11**. Para esses compostos observou-se claramente uma relação inversa entre parâmetros de polaridade do solvente e o rendimento quântico de fluorescência (Figura 14). Essa observação pode ser explicada por um processo de transferência de elétrons intramolecular devido à presença dos grupos químicos NO₂, NH₂ e OH na estrutura destes compostos. Esse processo de transferência de elétrons diminui as transições radiativas, e, como sua ocorrência é facilitada por solventes mais polares, observa-se um rendimento quântico de fluorescência maior em solventes apolares.³

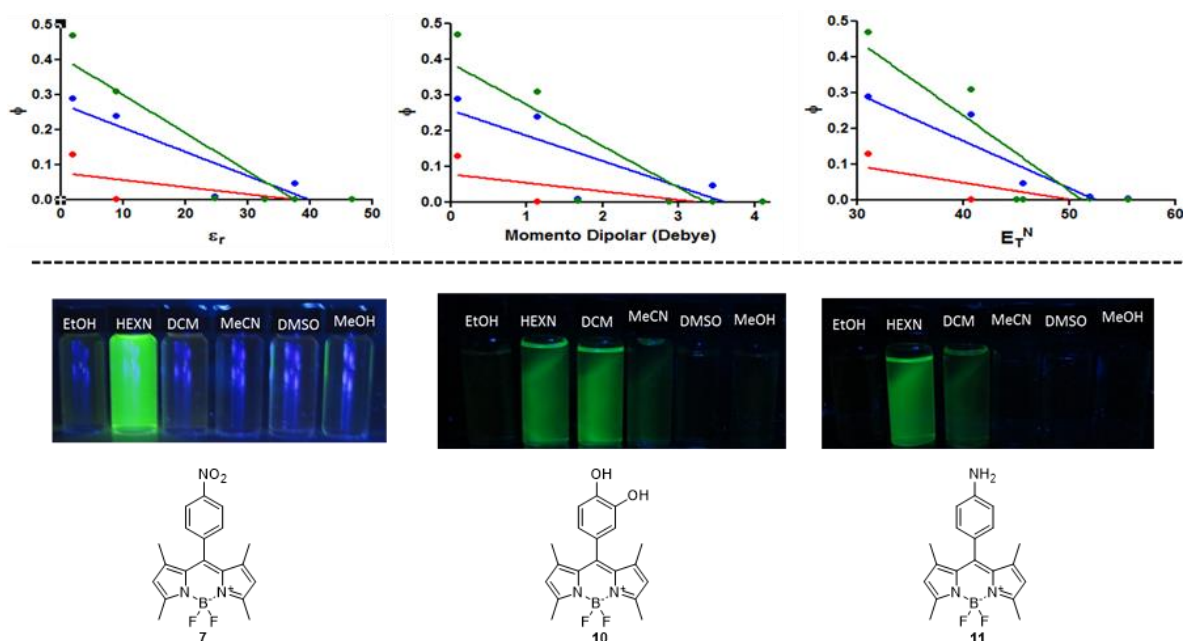


Figura 14. Solvatocromismo de alguns dos BODIPYs sintetizados. Acima: Regressão linear de parâmetros de polaridade dos solventes versus o rendimento quântico de fluorescência para os compostos **7** (vermelho), **10** (azul) e **11** (verde), mostrando a tendência inversa. Os parâmetros utilizados são, da esquerda para a direita, constante dielétrica, momento dipolar e o parâmetro de Dimroth-Reichardt. Abaixo: Soluções dos compostos **7**, **10** e **11** em cinco solventes, mostrando claramente o solvatocromismo do rendimento quântico de fluorescência desses compostos.

A fluorescência dos compostos **5**, **10** e **11**, se mostrou influenciada pelo pH, em função de reações de equilíbrio ácido-base envolvendo estes compostos, fenômeno conhecido como halocromismo (Figura 15). Quando dissolvido em meio aquoso ácido (pH abaixo de 2), a emissão do composto **5** é praticamente ausente, por outro lado, o aumento do pH a valores acima de 3 reestabelece a fluorescência. Essa observação se dá pela protonação da piridina, sendo que a partir da curva foi possível estabelecer um pKa de valor próximo 3,3.

Quanto ao composto **10**, foi possível observar duas viragens no estudo do halocromismo. A primeira delas, referente à desprotonação de uma das hidroxilas do grupo catecol, é observada na forma de diminuição na intensidade da emissão de fluorescência. A partir da curva foi possível calcular um pKa próximo a 7.3 para essa hidroxila. Por resultar na diminuição da emissão de fluorescência de uma solução já pouco fluorescente, esse fenômeno não pode ser observado visualmente, sendo detectável apenas por fluorimetria. A desprotonação da segunda hidroxila catecólica, todavia, é facilmente observada, por resultar num aumento relevante da emissão de fluorescência. A desprotonação da segunda hidroxila começa a ser observada em pH próximo 12, de maneira que não pudemos calcular exatamente o pKa desse grupo.

Por fim, quando protonada, a amina aromática do composto **11** está associada com um aumento substancial da intensidade da fluorescência, facilmente visualizada sob luz negra. Quando em pH acima de 4, a emissão se mostra praticamente ausente, sendo possível inferir um pKa próximo a 3,6 para esse composto.

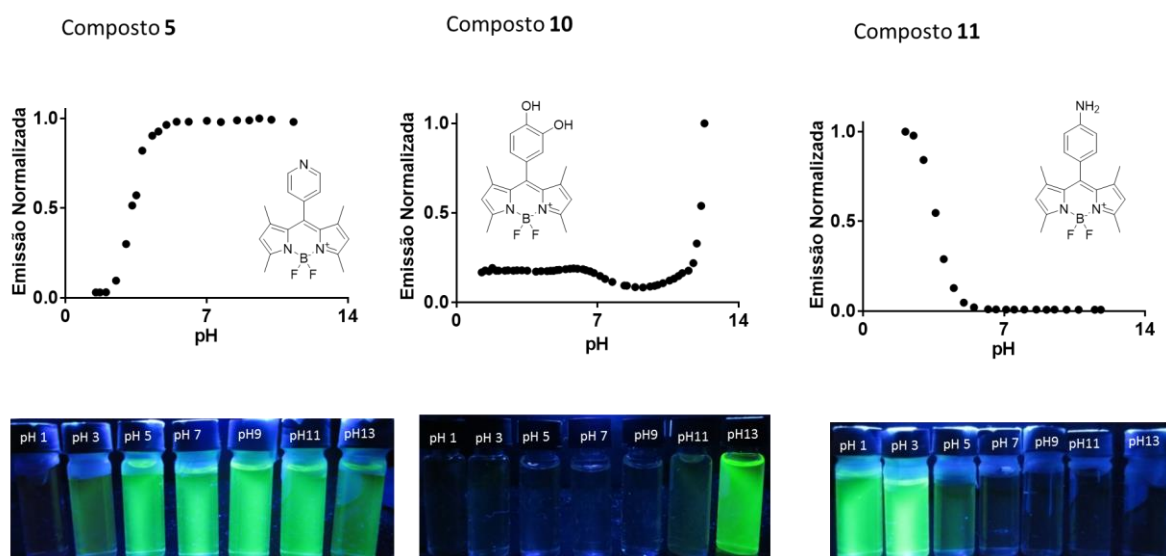


Figura 15. Efeito do pH sobre a emissão de fluorescência dos compostos **5**, **10** e **11**. Acima: Representação gráfica da titulação de cada composto com base. Abaixo: Soluções aquosas de cada composto em diversos valores de pH observadas sob luz negra.

O efeito de íons sob a emissão de fluorescência, fenômeno conhecido como ionocromismo, tem grande potencial analítico, pois possibilita a aplicação de métodos fluorimétricos na análise de íons. Essa abordagem analítica é bastante difundida, de maneira que decidimos por estudar o ionocromismo de alguns dos compostos sintetizados. Foi realizado um *screening* do efeito de diversos cátions na emissão dos compostos **4**, **5** e **10**, cujos substituintes na posição *meso* possibilitariam, ao nosso ver, interação com cátions metálicos. O composto **3**, contendo um hidrogênio na posição *meso* também foi estudado, e utilizado como controle, a fim de estipular se os efeitos observados seriam resultantes, de fato, da presença de substituintes em questão.

O *screening* de soluções aquosas dos compostos **3**, **4**, **5** e **10** a 50 μM com 5 equivalentes (250 μM) de 24 cátions não mostrou qualquer desvio batocrômico ou hipsocrômico nos respectivos espectros de absorção. Interessantemente, observou-se a supressão relativamente específica da emissão dos compostos **5** e **10** na presença de cátion Fe^{3+} (na forma do sal FeCl_3), fenômeno não observado para os compostos **3** e **4** (Figura 16). Nas condições descritas, a fluorescência do composto **5** foi reduzida em cerca de 30%, enquanto para o fluoróforo **10** essa redução foi superior a 80%. Cabe salientar que resultados semelhantes foram observados com a substituição do FeCl_3 por $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ confirmando que a supressão da fluorescência resulta da presença do cátion Fe^{3+} .

O efeito de cátions sobre a fluorescência do composto **5** nunca havia sido relatado, enquanto para o composto **10** alguns dados anteriores puderam ser encontrados na literatura. Resultados anteriores mostraram a supressão da fluorescência do composto **10** na presença de 80 equivalentes de outros cátions metálicos, principalmente Al^{3+} e Cr^{3+} , enquanto Fe^{3+} não havia sido analisado.¹⁵⁴ A partir desses dados é possível propor que o composto **10** seja sensível a cátions tripositivos. A análise da figura 16 mostra um pequeno efeito de supressão da fluorescência por Al^{3+} e In^{3+} . Todavia, o efeito de supressão da fluorescência, após complexação com cátion Fe^{3+} é muito mais evidente do que para outros cátions, provavelmente devido a maior afinidade do fluoróforo com Fe^{3+} .

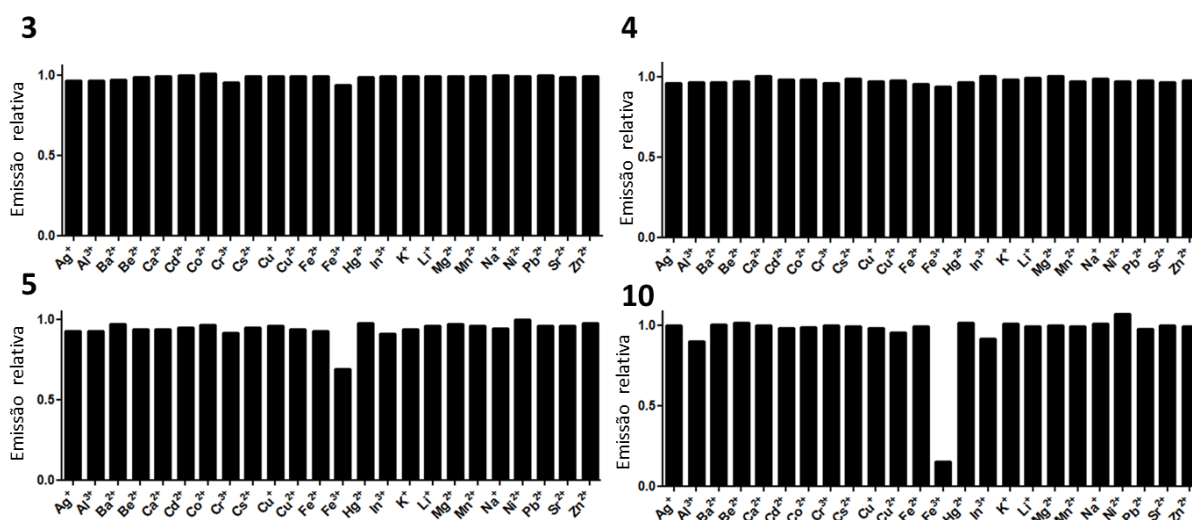


Figura 16. Efeito da adição de 250 μM de diversos cátions sobre a emissão da fluorescência de soluções aquosas a 50 μM dos compostos **3**, **4**, **5** e **10**.

A partir da titulação dos compostos **5** e **10** com FeCl_3 em três temperaturas (0°C , 25°C e 50°C) foram construídas curvas de Stern-Volmer, a partir das quais foram calculados as constantes de supressão de fluorescência (K_{SV}) para os dois compostos (Figura 17). Para o composto **5** observou-se boa linearidade em toda a faixa de concentração de Fe^{3+} estudada (0 a 100 μM), enquanto para o composto **10** observa-se perda da linearidade em concentrações de Fe^{3+} superiores a 150 μM , possivelmente devido a saturação. A maior sensibilidade de **10** frente a Fe^{3+} fica clara com a análise da constante de Stern-Volmer (K_{SV}) desse composto ($2,0 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$ a 25°C), que é cerca de uma ordem de grandeza maior quando comparado ao valor obtido para o composto **5** ($2,3 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$ a 25°C).

Na figura 17, é possível ainda observar que a inclinação da curva de Stern-Volmer é mais acentuada quando o ensaio é realizado em temperaturas mais baixas. Essa observação é um indicativo de que a supressão da fluorescência ocorre por um mecanismo estático, com formação de um complexo não fluorescente entre o fluoróforo e o analito. Essa conclusão é corroborada pelo tempo de vida de fluorescência curto, que não é modificado na presença do analito³.

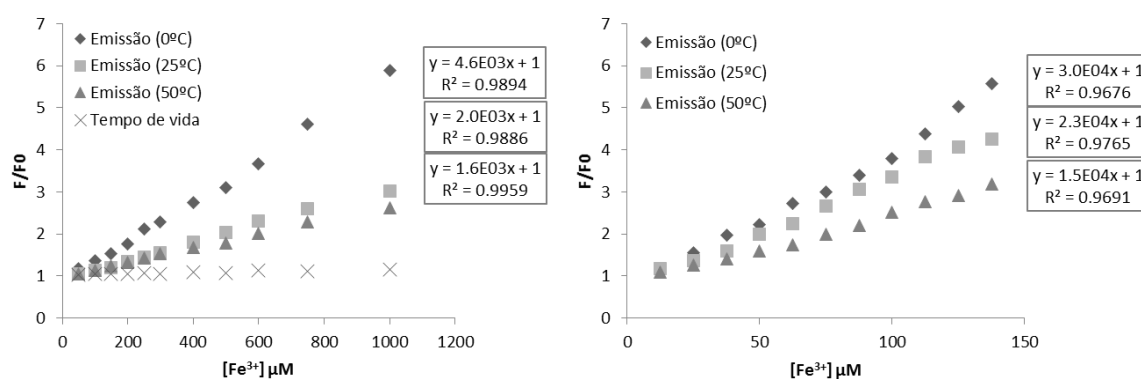


Figura 17. Gráficos de Stern-Volmer obtidos para o composto **5** (esquerda) e **10** (direita) em três condições de temperatura. Não foi possível construir um gráfico de Stern-Volmer para o tempo de vida de fluorescência de **10** devido ao tempo de vida muito curto desse composto no meio aquoso estudado.

Devido ao halocromismo dos compostos **5** e **10**, questionamos como o pH do meio poderia influenciar a aplicação desses compostos como sensores de Fe^{3+} . Para tal, realizamos o estudo da supressão da fluorescência desses dois compostos em meios com diferentes graus de acidez (Figura 18). Os derivados **5** e **10** foram estudados em faixas de pH que não sobrepusessem o pK_a dos grupos substituintes presentes.

O composto **5** foi estudado em pH 4, 6 e 8, sendo que as curvas de Stern Volmer obtidas nos três casos foram semelhantes, com um K_{sv} entre $1,0 \times 10^3$ e $2,0 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$. O composto **10** foi estudado em pH 2, 4 e 6, sendo que a acidez do meio se mostrou muito importante para as propriedades analíticas desse composto. Em pH 6 esse composto se mostrou bastante sensível ao analito, com $K_{sv} = 1,5 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$, enquanto em pH 2 e pH 4 a sensibilidade se mostrou drasticamente reduzida ($K_{sv} = 1,7 \times 10^3$ e $2,1 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$ respectivamente).

Em suma, os resultados obtidos¹⁵⁵ nessa parte do projeto indicam que os compostos **5** e **10** interagem de maneira relativamente específica com cátion Fe^{3+} , resultando na supressão da fluorescência desses dois compostos. Pode se concluir que apesar de ter um brilho intenso, a fluorescência do composto **5** é menos sensível ao analito, enquanto o brilho menor observado de **10** está associado com maior sensibilidade ao analito. Por fim, o pH do meio é uma propriedade importante no processo de supressão da fluorescência de **10** pelo Fe^{3+} .

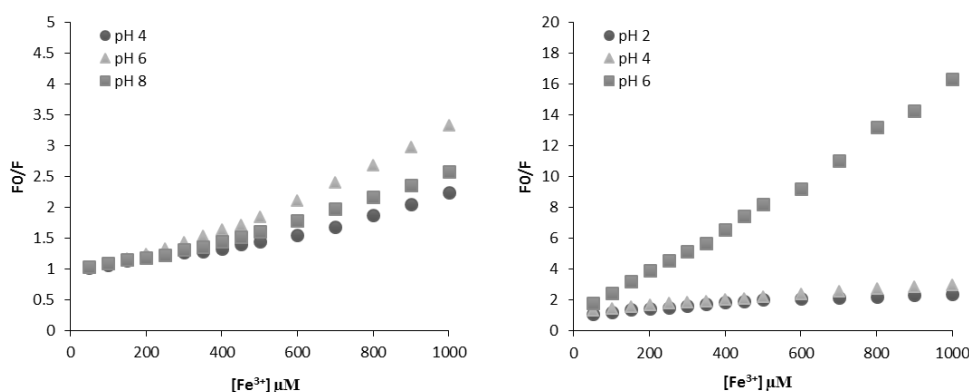


Figura 18. Gráficos de Stern Volmer obtidos para o composto **5** (esquerda) e **10** (direita) em três condições de acidez.

3.3 Modificação química e diversificação fotofísica de BODIPYs

Nas seções 3.1 e 3.2 foi mostrado a síntese e a caracterização óptica de uma série de fluoróforos do tipo BODIPY. Apesar de termos sintetizado alguns compostos interessantes até essa etapa do projeto de doutorado, ainda estávamos restritos à diversificação química baseada na modificação dos reagentes aplicados. A fim de ampliar o arsenal sintético disponível em nosso grupo para o desenvolvimento de novas sondas fluorescentes, investiu-se no estabelecimento de métodos conhecidos de modificação molecular dos BODIPYs, o que será abordado nessa etapa. A colaboração com o grupo do Prof. Dr. Wim Dehaen, da KULeuven na Bélgica, um dos grupos mais ativos na área de modificação molecular de BODIPYs, foi importante nessa etapa do projeto.

3.3.1 Síntese de novos materiais de partida

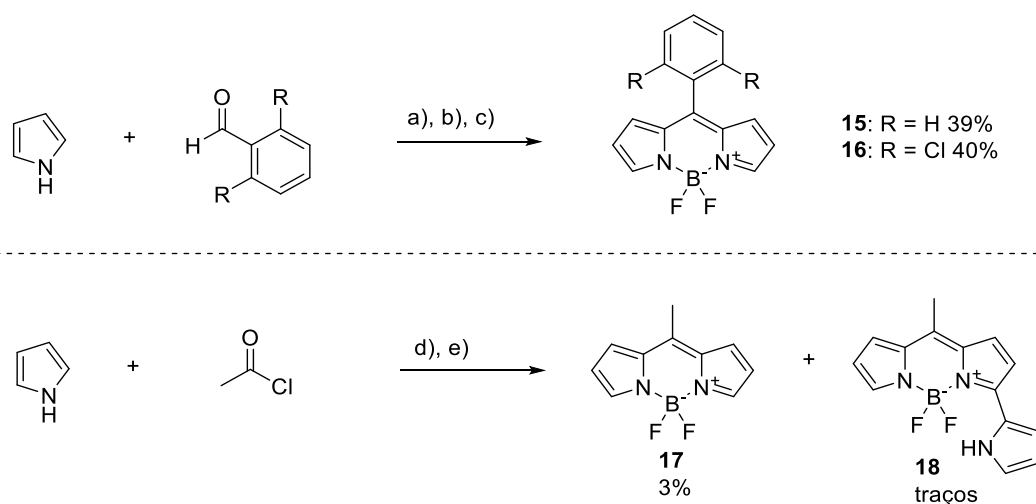
Com o intuito de aplicar métodos mais recentes de modificação do anel BODIPY realizamos a síntese de alguns BODIPYs simples, com baixa funcionalização, para serem utilizados como material de partida. Nessa etapa estabelecemos alguns métodos de síntese de BODIPYs não-metilados e/ou halogenados, que foram utilizados posteriormente como material de partida em reações para modificação.

Como mostrado nas seções anteriores, a biblioteca de BODIPYs obtida nos primeiros anos do projeto de doutorado se baseava principalmente na utilização 2,4-dimetilpirrol como material de partida. Ainda que essa abordagem esteja relacionada com a obtenção de fluoróforos mais estáveis em reações mais limpas e com purificação mais simples, existe a desvantagem do preço mais alto desse material de partida e da menor quantidade de métodos de modificação disponíveis para BODIPYs metilados.

Utilizando um método de síntese em água desenvolvido pelos nossos colaboradores na Bélgica,¹⁵⁶ foi realizada a síntese multigrama dos BODIPYs **15**, com 39% de rendimento a partir de pirrol e do benzaldeído, e **16**, com 40% de rendimento utilizando 2,6-diclorobenzaldeído (Esquema 19). Ambos compostos foram extensivamente utilizados como materiais de partida em reações visando modificação química de BODIPYs que serão descritas posteriormente.

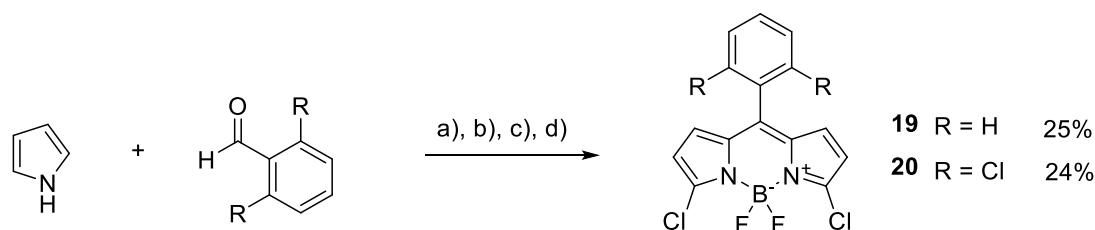
A utilização de aldeídos aromáticos substituídos nas posições 2 e 6, como aquele utilizado na síntese de **16**, é uma estratégia comum para a síntese de fluoróforos com rendimento quântico de fluorescência mais alto. Isso se deve ao efeito espacial dos átomos de cloro que impede a rotação do substituinte *meso*-aromático, processo relacionado com maior probabilidade de transições não radiativas.¹⁵⁷

A partir da reação do cloreto de acetila com pirrol em DCM, seguido da complexação com $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ foi sintetizado o *meso*-metil BODIPY **17**, com rendimento de 3%. O rendimento baixo da reação reflete a dificuldade de sintetizar BODIPYs a partir do pirrol não substituído, de maneira que o estabelecimento do método sintético em água é bastante útil. Além do composto desejado **17**, traços do derivado 3-pirrolil-substituído **18**, cuja emissão de fluorescência está visivelmente desviada para o vermelho, também foi obtido como subproduto da reação.



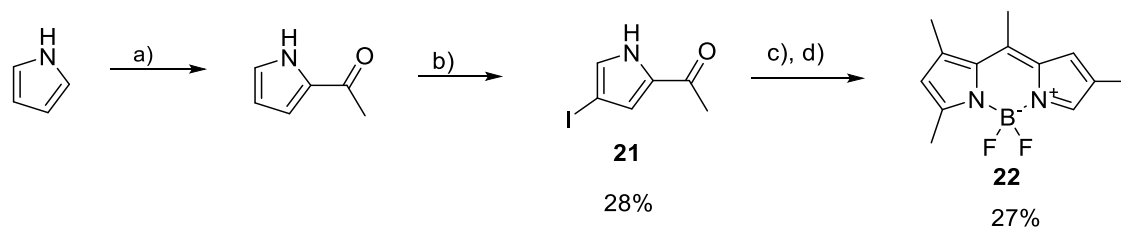
Esquema 19. Síntese de BODIPYs não metilados nas posições 1, 3, 5, ou 7. Acima: Síntese de dois BODIPYs (**15** e **16**) a partir da reação do pirrol com aldeídos aromáticos em meio aquoso. Em baixo: Síntese do BODIPY **17** e do subproduto **18** a partir da reação do pirrol com cloreto de acetila em DCM. Reagentes e condições: a) HCl, H_2O , t.a., 16 horas. b) DDQ ou cloranil, t.a., 16 horas. c) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TEA, t.a. 1 hora. d) DCM, refluxo, 8 horas. e) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, TEA, t.a. 1,5 hora.

BODIPYs halogenados também são materiais de partida versáteis para a funcionalização e diversificação dessa classe de compostos, sendo possível aplicar reações de substituição nucleofílica e acoplamentos cruzados, por exemplo. Dentre os métodos conhecidos, é possível destacar a halogenação de dipirrometanos com N-halo-succinimidas, seguida de oxidação à dipirrina e complexação para formar BODIPYs 3,5 dihalogenados.⁹⁵ Utilizando essa abordagem, aplicando N-cloro-succinimida (NCS) como reagente, foi realizada a síntese dos 3,5-dicloro BODIPYs **19** e **20**, com rendimento global de 25% e 24%, respectivamente (Esquema 20).



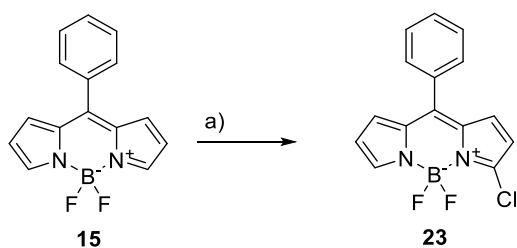
Esquema 20. Síntese dos BODIPYs **19** e **20** contendo átomos de cloro nas posições 3 e 5 do anel. Reagentes e condições: a) HCl, H₂O, t.a., 16 horas. b) NCS, -78°C, 1 hora. c) DDQ, THF, t.a., 1 hora. d) BF₃·Et₂O, TEA, t.a. 1,5 hora.

Uma outra abordagem utilizada na síntese de um BODIPY halogenado envolveu a obtenção sintética do derivado acetil pirrólico halogenado **21** (Esquema 21). Neste caso, a halogenação do material de partida possibilita a formação de BODIPYs potencialmente reativos frente a nucleófilos e em condições de acoplamento cruzado. Ao reagir o pirrólio em condições típicas da reação de Vilsmeier foi obtido o 2-acetil pirrólio, que foi prontamente convertido ao derivado **21** por halogenação, na presença de iodeto de sódio e oxone® em metanol, com rendimento de 28% nessa etapa reacional. O derivado halogenado **21** foi utilizado numa reação com 2,4-dimetil pirrólio na presença de POCl₃ para a obtenção, com 27% de rendimento, do BODIPY halogenado **22**.



Esquema 21. Acetilação e halogenação do pirrólio para formação do intermediário **21**, utilizado na síntese do BODIPY halogenado **22**. Reagentes e condições: a) DMA, POCl₃, DCM, t.a. b) NaI, Oxone®, MeOH, 45 minutos, t.a. c) 2,4-dimetilpirrólio, POCl₃, 6 horas, t.a. d) BF₃·Et₂O, TEA, t.a. 1 hora.

Uma reação simples, recentemente publicada, permite a cloração direta e regioseletiva da posição 3 de BODIPYs,¹⁵⁸ o que abriu a possibilidade de sintetizar o derivado 3-clorado (**23**) a partir de **15**. A síntese desse composto foi realizada com 50% de rendimento a partir da reação de **15** com 1,5 equivalente de cloreto de cobre II dihidratado sob refluxo (Esquema 22). O rendimento observado para essa conversão foi abaixo do relatado na literatura,¹⁵⁸ todavia o produto obtido foi amplamente utilizado como material de partida para outros compostos, como poderá ser observado nas próximas sessões.



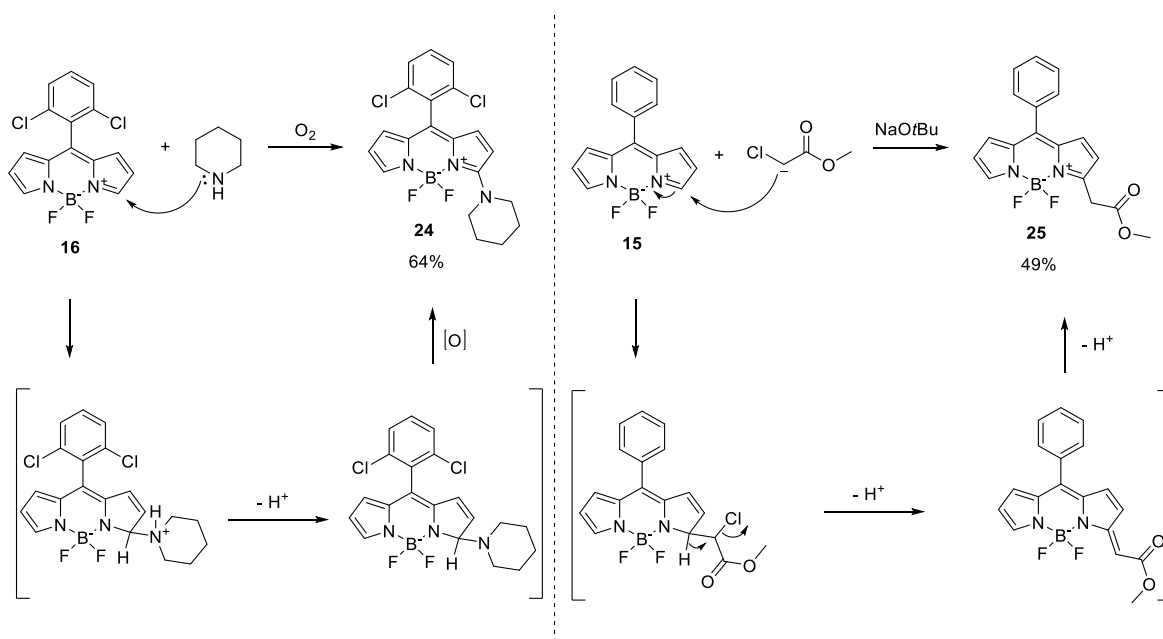
Esquema 22. Cloração regioseletiva do BODIPY **15** para formação de **23**. Reagentes e condições: a) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,5 eq), MeCN, refluxo, 1 hora.

3.3.2 Reações de Substituição

Reações de substituição são abordagens importantes para funcionalização tanto de BODIPYs halogenados quanto de BODIPYs não substituídos nas posições 3 e 5. Durante o desenvolvimento desse projeto de doutorado estabelecemos alguns métodos de substituição de BODIPYs, que abrem novas possibilidades de funcionalização, diversificação estrutural e fotofísica dessa classe de fluoróforos.

Partindo do BODIPY **16** foi possível sintetizar o derivado 3-piperidinil **24**, com 64% de rendimento. Essa conversão é resultado de uma substituição nucleofílica oxidativa¹¹⁸ (Esquema 23, esquerda), no qual o piperidina é utilizada em excesso servindo não só como nucleófilo, mas também como base. Nessa reação o oxigênio molecular é utilizado como o oxidante, que reestabelece a conjugação do composto.

Outra reação de substituição nucleofílica realizada com sucesso explora a reatividade de α -cloroacetato de metila como nucleófilo (Esquema 19, direita).¹¹⁷ A adição de uma base mais forte, como o *tert* butóxido de potássio, resulta na desprotonação do carbono na posição α , levando à formação de um nucleófilo capaz de atacar a posição 3 do anel BODIPY que, após liberação do grupo de saída, resulta na formação do composto substituído. O BODIPY **25** foi obtido com 49% de rendimento, a partir do material de partida **15**.



Esquema 23. Substituição nucleofílica dos BODIPYs **16** e **15** utilizando respectivamente a piperidina e o α -cloroacetato de metila como nucleófilos. Reagentes e condições: a) O_2 , DMF, t.a., 24 horas. b) NaOtBu, DMF, t.a., 30 minutos.

Ainda que o BODIPY não halogenado possa ser utilizado como material de partida para reações de substituição nucleofílica, essa reação é limitada para inserção de apenas um nucleófilo, pois, em geral, o caráter doador do grupo inserido diminui a reatividade do anel. Outra desvantagem está na restrição dos nucleófilos que podem ser utilizados, de maneira que também investimos na aplicação dos BODIPYs clorados como materiais de partida para reações de substituição.

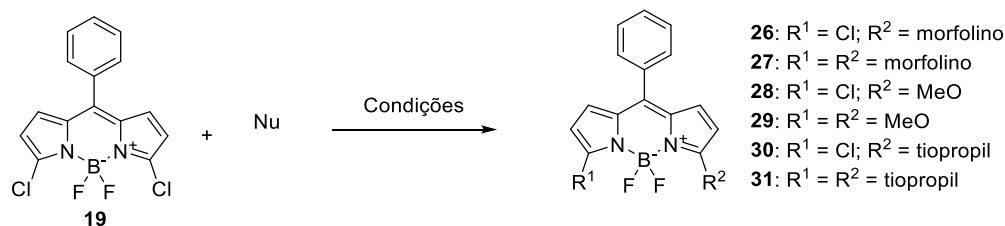
A partir da reação de **19** com a morfolina foi possível realizar substituição nucleofílica resultando na obtenção tanto do derivado monosubstituído **26** quanto do derivado disubstituído **27**. Controlando os parâmetros reacionais como tempo de reação, a temperatura e o excesso da morfolina, ambos puderam ser sintetizados com bons rendimentos (Tabela 2 entradas 1 – 3). À temperatura ambiente observa-se conversão total ao BODIPY monosubstituído **26**. A inserção do segundo grupo morfolino só é observada com a reação em refluxo, sendo que a utilização de 6 equivalentes do nucleófilo resultou na formação do disubstituído, com até 71% de rendimento.

Nucleófilos de oxigênio na forma de alcóxidos também podem ser aplicados em reações similares para obtenção dos BODIPYs substituídos. A reação de **19** com 2,5 equivalentes de metóxido de sódio, em metanol, à temperatura ambiente por 1 hora, resultou na conversão total ao produto monosubstituído **28**, com 67% de rendimento (Tabela 2, entrada 4). Quando o excesso de metóxido de sódio é aumentado e a reação é aquecida até refluxo, é observado a

formação do produto dissubstituído **29** (Tabela 2, entradas 5 e 6).

Por fim, foi utilizado também um nucleófilo de enxofre, o propanotiol, numa reação de substituição nucleofílica de **19** (Tabela 2, entradas 7 a 9). A reação de **19** com 2,5 equivalentes de propanotiol, em refluxo de acetonitrila por 3 horas, resultou na formação do produto **30** e do dissubstituído **31**, com rendimentos de 56% e 22%, respectivamente. Aumentando o excesso de propanotiol e o tempo de reação é possível observar o aumento da proporção do produto dissubstituído **31**, que foi obtido com 62% de rendimento.

Tabela 2. Reações de substituição nucleofílica com o composto **19**.

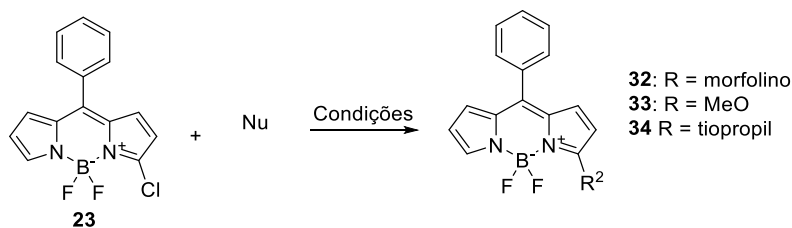


Entrada	Condições				Produtos (%) ^a
	Nu (eq.)	Temp. ^b	Solvente	Tempo	
1	Morfolina (2,2)	t.a.	MeCN	15 min	26 (87)
2	Morfolina (4,0)	refluxo	MeCN	2 horas	26 (54), 27 (19)
3	Morfolina (6,0)	refluxo	MeCN	2 horas	26 (20), 27 (71)
4	NaOMe (2,5)	t.a.	MeOH	1 hora	28 (67)
5	NaOMe (5,0)	refluxo	MeOH	2 horas	28 (71), 29 (traços)
6	NaOMe (8,0)	refluxo	MeOH	5 horas	29 (37)
7	Tiopropanol (2,5) ^c	refluxo	MeCN	3 horas	30 (56), 31 (22)
8	Tiopropanol (5,0) ^c	refluxo	MeCN	4 horas	30 (14), 31 (47)
9	Tiopropanol (8,0) ^c	refluxo	MeCN	6 horas	30 (5), 31 (62)

^a Rendimento do produto isolado mostrado em %.^b temperatura ambiente (t.a.) ou refluxo.

^c Quantidade equivalente de trietilamina adicionada.

O derivado monoclorado **23** também foi utilizado em reações de substituição com os mesmos nucleófilos mostrados anteriormente (Tabela 3). A reação de **23** com morfolina e metóxido de sódio, à temperatura ambiente, resultou na conversão total do material de partida em 1 hora de reação, levando à obtenção dos derivados **32** e **33**, com rendimento de 61 e 58%, respectivamente. A reação com tiopropanol foi realizada sob refluxo durante 2 horas e o derivado **34** foi obtido com 62% de rendimento.

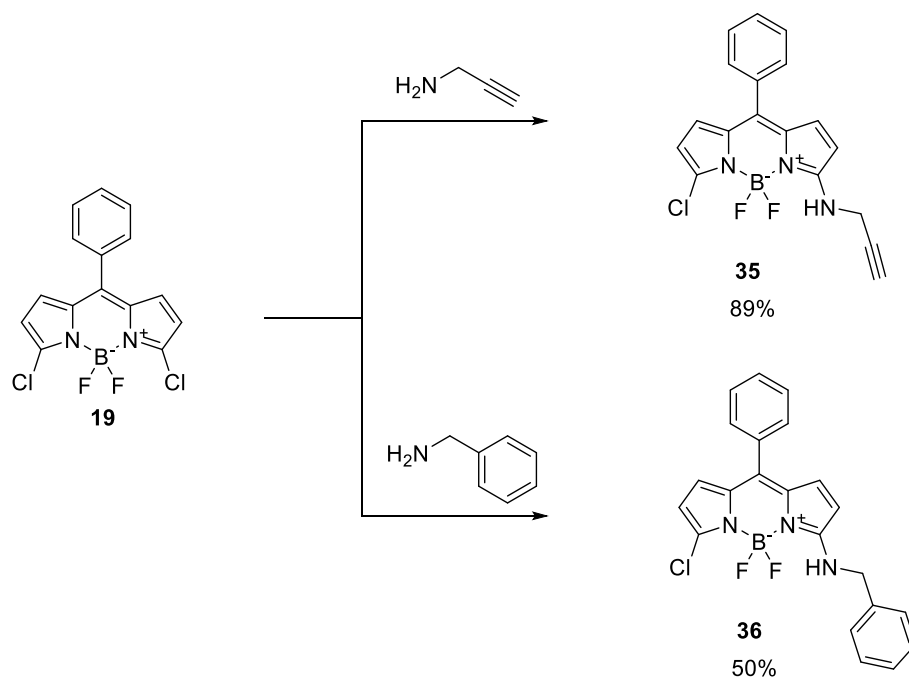
Tabela 3. Reações de substituição nucleofílica com o composto **23**.

Entrada	Condições ^a				Produto (%) ^c
	Nu	Temp. ^b	Solvente	Tempo	
1	Morfolina	t.a.	MeCN	1 hora	32 (61)
2	NaOMe	t.a.	MeOH	1 horas	33 (58)
3	Tiopropanol	refluxo	MeCN	2 horas	34 (62)

^a Reação com 2,5 eq do nucleófilo, sendo que para o tiopropanol quantidade equivalente de trietilamina foi adicionada. ^b temperatura ambiente (t.a.) ou refluxo. ^c Rendimento do produto isolado mostrado em %.

O estabelecimento da reação de substituição nucleofílica de BODIPYs clorados foi importante por ser uma maneira relativamente simples de funcionalizar fluoróforos. Para a obtenção de uma sonda fluorescente funcionalizada com um alcino terminal foi realizada a reação do BODIPY **19** com propargilamina, que resultou na formação do composto **35**, com 89% de rendimento (Esquema 24). A presença de um alcino terminal na estrutura de BODIPYs possibilita a aplicação dessa sonda em reações de cicloadição do tipo *click chemistry*, como aquelas envolvendo azidas para a formação de anéis triazólicos, muito utilizada em conjugações químicas e conjugação bioortogonal.

Abordagem semelhante foi testada para a síntese de precursor para sonda fluorescente aminada. A partir da reação de **19** com benzilamina, o derivado **36** foi obtido com 50% de rendimento (Esquema 24). Ainda que a aplicação não tenha sido testada, esse composto é um potencial material de partida para a síntese de um BODIPY funcionalizado com uma amina primária. Quando submetido a condições típicas de hidrogenólise esse composto pode originar um novo fluoróforo aminado.



Esquema 24. Aplicação da substituição nucleofílica de BODIPYs halogenados para a síntese de novas sondas funcionalizadas. Acima está mostrada a formação do BODIPY **35** para aplicação em reações de conjugação. Abaixo está mostrada a síntese do BODIPY **36** que é um precursor para um BODIPY aminado após hidrogenólise.

A funcionalização nas posições 3 e 5 de BODIPYs está comumente associada com modificações no espectro de emissão de fluorescência, dependendo da natureza do grupo inserido. Na figura 19 estão mostrados os espectros de emissão dos compostos substituídos **26** a **31**, bem como do material de partida **19** e do derivado **15**, sem substituições. A inserção dos átomos de cloro ou do grupo metóxi pouco influenciou a emissão de fluorescência. Enquanto a emissão máxima de **15** ocorre em 538 nm, os picos de emissão dos derivado 3,5-diclorado (**19**), 3-cloro-5-metóxi (**28**) e 3,5 dimetóxi (**29**) aparecem, respectivamente, em 541 nm, 531 nm e 540 nm. Para os derivados substituídos pelo grupo morfolino foi observado o máximo de emissão em 554 nm (**26** – monosubstituído) e 602 nm (**27** – disubstituído). A inserção do grupo tiopropil desviou o pico de emissão para 564 nm no caso de uma substituição (**30**) e 593 nm no caso de duas substituições (**31**).

O desvio batocrômico de derivados substituídos por nitrogênio e enxofre nas posições 3 e 5 está bem relatado na literatura,^{103,123,157,159,160} bem como a ausência de efeito semelhante quando nucleófilos de oxigênio são inseridos nessa posição¹⁶¹. O efeito batocrômico resultante da inserção de aminas é geralmente atribuído ao efeito doador de elétrons, que resulta na extensão do sistema de duplas ligações conjugadas,^{103,157} o que aparentemente ocorre também com nucleófilos de enxofre, mas não com nucleófilos de oxigênio.

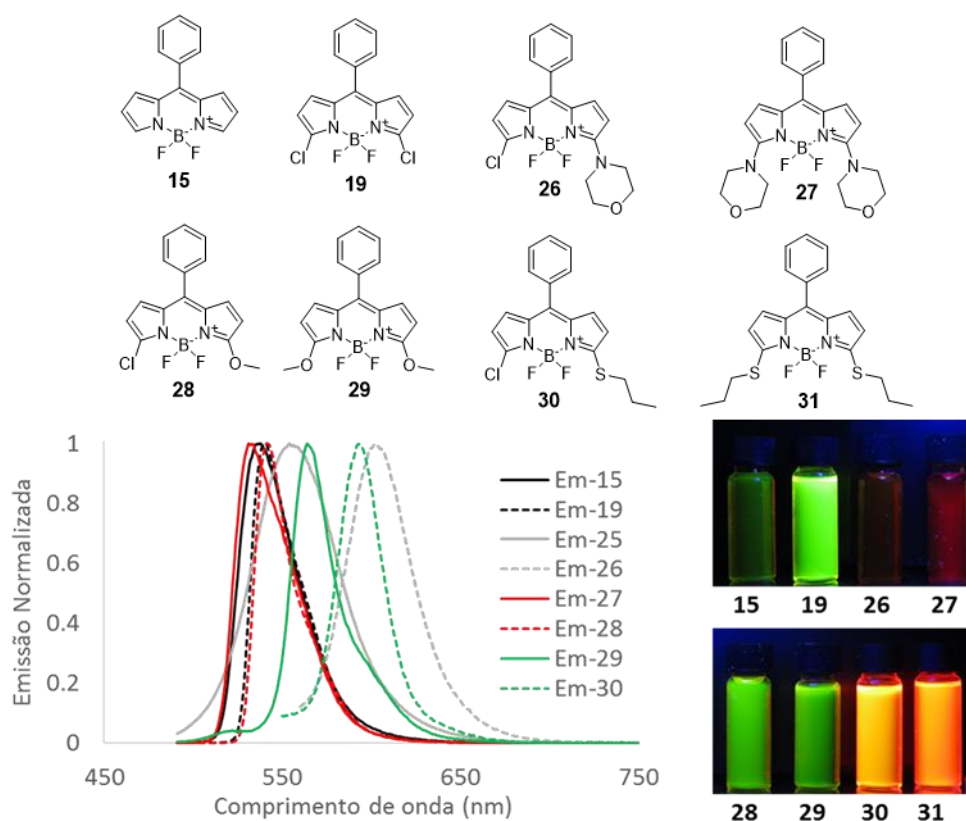


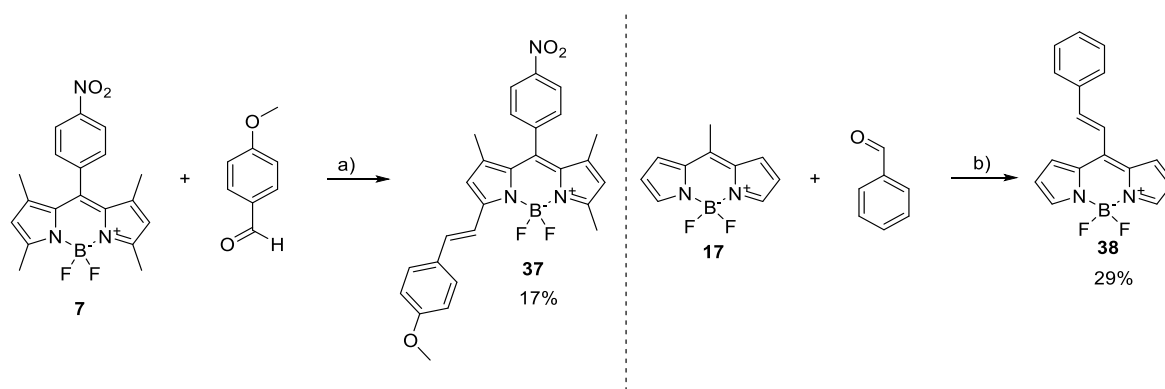
Figura 19. Emissão de fluorescência dos composto **15**, **19**, **26** – **31** mostrando o efeito batocrômico da inserção do grupo morfolino e do grupo propanotiol. Esquerda: espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{exc} = 470$ nm). Direita: Emissão observada sob luz negra.

3.3.3 Condensações e acoplamentos

Um dos primeiros métodos descritos de modificação química de BODIPYs envolve a formação de ligações C-C, a partir da reação de metilas do núcleo BODIPY com aldeídos aromáticos, visando a formação de derivados do tipo estiril substituído, cuja emissão de fluorescência está usualmente desviada devido à extensão de conjugação. Tal conversão se baseia na relativa acidez das metilas ligadas ao BODIPY que, quando desprotonadas na presença de base, resultam num ataque ao aldeído aromático, numa reação comumente chamada de condensação de Knoevenagel. Essa reação tem a vantagem de permitir a obtenção de fluoróforos com emissão desviada para o vermelho a partir de BODIPYs metilados.¹²⁹⁻¹³¹

Com o intuito de diversificar a faixa de emissão da biblioteca de BODIPYs desenvolvida neste projeto, submetemos o BODIPY **7** às condições de reação de condensação de Knoevenagel, com *para*-anisaldeído, que forneceu o BODIPYs monosubstituído **37**, com 17% de rendimento (Esquema 25), e cuja emissão de fluorescência é visivelmente desviada para o vermelho. O controle por CCD mostrou ainda a formação de traços de outro composto, com emissão ainda mais desviada para o vermelho, condizente com a dupla condensação, todavia a baixa

quantidade não possibilitou a confirmação estrutural desse composto por meio de métodos espectroscópicos usuais. A condensação de Knoevenagel também pode ser realizada em metilas na posição *meso*, neste sentido, a partir do BODIPY **14** foi obtido o derivado *meso* estiril **38**, com 29% de rendimento, a partir da reação de condensação com benzaldeído.

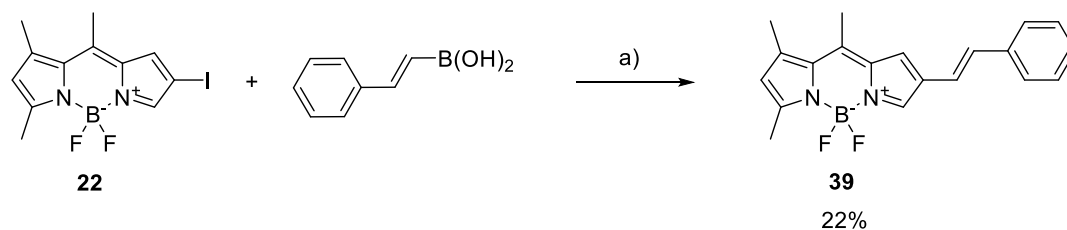


Esquema 25. Condensação de Knoevenagel aplicada aos BODIPYs **7** e **14**. Reagentes e condições: a) Tolueno, piperidina (10 eq), refluxo, 3,5 horas. b) Tolueno, piperidina (7 eq), AcOH (14 eq), refluxo, 5 minutos.

Apesar de estar associada com diversificação óptica de BODIPYs, a principal desvantagem dessa abordagem sintética está no rendimento reacional muito baixo. Essa desvantagem é ainda agravada pelo fato de os BODIPYs utilizados como materiais de partida serem obtidos em reações com baixo rendimento e, no caso do composto **7**, utilizando derivados pirrólicos com menor disponibilidade comercial.

A partir de BODIPYs halogenados mostrados anteriormente, algumas reações clássicas de acoplamento cruzado foram realizadas, visando estabelecer métodos para síntese de sondas com emissão de fluorescência desviada. Com o intuito de sintetizar o derivado 2-estiril-substituído inédito **39**, utilizamos o composto **22** iodado como material de partida. A primeira abordagem foi a utilização do estireno numa reação de Heck, entretanto, a partir desta reação de acoplamento cruzado, uma série de produtos indesejados foram obtidos. A análise espectroscópica indicou que provavelmente polímeros de estireno ligados ao BODIPY foram formados, possivelmente em função de uma reação radicalar resultante da clivagem homolítica da ligação carbono-iodo de **22**.

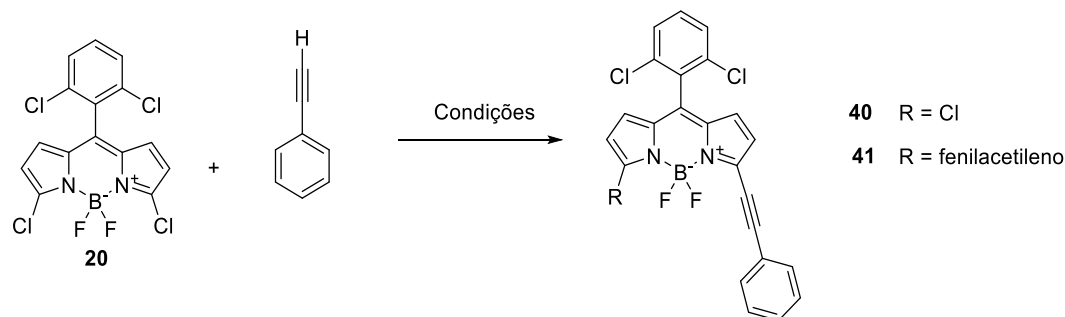
Alternativamente, foi testada a utilização de um sal de trifluorborato ao invés do estireno, numa reação de acoplamento cruzado similar à reação de Suzuki, todavia o controle por cromatografia de camada delgada não mostrou qualquer conversão do material de partida. Por fim, utilizando o derivado ácido *trans*-estiril borônico, sob as condições clássicas da reação de Suzuki, foi obtido o composto **39**, com rendimento de 22% (Esquema 26).



Esquema 26. Reação de Suzuki aplicando ácido *trans*-estiril borônico para conversão de BODIPY iodado **22** ao derivado **39**. Reagentes e condições: a) Pd(PPh₃)₄, Na₂CO₃ 1M (aq), tolueno, refluxo, 3 horas.

O BODIPY clorado **20** também foi utilizado como material de partida para reação de acoplamento cruzado. Com o intuito de obter sondas com emissões desviadas para o vermelho, aplicou-se a reação de Sonogashira a fim de inserir um grupo fenilacetileno nas posições 3 e 5 do núcleo BODIPY, estendendo o sistema de duplas conjugadas (Tabela 4). Quando utilizado 1 equivalente do fenilacetileno, em refluxo de dioxano/DIPEA, utilizando 10 mol% de Pd(0) e CuI, o controle por CCD mostrou consumo total do material de partida em 1 hora, todavia o produto desejado não foi obtido. Com a mudança do sistema reacional para THF/TEA, a 60°C, com 2 mol% de Pd(0) e CuI, observou-se a formação do produto monosubstituído **40**, com 74% de rendimento, e do produto disubstituído **41**, com 13% de rendimento. O aumento da quantidade de fenilacetileno para 2,2 equivalentes permitiu a obtenção de maior quantidade do produto **41**.

Tabela 4. Reação de Sonogashira do composto **20** com fenilacetileno.



Entrada	Condições ^a						Rendimento ^b	
	PhC≡CH ^c	Pd(PPh ₃) ₄ ^d	CuI ^d	Solvente	Base	Temp ^e	40	41
1	1,1	10,0	10,0	Dioxano	DIPEA	101	0	0
2	1,1	2,0	2,0	THF	TEA	60	74	13
3	2,2	2,0	2,0	THF	TEA	60	21	62

^a 0,2 mmol de **20** em 3 mL de solvente seco, 1,5 mL de base, 30 min a 1 hora de reação (consumo total do material de partida na CCD). ^b Rendimento do produto isolado mostrado em %. ^c Quantidade de reagente dada em equivalentes ^d Quantidade de reagente dada em mol% ^e temperatura em °C

O principal objetivo por trás da síntese dos BODIPYs substituídos com grupo estiril e com o grupo fenilacetileno foi a diversificação fotofísica da nossa biblioteca de compostos. A inserção desses grupos leva a um aumento da extensão do sistema de duplas ligações conjugadas, geralmente resultando num desvio batocrômico.

Como esperado, alguns dos espectros de emissão dos compostos sintetizados (Figura 20) sofreram desvios quando comparados com a emissão típica de BODIPYs não substituídos, em geral próxima a 500nm. Foi observado um efeito batocrômico na emissão do composto 3-estiril substituído **37**, cujo pico de emissão ocorreu próximo a 590 nm. A emissão do derivado *meso*-estiril **38**, se mostrou muito pouco intensa e praticamente invisível, com uma banda de emissão larga e desviada para o vermelho. Interessantemente, a adição de um grupo estiril na posição 2 observada para o derivado **39** aparentemente não resultou em desvio significativo da banda principal no espectro de emissão, todavia observa-se o aparecimento de uma nova banda de menor intensidade, com comprimento de onda desviado para o vermelho. Os BODIPYs com grupo fenilacetileno tiveram emissão com desvio batocrômico relevante, centrada próximo a 570 nm para o mono substituído **40**, e 650 nm para o disubstituído **41**.

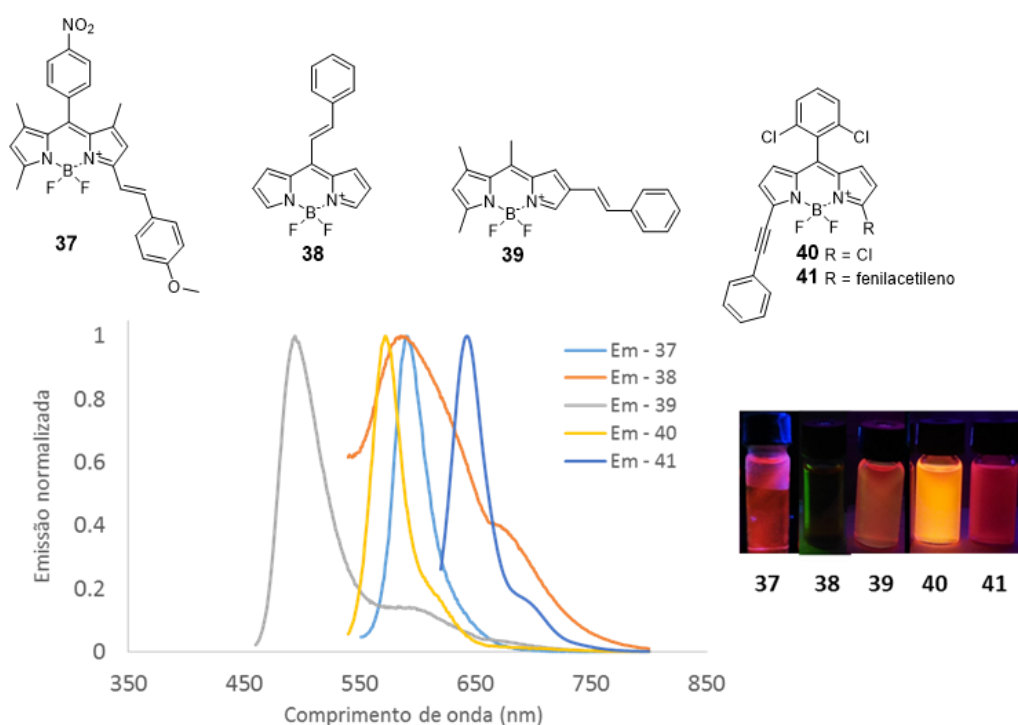


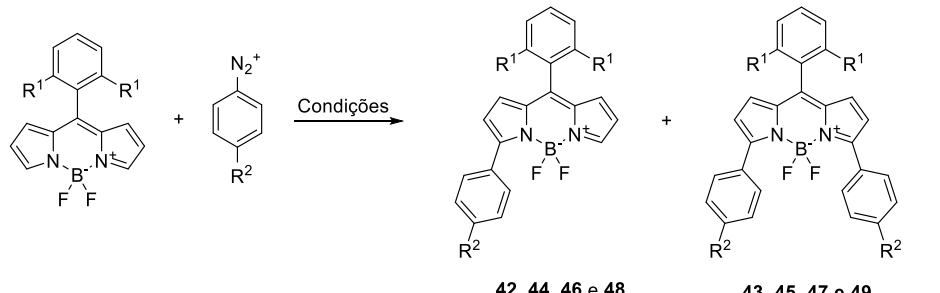
Figura 20. Diversidade na emissão de fluorescência de soluções em THF dos derivados substituídos por estiril ou fenilacetileno. Estão mostrados os espectros de emissão dos compostos **37**, **38**, **39** ($\lambda_{\text{exc}} = 520 \text{ nm}$), **40** ($\lambda_{\text{exc}} = 440 \text{ nm}$) e **41** ($\lambda_{\text{exc}} = 600 \text{ nm}$).

3.3.4 BODIPYs arilados

A adição de um grupo fenil nas posições 3 e 5 está relacionada a desvios espectrais para o vermelho, e também pode ser explorada na funcionalização de BODIPYs. Para tal, exploramos um método de arilação direta do anel BODIPY desenvolvido pelos nossos colaboradores na Bélgica.¹²⁷ Nessa abordagem, ao utilizar sal de fenildiazônio, na presença de ferroceno, é possível observar a arilação nas posições 3 e 5, por meio de um mecanismo radicalar.

Aplicando esse método sobre o BODIPY **15** com tetrafluorborato de fenildiazônio pudemos obter os derivados arilados **42** e **43**, com 31 e 22% de rendimento, respectivamente (Tabela 5, entrada 1). Utilizando um derivado tetrafluorborato de *p*-nitrofenildiazônio foi realizada a arilação tanto do BODIPY **15** quanto do BODIPY **16** (Tabela 5, entradas 2 e 4), possibilitando a obtenção dos derivados **44** (22%), **45** (16%), **48** (37%) **49** (10%). Derivados metóxi-substituídos **46** e **47** também foram sintetizados (Tabela 5, entrada 3), com rendimentos mais baixos, similares aos observados na literatura.¹²⁷

Tabela 5. Arilação de BODIPYs com sais de fenildiazônio.



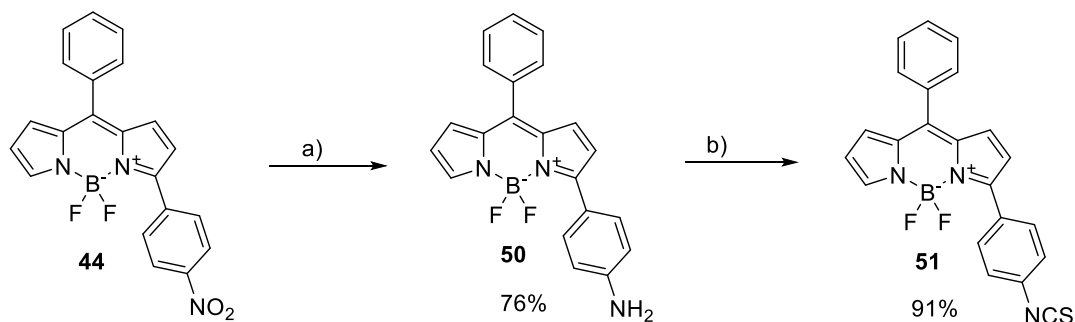
Entrada	Condições ^a		R ¹		R ²	Produtos (%) ^d
	MP ^b	R ² PhN ₂ BF ₄ ^c				
1	15	2,2	H	H	H	42 (31), 43 (22)
2	15	2,2	H	NO ₂	NO ₂	44 (21), 45 (16)
3	15	2,2	H	OMe	OMe	46 (10), 47 (11)
4	16	1,0	Cl	NO ₂	NO ₂	48 (37), 49 (10)

^a Acetona utilizada como solvente da reação. Solução de ferroceno (0,2 eq) em acetona adicionada gota a gota no decorrer de 15 – 30 minutos. Após adição completa a solução é mantida sob agitação à temperatura ambiente por 10 – 30 minutos ^b Material de partida.

^c Quantidade de reagente dada em equivalentes. ^d Rendimento do produto isolado mostrado em %.

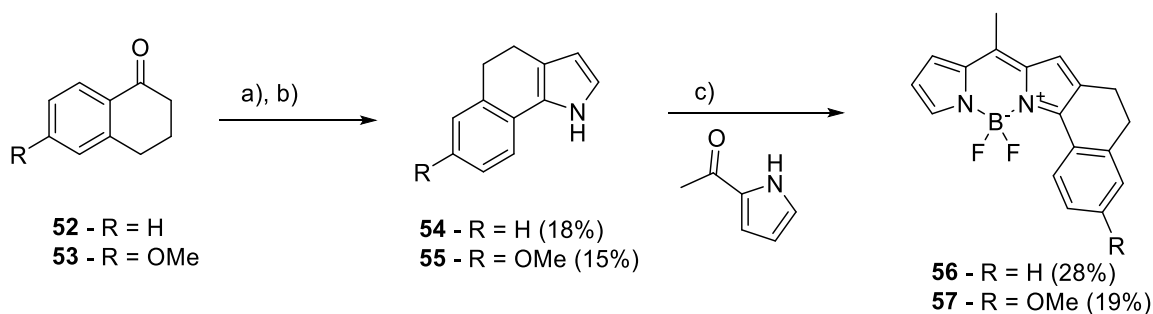
Foi realizada a redução do grupo nitro do BODIPY **44**, utilizando gás hidrogênio e paládio sobre carvão como catalisador, a partir da qual o derivado aminado **50** foi obtido com 76% de rendimento (Esquema 27). Devido à presença do grupamento amino livre, esse composto é um importante material de partida para realizar funcionalizações. Baseado nos resultados dos estudos ópticos de **11**, é possível inferir que o BODIPY **46** possua propriedades semelhantes em relação ao solvatocromismo e halocromismo, todavia numa faixa diferente do espectro.

A reação do BODIPY aminado **50** com TDP resultou na formação do derivado isotiocianato inédito **51**, com 91% de rendimento. O interesse no composto **51** está na sua potencial utilização para marcação de amins livres em biomoléculas, aliado ao espectro de emissão desviado para o vermelho¹⁶².



Esquema 27. Redução do BODIPY nitrado **44** ao derivado aminado **50** seguida da conversão ao isotiocianato **51**. Reagentes e condições: a) H₂, Pd/C, t.a. b) TDP, CHCl₃, t.a..

Uma outra abordagem interessante para a preparação de BODIPYs estruturalmente semelhantes aos derivados arilados é a aplicação da reação de Trofimov,^{163,164} usualmente utilizada para a obtenção de 4,5-dihidrobenzoindóis a partir de tetralonas. Com a utilização de 4,5-dihidrobenzoindóis como fragmentos de partida para a formação de BODIPYs, é possível obter BODIPYs arilados nas posições 3 e 5, sendo que o grupo aril está conectado às posições 2 e 6 do BODIPY por uma cadeia de etileno. Tetralona **52** e 6-metóxi-1-tetralona **53** foram utilizados como materiais de partida para reação de Trofimov, a partir das quais foram obtidos os respectivos 4,5-dihidrobenzoindóis **54** e **55**, com rendimentos de 18% e 15% (Esquema 28). Ambos foram obtidos como sólidos brancos levemente azulados e, devido à instabilidade, aplicados na próxima etapa de reação logo após a purificação. Os compostos **54** e **55** foram usados numa reação com 2-acetilpirrol para obtenção dos BODIPYs **56** (28%) e **57** (19%), que diferem pela presença de um grupo metóxi em **57**.



Esquema 28. Aplicação da reação de Trofimov na formação de 4,5-dihidrobenzoindóis a utilização deles na síntese de BODIPYs. Reagentes e condições: a) NH₂OH, t.a., 4 horas. b) C₂H₂, DMSO/KOH, 160°C, 2 horas. c) POCl₃, t.a., 2 horas.

A síntese dos BODIPYs arilados mostrados nessa etapa do trabalho foi uma estratégia para a obtenção de sondas fluorescentes com emissão desviada para o vermelho. A emissão de fluorescência dos derivados **48**, **49**, **56** e **57**, mostrada na figura 21, exemplificam bem o efeito da arilação de BODIPYs nas posições 3 e 5 de BODIPYs.

Os espectros de fluorescência dos derivados **48** e **49** se mostraram bastante desviados para o vermelho quando comparadas ao material de partida **16**, com pico de emissão em 577 e 621 nm, respectivamente (Figura 21). Para o BODIPY **56**, o pico de emissão em 561 nm também está desviado em comparação à emissão típica de BODIPYs. Interessantemente, quando comparada à emissão do composto **56**, o pico de emissão do derivado metóxi-substituído **57** foi observado com um desvio batocrômico de quase 20 nm, estando centralizado próximo a 579 nm. Essa diferença pode ser observada visualmente pela cor alaranjada de **56**, em comparação com à emissão amarelada de **57** (Figura 21), provavelmente resultado do efeito mesomérico doador de elétrons do grupo metóxi para o anel BODIPY.

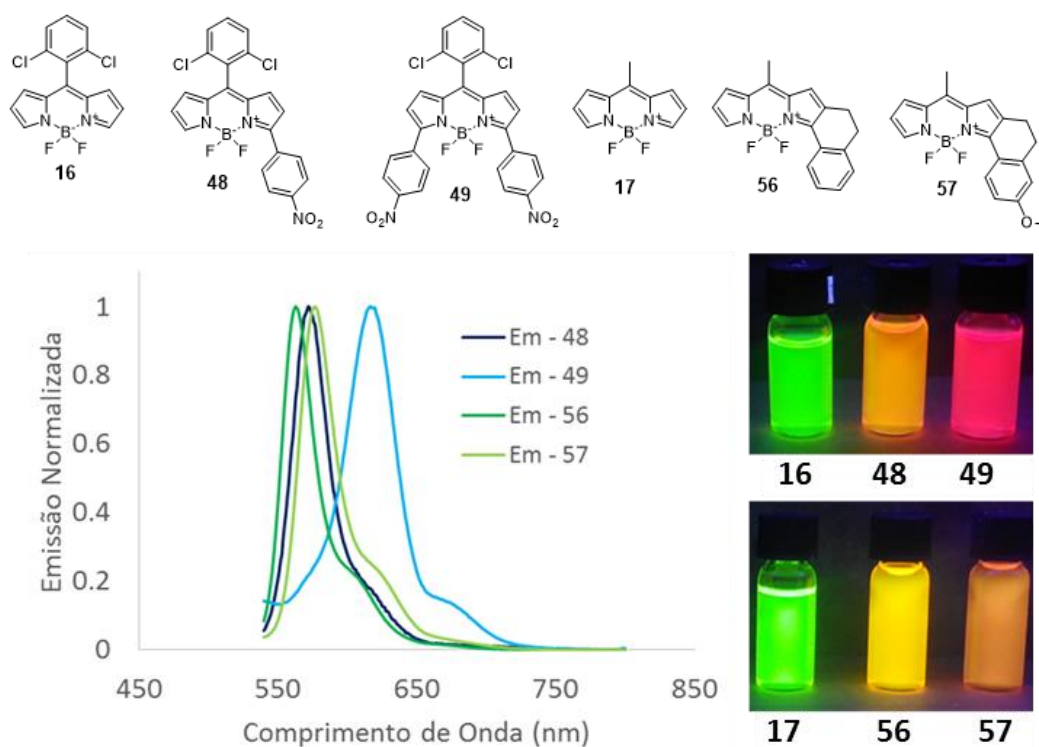


Figura 21. Emissão de fluorescência de solução em THF dos BODIPYs **48**, **49**, **56** e **57**, ($\lambda_{exc} = 520$ nm) substituídos com grupo aril. Estão mostrados os espectros desses 4 compostos bem como emissão sob luz negra comparada com derivados similares não arilados.

3.4 Tiocianação direta de BODIPYs: Nova abordagem visando funcionalização

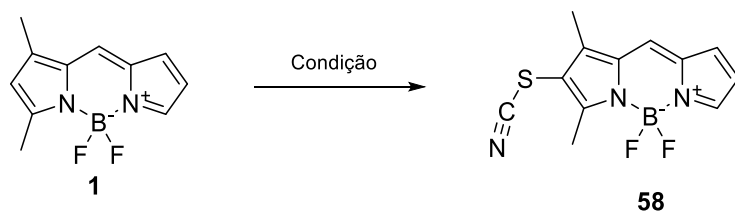
3.4.1 Desenvolvimento de um método de Tiocianação

Apesar das aplicações sintéticas do grupo tiocianato, a reação de tiocianação nunca foi relatada para o anel BODIPY. Com o intuito de inovar na área da química de BODIPYs nosso grupo investiu no desenvolvimento e aplicação de um método visando a tiocianação dessa classe de fluoróforos.

Nossos resultados iniciais indicaram que a adição de tiocianato de amônio a um sistema reacional com 1,3-dimetil BODIPY **1** não resulta na conversão do material de partida, mesmo em condições mais severas (Tabela 6, entradas 1 e 2). Todavia, testes posteriores mostraram que a adição de oxone®,¹⁶⁵ um agente oxidante comercialmente disponível, como aditivo à reação resultou na tiocianação direta do núcleo BODIPY na posição 2.

Após determinar a necessidade do oxone® como adjuvante na tiocianação do BODIPY **1** ao derivado **58**, realizamos um estudo de otimização desta reação (Tabela 6 entradas 3 – 6). O melhor método permitiu a obtenção de **58**, com 84% de rendimento, quando utilizados 3 equivalentes de tiocianato de amônio e de oxone®, em metanol (Tabela 6, entrada 6). Após 1 hora de reação, o controle por CCD mostrou a conversão total do material de partida, e o BODIPY **58** é obtido após purificação cromatográfica em coluna de sílica.

Tabela 6. Otimização da tiocianação do composto **1**.



Entrada	Oxone ^a	NH ₄ SCN ^a	Condição ^b	Rendimento ^c
1	0 eq	1 eq	t.a., 16 h	- ^d
2	0 eq	2 eq	Refluxo, 16 h	- ^d
3	1.2 eq	1.2 eq	t.a., 4 h	17% ^e
4	1.5 eq	1.5 eq	t.a., 4 h	37% ^e
5	5 eq	5 eq	t.a., 24 h	75% ^f
6	3 eq	3 eq	t.a., 1 h	82%

^a Quantidade de reagente dada em equivalentes ^b Solvente: Metanol ^c Rendimento do produto isolado mostrado em %. ^d CCD – Nenhuma conversão. ^e CCD – Conversão parcial. ^f CCD – Conversão total com formação de subprodutos.

A estrutura do composto **58** foi determinada por métodos de espectroscopia de RMN e de espectrometria de massas. No espectro de RMN de ^1H do produto, quando comparado ao espectro do material de partida, foi possível observar a ausência de um sinal na região típica dos sinais aromáticos dos BODIPYs, entre 6,0 e 8,0 ppm (Figura 22). Essa observação é condizente com a inserção de um substituinte em uma das posições do anel BODIPY.

No espectro de RMN de ^{13}C de **58** foi observado o aparecimento de mais um sinal de carbono (Figura 22). Essa observação condiz com a inserção de um grupo tiocianato, uma vez que tal grupo contém um carbono ligado a dois átomos eletronegativos, cujo sinal no espectro de RMN de ^{13}C aparece geralmente próximo a sinais de carbonos aromáticos. Interessante notar que no ensaio de RMN DEPT-135, no qual é possível diferenciar os carbonos de acordo com a quantidade de hidrogênios diretamente ligados, foi observada a diminuição dos sinais de carbonos em relação ao material de partida, apresentando quatro sinais de C-H, ao contrário dos cinco sinais observados em **1**, reforçando a conclusão de que a tiocianação do BODIPY ocorrera.

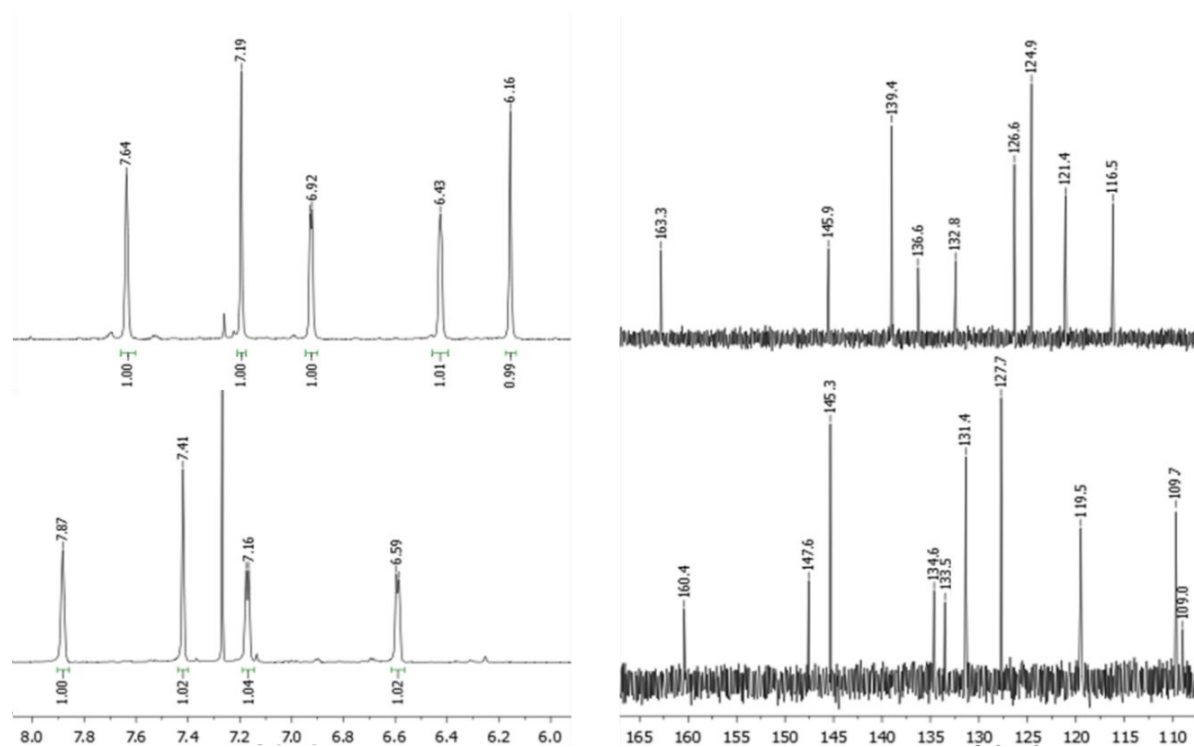


Figura 22. Espectros de RMN condizentes com a reação de tiocianação do BODIPY **1**. Esquerda: Parte do espectro de RMN de ^1H do material de partida (**1** – em cima) e do produto tiocianado (**54** – em baixo) mostrando a existência de um pico a menos no espectro do produto obtido. Direita: Parte do espectro de RMN de ^{13}C do material de partida (**1** – em cima) e do produto tiocianado (**54** – em baixo) mostrando a existência de um pico a mais no espectro do produto obtido

O espectro de infravermelho foi bastante informativo para confirmar a estrutura de **58**, uma vez que o grupo tiocianato mostra uma absorção típica entre 2140 e 2175 cm^{-1} , região espectral geralmente sem sinais. No espectro obtido para este composto observou-se um sinal de absorção em 2154 cm^{-1} (figura 23), condizente com a inserção do grupo tiocianato. No espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray foram observados sinais referentes à molécula protonada, à perda de flúor, ao aduto com sódio e potássio (figura x), confirmando a formação de um derivado tiocianado do BODIPY.

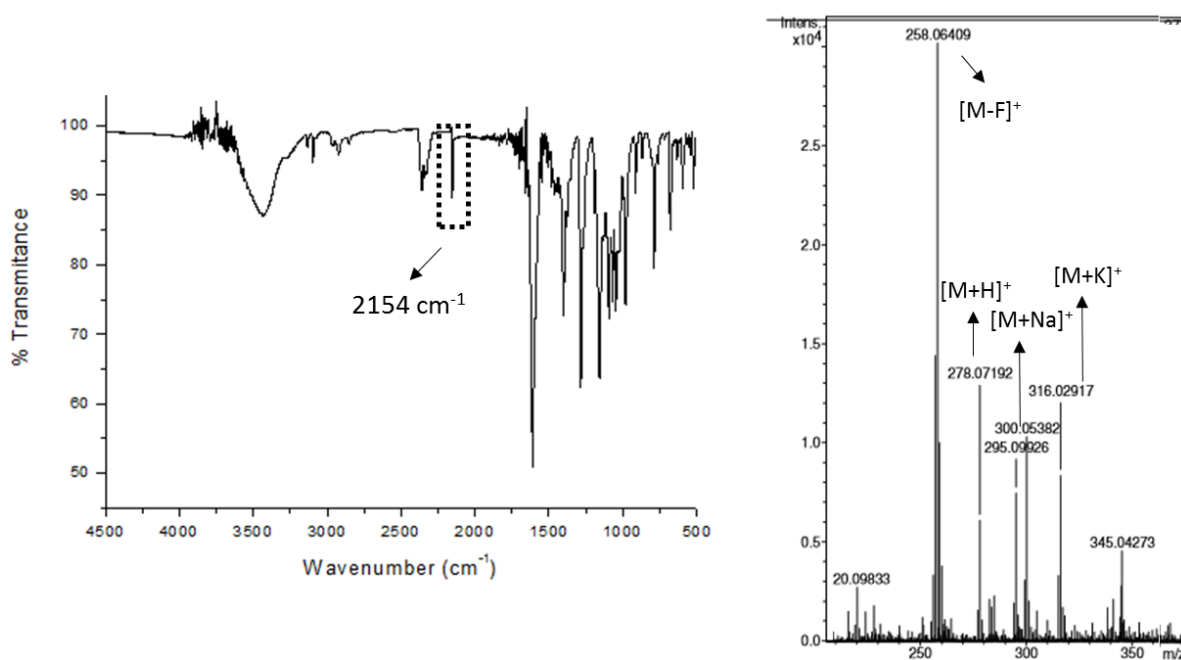


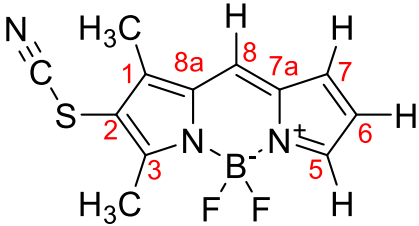
Figura 23: Espectro de absorção no Infravermelho (esquerda) e o espectro de massas de alta resolução com ionização por eletrospray (direita), obtidos para o composto tiocianado **58**.

O espectro de RMN de ^1H do produto tiocianado mostrou que, aparentemente, o sinal próximo a δ 6,0 ppm foi perdido. Como mostrado na discussão do espectro bidimensional de **1** (Figura 12), esse sinal se refere ao hidrogênio ligado ao carbono na posição 2 do anel, entre os carbonos metilados. Para confirmar a regioquímica da reação de tiocianação o produto obtido foi estudado por espectroscopia de RMN bidimensional HMBC e HSQC, o que nos possibilitou confirmar a obtenção do BODIPY **58** (Tabela 7).

No espectro de HMBC foi observado que os hidrogênios de metilas se correlacionam apenas com carbonos não ligados a átomos de hidrogênio. Essa observação só pode ser explicada pela inserção do substituinte na posição 2 do anel BODIPY. Além disso, observamos nesse mesmo espectro que três dos sinais de hidrogênios (δ 7,8, 6,5, 7,1) se correlacionam apenas com sinais referentes a carbonos metínicos. Caso a inserção do grupo tiocianato houvesse ocorrido em outra posição do anel BODIPY tal padrão de sinais não seria observado. Por fim, cabe salientar

que o deslocamento químico do carbono 2, passou de 121,4 ppm no composto **1**, para 109,0 ppm. Essa diminuição do deslocamento químico de aproximadamente 12 ppm, provavelmente é resultado do efeito doador de elétrons do enxofre, blindando o carbono em questão.

Tabela 7. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C por espectroscopia de RMN bidimensional para o BODIPY tiocianado **58**.

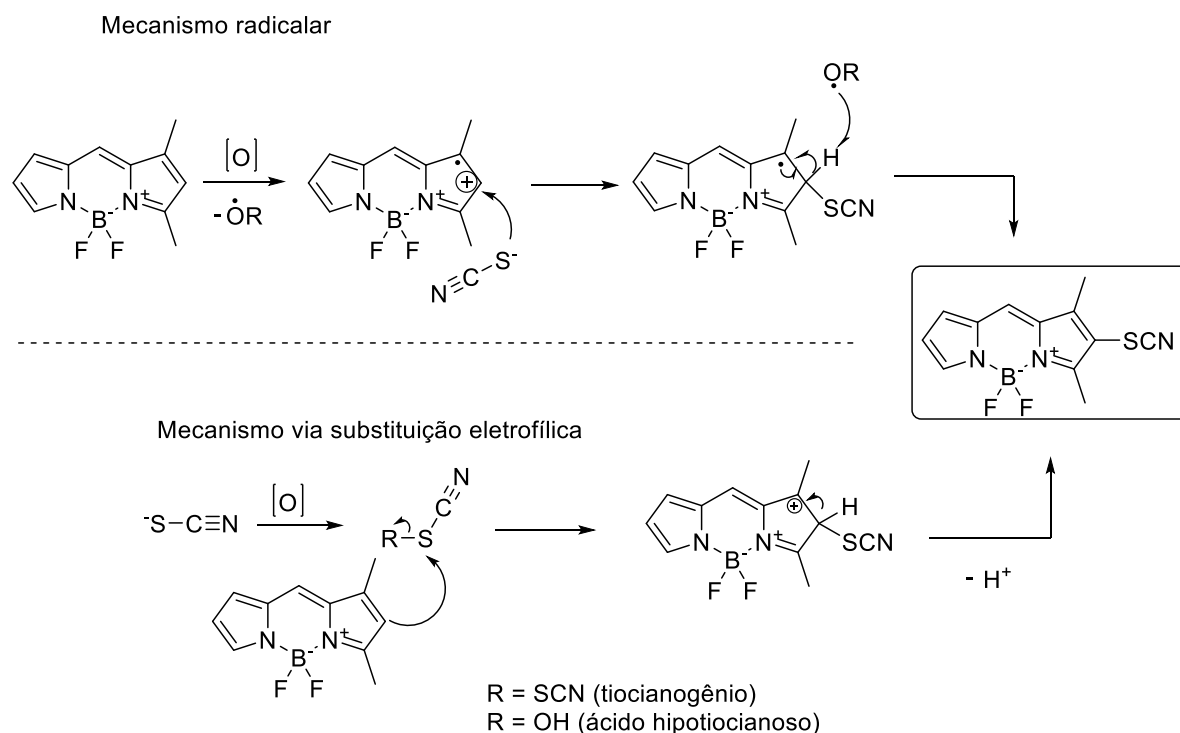


Número	δ_{H}^a	δ_{C}	HMBC	Número	δ_{H}^a	δ_{C}	HMBC
1		147,6		7 ^a		134,6	
2		109,0		8	7,41	127,7	C-1, C-7, C7a, C8a
3		160,4		8 ^a		133,5	
5	7,87	145,3	C-6, C-7, C-7a	1-CH ₃	2,44	10,9	C-1, C-2, C-3, C8a
6	6,59	119,5	C-5, C-7, C-7a	3-CH ₃	2,71	13,4	C-2, C-3
7	7,16	131,4	C-5, C-6, C-7a	SCN		109,9	

^a Correlação observada no espectro de HSQC

Os resultados obtidos mostraram que a tiocianação do BODIPY **1** ocorre somente na presença de oxone® como aditivo, sendo que a inserção do grupo tiocianato ocorre exclusivamente na posição 2 entre os carbonos metilados. Quanto aos aspectos mecanísticos, a literatura sugere a possibilidade da reação ocorrer ou por um mecanismo radicalar ou por meio de uma reação de substituição eletrofílica.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸ No caso do mecanismo radicalar o BODIPY é oxidado a um intermediário cátion-radical, estabilizado pelos carbonos terciários. A reação desse intermediário com o ânion tiocianato resultaria na formação do derivado tiocianado (Esquema 29).

A outra proposta mecanística se baseia na oxidação do íon tiocianato para formação de uma espécie eletrofílica, como o tiocianogênio ou ácido hipotiocianoso. O ataque de C-2 ao eletrófilo resultaria na tiocianação (Esquema 29). Cabe salientar que a posição 2 do BODIPY tem caráter nucleofílico conhecido, sendo que reações de substituição nucleofílica comumente ocorrem nessa posição.^{68,69}

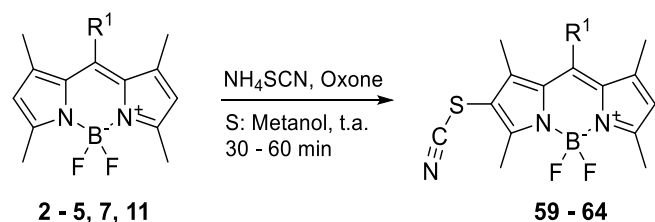


Esquema 29. Duas propostas mecanísticas para a reação de tiocianação de BODIPYs.

Com o intuito de estudar o escopo da reação de tiocianação de BODIPYs, o método foi aplicado a alguns dos compostos da nossa biblioteca de 1,3,5,7 tetrametil BODIPYs mostrada anteriormente (Tabela 8). Os resultados indicaram que esse tipo de BODIPY, com metilas nas posições 1, 3, 5 e 7, é um ótimo substrato para a reação de tiocianação. Em geral rendimentos muito bons foram observados nas reações de tiocianação, com exceção do derivado anilino-substituído, que foi convertido com apenas 44% de rendimento, provavelmente devido à instabilidade desse composto que é sabidamente sensível a oxidação (Tabela 8).¹⁶⁹

Cabe salientar que síntese de 1,3,5,7-tetrametil BODIPYs é muito explorada, devido à estabilidade do produto, e por utilizar 2,4-dimetilpirrol como um material de partida mais estável, numa reação mais simples e de fácil purificação. Todavia, grande parte dos métodos de modificação química de BODIPYs não é aplicável ao 1,3,5,7-tetrametil BODIPYs, pois as posições reativas estão metiladas, de maneira que o método que desenvolvemos pode encontrar aplicações por grupos de pesquisa envolvidos na síntese de sondas fluorescentes.

Tabela 8. Tiocianação direta de uma biblioteca de 1,3,5,7 tetrametil BODIPYs.

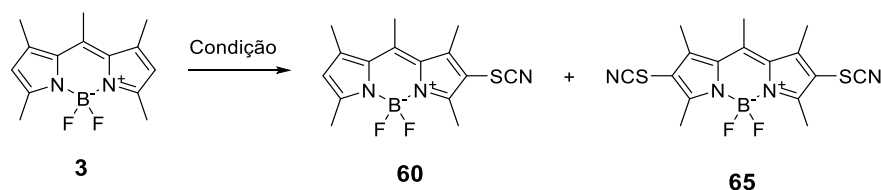


Entrada	R ¹	MP ^a	Produto	Rend (%) ^b
1	H	3	59	80%
2	Me	2	60	85%
3	4-aminofenil	11	61	44%
4	2-tienil	4	62	81%
5	4-nitrofenil	7	63	73%
6	4-piridil	5	64	98%

^a Material de Partida ^b Rendimento do produto isolado mostrado em %.

Estimulados pela observação de um segundo produto na CCD durante os estudos de otimização da reação desenvolvida, resolvemos estudar a natureza desse produto, bem como a possibilidade de inserir dois grupos tiocianato à estrutura do derivado **3**. Para realizar a ditiocianação foram testadas algumas condições envolvendo a variação da quantidade de reagentes, da temperatura e do tempo reacional (Tabela 9).

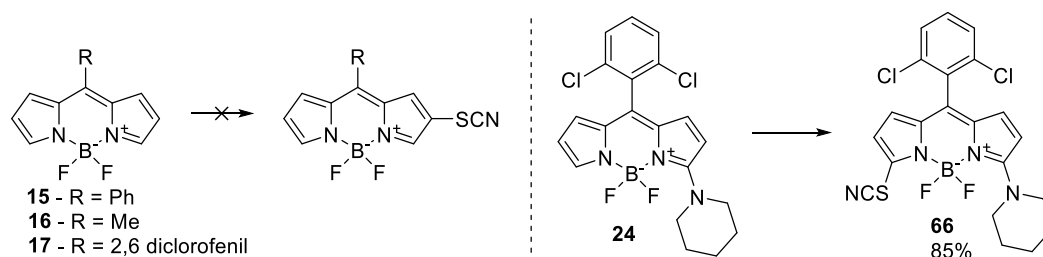
Dados espectroscópicos confirmaram que a reação de a ditiocianação de fato ocorre, levando à formação de mistura de BODIPYs ditiocianado **65** e tiocianado **60**. Todavia, a inserção do segundo grupo tiocianato é bem menos favorecida, de maneira que a conversão total ao composto **65** não ocorreu nem mesmo quando grandes excessos de oxone® e tiocianato de amônio foram testados. A melhor condição reacional para ditiocianação foi alcançada quando 15 equivalentes de tiocianato de amônio e 15 equivalentes de oxone® foram utilizados numa reação de 24 horas de duração, condição na qual a conversão do material de partida foi quase total, com rendimento de 86% para a formação do produto **65**.

Tabela 9. Estudos para otimização da ditiocianação do BODIPY **3**.

Entrada	Oxone ^a	NH ₄ SCN ^a	Condição ^b	Rendimento (%) ^c	
				60	65
1	5 eq	5 eq	t.a., 2 h	82	traços
2	5 eq	5 eq	refluxo 4 h	71	21
3	5 eq	5 eq	t.a., 24 h	83	9
4	15 eq	15 eq	t.a., 6 h	56	38
5	15 eq	15 eq	refluxo, 4 h	34 ^e	23
6	15 eq	15 eq	t.a., 24 h	39	46
7	15 eq ^b	15 eq ^d	t.a., 24 ^d h	5	86

^a Quantidade de reagente dada em equivalentes. ^b BODIPY 0.1 – 0.2 mmol em 10-20 mL de metanol ^c Rendimento do produto isolado mostrado em %. ^d Inicialmente 5 equivalentes. Após 6 horas adição vagarosa de mais 10 equivalentes. ^e CCD – Observou-se degradação.

Os BODIPYs **15**, **16** e **17**, nos quais as posições 1, 3, 5 e 7 não estão metiladas, foram testadas como substratos para a reação de tiocianação descrita. Interessantemente, a reação não ocorreu conforme esperado, sendo que o controle da reação por CCD não indicou qualquer conversão desses materiais de partida (Esquema 30). Esses resultados podem indicar que sem as metilas, o BODIPY perde a nucleofilicidade necessária para que a reação ocorra. Para testar essa hipótese, utilizamos o BODIPY **24**, cujo grupo piperidina aumenta a densidade eletrônica do anel BODIPY, como substrato para a tiocianação. Interessantemente, a tiocianação ocorreu, com a formação do derivado **66** (Esquema 30), no qual o grupo tiocianato é inserido na posição 5 ao invés da posição 2.



Esquema 30. Aplicação da reação de tiocianação em BODIPYs não metilados. Esquerda: Tentativas sem sucesso de realizar tiocianação de BODIPYs com as posições 1, 3, 5 e 7 não metiladas. Direita: Tiocianação na posição 5 do anel BODIPY 3-piperidino substituído, mostrando que a inserção de uma amina reestabelece a reatividade do anel BODIPY.

A estrutura do composto **66** foi confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H , tendo sido observada a perda do sinal em δ 7,47, referente ao hidrogênio na posição 5. Além disso, o espectro bidimensional COSY, no qual é possível observar o acoplamento de hidrogênios vicinais, também auxiliou na confirmação da estrutura do produto obtido. Os resultados mostram claramente o acoplamento do sinal de H δ 6,63 com o sinal em de H δ 6,00, além do acoplamento entre os sinais de H em δ 6,66 e δ 6,47, o que só poderia ser observado no caso da inserção do grupo tiocianato na posição 5 (Figura 24).

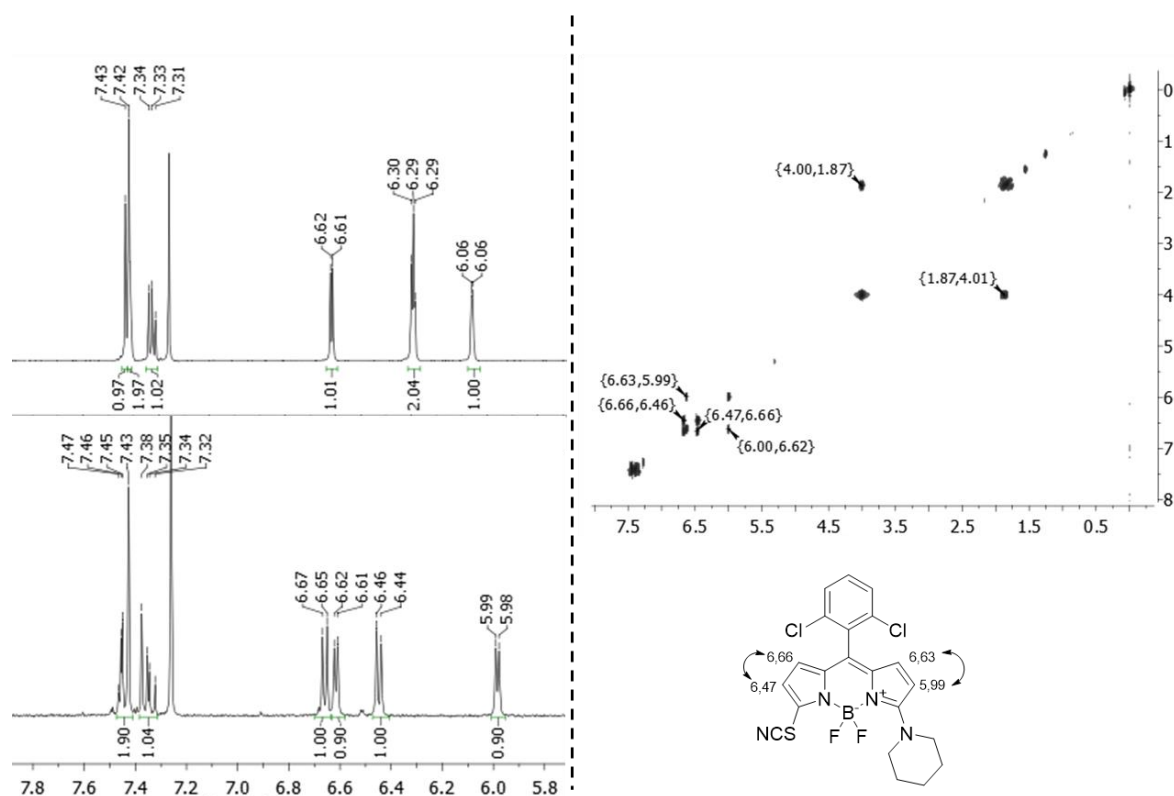
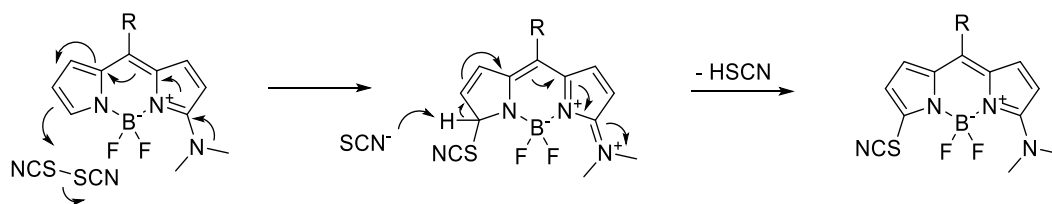


Figura 24. Espectros de RMN que levaram à confirmação estrutural do composto **66**. Esquerda: Parte do espectro de RMN de ^1H do material de partida **24** (em cima) e do produto da tiocianação **62** (em baixo), mostrando a perda do sinal do hidrogênio na posição 5 do anel. Direita: Espectro de COSY do composto **66** (em cima) e a estrutura de **66** com as correlações observadas no COSY (em baixo) que possibilitaram confirmar a sua estrutura.

Acreditamos que uma reação de substituição eletrofílica entre o carbono nucleofílico do anel BODIPY e o tiocianogênio seja o mecanismo por trás da reação observada (Esquema 31).¹⁶⁶⁻

¹⁶⁸ A regioquímica inesperada da reação de tiocianação pode ser resultado do forte efeito doador de elétrons da piperidina que resulta num aumento da densidade eletrônica na posição 5. Como mostrado na proposta mecanística o efeito doador de elétrons do nitrogênio na posição 3 resultaria no aumento da nucleofilicidade do carbono na posição 5, devido às duplas conjugadas.



Esquema 31. Proposta mecanística que explica a tiocianação na posição 5 do BODIPY 3-piperidino-substituído **24**.

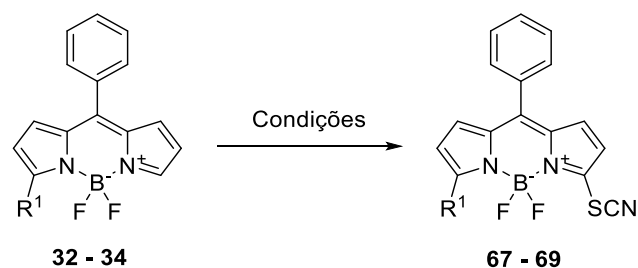
3.4.2 Tiocianação de BODIPYs 3,5-substituídos

Os estudos iniciais acerca da tiocianação direta de BODIPYs nos mostraram que BODIPYs 1,3,5,7-tetrametilados são bons substratos para tal reação, todavia, em BODIPYs não-metilados, e sem outra substituição, a reação de tiocianação não ocorre.¹⁷⁰ Interessantemente, a inserção de uma piperidina à posição 3 do anel BODIPY parece aumentar a sua nucleofilicidade a ponto de possibilitar a aplicação dessa reação. Diante desses resultados, investimos no estudo da tiocianação direta de BODIPYs 3,5-substituídos.

Os compostos **32**, **33** e **34** foram submetidos ao mesmo protocolo de tiocianação mostrado na seção anterior. De maneira similar ao observado na tiocianação do BODIPY 3-piperidino **24**, o derivado 3-morfolino foi tiocianado na posição 5, levando à formação do derivado **67**, com 79% de rendimento (Tabela 10, entrada 1). Acompanhamento da reação por CCD mostrou conversão total do material de partida, com formação do derivado **67**, e adicionalmente de um produto secundário com *rf* e características ópticas semelhantes. É possível que o produto secundário se trate de um regioisômero de **67**, todavia a quantidade isolada desse composto é muito pequena, de maneira que não foram realizadas análise espectroscópicas a fim de definir a sua estrutura.

A tiocianação do derivado 3-metóxi-substituído **33** e do derivado 3-tiopropil substituído **34** também ocorreu na posição 5 do anel BODIPY, levando à formação dos derivados **68** e **69**, com 74 e 47% de rendimento, respectivamente (Tabela 10, entradas 2 e 3). A reatividade dos BODIPYs **33** e **34** foi notavelmente mais baixa do que aquela observada para **32**, provavelmente devido ao efeito doador de elétrons mais forte do grupo morfolina, quando comparado ao metóxi e ao tiopropil. Para a conversão total do composto **33** foram necessários 8 equivalentes de tiocianato de amônio e oxone® numa reação de 4 horas, enquanto a conversão total do derivado **34** não foi observada, nem mesmo quando foram utilizados 15 equivalentes dos reagentes numa reação de 24 horas. Por outro lado, a conversão total do BODIPY **32**, contendo um grupo morfolino, ocorre em apenas 1 hora de reação com 3 equivalentes dos reagentes.

Tabela 10. Tiocianação de BODIPYs 3-substituídos



Entrada	MP ^a	R ¹	Condições ^b		Resultado	
			Reagentes ^c	Tempo ^d	Produto	Rend. ^e
1	32	Morfolino	3	1	67	79
2	33	OMe	8	4	68	74
3	34	S(CH ₂) ₂ CH ₃	15	24	69	47 ^f

^a Material de partida. ^b Solvente metanol/acetato de etila 1:1, temperatura ambiente. ^c Quantidade equivalente de oxone e tiocianato de amônio. ^d Tempo de reação em horas. ^e Rendimento do produto isolado mostrado em %. ^f Mesmo utilizando grande excesso de reagentes a CCD não mostrou conversão total.

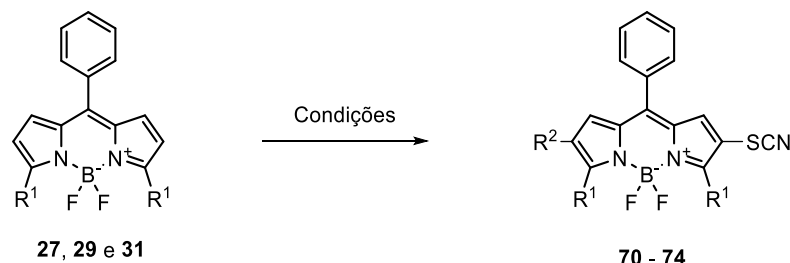
Os BODIPYs **27**, **29** e **31**, dissubstituídos nas posições 3 e 5 por morfolino, metoxi e tiopropil respectivamente, também foram estudados como substratos para a reação de tiocianação desenvolvida neste projeto, a fim de entender melhor os efeitos desses grupos na reatividade de BODIPYs frente a reação de tiocianação. Interessantemente, quando submetidos a condições semelhantes de tiocianação, os três compostos foram convertidos a derivados tiocianados. O derivado morfolino-substituído **27** foi convertido ao derivado **70**, com 72% de rendimento, após reagir 1 hora com apenas 2 equivalentes de oxone® e tiocianato de amônio (Tabela 11, entrada 1).

A reatividade dos outros dois substratos estudados foi aparentemente menor (Tabela 11, entradas 2 e 3), seguindo o mesmo comportamento reacional dos derivados monosubstituídos estudados anteriormente. Conversão total do composto **29** ao derivado tiocianado **71**, com 72% de rendimento, foi alcançada após 2 horas de reação, com 4 equivalentes de oxone® e tiocianato de amônio. O composto **31** foi convertido ao derivado tiocianado **72**, com 90% de rendimento, aplicando procedimento semelhante.

Interessantemente, pudemos observar que a inserção de um segundo grupo tiocianato pode ser alcançada com o aumento da quantidade de reagente e do tempo de reação, similar ao observado na obtenção do composto **65** a partir de **3** (Tabela 11, entradas 4 – 6). O derivado morfolino-substituído **27** pôde ser facilmente convertido ao derivado ditiocianado **73**, com 65% de rendimento simplesmente aumentando a quantidade dos reagentes para 4 equivalentes. Para o substrato metóxi-substituído **29**, a conversão ao derivado ditiocianado **74** só pôde ser alcançada quando utilizados 15 equivalentes dos reagentes durante 24 horas de reação, ainda assim,

aparentemente sem conversão total, segundo controle por CCD. A ditiocianação de **31** não foi observada mesmo quando grande excesso dos reagentes foi utilizado, sendo que o controle por CCD mostra apenas a formação do derivado monosubstituído.

Tabela 11. Tiocianação de BODIPYs 3,5 disubstituídos.



Entrada	MP ^a	R ¹	Condições ^b		Resultado		
			Reagentes ^c	Tempo ^d	R ²	Produto	Rend ^e
1	27	Morfolino	2	1	H	70	72
2	29	OMe	4	2	H	71	72
3	31	S(CH ₂) ₂ CH ₃	4	2	H	72	91
4	27	Morfolino	4	1	SCN	73	65
5	29	OMe	15	24	SCN ^f	74	42
6	31	S(CH ₂) ₂ CH ₃	20	24	SCN ^g	- ^g	- ^g

^a Material de partida. ^b Solvente metanol/acetato de etila 1:1, temperatura ambiente. ^c Quantidade equivalente de oxone e tiocianato de amônio. ^d Tempo de reação em horas. ^e Rendimento do produto isolado mostrado em %. ^f Mesmo utilizando grande excesso de reagentes a CCD não mostrou conversão total. ^g CCD não mostrou conversão ao derivado ditiocianado

Devido à semelhança dos sinais de RMN observados para os hidrogênios nas posições 1, 2, 6 e 7 do anel BODIPY, determinar a regioquímica da inserção dos grupos tiocianato não foi de todo trivial. Todavia, a análise comparativa dos espectros obtidos para os BODIPYs **15**, **27** e **73** nos permitiu concluir que a inserção do grupo tiocianato ocorreu nas posições 2 e 6.

A partir dos espectros bidimensionais obtidos para o composto **15** foi possível assinalar os hidrogênios e carbonos de acordo com o que está mostrado na figura 25. A inserção do grupo morfolino resulta no aumento de 15 ppm no deslocamento químico do carbono na posição 3. O sinal passa de δ 144 para δ 159, devido à ligação direta deste carbono ao nitrogênio. Os sinais dos hidrogênios e carbono nas posições 1 e 2 do anel passam para valores menores de deslocamento químico devido ao caráter doador de elétrons do nitrogênio por efeito mesomérico. Os sinais foram assinalados conforme mostrado na figura 25.

No produto **73**, resultante da reação de tiocianação, foi possível observar que o deslocamento químico do carbono ligado diretamente ao grupo tiocianato passou para δ 102 ppm. Esse desvio resulta de um efeito doador de elétrons do grupo tiocianato similar ao discutido na tabela 6, e se refere à inserção do grupo tiocianato no carbono C-2 com δ 108 de **27**.

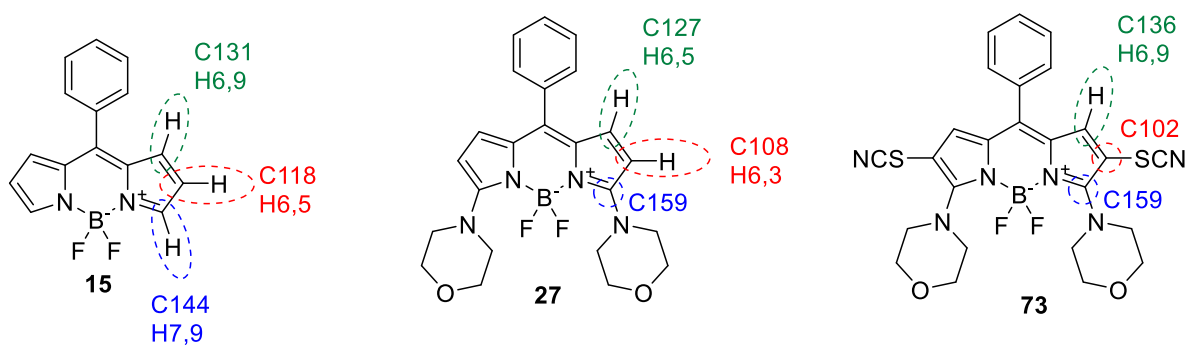
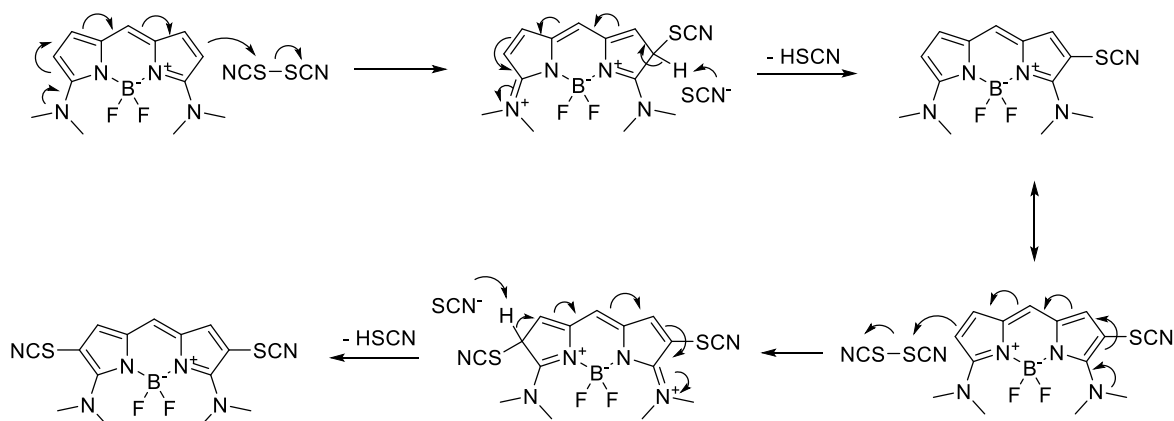


Figura 25. Atribuições dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C que nos permitiram definir a regioquímica da inserção do grupo tiocianato no BODIPY **27**.

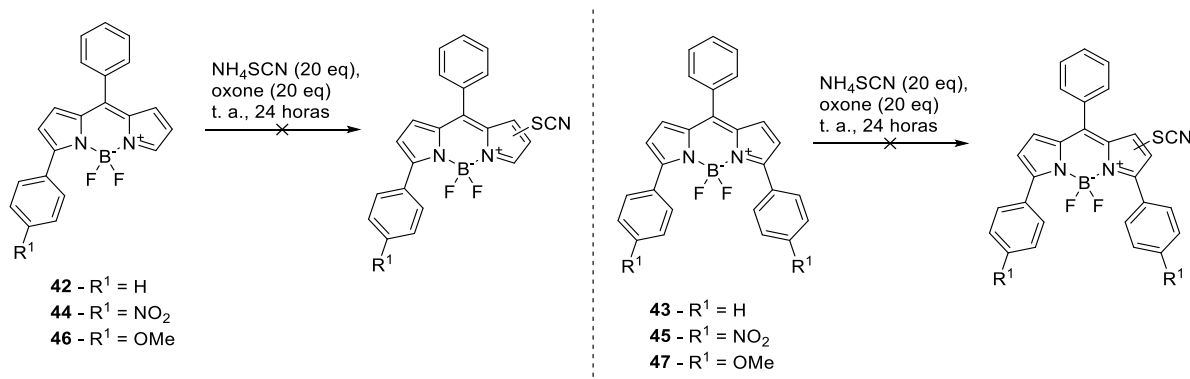
A inserção do grupo tiocianato nos derivados **27**, **29** e **31** também resulta de um ataque dos carbonos do anel BODIPY ao eletrófilo tiocianogênio. A regioquímica, tanto da reação de monotiocianação quanto da reação de ditiocianação, podem ser explicadas pelas formas canônicas dos materiais de partida. Os átomos de nitrogênio, oxigênio ou enxofre doam elétrons por efeito mesomérico, resultando no ataque nucleofílico, conforme mostrado na proposta mecanística abaixo (Esquema 32).



Esquema 32. Proposta mecanística para a monotiocianação e ditiocianação dos BODIPYs **27**, **29** e **31**.

Diante dos resultados mostrados anteriormente, o método de tiocianação foi testado também nos compostos do tipo 3-*aril* BODIPYs **42**, **44**, e **46** e nos 3,5-*diaril* BODIPYs **43**, **45**, e **47**. Nossos resultados mostraram que nenhum dos substratos testados foram reativos frente a reação de tiocianação, mesmo quando utilizados 20 equivalentes dos reagentes, em uma reação de 24 horas (Esquema 33). Esse comportamento era esperado para os compostos nitrados **44** e **46**, devido ao efeito retirador de elétrons do grupo nitro. A ausência de reatividade dos derivados **42** e **43** também não foi surpreendente, todavia, devido ao efeito doador de elétrons do substituinte *para*-metoxifenil de **46** e **47**, esperávamos que a reação de tiocianação ocorresse de maneira similar ao observado para os compostos substituídos por grupos eletrodoadores. A

ausência de reatividade dos compostos **46** e **47** parece indicar que o efeito doador dos substituintes *para*-metoxifenil não seja suficiente para ativar a reação do BODIPY com o eletrófilo da reação de tiocianação.

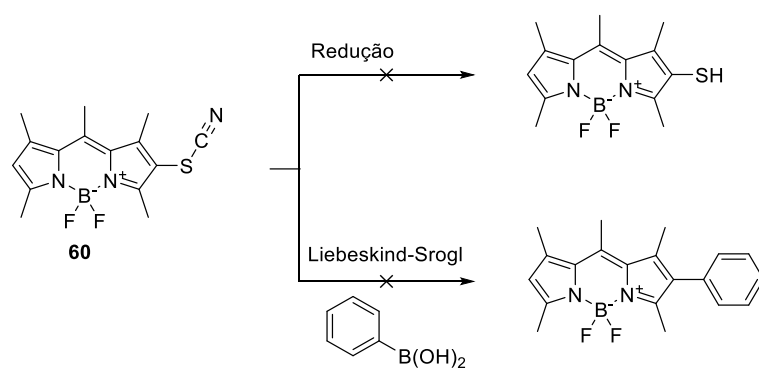


Esquema 33: Aplicação sem sucesso do método de tiocianação em BODIPYs 3-aryl e 3,5-diaril substituídos. Nem mesmo os derivados metoxilados, teoricamente mais reativos, sofreram a reação de tiocianação.

3.4.3 Modificação química de BODIPYs tiocianados

Com o intuito de propor aplicações sintéticas para os BODIPYs tiocianados, ampliar a diversidade química e explorar novas propostas reacionais para estes tipos de compostos, fizemos um estudo da reatividade do grupo tiocianato, utilizando o composto **60** como material de partida. Inicialmente, testamos a conversão deste composto ao tiol, todavia os diversos métodos testados, incluindo hidretos diversos (LiAlBH₄, NaBH₄ e NaBH₃CN),^{171,172} zinco/HCl,¹⁷³ ou ditioeritrol,^{174,175} não resultaram no composto desejado (Esquema 34). Os resultados parecem mostrar que o núcleo BODIPY é aparentemente sensível a reações com estes agentes redutores.

Como descrito anteriormente, a reação de Liebeskind-Srogl¹⁷⁶ já encontrou diversas aplicações na modificação química de BODIPYs tioalquilados.^{123,124} Para testar a aplicabilidade de BODIPYs tiocianados como substrato para a reação de Liebeskind-Srogl o composto **56** foi submetido às condições típicas para essa reação, na presença de ácido fenil borônico. Não foi observada a conversão do material de partida ao derivado arílico esperado, provavelmente devido à menor nucleofilicidade do enxofre no grupo tiocianato quando comparado a tioéteres, o que poderia influenciar na etapa de coordenação (Esquema 34).¹⁷⁶



Esquema 34. Tentativas sem sucesso de reduzir o BODIPY **60** ao respectivo tiol e de realizar a arilação pela reação de Liebeskind-Srogl.

Apesar dos resultados negativos obtidos inicialmente, utilizando um método baseado na utilização de álcoois e trifenilfosfina para conversão direta de um grupo tiocianato a derivados tioalquilados,^{177,178} pudemos por fim realizar a modificação química do BODIPY **60**. Na tabela 12 estão mostrados os resultados obtidos, aplicando esse método com um álcool primário (etanol), além dos álcoois alílico e benzílico.

Aplicando a reação em etanol, o derivado tioalquilado **75** foi obtido com 35% de rendimento (Tabela 12, entrada 1). Melhores rendimentos foram obtidos aplicando o método com álcool alílico, a partir do qual o BODIPY **76** foi obtido com 63% de rendimento (Tabela 12, entrada 2). A reação também foi testada com excesso de álcool benzílico, em refluxo de dioxano, a partir do qual o derivado **77** foi obtido com 52% de rendimento (Tabela 12, entrada 3). Por fim, vale citar que aplicando a reação com etanol no derivado ditiocianado **65**, o derivado **78** com dois grupos tioetil foi obtido (Tabela 12, entrada 4).

Tabela 12. Formação de derivados tioalquilados a partir de BODIPYs tiocianados.

Entrada	R ¹	Condições	Resultado		
			R ²	R ³	Produto (%) ^e
1	H	EtOH ^a , PPh ₃ ^b	H	Et	75 (35)
2	H	Álcool alílico ^a , PPh ₃ ^b	H	alil	76 (63)
3	H	BzOH ^c , PPh ₃ ^b	H	Bz	77 (52)
4	SCN	EtOH ^a , PPh ₃ ^d	SEt	Et	78 (31)

^a Álcool utilizado como solvente na reação. ^b 1.2 eq de PPh₃. ^c 6 eq de BzOH, 1,4 dioxano usado como solvente ^d 2.3 eq de PPh₃. ^e Rendimento do produto isolado mostrado em %.

Apesar dos resultados promissores mostrados na tabela 12, a reação desenvolvida tem algumas limitações. Infelizmente, a conversão de BODIPYs tiocianados pelo método em questão demanda grandes excessos do álcool e os rendimentos são relativamente baixos. Além disso, um estudo posterior com uma diversidade maior de álcoois mostrou claramente que o escopo da reação é bastante limitado.

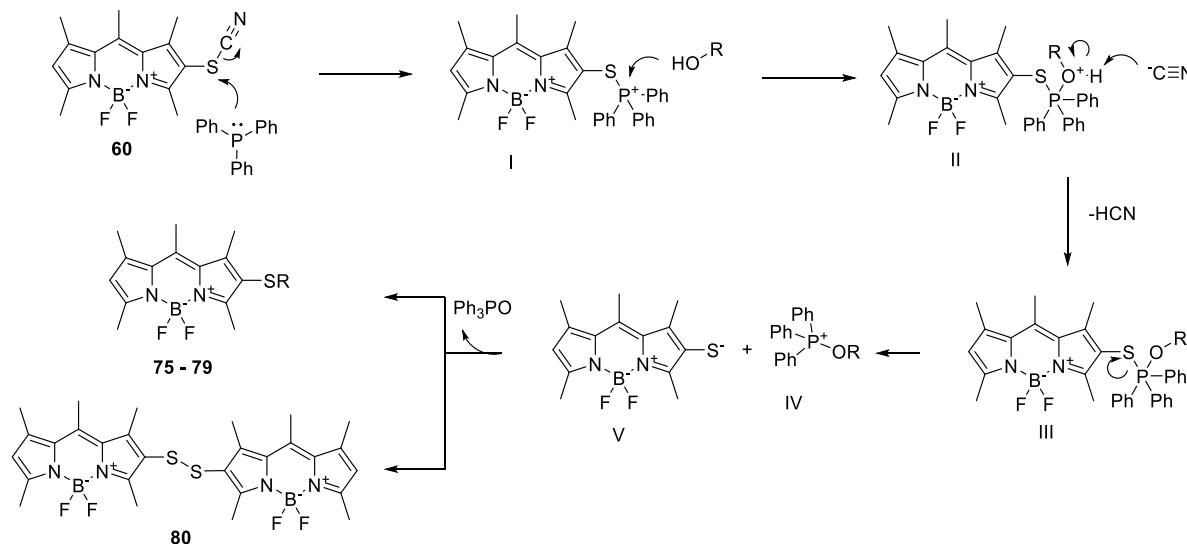
A aplicação desse método com outros álcoois deixou bem claro que muitas vezes o produto desejado não é obtido. Dentre os testes realizados não foi possível observar a conversão do BODIPY **60** ao composto tioalquilado desejado, quando utilizado octanol, 2-propanol, fenol, antracênol metanol ou álcool amino-benzílico, tendo sido observado em todos os casos a precipitação de um produto avermelhado insolúvel no meio reacional. Dentre os álcoois testados para estudar o escopo da reação apenas o n-butanol foi utilizado com sucesso, ainda assim com rendimento de apenas 34% do produto **79**.

Mecanicamente, a reação ocorre a partir do ataque da trifenilfosfina ao enxofre do grupo tiocianato levando à formação de um sal de fosfônio (Esquema 35, intermediário I). Na presença do álcool, é formado um intermediário oxônio (II), que, após eliminação de ácido cianídrico, resulta na formação de uma oxitiofosforana (III). Após um rearranjo desse intermediário, um ânion tiolato (V) e um cátion tipo fosfônio (IV) são formados, sendo que o ataque nucleofílico do ânion leva à formação dos derivados tioalquilados **75-79** com eliminação de óxido de trifenilfosfina como grupo de saída. A maior reatividade dos grupos fosfônio (IV) com substituinte benzil ou alil explica o melhor rendimento observado na síntese dos compostos **76** e **77**.

A fim de esclarecer a razão por trás dos baixos rendimentos, decidimos investigar a natureza do produto insolúvel observado em todas as reações. Apesar da pouca solubilidade desse composto em diversos solventes orgânicos, análises espectroscópicas indicaram que o derivado **80** foi formado (Esquema 35). Esse composto, caracterizado por dois núcleos BODIPY ligados via uma ponte dissulfeto, nunca foi relatado na literatura, e conforme sugerido no esquema 35, pode ser obtido com altos rendimentos a partir do composto **60**. A formação de **80** pode ser explicada pela reação do intermediário V em meio ácido levando a formação do grupo tiol, facilmente oxidado ao derivado dissulfeto **80**.

Ainda que os novos resultados da formação de derivados tioalquilados tenham sido desanimadores, acreditamos que a aplicação de outras abordagens pode nos possibilitar a obtenção dos produtos desejados com rendimentos melhores. Dentre os métodos que nosso grupo planeja estudar em projetos futuros estão a utilização de iodeto de samário, ou de

reagentes de cobre, descritos na literatura para conversões semelhantes.^{179,180} O próprio derivado **80**, contendo a ponte de dissulfeto, pode ser um material de partida interessante para a funcionalização de BODIPYs.



Esquema 35. Proposta do mecanismo da reação de tioalquilação de **60** com formação dos produtos desejados (**75-79**) e do subproduto com a ponte de dissulfeto (**80**).

3.4.4 Propriedades Fotofísicas

Após os estudos sintéticos foi realizado um estudo espectroscópico de alguns dos fluoróforos sintetizados a partir da aplicação dos novos métodos de modificação química de BODIPYs desenvolvidos. No apêndice 2 está mostrada uma tabela contendo os resultados da caracterização fotofísica em tolueno, acetonitrila, THF e metanol.

A inserção do grupo tiocianato na posição 2 do anel BODIPY não resultou em grandes mudanças nas propriedades típicas desse fluoróforo. O formato e a posição dos espectros de absorção e de emissão dos derivados 2-tiocianados (**59-65**) são muito semelhantes aos espectros obtidos para os materiais de partida (**2-5**, **7** e **11**), apresentando desvios espectrais muito sutis e uma pequena tendência de aumento na largura dos picos (Figura 26, esquerda). No que concerne o rendimento quântico, foi observada uma diminuição considerável para o composto **65**, como consequência da inserção de dois tiocianatos. Para os outros compostos o rendimento quântico pouco foi afetado, sendo que o comportamento solvatocrômico observado para os derivados **7** e **11** foi mantido após a tiocianação (compostos **63** e **61**, respectivamente)

Algumas mudanças espectroscópicas interessantes foram observadas para os derivados 3-piperidino 5-tiocianato **66** (Figura 26, direita). O derivado piperidino-substituído **24**, utilizado como material de partida, já mostra um desvio hipsocrômico do espectro de absorção associado

a um efeito batocrômico do espectro de emissão, o que resulta num desvio de Stokes relativamente alto (entre 1900 e 3200 cm^{-1} , dependendo do solvente). Interessantemente, a inserção do grupo tiocianato na posição 5 aumenta ainda mais os efeitos citados, de maneira que o desvio de Stokes de **66** alcançou valores superiores a 4500 cm^{-1} em acetonitrila. Além disso, os compostos **24** e **66** estiveram relacionados também com a redução do rendimento quântico e alargamento significativo dos espectros de absorção e de emissão.

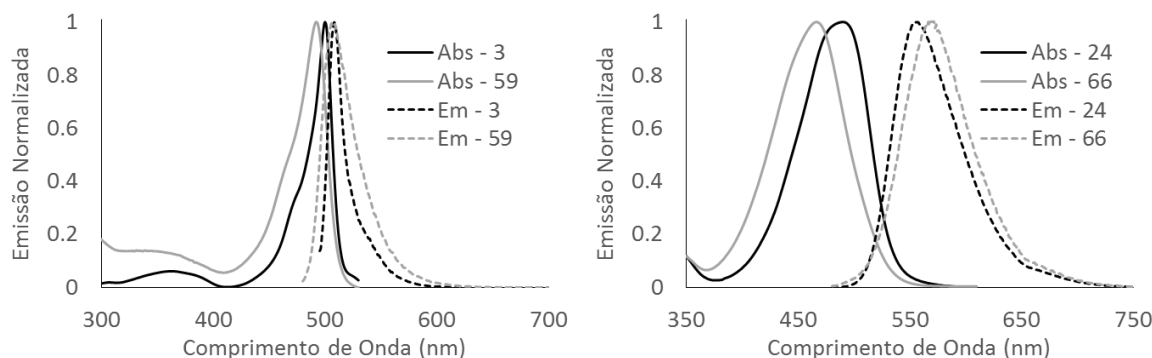


Figura 26. Efeito da tiocianação na absorção e emissão de BODIPYs. Esquerda: Espectros de absorção e emissão de soluções em acetonitrila dos BODIPY tiocianado **59** e o respectivo material de partida **3** ($\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm). É possível observar a ausência de desvios espectrais significativos além de um pequeno aumento na largura dos picos. Direita: Espectros de absorção e emissão de soluções em THF dos BODIPY tiocianado **66** e o respectivo material de partida **24** ($\lambda_{\text{exc}} = 450$ nm). É possível observar os picos largos e o aumento considerável do desvio de Stokes.

Se a inserção do grupo tiocianato na posição 2 do núcleo BODIPY não esteve associado com desvios espectrais consideráveis, o mesmo não pode ser dito para a inserção do grupo tioalquil. Para os derivados 2-tioalquilados, um alargamento e desvio batocrômico significativo do espectro de emissão foi observado, sem grande influência sobre o espectro de absorção, levando a formação de BODIPYs com desvio de Stokes maiores (Figura 27). Interessantemente, o desvio batocrômico da emissão de fluorescência dos BODIPYs substituídos pelo grupo tioetil (**75** e **78**) é um pouco mais acentuado do que aqueles observados para os BODIPYs substituídos pelos grupos tioalil (**76**) e tiobenzil (**77**). O pico de emissão de **75** esteve entre 561 e 581 nm em diferentes solventes, enquanto para **78** esse valor variou entre 576 e 591 nm. Por outro lado, o pico de emissão de **76** esteve entre 544 e 556 nm e o de **77** entre 538 e 556 nm. Infelizmente, os derivados tioalquilados também estiveram relacionados com rendimentos quânticos inferiores.

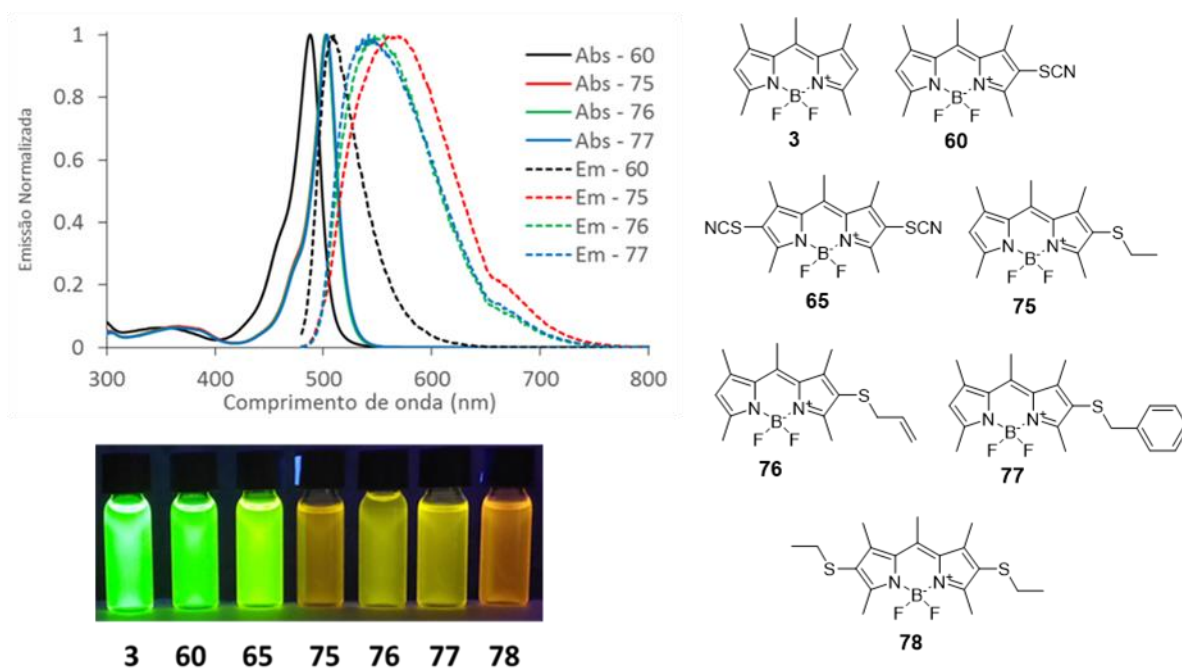


Figura 27. Absorção e emissão de BODIPYs tiocianados e tioalquilados. Esquerda: Espectro de absorção e emissão do derivado tiocianado **60** e dos respectivos derivados tioetil (**75**), tioalil (**76**), tiobenzil (**77**), mostrando os efeitos dos grupos tioalquil na emissão de fluorescência do BODIPY. Direita Emissão de fluorescência sob luz negra dos BODIPYs **3**, **60**, **65**, **75**, **76**, **77** e **78**, mostrando o efeito imperceptível da tiocianação e as diferenças visíveis resultantes da formação do grupo tioalquil.

4. CONCLUSÕES GERAIS

O foco deste trabalho foi direcionado a uma classe de fluoróforos de grande importância tecnológica cuja obtenção sintética jamais havia sido estudada por grupos de pesquisa no Brasil, os BODIPYs. Nas etapas iniciais do trabalho foram estabelecidos métodos de síntese de BODIPYs a partir de unidades pirrólicas metiladas, utilizando algumas abordagens descritas na literatura para a síntese de **1**, **2**, **3** e **4**. As reações baseadas em pirróis metilados são geralmente mais simples e de fácil purificação pois resultam em menos subprodutos, todavia os materiais de partida necessários são mais dispendiosos. Essas reações iniciais de formação de BODIPYs ocorreram com rendimentos ruins a regulares, similar ao que é geralmente relatado na literatura. Esta foi uma etapa importante para estabelecer métodos até então não disponíveis no grupo de pesquisa, sendo que tais abordagens sintéticas serão utilizadas por outros estudantes envolvidos com a química de BODIPY, bem como os produtos obtidos, que foram explorados como substratos em outras reações de modificação.

Uma vez estabelecidos métodos de síntese de BODIPYs, uma pequena biblioteca de fluoróforos foi obtida a partir da aplicação do método de Lindsey com diversos aldeídos aromáticos. Muitos dos compostos obtidos nessa etapa foram desenhados vislumbrando aplicações tecnológicas específicas, e passaram por estudos fotofísicos. Foi sintetizado um composto substituído com grupo piperidina **5**, que se mostrou um fluoróforo aplicável como marcador de complexos de rutênio além de ter sido mostrada sua aplicação como sensor de pH e de cátion férrico. O composto **10**, com um grupo catecol na posição *meso*, é um bom sensor de polaridade, de pH e de cátions metálicos, além da sua conhecida aplicação como sensor de oxidação. O estudo do comportamento composto aminado **11**, sintetizado a partir da redução do derivado nitrado **7**, também mostrou a influência do pH e da polaridade de solventes sobre suas propriedades ópticas.

Apesar da diversidade de compostos obtida aplicando a reação de Lindsey, o espectro de emissão de fluorescência dos compostos era muito similar, o que nos motivou a aplicar métodos de modificação química de BODIPYs para a diversificação fotofísica da biblioteca de compostos. Nessa etapa do projeto, com a colaboração com um grupo de pesquisa na Bélgica, foram transferidos, ao nosso grupo de pesquisa, diversos métodos de síntese e modificação estrutural de BODIPYs. Uma das tecnologias mais úteis foi a síntese de BODIPYs a partir do pirrol, que nos permitiu aumentar a escala da obtenção de BODIPYs utilizando materiais de partida menos dispendiosos, como mostrado para a síntese dos compostos **15** e **16**. A síntese de BODIPYs halogenados por diversas abordagens também foi um avanço importante, como nas

reações aplicadas na síntese dos derivados **19**, **20**, **22** e **23**.

A substituição nucleofílica de BODIPYs halogenados foi utilizada na síntese de sondas fluorescentes com propriedades químicas e ópticas diversas, exemplificado pelos compostos **24** – **36**, muitos dos quais inéditos na literatura. Reações de condensação e acoplamento também foram exploradas visando diversificar as propriedades fotofísicas de BODIPYs, como a condensação de Knoevenagel, reação de Suzuki, reação de Sonogashira, arilação radicalar e reação de Trofimov. Diversos compostos com propriedades fotofísicas particulares foram obtidos, como os derivados **39** – **57** que, com algumas exceções, não haviam sido relatados na literatura.

Outro aspecto importante deste projeto foi o desenvolvimento de um novo método de modificação química de BODIPYs, a tiocianação direta, baseada num método simples, de fácil purificação, rápido e com bons rendimentos. Os resultados obtidos mostraram que BODIPYs metilados são bons substratos para essa reação, tendo sido explorados na síntese dos compostos **58** – **65**, todos inéditos. Interessantemente, ausência de metilas nos compostos **15** – **17** impediu a aplicação da reação em questão, todavia, a inserção do grupo piperidina, doador de elétrons, para a formação de **24**, reestabeleceu a reatividade resultando na formação do derivado inédito **66**. Vale ressaltar que foi observada a tiocianação de BODIPYs substituídos nas posições 3 e/ou 5 pelos grupos morfolino, metóxi ou tiopropil, possibilitando a síntese dos derivados **67** – **74**. Ao nosso ver, os dados obtidos são condizentes com um mecanismo de substituição eletrofílica, no qual a oxidação do tiocianato resulta na formação *in situ* de espécies eletrofílicas que reagem com o carbono nucleofílico de BODIPYs.

Por fim, vale salientar a aplicação de BODIPYs tiocianados como precursores na síntese de derivados tioalquilados. Essa converção pôde ser realizada na presença de um álcool e de trifetilfosfina, todavia, os derivados **75** -**79** foram obtidos com rendimentos baixos. Ainda assim, mostramos a propriedades peculiares desses compostos, como o desvio batocrômico e alargamento do espectro de fluorescência, resultando em um desvio de Stokes mais pronunciado.

5. EXPERIMENTAL

Nesta seção serão detalhados os procedimentos sintéticos no qual os compostos com estrutura química elucidada foram obtidos com melhores rendimentos. Os dados espectroscópicos também estão descritos.

5.1 Síntese

5.1.1 Procedimentos gerais

Todos os procedimentos sintéticos foram realizados em balões de vidro sob agitação com barras magnéticas, utilizando solventes e reagentes obtidos comercialmente. O monitoramento das reações foi realizado por cromatografia em camada delgada (CCD) com visualização sob luz ultravioleta, e evaporação de solventes foi realizada em evaporadores rotatórios a temperaturas entre 40 e 50°.

A estrutura dos produtos foi confirmada por métodos espectroscópicos e espectrométricos. As análises realizadas incluem espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H (300, 400, 500 ou 600 MHz) e de ^{13}C (75 ou 101 MHz). Quando necessário, espectros de RMN bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC) também foram obtidos. Foram utilizados ainda métodos de espectrometria de massas da baixa resolução (LRMS) e/ou de alta resolução (HRMS), com ionização por elétrons (EI) ou por eletrospray (ESI). Para alguns compostos espectro de infravermelho (IR) e o ponto de fusão (p.f.) foram obtidos em equipamentos típicos para essas aplicações.

5.1.2 Síntese e descrição espectroscópica

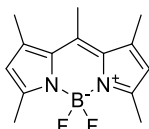
Síntese de **1**:



A uma solução de 2,4-dimetilpirrol (230 μL ; 2,23 mmol) e 2-formilpirrol (190 mg; 2 mmol) em 200 mL de DCM a uma temperatura de aproximadamente -10°C , sob agitação, adicionou-se vagarosamente POCl_3 (186 μL , 2 mmol). O sistema foi mantido sob agitação na mesma temperatura por 2 horas, seguido pela adição de TEA (2,8 mL; 20 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2,5 mL; 20 mmol). Após 1,5 hora sob agitação à temperatura ambiente, a reação foi extraída com água (3 x 200 mL), a fase orgânica seca com sulfato de magnésio e o produto desejado **1** (213,7 mg; 0,971 mmol; rendimento de 48%; CAS 154793-49-4) foi obtido como um sólido cristalino

escuro após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 4:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,64 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 6,92 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 6,43 (s, 1H), 6,16 (s, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,27 (s, 3H). RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 207,2, 163,3, 145,9, 139,4, 136,6, 132,8, 126,6, 124,9, 121,4, 116,5, 15,3, 11,3. HRMS (ESI): Calculado para C₁₁H₁₂BF₂N₂, [M + H]⁺: 221,1056, obtido: 221,1060.

Síntese de 2:



A uma solução de 2,4-dimetilpirrol (206 μL; 2,0 mmol) em 50 mL de DCM a uma temperatura de aproximadamente 25°C, sob agitação, adicionou-se vagarosamente cloreto de acetila (370 μL, 5,2 mmol). Após 0,5 hora agitando à temperatura ambiente a reação foi aquecida até alcançar refluxo. Após duas horas sob refluxo a temperatura foi diminuída até temperatura ambiente e TEA (4 mL; 22,5 mmol) foi adicionada. Após 30 minutos agitando à temperatura ambiente adicionou-se BF₃·Et₂O (4 mL; 32,4 mmol) e a solução foi agitada à temperatura ambiente por 1 hora. Por fim a solução foi vertida em 100 mL de Et₂O, a solução extraída com água (3 x 200 mL), a fase orgânica seca com sulfato de magnésio. O produto desejado **2** (197,6 mg, 0,75 mmol, rendimento de 75%; CAS 121207-31-6) foi obtido como um sólido cristalino vermelho após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 9:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,05 (s, 2H), 2,57 (s, 3H), 2,51 (s, 6H), 2,41 (s, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 153,7, 144,2, 141,1, 132,2, 121,4, 17,5, 16,5, 14,5. HRMS (ESI): Calculado para C₁₄H₁₈BF₂N₂, [M + H]⁺: 263,1531, obtido: 263,1521; C₁₄H₁₇BF₂N₂Na, [M + Na]⁺: 285,1351, obtido: 285,1348; C₁₄H₁₇BFN₂ [M - F]⁺: 243,1463, obtido: 243,1462.

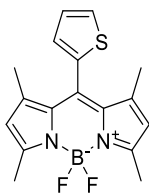
Síntese de 3



A uma solução de 2,4-dimetil-5-formilpirrol (123 mg; 1,0 mmol) em 200 ml de DCM a -10°C, sob agitação, adicionou-se POCl₃ (92 μL, 1,0 mmol) vagarosamente. Após 3 horas sob agitação à temperatura ambiente TEA (1,8 mL; 12,1 mmol) e BF₃·Et₂O (1,5 mL; 12,1 mmol) foram adicionados e a reação foi deixada sob agitação à temperatura ambiente por mais 1 hora. O solvente foi evaporado, o sólido obtido foi dissolvido em 200 mL de acetato de etila e a solução

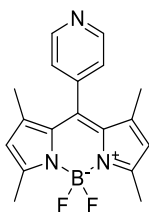
extraída três vezes com 200 mL de água destilada. O produto desejado **3** (53,9 mg; 0,217 mmol; rendimento de 43%; CAS 21658-70-8) foi obtido após purificação por cromatografia de coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 9:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,04 (s, 1H), 6,04 (s, 2H), 2,53 (s, 6H), 2,24 (s, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 156,8, 141,3, 133,5, 120,2, 119,1, 14,8, 11,4. HRMS (ESI): Calculado para C₁₃H₁₆BF₂N₂, [M + H]⁺: 249,1369, obtido: 249.1343.

Síntese de **4**



A uma solução de 2,4 dimetilpirrol (618 μL; 6 mmol) em 100 mL de DCM à temperatura ambiente sob agitação e atmosfera inerte adicionou-se tiofeno-2-carbaldeído (250 μL, 2,7 mmol) e 40 μL de ácido trifluoroacético. Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente adicionou-se TEA (1 mL; 6,8 mmol) e DDQ (613 mg, 2.7 mmol). Após 3 horas sob agitação à temperatura ambiente a solução foi extraída três vezes com 200 mL de uma solução 0,1 M de NaOH(aq), a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e filtrada. À solução obtida adicionou-se TEA (4,5 mL; 30 mmol) e BF₃·Et₂O (3,8 mL; 30 mmol) sob agitação. Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto desejado **4** (135,7 mg; 0,411 mmol; rendimento de 15%; CAS 1359876-93-9) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 9:1 – 4:1). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,50 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 7,13 (dd, *J* = 4,9, 3,6 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6,00 (s, 2H), 2,55 (s, 3H), 1,58 (s, 3H). RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 156,5, 143,9, 135,1, 132,8, 128,2, 128,0, 127,8, 125,9, 121,9, 15,0, 13,9. HRMS (ESI): Calculado para C₁₇H₁₈BF₂N₂S, [M + H]⁺: 331,1252, obtido: 331,1254

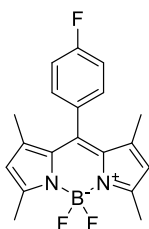
Síntese de **5**



A uma solução de 2,4 dimetilpirrol (216 μL; 2,1 mmol) em 200mL de DCM à temperatura ambiente sob agitação e atmosfera inerte adicionou-se o piridina-4-carbaldeído (188 μL; 2,0

mmol) e 40 μ L de ácido trifluoroacético. Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto dissolvido em THF (200 mL). A essa solução adicionou-se TEA (280 μ L; 2,0 mmol) e DDQ (452 mg; 2,0 mmol). Após 1 hora de reação o solvente é evaporado e o produto obtido foi dissolvido em DCM (200 mL), extraída três vezes com 200 mL de uma solução 0,1 M de NaOH(aq) e a fase orgânica foi coletada seca com sulfato de magnésio e filtrada. A dipirrina foi purificada por cromatografia em coluna de sílica (EtOAc), o solvente foi evaporado, e o produto obtido foi dissolvido em DCM (100 mL). À solução obtida adicionou-se TEA (2,8 mL; 20 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2,5 mL; 20,2 mmol) sob agitação. Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto desejado **5** (153,7 mg; 0.473 mmol; rendimento de 24%; CAS 1134484-25-5) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14} / EtOAc 9:1 – 1:1). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 8.78 (d, $J = 5,3$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 5,3$ Hz, 2H), 6,00 (s, 2H), 2,55 (s, 6H), 1,40 (s, 6H). RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) δ 156,6, 150,7, 150,0, 143,8, 142,8, 137,7, 130,4, 123,4, 121,9, 113,8, 14,8, 14,7. HRMS (ESI): Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_3$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 326,1640, obtido: 326,1643.

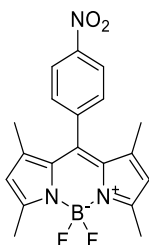
Síntese de **6**



A uma solução de 2,4 dimetilpirrol (1,125 mL; 11 mmol) em 200 mL de DCM à temperatura ambiente sob agitação e atmosfera inerte adicionou-se o reagente 4-fluorbenzaldeído (181 μ L; 1,7 mmol) e 40 μ L de ácido trifluoroacético. Após 3 horas sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto dissolvido em THF (200 mL). A essa solução adicionou-se TEA (250 μ L; 1,8 mmol) e DDQ (680 mg; 3,0 mmol). Após 3 horas de reação o solvente foi evaporado, o produto obtido foi dissolvido em DCM (200 mL). A essa solução adicionou-se TEA (2,0 mL; 14,3 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2,0 mL; 16,2 mmol) sob agitação. Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto desejado **6** (183 mg; 0,544 mmol; rendimento de 32%; CAS 949108-66-1) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14} / EtOAc 9:1 – 3:1). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.27 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.20 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 5.99 (s, 2H), 2.55 (s, 6H), 1.40 (s, 6H). RMN

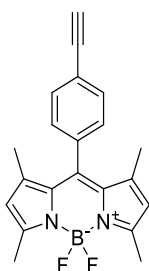
de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 155,9, 143,1, 140,6, 131,7, 131,1, 130,1, 121,5, 116,6, 116,4, 14,7, 14,6. HRMS (ESI): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_2$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 343,1588, obtido: 343,1599.

Síntese de 7



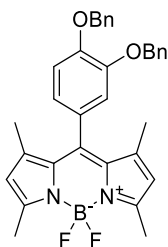
A uma solução de 2,4 dimetilpirrol (206 μL ; 2,0 mmol) em 300 mL de DCM à temperatura ambiente sob agitação e atmosfera inerte adicionou-se o 4-nitrobenzaldeído (151 mg; 1,0 mmol) e 40 μL de ácido trifluoroacético. Após 1,5 hora sob agitação à temperatura ambiente adicionou-se TEA (140 μL ; 1mmol) e DDQ (226 mg; 1,0 mmol) dissolvido em 200 mL de DCM. Após duas horas agitando à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e produto obtido foi dissolvido em DCM (200 mL), extraído três vezes com 200 mL de uma solução 0,1 M de $\text{NaOH}(\text{aq})$ e a fase orgânica foi coletada, seca com sulfato de magnésio e filtrada. A dipirrina foi purificada por cromatografia em coluna de sílica (EtOAc) e o solvente foi evaporado. O produto foi dissolvido em 100 mL de DCM seguido da adição de TEA (1,4 mL; 10 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,3 mL; 10 mmol). Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto desejado 7 (253 mg, 0.685 mmol, rendimento de 68%; CAS 321895-92-5) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14} / EtOAc 9:1 – 3:1). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 8,78 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H), 7,30 (d, $J = 5,3$ Hz, 2H), 6,00 (s, 2H), 2,55 (s, 6H), 1,40 (s, 6H). RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) δ 156,6, 150,7, 150,0, 143,8, 142,8, 137,7, 130,5, 123,5, 121,9, 113,8, 14,8, 14,7. HRMS (ESI): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_2$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 326,1635, obtido: 326,1643.

Síntese de 8



A uma solução de 2,4 dimetilpirrol (230 μ L; 2,2 mmol) em 300 mL de DCM à temperatura ambiente sob agitação e atmosfera inerte adicionou-se o 4-etinilbenzaldeído (130 mg; 1,0 mmol) e 40 μ L de ácido trifluoroacético. Após 1,5 hora sob agitação à temperatura ambiente adicionou-se TEA (140 μ L; 1mmol) e DDQ (226 mg; 1,0 mmol) dissolvido em 200 mL de DCM. Após 1 hora agitando à temperatura ambiente o solvente foi evaporado, produto obtido foi dissolvido em DCM (200 mL), extraído três vezes com 200 mL de uma solução 0,1 M de NaOH(aq) e a fase orgânica foi coletada, seca com sulfato de magnésio e filtrada. A dipirrina foi purificada por cromatografia em coluna de sílica (EtOAc) e o solvente foi evaporado. O produto foi dissolvido em 100 mL de DCM seguido da adição de TEA (1,4 mL; 10 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,3 mL; 10 mmol). Após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o produto desejado **8** (211,1 mg; 0,607 mmol; rendimento de 61%; CAS 628729-80-6) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14} / EtOAc 9:1 – 2:1). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,63 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7,27 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 3,19 (s, 1H), 2,56 (s, 6H), 1,40 (s, 6H). RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) δ 156,0, 143,1, 140,7, 135,7, 133,0, 131,3, 128,3, 123,1, 121,5, 83,0, 78,7, 14,8, 14,7. HRMS (ESI): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{BF}_2\text{N}_2$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 349,1682, obtido: 349,1682.

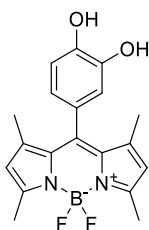
Síntese de **9**



A uma solução de 2,4 dimetilpirrol (143 μ L; 1,9 mmol) em 250 mL de DCM à temperatura ambiente sob agitação e atmosfera inerte adicionou-se o 3,4-bis(benziloxi)benzaldeído (260 mg; 0,82 mmol) e 40 μ L de ácido trifluoroacético. Após 2,5 horas sob agitação à temperatura ambiente adicionou-se TEA (140 μ L; 1mmol) e DDQ (183 mg; 0,82 mmol) dissolvido em 200 mL de DCM. Após 3 horas agitando à temperatura ambiente o solvente foi evaporado, produto obtido foi dissolvido em DCM (200 mL), extraído três vezes com 200 mL de uma solução 0,1 M de NaOH(aq) e a fase orgânica foi coletada, seca com sulfato de magnésio e filtrada. A dipirrina foi purificada por cromatografia em coluna de sílica (EtOAc) e o solvente foi evaporado. O produto foi dissolvido em 100 mL de DCM seguido da adição de TEA (1,4 mL; 10 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,3 mL; 10 mmol). Após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente o

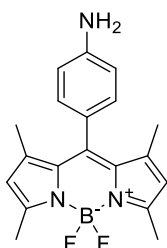
solvente foi evaporado e o produto desejado **9** (185,7 mg; 0,346 mmol; rendimento de 42%; CAS 1150586-07-4) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 9:1 – 4:1). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7.48 – 7.27 (m, 10H), 7.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H), 6.74 (dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, 1H), 5.93 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 2.53 (s, 6H), 1.29 (s, 6H). RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 155,4, 149,4, 149,3, 143,4, 141,5, 136,8, 136,7, 131,7, 128,7, 128,6, 128,1, 128,1, 127,9, 127,6, 127,4, 121,2, 121,1, 115,7, 114,8, 71,4, 71,0, 14,4, 14,3. HRMS (ESI): Calculado para C₃₃H₃₂BF₂N₂O₂, [M + H]⁺: 537,2519, obtido: 537,2520.

Síntese de **10**



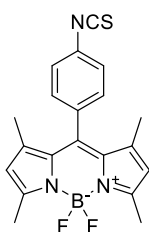
A uma solução do composto **9** (102,2 mg; 0,19 mmol) em 20 ml de uma solução de CHCl₃/MeOH (2:3 v/v) em um aparato de hidrogenação à temperatura ambiente sob atmosfera de H₂ adicionou-se de paládio sobre carvão (10% p/p; 200 mg; 0,19 mmol). Após 30 minutos de agitação sob 18 psi de H₂ a solução foi filtrada em resina celite seguida de lavagem da resina com clorofórmio. O produto desejado **10** (46,2 mg, 0,130 mmol; rendimento de 68%; CAS 1150586-09-6) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 4:1 – 1:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,97 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,72 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 6,66 (dd, *J* = 8,0, 1,9 Hz, 1H), 5,96 (s, 2H), 2,53 (s, 6H), 1,48 (s, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 155,4, 144,7, 144,6, 143,4, 141,7, 131,8, 129,3, 127,3, 127,1, 121,2, 120,7, 116,1, 115,0, 14,7, 14,6. HRMS (ESI): Calculado para C₁₉H₂₀BF₂N₂O₂, [M + H]⁺: 357,1580, obtido: 357,1599.

Síntese de **11**



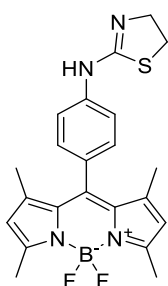
A uma solução do composto **7** (60 mg; 0,163 mmol) em 8 ml de uma solução de DCM/EtOH (1:3 v/v) à temperatura ambiente sob atmosfera de H₂ adicionou-se de paládio sobre carvão (10% p/p; 27 mg; 0,025 mmol). Após 50 minutos de agitação sob atmosfera de H₂ à temperatura ambiente a solução foi filtrada em resina celite seguida de lavagem da resina com clorofórmio. O produto desejado **11** (50,9 mg, 0,150 mmol; rendimento de 92%; CAS 321895-93-6) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 4:1 – 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,01 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6,79 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5,97 (s, 2H), 2,54 (s, 6H), 1,49 (s, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 155,1, 146,9, 143,4, 142,8, 132,2, 129,1, 124,9, 121,1, 115,7, 14,8, 14,7. HRMS (ESI): Calculado para C₁₉H₂₁BF₂N₃, [M + H]⁺: 340,1791, obtido: 340.1786.

Síntese de **12**



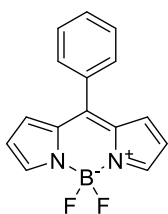
A uma solução do composto **11** (150 mg; 0,440 mmol) em clorofórmio à temperatura ambiente sob agitação adicionou-se TDP (160 mg; 0,685 mmol). Após 1,5 hora sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o BODIPY **12** (164,9 mg; 0,432 mmol; rendimento de 98%; CAS 1349031-04-4) foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 4:1 – 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,39 – 7,34 (m, 2H), 7,31 – 7,27 (m, 2H), 5,99 (s, 2H), 2,55 (s, 6H), 1,40 (s, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 156,1, 142,8, 139,8, 137,1, 134,0, 132,3, 131,2, 129,6, 126,5, 121,5, 14,7, 14,6. HRMS (ESI): Calculado para C₂₀H₁₉BF₂N₃S, [M + H]⁺: 382,1355, obtido: 382.1365.

Síntese de **14**



A uma solução do composto **12** (56,1 mg; 0,147 mmol) em 5 mL de DCM sob agitação adicionou-se o cloridrato da cisteamina (17,0 mg; 0,150 mmol) e TEA (21 μ L; 0,15 mmol). Após 40 minutos a reação a solução foi vertida em 100 mL de DCM, extraída três vezes com água, a fase orgânica foi coletada, seca com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente evaporado. O produto inesperado **14** (28,5 mg; 0,067 mmol; rendimento de 46%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 1:1 – 3:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,40 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,93 (s, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,55 – 3,45 (m, 1H), 2,48 (s, 3H), 1,31 (s, 3H). HRMS (ESI): Calculado para C₂₂H₂₄BF₂N₄S, [M + H]⁺: 425,1783, obtido: 425,1776.

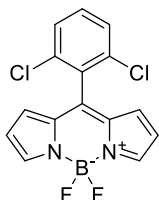
Síntese de **15**.



A uma solução de ácido clorídrico (0,4 mL) em água destilada previamente degaseificada (180 mL), foi adicionado pirrol (4,1 mL; 59,1 mmol) e a solução foi agitada durante 15 minutos sob atmosfera inerte. Benzaldeído (1,04 mL, 9,8 mmol) foi adicionado gota a gota e a solução permaneceu 16 horas sob agitação em atmosfera inerte. A solução leitosa resultante foi filtrada sob vácuo obtendo-se um sólido acinzentado, a partir do qual o dipirrometano foi purificado por meio de cromatografia de coluna (PE/DCM 1:1). Após evaporação do solvente o produto obtido foi dissolvido em THF (200 mL), seguido pela adição lenta de DDQ (2,15 g, 9,5 mmol) dissolvido THF, e agitação à temperatura ambiente por 16 horas. Após evaporação do solvente o resíduo foi dissolvido em éter dietílico (400 mL) e extraiu-se a solução obtida com solução aquosa de HCl 0,1 M (5 x 200 mL). A fase aquosa foi basificada com hidróxido de sódio e depois extraída com DCM (5 x 200 mL). As frações orgânicas foram recolhidas, o solvente foi parcialmente evaporado até ser obtido 50 mL da solução em DCM. TEA (9 mL, 64,5 mmol) e BF₃·Et₂O (8 mL, 64,8 mmol) são adicionados e após 1 hora de agitação à temperatura ambiente a solução foi vertida em éter dietílico (200 mL), extraída com água (3 x 200 mL) e seca com MgSO₄. O composto desejado **15** (1,03 g, 3,84 mmol, rendimento de 39%; CAS 180156-50-7) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 9:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (s, 2H), 7,63 – 7,50 (m, 5H), 6,94 (d, *J* = 4,1 Hz, 2H), 6,55 (d, *J* = 4,1 Hz, 2H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 147,5, 144,2, 135,1,

133,9, 131,8, 130,9, 130,6, 128,6, 118,7. HRMS (ESI): Calculado para $C_{15}H_{11}BF_2N_2Na$, $[M + Na]^+$: 291.0881, obtido: 291.0872. LRMS (ESI): 291 ($M + Na$)⁺, 249 ($M - F$)⁺.

Síntese de **16**.



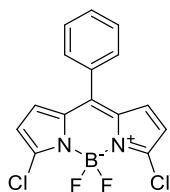
A uma solução de ácido clorídrico (2 mL) em água destilada previamente desgaseificada (900 mL), foi adicionado pirrol (21 mL; 302,7 mmol) e a solução foi agitada durante 15 minutos sob atmosfera inerte. 2,6-clorofenil-benzaldeído (8,8 g; 50,3 mmol) foi adicionado em porções por um período de 30 min e a solução permaneceu 16 horas sob agitação em atmosfera inerte. A solução leitosa resultante foi filtrada sob vácuo obtendo-se um sólido amarelado, a partir do qual o dipirrometano foi purificado por meio de cromatografia de coluna (Éter de petróleo/DCM 1:1). Após evaporação do solvente o produto obtido foi dissolvido em DCM (800 mL), seguido pela adição em porções de p-cloroanil (12,2 g, 50 mmol) e 16 horas de agitação à temperatura ambiente. Após evaporação do solvente o resíduo foi dissolvido em éter dietílico (400 mL) e extraiu-se a solução obtida com solução aquosa de HCl 0,1 M (3 x 400 mL). A fase aquosa foi neutralizada com bicarbonato de sódio e depois extraída com éter dietílico (2x 200 mL). As frações orgânicas foram recolhidas, o solvente foi evaporado e o produto foi, em seguida, solubilizado em DCM (300 mL) seguido pela adição de TEA (34 mL, 243,8 mmol) e $BF_3 \cdot Et_2O$ (38 mL, 307,9 mmol). Após 1 hora sob agitação o solvente foi parcialmente evaporado e partição em água / éter dietílico foi realizado. Após cromatografia em coluna (PE / DCM, 1:1) o composto **12** (6,8 g, 20,1 mmol, 40% de rendimento; CAS 1269636-16-9) foi obtido como um sólido cor de laranja brilhante. RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,95 (s, 2H), 7,54 – 7,37 (m, 3H), 6,70 (d, $J = 3,7$ Hz, 2H), 6,51 (d, $J = 3,7$ Hz, 2H). RMN de ^{13}C (151 MHz, $CDCl_3$) δ 145,4, 140,7, 135,1, 134,8, 131,3, 130,0, 128,3, 119,1. LRMS (ED): 373, 301 ($M - Cl$), 281 ($M - HF - Cl$).

Síntese de **17**



A uma solução de pirrol (16 ml; 230,6 mmol) em DCM (400 mL), cloreto de acetila (4 mL; 56,2 mmol) foi adicionado e a solução foi agitada sob refluxo durante 8 horas. Após resfriamento até a temperatura ambiente, a solução foi extraída com água (3 x 400 mL), a camada orgânica foi seca em sulfato de magnésio e filtrada em sílica. $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (25 mL, 202,5 mmol) e TEA (25 mL; 179,1 mmol) foram adicionados e mantidos 1,5 hora sob agitação à temperatura ambiente. O composto **17** (312 mg, 1,5 mmol, rendimento de 3%; CAS 960373-35-7) foi obtido após purificação em coluna (PE / DCM 1:1 - 1:4). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (s, 2H), 7,30 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 6,53 (d, $J = 4.1$ Hz, 2H), 2,62 (s, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 146,0, 143,5, 135,6, 128,2, 118,1, 16,2. LRMS (EI): 206, 191 (M - CH_3^+), 187 (M - F $^+$). Traços do composto **18** (41 mg, 0,15 mmol, rendimento de 0,3%; CAS 1224880-93-6) foi obtido como produto secundário. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,61 (s, 1H), 7,34 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,01 (s, 2H), 6,92 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 2,55 (s, 3H). LRMS (EI): 271, 251 (M - HF).

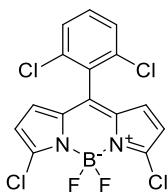
Síntese de **19**



A uma solução de ácido clorídrico (1,6 mL) em água destilada previamente degaseificada (700 mL), foi adicionado pirrol (16,4 ml; 236,4 mmol) e a solução foi agitada durante 15 minutos sob atmosfera inerte. Benzaldeído (4,0 mL; 39,2 mmol) foi adicionado gota a gota e a solução permaneceu 16 horas sob agitação em atmosfera inerte. A solução leitosa resultante foi filtrada sob vácuo obtendo-se um sólido acinzentado, a partir do qual o dipirrometano foi purificado por meio de cromatografia de coluna (PE/DCM 1:1). O solvente foi evaporado e o resíduo foi dissolvido em THF (80 mL) a -78 ° C. N-clorossuccinimida (NCS) (1,1 g, 9 mmol) pré dissolvido em THF (100 mL) foi adicionada gota a gota, e depois de 1 hora sob agitação a -78 °C o banho de resfriamento foi retirado e a solução foi agitada por uma hora até alcançar a temperatura ambiente. A esta solução, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (1 g, 4,6 mmol) em THF (50 mL) foi adicionado gota a gota, e depois de 1 hora de agitação à temperatura ambiente, o solvente foi evaporado e o resíduo foi diluído em DCM (500 mL). A solução foi extraída três vezes com 500 mL de NaOH (aq) 1M, seca em MgSO_4 , o volume do solvente foi reduzido para cerca de 100 mL por evaporação. TEA (45 ml; 322,6 mmol) e

BF₃·Et₂O (43 mL; 348,4 mmol) foram adicionados e a solução foi agitada à temperatura ambiente por 1 hora. A solução foi vertida em Et₂O (300 mL) e extraída 3 vezes com 300 mL de água. O composto desejado **19** (3.32 g, 9.85 mmol, rendimento de 25%; CAS 869063-52-5) foi obtido como um sólido avermelhado escuro, após purificação em coluna (C₆H₁₄ / DCM 9:1 - 1:1). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,52 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,41 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 6,78 (d, *J* = 4,3 Hz, 2H), 6,37 (d, *J* = 4,3 Hz, 2H). RMN de ¹³C (126 MHz, CDCl₃) δ 145,0, 144,1, 133,8, 132,4, 131,8, 131,0, 130,5, 128,7, 119,0. LRMS (ESI): 359/361 (M + Na)⁺, 374/376 (M + K)⁺.

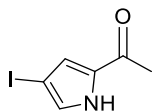
Síntese de **20**



A uma solução de ácido clorídrico (200 μL) em água destilada previamente desgaseificada (100 mL), foi adicionado pirrol (2,1 mL, 30,2 mmol) e a solução foi agitada durante 15 minutos sob atmosfera inerte. 2,6-clorofenil-benzaldeído (880 mg, 5 mmol) foi adicionado em porções por um período de 30 min e a solução permaneceu 16 horas sob agitação em atmosfera inerte. A solução leitosa resultante foi filtrada sob vácuo obtendo-se um sólido amarelado, a partir do qual o dipirrometano foi purificado por meio de cromatografia de coluna (Éter de petróleo/DCM 1:1). O solvente foi evaporado e o resíduo foi dissolvido em THF (40 mL) a -78 °C. N-clorossuccinimida (NCS) (1,2 g, 9 mmol) pré dissolvido em THF (20 mL) foi adicionada gota a gota, e depois de 1 hora sob agitação a -78 °C o banho de resfriamento foi retirado e a solução foi agitada por uma hora até alcançar a temperatura ambiente. A esta solução, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (1 g, 4,6 mmol) em THF (30 mL) foi adicionado gota a gota, e depois de 1 hora de agitação à temperatura ambiente, o solvente foi evaporado e o resíduo foi diluído em DCM (150 mL). A solução foi extraída três vezes com 150 mL de NaOH (aq) 1M, seca em MgSO₄, o volume do solvente foi reduzido para cerca de 100 mL por evaporação. TEA (7 mL, 50 mmol) e BF₃·Et₂O (6,2 mL, 50 mmol) foram adicionados e a solução foi agitada à temperatura ambiente por 1 hora. A solução foi vertida em Et₂O (150 mL) e extraída 3 vezes com 150 mL de água. O composto desejado **20** (491 mg, 1,2 mmol, rendimento de 24%; CAS 1807761-24-5) foi obtido como um sólido avermelhado escuro, após purificação em coluna (Éter de Petróleo / DCM 1:1). RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,52 –

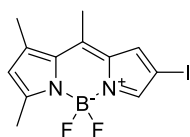
7,43 (m, 3H), 6,63 (s, 2H), 6,42 (s, 2H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 146,2, 143,3, 135,6, 135,1, 133,7, 131,7, 130,1, 128,5, 119,7. LRMS (EI): 406 (M^\bullet), 369 ($\text{M} - \text{Cl}^\bullet$), 349 ($\text{M} - \text{HF} - \text{Cl}^\bullet$), 334 ($\text{M} - \text{Cl}_2$).

Síntese de **21**

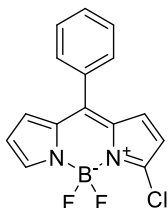


A uma solução em agitação de 2-acetil pirrol (1,9 g, 17,4 mmol) em metanol (20 mL) a 25 °C foi adicionada uma solução de iodeto de sódio (2,8 g, 18,7 mmol) em água (20 mL), seguido pela adição de oxone® (7 g, 22,7 mmol). Após 45 min observa-se a conversão completa da reação foi extraída três vezes com 50 mL de DCM. As frações orgânicas foram coletadas e lavadas com solução salina (3 x 150 mL), tiosulfato de sódio aquoso (3 x 150 mL) e finalmente com água (3 x 150 mL). O composto **21** foi obtido na forma de um sólido branco (1,1 g, 4,9 mmol, rendimento de 28%; CAS 51333-65-4) após purificação em coluna (DCM / EtOAc, 3:1). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,08 (dd, $J = 2,9, 1,4$ Hz, 1H), 7,00 (dd, $J = 2,9, 1,4$ Hz, 1H), 2,43 (s, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 186,2, 137,9, 129,5, 124,2, 123,3, 25,0. LRMS (EI): 235 (M^\bullet).

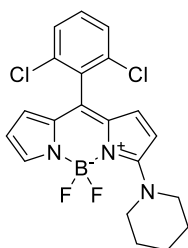
Síntese de **22**



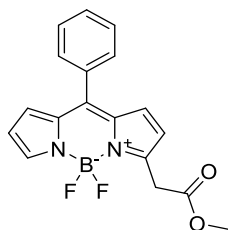
A uma solução em agitação de **21** (1,175 g; 5 mmol) em DCM (8 mL) e pentano (4 mL) sob atmosfera inerte a 0 °C, 2,4-dimetil-pirrol (0,65 mL; 6,3 mmol) foi adicionado. POCl_3 (0,5 mL; 5,4 mmol) foi adicionado e a solução foi agitada à temperatura ambiente sob atmosfera inerte durante 6 horas. À solução escura obtida adicionou-se TEA (7 ml; 50,2 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (7 mL; 56,7 mmol) e, após 1 hora de agitação à temperatura ambiente, a solução foi vertida em éter dietílico (500 mL), lavada três vezes com água (300 ml) e seca com MgSO_4 . O composto desejado **23** (493 mg, 1,4 mmol, 27% de rendimento; CAS 1187744-76-8) foi obtido após purificação em cromatografia em coluna de sílica (PE / DCM 1:1). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,54 (s, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,22 (s, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,43 (s, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 162,3, 147,1, 140,8, 140,6, 135,4, 134,7, 128,7, 123,9, 17,1, 16,3, 15,1. LRMS (EI): 360 (M^\bullet), 340 ($\text{M} - \text{F}^\bullet$).

Síntese de **23**

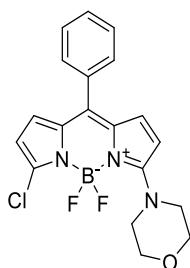
A uma solução sob agitação do BODIPY **15** (120 mg, 0,448 mmol) em acetonitrila (10 mL) à temperatura ambiente, cloreto de cobre II dihidratado (114 mg, 0,672 mmol) foi adicionado. Após 1 hora de reação a reação foi vertida em 50 mL de Et₂O, a solução extraída com água (3 x 200 mL) e a fase orgânica seca com sulfato de magnésio. O produto desejado **23** (67,6 mg, 0,224 mmol, rendimento de 50%; CAS 1807761-21-2) foi obtido como um sólido cristalino vermelho após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / DCM 4:1 – 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (s, 1H), 7,68 – 7,48 (m, 5H), 7,00 – 6,83 (m, 2H), 6,57 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 6,43 (d, *J* = 4,3 Hz, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 145,7, 144,5, 134,8, 134,0, 133,1, 131,9, 131,6, 131,5, 130,8, 130,5, 128,5, 118,9, 118,4. LRMS (ESI) 302.

Síntese de **24**

A uma solução em agitação do BODIPY **16** (336 mg; 1 mmol) em DMF (10 mL) à temperatura ambiente, piperidina (0,22 mL; 2,17 mmol) foi adicionada. A solução foi então purgada com oxigênio e deixada em agitação à temperatura ambiente em atmosfera de oxigênio durante 24 horas. A mistura foi vertida em éter etílico (250 mL) e lavada com NaHCO₃ aquoso (2 x 200 mL), em seguida, água (2 x 200 mL). Composto **24** (268 mg, 0,638 mmol, 64% de rendimento) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna (éter de petróleo / DCM, 1:1). RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 7,44 – 7,39 (m, 3H), 7,36 – 7,29 (m, 1H), 6,62 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 6,33 – 6,25 (m, 2H), 6,06 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 3,97 – 3,92 (m, 4H), 1,87 – 1,73 (m, 7H). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 162,2, 136,5, 135,9, 134,0, 133,0, 130,6, 130,4, 130,3, 128,2, 124,8, 115,9, 115,1, 113,4, 52,1, 26,4, 24,2. HRMS (EI): Calculado para C₁₆H₁₅BF₂N₄S₂: 419.0939; encontrado: 419.0946. LRMS (EI): 419/421. p.f.: 253°C.

Síntese de **25**

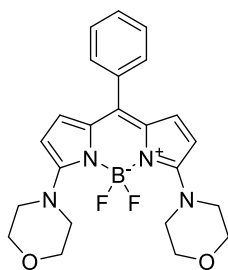
A uma solução do BODIPY **15** (200 mg; 0.75 mmol) em DMF (4 mL) a 25 °C, foi adicionado cloroacetato de metila (73 µL; 0.83 mmol) e *tert*-butóxido de sódio (144 mg; 1,5 mmol). Após 30 minutos sob agitação à temperatura ambiente a solução escura formada foi vertida em 100 mL de éter dietílico, seguida da lavagem com solução aquosa de HCl 0,1M (3 x 150 mL). Purificação por cromatografia em coluna de sílica (PE/DCM 3:2 - 0:1) resultou na obtenção do composto desejado **25** (124 mg, 0,36 mmol, rendimento de 49%) como um sólido cristalino vermelho. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (s, 1H), 7,60 – 7,49 (m, 5H), 6,92 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 6,58 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,51 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 4,13 (s, 2H), 3,77 (s, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 169,5, 154,1, 146,2, 142,8, 135,3, 134,5, 133,8, 132,4, 130,6, 130,5, 128,4, 120,4, 118,1, 52,5, 34,5. HRMS (ESI): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{BFN}_2\text{O}_2$, $[\text{M} - \text{F}]^+$: 321,1205, encontrado: 321,1205; $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 363,1092, encontrado: 363,1092, $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{BF}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{K}$ $[\text{M} + \text{K}]^+$: 379,0832, encontrado: 379,0818. LRMS (ESI): 363 (M + Na) $^+$, 379 (M + K) $^+$.

Síntese de **26**

A uma solução do BODIPY **19** (115 mg, 0,342 mmol) em acetonitrila (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se morfolina (65 µL, 0,753 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto desejado **26** (115,4 mg, 0,298 mmol, 87% de rendimento) foi obtido como um pó vermelho escuro após purificação em coluna (C_6H_{14} / DCM, 1:3 - 0:1). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 7,40 – 7,34 (m, 5H), 6,85 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 6,29 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H),

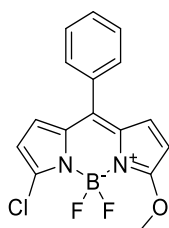
6,25 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H), 6,20 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 3,99 – 3,95 (m, 4H), 3,90 – 3,87 (m, 4H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 162,1, 135,6, 135,0, 134,3, 131,8, 131,2, 130,5, 130,0, 129,2, 129,1, 128,2, 128,0, 119,4, 113,4, 113,2, 66,8, 50,7. HRMS (ESI): calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BClF}_2\text{N}_3\text{ONa}$, $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 410,1019, encontrado: 410,1016. LRMS (ESI): 367 ($\text{M} - \text{F}$) $^+$, 352 ($\text{M} - \text{Cl}$) $^+$.

Síntese de **27**



A uma solução do BODIPY **19** (67 mg, 0,199 mmol) em acetonitrila (5 mL) sob refluxo, sob agitação, adicionou-se morfolina (104 μL , 1,222 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 2 horas, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto desejado **27** (62 mg, 0,141 mmol, 71 % de rendimento) foi obtido como um pó roxo escuro após purificação em coluna (DCM / EtOAc 1:0 - 1:4). RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 7,53 – 7,42 (m, 5H), 6,50 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 6,26 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 3,76 – 3,70 (m, 8H), 3,53 – 3,48 (m, 8H). RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO) δ 159,1, 134,4, 131,1, 130,4, 130,3, 129,1, 128,3, 127,1, 108,1, 66,0, 51,1. HRMS (ESI): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{Na}$, $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 461,1936, encontrado: 461,1925. LRMS (ESI): 439 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$, 462 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$.

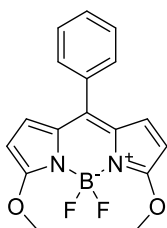
Síntese de **28**



A uma solução de BODIPY **19** (31 mg, 0,092 mmol) em metanol (5 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se metóxido de sódio (13 mg, 0,240 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido de adição de 1 mL de água. Após 15 min de agitação a solução foi vertida em 100 mL de DCM, seca com MgSO_4 e filtrada. O composto **28** (20,6 mg, 0,062 mmol, rendimento de 67%, CAS 869063-53-6) foi obtido após

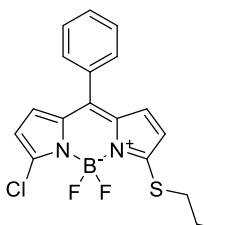
purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 4:1 - 3:1) como um sólido avermelhado. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,48 – 7,35 (m, 5H), 6,87 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 6,52 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 6,21 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,08 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,08 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 169,6, 140,3, 137,5, 135,2, 133,0, 132,2, 130,4, 130,1, 128,4, 126,3, 115,5, 104,5, 59,3. LRMS (ESI): 355 (M + Na)⁺,

Síntese de **29**



A uma solução de BODIPY **19** (52 mg; 0,155 mmol) em metanol (10 mL) sob refluxo e agitação, adicionou-se metóxido de sódio (67 mg; 1,240 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 5 horas, seguido de adição de 1 mL de água. Após 15 min de agitação a solução foi vertida em 100 mL de DCM, seca com MgSO₄ e filtrada. O composto **29** (18,5 mg; 0,055 mmol; rendimento de 37%;) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 4:1 - 2:3) como um sólido avermelhado. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,50 – 7,43 (m, 5H), 6,69 (d, *J* = 3,9 Hz, 3H), 5,90 (d, *J* = 3,9 Hz, 2H), 4,05 (s, 6H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 166,0, 133,6, 131,5, 130,4, 130,3, 129,6, 128,6, 128,2, 127,9, 58,6. LRMS (ESI): 329 (M + H)⁺, 351 (M + Na)⁺, 367 (M + K)⁺.

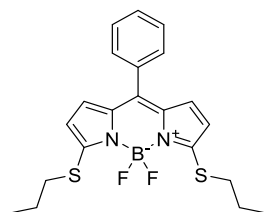
Síntese de **30**



A uma solução de BODIPY **19** (134 mg; 0,398 mmol) em acetonitrila (10 mL) sob refluxo e agitação adicionou-se 1-propanotiol (90 μL; 0,994 mmol) e TEA (140 μL; 0,998 mmol). Após 2,5 horas de agitação sob refluxo o solvente foi evaporado. O composto **30** (84 mg; 0,223 mmol; rendimento de 56%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / DCM 9:1 - 3:2) como um sólido púrpura escuro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,50 – 7,37

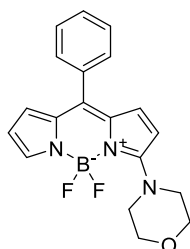
(m, 5H), 6,88 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 6,50 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,31 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 3,09 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1,91 – 1,79 (m, 2H), 1,11 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 162,9, 139,4, 139,3, 136,7, 133,2, 133,0, 132,3, 130,4, 130,2, 128,4, 127,5, 118,2, 116,4, 34,7, 22,5, 13,4. LRMS (ESI): 357 (M - F)⁺.

Síntese de **31**



A uma solução de BODIPY **19** (136 mg; 0,404 mmol) em acetonitrila (10 mL) sob refluxo e agitação adicionou-se 1-propanotiol (295 μL ; 3,257 mmol) e TEA (449 μL ; 3,221 mmol). Após 6 horas de agitação sob refluxo o solvente foi evaporado. O composto **31** (104,3 mg; 0,251 mmol; rendimento de 62%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14} / DCM 9:1 - 3:2) como um sólido púrpura escuro. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,54 – 7,46 (m, 5H), 6,73 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H), 6,40 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H), 3,06 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 1,83 (dt, $J = 14.6, 7.3$ Hz, 4H), 1,10 (t, $J = 7.4$ Hz, 6H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 156,7, 137,2, 135,7, 134,0, 130,4, 129,8, 129,2, 128,3, 116,4, 34,8, 22,5, 13,4. HRMS (ESI): Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{BF}_2\text{N}_2\text{S}_2$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 417,1442, obtido: 417,1426; $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{N}_2\text{S}_2\text{K}$ $[\text{M} + \text{K}]^+$: 455,1001, obtido: 455,0993. LRMS (ESI) 455 (M + K)⁺.

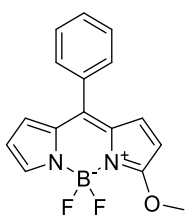
Síntese de **32**:



A uma solução de BODIPY **23** (102 mg, 0,338 mmol) em acetonitrila (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se morfolina (72 μL , 0,834 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto desejado **32** (73 mg, 0,207 mmol, 61% de rendimento) foi obtido como um pó vermelho escuro após purificação em coluna (C_6H_{14} / DCM, 4:1 - 1:4). RMN de ^1H (500 MHz,

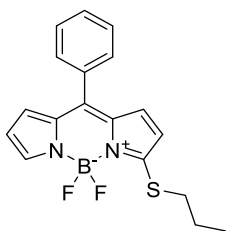
CDCl₃) δ 7,49 – 7,41 (m, 6H), 6,90 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 6,40 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 6,36 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 6,22 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 4,01 – 3,93 (m, 4H), 3,92 – 3,85 (m, 4H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 162,3, 135,9, 135,2, 135,1, 133,7, 132,0, 132,0, 130,6, 129,2, 128,3, 119,6, 114,0, 112,8, 66,9, 50,7. HRMS (ESI): Calculado para C₁₉H₁₉BF₂N₃O, [M + H]⁺: 354,1589, obtido: 354,1594; C₁₉H₁₈BF₂N₃OK, [M + K]⁺: 392,1148, obtido: 392,1134. LRMS (ESI) 354 (M + H)⁺.

Síntese de **33**:



A uma solução de BODIPY **23** (90 mg, 0,298 mmol) em metanol (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se metóxido de sódio (40 mg, 0,738 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido de adição de 1 mL de água. Após 5 min de agitação a solução foi vertida em 100 mL de DCM, seca com MgSO₄ e filtrada. O composto **33** (51,7 mg, 0,173 mmol, rendimento de 58%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / EtOAc 9:1 - 1:2) como um sólido avermelhado. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,70 (s, 1H), 7,57 – 7,45 (m, 5H), 6,98 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 6,42 (dd, *J* = 3,9, 2,1 Hz, 1H), 6,13 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,15 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 169,5, 142,1, 138,1, 135,5, 133,9, 133,2, 130,5, 130,4, 130,1, 128,4, 126,3, 116,1, 104,0, 59,3. HRMS (ESI): Calculado para C₁₆H₁₄BF₂N₂O, [M + H]⁺: 299,1167, obtido: 299,1182; C₁₆H₁₃BF₂N₂ONa, [M + Na]⁺: 321,0987, obtido: 321,0978; C₁₆H₁₃BF₂N₂OK, [M + K]⁺: 337,0726, obtido: 337,0724. LRMS (ESI) 321 (M + Na)⁺, 337 (M + K)⁺.

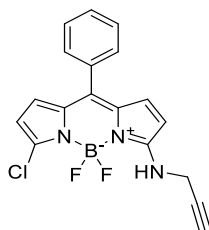
Síntese de **34**



A uma solução de BODIPY **23** (213 mg; 0,705 mmol) em acetonitrila (10 mL) sob refluxo e

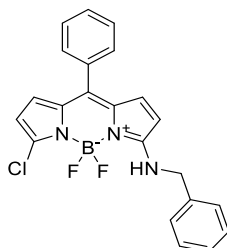
agitação, adicionou-se 1-propanotiol (163 μL ; 1,75 mmol) e TEA (243 μL ; 1,74 mmol). Após 2 horas de agitação sob refluxo o solvente foi evaporado. O composto **34** (148,7 mg; 0,434 mmol; rendimento de 62%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica ($\text{C}_6\text{H}_{14} / \text{C}_6\text{H}_6$ 1:3 - 0:1) como um sólido púrpura escuro. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,74 (s, 1H), 7,56 – 7,42 (m, 5H), 6,93 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,71 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 6,49 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,45 (dd, $J = 4,0, 2,0$ Hz, 1H), 3,10 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,85 (sext, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,11 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 162,3, 141,3, 139,8, 137,0, 134,2, 134,0, 132,6, 130,5, 130,2, 128,5, 127,6, 117,8, 116,9, 34,8, 22,7, 13,55. HRMS (ESI): Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BF}_2\text{N}_2\text{S}$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 343,1252, obtido: 343,1240; $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{BF}_2\text{N}_2\text{SK}$, $[\text{M} + \text{K}]^+$: 381,0811, obtido: 381,0795. LRMS (ESI) 343 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$, 365 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 381 ($\text{M} + \text{K}$) $^+$.

Síntese de **35**



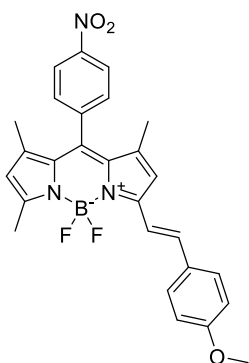
A uma solução de BODIPY **19** (215 mg; 0,639 mmol) em acetonitrila (15 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se propargilamina (102 μL ; 1,6 mmol). Após 1 hora sob agitação o solvente foi evaporado. O produto **35** (201 mg; 0,566 mmol; rendimento de 89%) foi obtido como um sólido cristalino vermelho após purificação por cromatografia em coluna de sílica ($\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{DCM}$, 3:1 - 1:3). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,52 – 7,39 (m, 5H), 6,93 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 6,49 (br, 1H), 6,39 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 6,28 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 6,20 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 4,17 (dd, $J = 6,0, 2,5$ Hz, 2H), 2,39 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 161,3, 133,7, 133,2, 132,0, 131,2, 130,3, 129,4, 128,3, 121,6, 113,2, 110,3, 73,8, 34,1. LRMS (ESI) 356 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$, 378 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 394 ($\text{M} + \text{K}$) $^+$, 711 ($2\text{M} + \text{H}$) $^+$, 733 ($2\text{M} + \text{Na}$) $^+$

Síntese de **36**



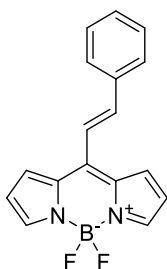
A uma solução de BODIPY **19** (140 mg; 0,417 mmol) em acetonitrila (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se benzilamina (227 μ L; 2,09 mmol). Após 1 hora sob agitação o solvente foi evaporado. O produto **36** (84,7 mg; 0,208 mmol; rendimento de 50%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14}/DCM , 2:1 - 1:1). RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,48 – 7,42 (m, 5H), 7,40 – 7,32 (m, 5H), 6,87 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H), 6,74 (br, 1H), 6,36 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 6,19 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 6,17 (d, $J = 5,0$ Hz, 1H), 4,61 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H). RMN de ^{13}C (101 MHz, $CDCl_3$) δ 161,9, 136,3, 135,9, 133,8, 133,3, 132,4, 132,0, 130,3, 129,3, 129,1, 128,3, 128,2, 127,0, 120,7, 112,9, 110,8, 48,3. LRMS (ESI) 408 (M + H)⁺, 430 (M + Na)⁺; 446 (M + K)⁺

Síntese de **37**



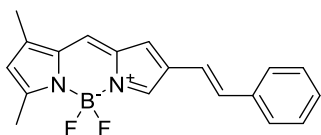
A uma solução do composto **7** (130 mg; 0,352 mmol) em tolueno (15 mL) sob refluxo adicionou-se *p*-metóxi-benzaldeído (110 μ L; 0,904 mmol) e piperidina (1,3 mL; 13,2 mmol). A solução foi mantida sob agitação e refluxo por 3,5 horas com aparato Dean-Stark para coletar água formada na reação. O composto **37** (28,9 mg; 0,059 mmol; rendimento de 17%) foi obtido como um sólido vermelho escuro após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C_6H_{14} / EtOAc 9:1 - 4:1). RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8,39 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,61 – 7,51 (m, 6H), 6,91 (d, $J = 8,4$ Hz, 4H), 6,62 (s, 1H), 6,03 (s, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,60 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,37 (s, 3H).

Síntese de **38**

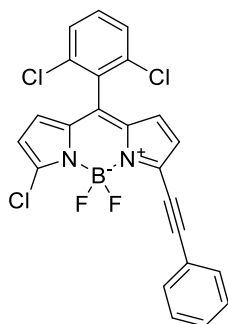


A uma solução do BODIPY **17** (310 mg; 1,5 mmol) em tolueno (15 mL), sob agitação e refluxo foi adicionado benzaldeído (200 µl; 1,97 mmol), ácido acético (1,2 mL; 20,9 mmol) e piperidina (1,0 mL; 10,1 mmol). Após 5 min a solução foi resfriada até temperatura ambiente e o solvente foi evaporado. Depois de purificação por cromatografia em coluna de sílica (PE / DCM 1:9) o BODIPY **38** (127 mg; 0,432 mmol; rendimento de 29%) foi obtido como um sólido escuro. RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 7,89 (s, 2H), 7,62 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 7,52 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H), 7,48 – 7,42 (m, 4H), 7,37 (s, 2H), 6,56 (s, 2H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 144,7, 143,7, 143,0, 135,5, 133,8, 130,5, 129,2, 128,3, 128,0, 121,1, 117,9. HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BF}_2\text{N}_2$, 294.1140, encontrado 294.1143. LRMS (EI): 294, 273 [M - F].

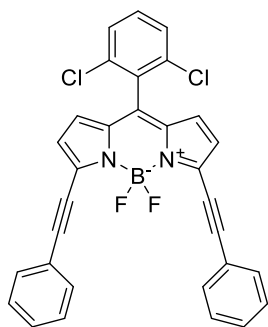
Síntese de **39**



A uma solução de BODIPY **22** (117 mg; 0,33 mmol) em tolueno (5 mL) sob agitação à temperatura ambiente, ácido-(E)-estiril borônico (64 mg, 0,43 mmol) e Tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0) (4 mg) foram adicionados, seguido pela adição de 1,5 mL de Na_2CO_3 1 M (aq). A solução foi aquecida ao refluxo e depois de 3 horas a mistura foi vertida em éter dietílico (300 mL) e seca sobre sulfato de magnésio. Composto **39** (24 mg; 0,072 mmol; rendimento de rendimento de 22%) foi obtido como um sólido de cor púrpura escuro após purificação por cromatografia em coluna de gel de sílica (PE/DCM, 2:1 - 1:1). RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 7,77 (s, 1H), 7,45 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,34 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,23 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,16 (s, 1H), 6,98 (d, $J = 16,3$ Hz, 1H), 6,91 (d, $J = 16,3$ Hz, 1H), 6,17 (s, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 2,43 (s, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 160,5, 145,6, 141,5, 137,7, 137,1, 134,9, 134,6, 129,5, 128,8, 127,6, 127,4, 126,2, 123,1, 120,6, 119,4, 17,1, 16,6, 15,1. LRMS (EI): 336 (M \cdot), 316 (M - F \cdot).

Síntese de **40**

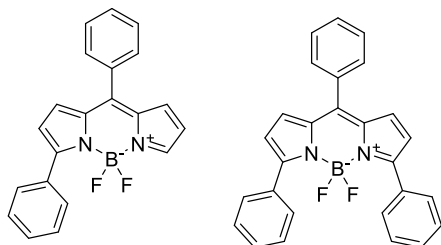
A uma solução de BODIPY **20** (81 mg; 0,2 mmol) em THF (3 mL) e TEA (1,5 ml), a 70 °C previamente purgada com nitrogênio, sob agitação, adicionou-se fenilacetileno (23 uL, 0,21 mmol), iodeto de cobre (I) (0,8 mg; 0,004 mmol) e Tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0) (4,5 mg; 0,004 mmol). Após 1 hora ao solvente foi evaporado e composto desejado **40** (69,2 mg; 0,147 mmol; rendimento de 73%) foi purificado como um sólido púrpura escuro por cromatografia em coluna de sílica (PE/DCM, 9:1 - 1:1). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,73 – 7,64 (m, 2H), 7,51 – 7,36 (m, 6H), 6,69 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,65 – 6,60 (m, 2H), 6,41 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 146,1, 135,5, 135,4, 133,6, 132,4, 131,6, 131,4, 130,7, 130,0, 129,9, 129,2, 128,5, 128,4, 128,3, 124,6, 121,9, 119,6, 103,6, 82,8. LRMS (EI): 470/472.

Síntese de **41**

A uma solução de BODIPY **20** (83 mg, 0,2 mmol) dissolvido em THF (3 mL) e TEA (1,5 ml), a 70 °C previamente purgada com nitrogênio, sob agitação, adicionou-se fenilacetileno (47 uL, 0,42 mmol), iodeto de cobre (I) (0,8 mg, 0,004 mmol) e Tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0) (4,5 mg, 0,004 mmol). Após 1 hora o solvente foi evaporado e composto desejado **41** (66,5 mg, 0,124 mmol, 62% de rendimento) foi purificado como um sólido púrpura escuro por cromatografia em coluna de sílica (PE/DCM, 9:1 - 1:1). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,76 – 7,65 (m, 4H), 7,52 – 7,38 (m, 9H), 6,69 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H), 6,62 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H). RMN

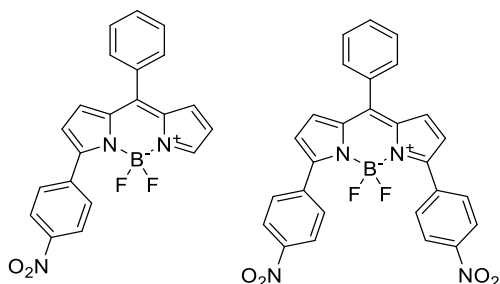
de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 139,0, 136,5, 135,6, 132,5, 131,2, 129,7, 128,7, 128,4, 128,3, 124,3, 122,3, 103,6, 83,4. LRMS (EI): 536/538.

Síntese de **42** e **43**



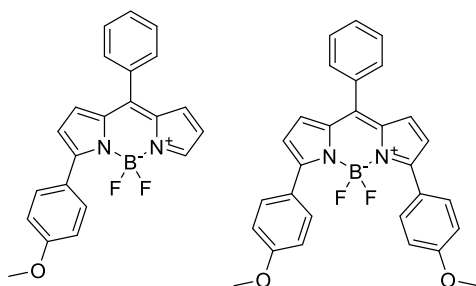
A uma solução do composto **15** (214 mg; 0,8 mmol) em acetona (5 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tetrafluorborato de benzenodiazônio (337 mg; 1,76 mmol). Após agitar à temperatura ambiente por 2 minutos adicionou-se ferroceno (31 mg; 0,167 mmol) pré dissolvido em acetona (1 mL) gota a gota no decorrer de 30 minutos. Após completada a adição da solução de ferroceno a solução permaneceu 30 minutos sob agitação à temperatura ambiente sendo posteriormente vertida em 100 mL de éter dietílico, extraída 3 vezes com água, seca sob sulfato de magnésio e filtrada. Após purificação em coluna ($\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{DCM}$, 3:1) foram obtidos os compostos **42** (84 mg; 0,244 mmol; rendimento de 31%) e **43** (72,5 mg; 0,173 mmol; rendimento de 22%). **42** RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) δ 8,03 (s, 1H), 8,01 – 7,97 (m, 2H), 7,69 (m, 3H), 7,66 – 7,60 (m, 2H), 7,54 (m, 3H), 7,08 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,99 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 6,69 (dd, $J = 4,1, 1,8$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (101 MHz; DMSO) δ 159,2, 145,4, 143,1, 136,4, 133,4, 133,2, 133,1, 131,5, 130,8, 130,5, 130,1, 129,2, 128,6, 128,4, 127,3, 121,5, 119,0. LRMS (ESI) 383 ($\text{M} + \text{K}$) $^+$. **43** RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,85 – 7,77 (m, 4H), 7,69 – 7,57 (m, 4H), 7,49 – 7,41 (m, 6H), 6,96 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 163,3, 149,5, 140,9, 138,6, 137,3, 136,6, 135,8, 134,9, 134,4, 133,8, 133,5, 132,6, 126,8. LRMS (ESI) 443 ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 459 ($\text{M} + \text{K}$) $^+$.

Síntese de **44** e **45**



A uma solução do composto **15** (42 mg; 0,157 mmol) em acetona (3 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tetrafluorborato de 4-nitrobenzenodiazônio (82 mg; 0,345 mmol). Após agitar à temperatura ambiente por 2 minutos adicionou-se ferroceno (31 mg; 0,167 mmol) pré dissolvido em acetona (1 mL) gota a gota no decorrer de 15 minutos. Após completada a adição da solução de ferroceno a solução permaneceu 15 minutos sob agitação à temperatura ambiente sendo posteriormente vertida em 50 mL de éter dietílico, extraída 3 vezes com água (50 mL), seca sob sulfato de magnésio e filtrada. Após purificação em coluna (C_6H_{14}/DCM , 4:1 – 1:1) foram obtidos os compostos **44** (12,6 mg; 0,0324 mmol; rendimento de 21%) e **45** (72,5 mg; 0,173 mmol; rendimento de 22%). **44** RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,35 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 8,13 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,97 (s, 1H), 7,68 – 7,53 (m, 5H), 7,02 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 7,00 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 6,73 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,62 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H). LRMS (ESI) 390 ($M + H$)⁺. **45** RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,29 (d, $J = 8,5$ Hz, 4H), 8,01 (d, $J = 8,4$ Hz, 4H), 7,61 (s, 5H), 7,02 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H), 6,72 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H). LRMS (ESI) 511 ($M + H$)⁺.

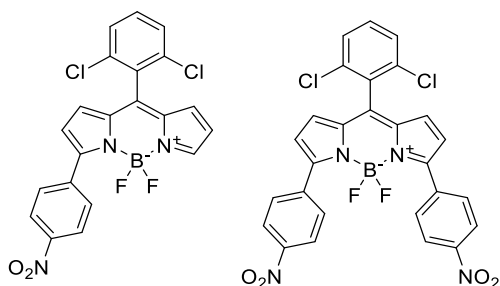
Síntese de **46** e **47**



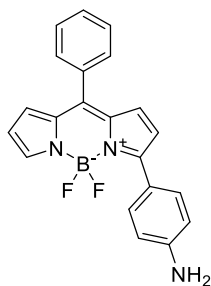
A uma solução do composto **15** (250 mg; 0,933 mmol) em acetona (5 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tetrafluorborato de 4-metóxi benzenodiazônio (455 mg; 2,05 mmol). Após agitar à temperatura ambiente por 2 minutos adicionou-se ferroceno (35 mg; 0,187 mmol) pré dissolvido em acetona (1 mL) gota a gota no decorrer de 30 minutos. Após completada a adição da solução de ferroceno a solução permaneceu 30 minutos sob agitação à temperatura ambiente sendo posteriormente vertida em 150 mL de éter dietílico, extraída 3 vezes com água destilada (150 mL), seca sob sulfato de magnésio e filtrada. Após purificação em coluna (C_6H_{14}/DCM , 4:1 – 1:1) foram obtidos os compostos **46** (37 mg; 0,099 mmol; rendimento de 11 %) e **47** (54,5 mg; 0,113 mmol; rendimento de 12%). **46** RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,99 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,52 – 7,40 (m, 5H), 7,02 (d, $J = 9,0$ Hz,

2H), 6,97 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,80 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,70 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,49 (dd, $J = 4,3, 2,0$ Hz, 1H), 3,81 (s, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 161,5, 160,9, 144,5, 141,2, 137,6, 134,4, 134,0, 133,2, 131,5, 130,6, 130,4, 128,7, 128,5, 124,6, 121,2, 117,7, 114,1, 55,5. LRMS (ESI) 375 ($\text{M} + \text{H}$)⁺, 397 ($\text{M} + \text{Na}$)⁺, 413 ($\text{M} + \text{K}$)⁺. **47** RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,89 (d, $J = 8,9$ Hz, 4H), 7,59 – 7,50 (m, 5H), 6,96 (d, $J = 8,9$ Hz, 4H), 6,84 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H), 6,61 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H), 3,85 (s, 6H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 160,9, 158,50, 142,60, 136,4, 134,8, 131,3, 130,7, 130,5, 130,0, 128,3, 125,4, 120,6, 114,0, 55,4. LRMS (ESI) 503 ($\text{M} + \text{Na}$)⁺, 519 ($\text{M} + \text{K}$)⁺.

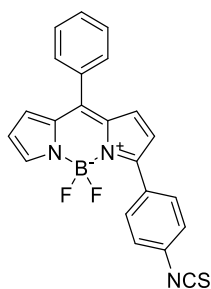
Síntese de **48** e **49**



A uma solução do composto **16** (149 mg; 0,44 mmol) em acetona à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tetrafluoroborato de 4-nitrobenzenodiazônio (105 mg, 0,44 mmol). Após agitar à temperatura ambiente por 2 minutos adicionou-se ferroceno (16,5 mg, 0,09 mmol) pré dissolvido em acetona (0,8 mL) vagorosamente no decorrer de 30 minutos, com uma bomba de seringa. Após completada a adição da solução de ferroceno a solução permaneceu 30 minutos sob agitação à temperatura ambiente sendo posteriormente vertida em 100 mL de éter dietílico, extraída 3 vezes com água, seca sob sulfato de magnésio e filtrada. Após purificação em coluna (éter de petróleo / Et_2O , 4:1 - 1 1) foram obtidos os compostos **48** (74,7 mg, 0,16 mmol, rendimento de 37%) e **49** (24,1 mg, 0,04 mmol, 9% de rendimento). **48** RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,33 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 8,14 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,56 – 7,40 (m, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,69 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 6,57 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 156,6, 148,2, 146,3, 140,3, 138,1, 136,9, 135,2, 134,9, 131,5, 131,2, 130,4, 130,3, 130,3, 128,3, 123,5, 120,9, 120,1. LRMS (EI): 457, 438 ($\text{M} - \text{F}$), 422 ($\text{M} - \text{Cl}$). **49** RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,30 (d, $J = 8,8$ Hz, 4H), 8,06 (d, $J = 8,8$ Hz, 4H), 7,61 – 7,42 (m, 3H), 6,79 (d, $J = 4,3$ Hz, 2H), 6,71 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 157,5, 148,3, 139,6, 138,0, 136,9, 135,4, 131,6, 131,2, 130,4, 130,4, 128,4, 123,6, 122,0. LRMS (EI): 578 (M^\bullet).

Síntese de **50**

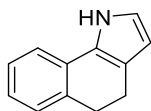
A uma solução do BODIPY **44** (20mg, 0,0514 mmol) em DCM (9 mL) e EtOH (1 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se Pd/C (10% p/p; 11 mg; 0,0103 mmol). A solução foi purgada com gás hidrogênio e agitada em atmosfera desse gás por 30 minutos. A solução foi filtrada em celite e evaporada. O produto **50** (14 mg, 0,0390 mmol, rendimento de 76%) foi obtido como um sólido cristalino púrpura após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / DCM, 4:1 – 1:3). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 7,97 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7,73 (s, 1H), 7,65 – 7,54 (m, 5H), 7,12 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 6,99 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 6.64 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 6.51 (dd, *J* = 3.9, 2.1 Hz, 1H), 6.24 (br, 2H). RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 162,0, 152,4, 139,8, 137,5, 137,4, 133,8, 133,5, 132,3, 132,2, 130,3, 130,1, 128,5, 124,9, 122,4, 117,1, 116,4, 113,3.

Síntese de **51**

A uma solução do BODIPY **50** (42 mg, 0,117 mmol) em clorofórmio (5 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se TDP (46 mg, 0,194 mmol). Após 1,5 hora sob agitação à temperatura ambiente o solvente foi evaporado e o composto **51** (42,7 mg, 0,106 mmol, rendimento de 91%) foi obtido após purificação por cromatografia em coluna de sílica (C₆H₁₄ / DCM, 2:1 – 1:1) como um sólido cristalino púrpura. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,90 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,81 (s, 1H), 7,49 (m, 5H), 7,26 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,90 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 6,48 (dd, *J* = 4,1, 1,6 Hz, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 157,9, 146,0, 143,3, 137,3, 136,7, 134,5, 134,0, 132,6, 131,1, 130,8,

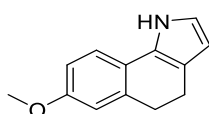
130,7, 130,6, 130,5, 128,5, 125,7, 120,5, 118,6.

Síntese de **54**

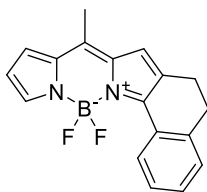


A uma solução de tetralona (**52**, 365 mg, 2,5 mmol) em DMSO (13 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, cloridrato de hidroxilamina (525 mg, 7,5 mmol) e bicarbonato de sódio (630 mg, 7,5 mmol) são adicionados e agitados durante 4 horas. Um segundo balão de três bocas com cerca de 8 g de carbeto de cálcio com um funil de adição com a água foi conectado ao primeiro balão através de tubulação de borracha. Após purgar todo o sistema com argônio, a temperatura no primeiro frasco foi aumentado para cerca de 160°C. Adição gota a gota de água ao balão contendo carbeto de cálcio resulta na formação de gás acetileno que atinge o primeiro balão através da tubulação de borracha. Após cerca de 5 min, hidróxido de potássio (420 mg, 7,5 mmol) foi adicionado ao primeiro frasco. A conversão da oxima para o pirrol desejado foi controlada através de TLC a cada 30 min, e mais gás de acetileno foi adicionado ao balão 2 até que a conversão total seja observado na TLC, o que ocorre após cerca de 2 horas. A solução foi vertida em éter etílico e lavada com água. Após cromatografia em coluna (Éter de Petróleo / DCM, 4:1 - 1:9) o composto **54** (79 mg, 0,46 mmol, rendimento de 18%) foi obtido na forma de um pó branco com uma cor azul fraca. LRMS (EI): 169 (M[•]).

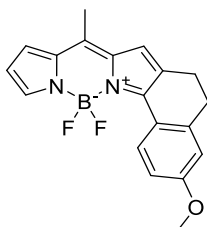
Síntese de **55**:



A partir da 6-metóxi tetralona (**53**, 440 mg, 2,5 mmol) o composto **55** (75 mg, 0,38 mmol, rendimento de 15%) foi obtido pelo mesmo método descrito para o composto **54**. LRMS (EI): 199 (M[•]), 168 (M - OMe[•]).

Síntese de **56**:

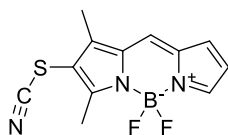
A uma solução de 2-acetilpirrol (20 mg, 0,18 mmol) e do composto **54** (35 mg, 0,21 mmol) em DCM (4 mL) e pentano (2 ml), sob atmosfera inerte e à temperatura ambiente, sob agitação, cloreto de fosforilo (0,02 mL, 0,19 mmol) foi adicionado e a reação foi agitada durante 2 horas. Adicionou-se TEA (1 mL, 7 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1 mL, 8,1 mmol) após 1 hora agitando à temperatura ambiente a reação foi vertida em éter dietílico (100 mL), lavada com água (3 x 200 mL) e seca sobre MgSO_4 . Após purificação em cromatografia de coluna de sílica (PE/DCM 9:1), BODIPY **56** (14,8 mg, 0,05 mmol, rendimento de 28%) foi obtido como um sólido de cor púrpura escura. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,61 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,36 – 7,18 (m, 3H), 7,03 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 6,40 (s, 1H), 2,84 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 2,68 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H). LRMS (EI) 308 (M^+), 288 ($\text{M} - \text{HF}$).

Síntese de **57**

A uma solução de 2-acetilpirrol (35 mg, 0,32 mmol) e do composto **55** (70 mg, 0,35 mmol) em DCM (4 mL) e pentano (2 ml), sob atmosfera inerte e temperatura ambiente, sob agitação, cloreto de fosforilo (0,03 mL, 0,3300mmol) foi adicionado e a reação foi agitada durante 2 horas. Adicionou-se TEA (1,5 mL, 8,5 mmol) e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1,5 mL, 12 mmol) e, após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente, a reação foi vertida em éter dietílico (100 mL), lavada com água (3 x 200 mL) e seca sobre MgSO_4 . Após cromatografia em coluna de sílica (Éter de Petróleo/DCM, 2:1 - 1:1) o composto **57** (19,5 mg, 0,06 mmol, rendimento de 19%) foi obtido como um sólido de cor púrpura escura. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,68 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,04 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 6,95 (dd, $J = 8,9, 3,0$ Hz, 1H), 6,82 (s,

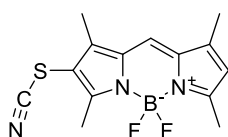
1H), 6,45 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 2,91 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2,76 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2,55 (s, 3H). LRMS (EI) 338 (M[•]), 323 (M - CH₃•).

Síntese de **58**

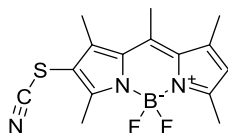


A uma solução do BODIPY **1** (20 mg, 0,091 mmol) em metanol (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, foi adicionado tiocianato de amônio (17 mg, 0,22 mmol) e oxone® (83 mg, 0,26 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **58** (20,6 mg, 0,074 mmol, rendimento de 82%) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna (C₆H₁₄ / EtOAc, 3:1 - 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,87 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,16 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 6,59 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,44 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 160,4, 147,6, 145,3, 134,6, 133,5, 131,4, 127,7, 119,5, 109,7, 109,0, 13,4, 11,0. IV (cm⁻¹): 2154 (S-C≡N). HRMS (ESI): calculado para C₁₂H₁₁BF₂N₃S, [M + H]⁺: 278,0729, encontrado: 278,0719; C₁₂H₁₀BFN₃S [M - F]⁺: 258,0667, encontrado: 258,0641. LRMS (EI): 277, 257 (M - HF). p.f.: 175°C (deg).

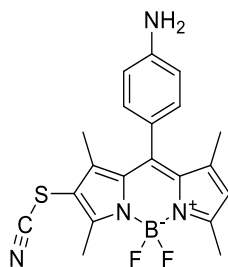
Síntese de **59**



A uma solução de BODIPY **3** (25,0 mg, 0,101 mmol) em metanol (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (25 mg, 0,320mmol) e oxone® (85 mg, 0,280 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **59** (24,7 mg, 0,0809 mmol, rendimento de 80%) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna de sílica (C₆H₁₄/EtOAc, 3:1 - 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,15 (s, 1H), 6,21 (s, 1H), 2,65 (s, 3H), 2,59 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 163,5, 155,1, 145,8, 141,6, 136,1, 130,9, 121,9, 121,3, 110,5, 105,8, 15,3, 12,8, 11,6, 10,6. IV (cm⁻¹): 2158 (S-C≡N). HRMS (ESI): calculado para C₁₄H₁₅BF₂N₃S, [M + H]⁺: 306,1042, encontrado: 306,1062; C₁₄H₁₄BFN₃S [M - F]⁺: 286,0980, encontrado: 286,0999. p.f.: 217°C.

Síntese de **60**:

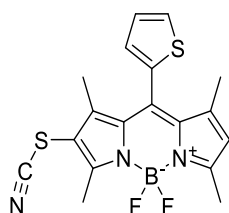
A uma solução de BODIPY **2** (28,0 mg, 0,107 mmol) em metanol (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, foi adicionado tiocianato de amônio (24 mg, 0,323 mmol) e oxone® (95 mg, 0,324 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. Composto **60** (29,2 mg, 0,091 mmol, rendimento de 85%) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna (C₆H₁₄/EtOAc, 3:1 - 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,22 (s, 1H), 2,67 (s, 3H), 2,65 (s, 3H), 2,59 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 2,46 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 160,0, 152,7, 145,7, 142,8, 140,5, 138,9, 134,4, 130,8, 124,2, 110,9, 17,9, 17,2, 15,5, 15,0, 12,9. IV (cm⁻¹): 2154 (S-C≡N). HRMS (ESI): calculado para C₁₅H₁₆BF₂N₃SNa, [M + Na]⁺: 342,1024, encontrado: 342,1026; C₁₅H₁₆BF₂N₃SK [M + K]⁺: 358,0763, encontrado: 358,0763. LRMS (ESI): 300 (M - F)⁺. p.f.: 187°C.

Síntese de **61**:

A uma solução do BODIPY **11** (17 mg, 0,050 mmol) em metanol (7 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (12 mg, 0,158 mmol) e oxone® (46 mg, 0,150 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **61** (8,7 mg, 0,022 mmol, rendimento de 44%) foi obtido como um pó cor de laranja, após purificação em coluna (C₆H₁₄/EtOAc, 3:1 - 1:3). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,99 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,81 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,12 (s, 1H), 2,69 (s, 3H), 2,60 (s, 3H), 1,65 (s, 3H), 1,55 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 160,5, 152,1, 150,1, 147,3, 145,0, 141,9, 133,6, 129,9, 128,4, 123,7, 119,6, 114,2, 111,4,

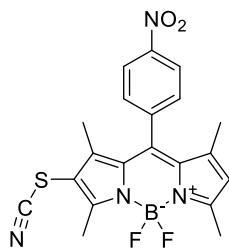
107,9, 14,8, 14,6, 12,6, 12,5. IV (cm^{-1}): 2152 (S-C \equiv N). HRMS (ESI): calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{BF}_2\text{N}_4\text{S}$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 397,1470, encontrado: 397,1470; $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BFN}_4\text{S}$ $[\text{M} - \text{F}]^+$: 377,1402, encontrado: 377,1410; $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_4\text{SNa}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 419,1289; encontrado: 419,1288; $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_4\text{SK}$ $[\text{M} + \text{K}]^+$: 435,1029, encontrado: 435,1027. LRMS (ESI): 397 (M + H) $^+$, 377 (M - F) $^+$. p.f.: 132°C.

Síntese de **62**



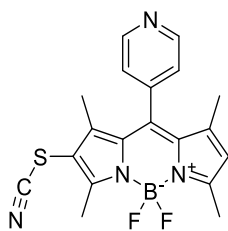
A uma solução do BODIPY **4** (44,8 mg, 0,136 mmol) em metanol (12 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (31 mg, 0,408 mmol) e oxone® (123 mg, 0,401 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **62** (42,3 mg, 0,109 mmol, rendimento de 81%) foi obtido como um pó vermelho após purificação em coluna ($\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{EtOAc}$, 3:1 - 1:2). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,57 (dd, $J_1 = 5,1$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1H), 7,18 (dd, $J_1 = 5,1$ Hz, $J_2 = 3,5$ Hz, 1H), 7,01 (dd, $J_1 = 3,5$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 1H), 6,17 (s, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,61 (s, 3H), 1,72 (s, 3H), 1,64 (s, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 162,7, 154,6, 148,0, 143,5, 135,5, 135,0, 133,7, 130,6, 128,3, 128,1, 124,3, 110,7, 107,9, 15,3, 14,2, 13,0, 12,1. IV (cm^{-1}): 2146 (S-C \equiv N). HRMS (ESI): calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{BF}_2\text{N}_3\text{S}_2$, $[\text{M} + \text{H}]^+$: 388,0920, encontrado: 388,0926; $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BFN}_3\text{S}_2$ $[\text{M} - \text{F}]^+$: 368,0857, encontrado: 368,0870; $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BF}_2\text{N}_3\text{S}_2\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 410,0744, encontrado: 410,0739; $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{BF}_2\text{N}_3\text{S}_2\text{K}$ $[\text{M} + \text{K}]^+$: 426,0484, encontrado: 426,0478. LRMS (ESI): 368 (M - F) $^+$. p.f.: 207°C.

Síntese de **63**



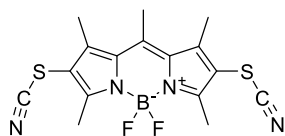
A uma solução de BODIPY **7** (82,7 mg, 0,224 mmol) em metanol (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (52 mg, 0,683 mmol) e oxone® (208 mg, 0,676 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. Composto **63** (69,7 mg, 0,1092 mmol, rendimento de 73%) foi obtido como um pó vermelho após purificação em coluna (C₆H₁₄ / EtOAc, 3:1 - 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,44 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,55 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,19 (s, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 1,52 (s, 3H), 1,42 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 163,3, 155,3, 148,8, 146,8, 142,7, 141,0, 139,6, 133,1, 129,6, 129,1, 124,9, 124,8, 110,4, 108,5, 15,4, 15,3, 13,3, 13,1. IV (cm⁻¹): 2152 (S-C≡N). HRMS (ESI): calculado para C₂₀H₁₇BFN₄O₂S, [M - F]⁺: 407,1144, encontrado: 407,1143; C₂₀H₁₇BF₂N₄O₂SNa, [M + Na]⁺: 449,1031, encontrado: 449,1016; C₂₀H₁₇BF₂N₄O₂SK, [M + K]⁺: 465,0770, encontrado: 465,0773. LRMS (EI): 426. p.f.: 247°C.

Síntese de **64**



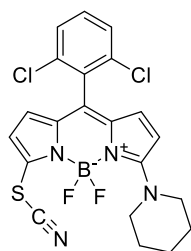
A uma solução do BODIPY **5** (30,7 mg, 0,094 mmol) em metanol (10 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, tiocianato de amônio (22 mg, 0,289 mmol) e oxone® (88 mg, 0,286 mmol) foram adicionados. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. Composto **64** (35,3 mg, 0,092 mmol, rendimento de 98%) foi obtido como um pó vermelho após purificação em coluna (C₆H₁₄/EtOAc, 3:1 - 1:2). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,81 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 7,91 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,50 (dd, *J* = 7,5, 4,8 Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,14 (s, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,61 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 1,37 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 163,0, 154,9, 153,2, 150,7, 147,1, 142,7, 137,7, 137,5, 129,7, 124,6, 124,4, 124,1, 110,7, 107,6, 15,4, 14,3, 13,1, 12,3 ppm. IV (cm⁻¹): 2144 (S-C≡N). HRMS (ESI): calculado para C₁₉H₁₈BF₂N₄S, [M + H]⁺: 383,1313; encontrado: 383,1307, C₁₉H₁₇BFN₄S [M - F]⁺: 363,1246, encontrado: 363,1265; C₁₉H₁₇BF₂N₄SK [M + K]⁺: 421,0872, encontrado: 421,0860. LRMS (ESI): 383 (M + H)⁺. p.f.: 196°C.

Síntese de **65**:



A uma solução do BODIPY **2** (210,0 mg, 0,80 mmol) em metanol (40 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (304 mg, 4,0 mmol) e oxone® (1,23 g, 4,0 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 6 horas, e a CCD mostrou o consumo completo do reagente com a conversão apenas parcial para BODIPY **60**. Cinco porções de tiocianato de amônio (122 mg, 1,6 mmol) e oxone® (486 mg, 1,6 mmol) foram adicionados à mistura em agitação em intervalos de 20 minutos. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante mais 16 horas (tempo de reação total: 24 horas), após o que a conversão quase completa ao composto **65** foi observada. O resíduo sólido da reação foi separado por filtração e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O composto **65** (222 mg, 0,69 mmol, rendimento de 86%) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna (PE/DCM, 1:1 - 1:4). O composto **60** foi obtido (16,2 mg, 0,043 mmol, rendimento de 5%) como um produto secundário. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 2,77 (s, 3H), 2,73 (s, 6H), 2,68 (s, 6H) ppm. RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 157,6, 146,3, 146,2, 132,5, 111,2, 109,7, 17,9, 16,3, 13,3. IV (cm^{-1}): 2260 (S-C \equiv N). HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{BF}_2\text{N}_4\text{S}_2$, $[\text{M}^+]$: 376,0799, encontrado: 376,0836. LRMS (EI): 376, 318 ($\text{M} - \text{SCN}$) $^+$. p.f.: 224°C (deg).

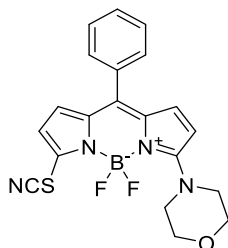
Síntese de **66**



A uma solução de BODIPY **24** (105 mg, 0,250 mmol) em metanol (20 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (57 mg, 0,750 mmol) e oxone® (230 mg, 0,750 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **66** (101 mg, 0,218 mmol, rendimento de 85%) foi obtido como um pó amarelo após purificação em coluna (PE/DCM, 1:1 - 1:4). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,48 – 7,41 (m, 2H), 7,39 – 7,32 (m, 1H), 6,66 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 6,62 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 6,45 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 5,99 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 4,11 – 3,93 (m,

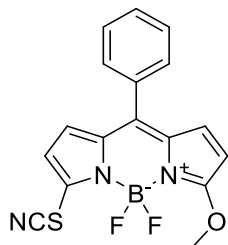
4H), 1,93 – 1,72 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 162,7, 138,0, 136,5, 134,9, 134,6, 132,0, 130,8, 128,3, 122,3, 121,9, 117,8, 116,1, 114,0, 111,0, 52,7, 52,6, 52,6 26,5, 25,0. HRMS (EI) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_4\text{S}$, $[\text{M}^+]$: 476,0612, encontrado: 476,0627. LRMS (EI): 476/478. p.f.: 222°C

Síntese de **67**.



A uma solução do BODIPY **32** (39 mg; 0,110 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (25 mg; 0,331 mmol) e oxone® (101 mg; 0,331 mmol). Após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO_4 . O composto **67** (35,7 mg; 0,087 mmol; rendimento de 79%) foi obtido após purificação em coluna de sílica ($\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{EtOAc}$, 4:1 – 1:1). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,46 – 7,30 (m, 5H), 6,87 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 6,59 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 6,32 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 6,24 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 4,04 – 3,93 (m, 4H), 3,89 – 3,77 (m, 4H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 162,8, 137,1, 136,7, 136,0, 134,2, 130,8, 130,5, 129,5, 128,5, 121,9, 118,2, 118,0, 115,6, 110,7, 66,9, 51,2.

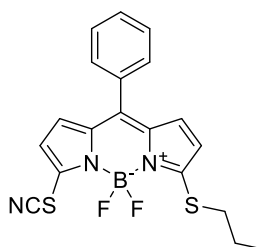
Síntese de **68**:



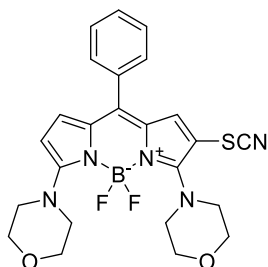
A uma solução do BODIPY **33** (47 mg; 0,158 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (36 mg; 0,473 mmol) e oxone® (145 mg; 0,473 mmol). Após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente controle por CCD mostrou conversão mínima do material de partida. Adicionou-se

tiocianato de amônio (60 mg; 0,788 mmol) e oxone® (241 mg; 0,786 mmol) aos poucos nos decorrer de mais três horas, quando o controle por CCD mostrou conversão total do material de partida. Após um total de 4 horas de reação a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO₄. O composto **68** (41,7 mg; 0,117 mmol; rendimento de 74%) foi obtido após purificação em coluna de sílica (C₆H₁₄/EtOAc, 4:1 – 1:1). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 7,56 – 7,45 (m, 5H), 7,07 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 6,69 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 6,63 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 6,28 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,20 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 171,2, 140,5, 137,3, 135,8, 132,8, 131,6, 130,5, 130,5, 128,7, 128,1, 125,1, 119,9, 109,2, 106,9, 59,8.

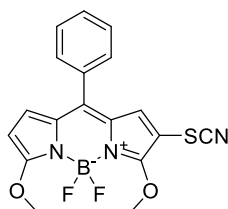
Síntese de **69**



A uma solução do BODIPY **34** (55 mg; 0,161 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (37 mg; 0,483 mmol) e oxone® (147 mg; 0,483 mmol). Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o controle por CCD mostra apenas conversão parcial. Adicionou-se tiocianato de amônio (148 mg; 1,932 mmol) e oxone® (588 mg; 1,932 mmol) aos poucos nos decorrer de seis horas. Após completar 24 horas de reação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO₄. O composto **69** (30,4 mg; 0,076 mmol; rendimento de 47%) foi obtido após purificação em coluna de sílica (C₆H₁₄/EtOAc, 4:1 – 1:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,60 – 7,44 (m, 5H), 6,98 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 6,70 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 6,67 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 6,59 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 3,13 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,85 (sext, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,12 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 166,5, 139,5, 138,1, 136,4, 134,0, 133,2, 130,6, 130,5, 128,7, 126,2, 119,9, 119,6, 108,9, 34,9, 22,7, 13,5.

Síntese de **70**.

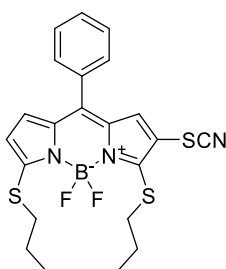
A uma solução do BODIPY **27** (54 mg; 0,123 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (19 mg; 0,25 mmol) e oxone® (80 mg; 0,25 mmol). Após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO₄. O composto **70** (43,8 mg; 0,088 mmol; rendimento de 72%) foi obtido após purificação em coluna de sílica (DCM/EtOAc, 1:0 - 3:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,50 – 7,43 (m, 3H), 7,42 – 7,38 (m, 2H), 6,88 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,31 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,02 – 3,95 (m, 4H), 3,93 – 3,89 (m, 4H), 3,88 – 3,84 (m, 4H), 3,44 – 3,37 (m, 4H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 162,3, 154,1, 135,6, 134,1, 131,5, 130,5, 129,5, 128,9, 128,5, 123,3, 114,4, 112,5, 97,8, 67,8, 66,9, 51,4, 51,0. HRMS (ESI): calculado para C₂₄H₂₄BF₂N₅O₂SNa, [M + Na]⁺ 518,1610, encontrado 518,1607. LRMS (ESI): 496 (M + H)⁺ 518 (M + Na)⁺.

Síntese de **71**

A uma solução do BODIPY **29** (23 mg; 0,070 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (21 mg; 0,28 mmol) e oxone® (84 mg; 0,27 mmol). Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50

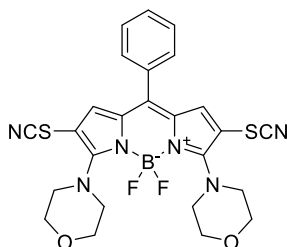
mL) e seca sob MgSO_4 . O composto **71** (19,4 mg; 0,050 mmol; rendimento de 72%) foi obtido após purificação em coluna de sílica ($\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{DCM}$, 1:3 - 0:1). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,58 – 7,47 (m, 3H), 7,46 – 7,41 (m, 2H), 6,98 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,74 (s, 1H), 6,20 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,39 (s, 3H), 4,16 (s, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 169,7, 161,8, 14032, 135,5, 132,6, 131,1, 130,4, 130,3, 128,7, 126,3, 111,4, 105,3, 91,5, 62,3, 59,6. LRMS (ESI): 408 ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ 424 ($\text{M} + \text{K}$)⁺

Síntese de **72**



A uma solução do BODIPY **31** (37 mg; 0,089 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (27 mg; 0,356 mmol) e oxone® (109 mg; 0,356 mmol). Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO_4 . O composto **72** (38,2 mg; 0,081 mmol; rendimento de 91%) foi obtido após purificação em coluna de sílica ($\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{DCM}$, 1:3 - 0:1). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,59 – 7,50 (m, 3H), 7,49 – 7,45 (m, 2H), 7,00 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,14 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 3,07 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,86 (sex, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,68 (sex, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,12 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,04 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 168,3, 145,1, 138,5, 138,3, 135,1, 134,2, 133,0, 130,7, 130,4, 128,8, 126,9, 120,5, 115,4, 110,9, 39,5, 35,0, 23,6, 22,8, 13,5, 13,4. LRMS (ESI) 496 ($\text{M} + \text{Na}$)⁺, 513 ($\text{M} + \text{K}$)⁺.

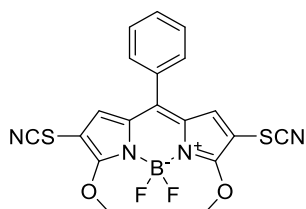
Síntese de **73**



A uma solução do BODIPY **27** (57 mg; 0,130 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com

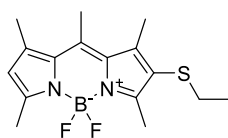
acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (40 mg; 0,526 mmol) e oxone® (160 mg; 0,521 mmol). Após 1 hora sob agitação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO₄. O composto **73** (46,7 mg; 0,085 mmol; rendimento de 65%) foi obtido após purificação em coluna de sílica (DCM/EtOAc, 1:0 - 3:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,60 – 7,50 (m, 3H), 7,45 – 7,41 (m, 2H), 6,97 (s, 2H), 3,96 – 3,90 (m, 8H), 3,78 – 3,71 (m, 8H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 159,5, 137,7, 136,6, 132,9, 130,7, 130,7, 128,9, 110,6, 102,8, 67,2, 51,4. HRMS (ESI): calculado para C₂₅H₂₃BF₂N₆O₂S₂Na, [M + Na]⁺ 575,1283, encontrado 575,1288.

Síntese de **74**



A uma solução do BODIPY **29** (30 mg; 0,091 mmol) em uma mistura de metanol (4 mL) com acetato de etila (4 mL) à temperatura ambiente, sob agitação, adicionou-se tiocianato de amônio (35 mg; 0,460 mmol) e oxone® (140 mg; 0,456 mmol). Após 2 horas sob agitação à temperatura ambiente o controle por CCD mostra apenas conversão parcial. Adicionou-se tiocianato de amônio (70 mg; 0,920 mmol) e oxone® (280 mg; 0,912 mmol) aos poucos nos decorrer de seis horas. Após completar 24 horas de reação à temperatura ambiente a solução foi vertida em acetato de etila (50 mL) e extraída três vezes com água (50 mL) e seca sob MgSO₄. O composto **74** (19,4 mg; 0,050 mmol; rendimento de 72%) foi obtido após purificação em coluna de sílica (C₆H₁₄/DCM, 1:3 - 0:1). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,64 – 7,53 (m, 3H), 7,46 – 7,42 (m, 2H), 7,03 (s, 2H), 4,53 (s, 6H). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 164,2, 142,3, 136,4, 131,9, 131,2, 130,4, 129,0, 127,6, 109,9, 97,8, 62,35.

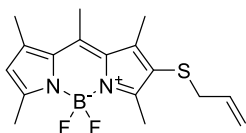
Síntese de **75**



A uma solução de BODIPY **60** (112,4 mg, 0,352 mmol) em etanol (10 ml) a 70°C, sob agitação,

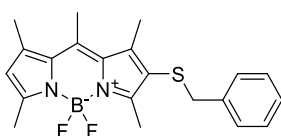
adicionou-se trifetilfosfina (109 mg, 0,414 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **75** (39,9 mg, 0,124 mmol, 35% de rendimento) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna (Éter de Petróleo/DCM, 2:1). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 6,10 (s, 1H), 2,65 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 2,57 – 2,49 (m, 8H), 2,43 (s, 3H), 1,16 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 156,4, 155,3, 143,9, 142,4, 141,8, 132,8, 131,6, 128,7, 122,1, 30,6, 17,6, 17,0, 15,9, 15,0, 14,7, 13,2. HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{BF}_2\text{N}_2\text{S}$, $[\text{M}^{\cdot}]$: 322.14866, encontrado: 322.15114. LRMS (EI): 322 (M^{\cdot}), 293 ($\text{M} - \text{Et}^{\cdot}$). p.f.: 172°C

Síntese de **76**



A uma solução do BODIPY **60** (36,0 mg, 0,113 mmol) em álcool alílico (30 mL) a 70°C, sob agitação, adicionou-se trifetilfosfina (35 mg, 0,133 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 0,5 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **76** (19,4 mg 0,058 mmol, 52% de rendimento) foi obtido como um pó avermelhado escuro após purificação em coluna (éter de petróleo/DCM, 1:1). RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 6,10 (s, 1H), 5,79 (ddt, $J_1 = 17,2$, $J_2 = 9,9$, $J_3 = 7,4$ Hz, 1H), 4,94 (dd, $J = 9,9$, 1,4 Hz, 1H), 4,87 (dd, $J = 17,2$, 1,4 Hz, 1H), 3,13 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,63 (s, 6H), 2,53 (s, 6H), 2,43 (s, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 156,5, 155,2, 143,9, 142,4, 141,7, 133,9, 132,3, 131,3, 122,0, 121,2, 117,3, 39,6, 17,5, 16,9, 15,8, 14,5, 13,2. HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{BF}_2\text{N}_2\text{S}$ 334.1487, encontrado 334.1452. LRMS (EI): 334 (M^{\cdot}), 293 ($\text{M} - \text{alil}$). p.f.: 37°C.

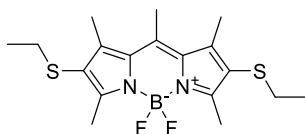
Síntese de **77**



A uma solução sob agitação do BODIPY **60** (40,2 mg, 0,126 mmol) em 1,4-dioxano (5 mL) a 100°C adicionou-se álcool benzílico (80 μL , 0,773 mmol) e trifetilfosfina (35,0 mg, 0,133 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. Composto **77** (30,7 mg 0,080 mmol, rendimento de 63%) foi obtido como um pó avermelhado, após purificação em coluna (éter de petróleo/DCM, 2:1). RMN de ^1H (300

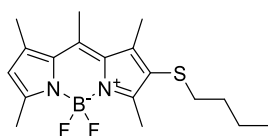
MHz, CDCl₃) δ 7,25 – 7,17 (m, 3H), 7,06 – 6,98 (m, 2H), 6,10 (s, 1H), 3,63 (s, 2H), 2,58 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,25 (s, 3H). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 156,8, 155,3, 144,4, 142,4, 141,8, 138,2, 132,7, 131,3, 129,0, 128,4, 127,00, 122,1, 121,0, 41,0, 17,5, 16,9, 15,2, 14,5, 12,6. HRMS (EI): calculado para C₂₁H₂₃BF₂N₂S 384.1643, encontrado 384.1660. LRMS (EI): 384, 293 (M - benzil). p.f.: 183°C.

Síntese de **78**



A uma solução sob agitação do BODIPY **65** (40,0 mg, 0,106 mmol) em etanol (10 ml) a 70°C adicionou-se trifenilfosfina (63,0 mg, 0,240 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. O composto **78** (12,4 mg, 0,032 mmol, 30,5% de rendimento) foi obtido na forma de um pó avermelhado após purificação em coluna (PE/DCM, 2:1). RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 2,69 (s, 3H), 2,66 (s, 6H), 2,57 (s, 6H), 2,55 (q, *J* = 7,3 Hz, 4H), 1,16 (t, *J* = 7,3 Hz, 6H). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 157,9, 145,3, 142,2, 132,1, 123,1, 30,5, 17,6, 16,1, 15,0, 13,3. HRMS (EI): calculado para C₁₈H₂₅BF₂N₂S₂, [M - Et•]: 353,1129, encontrado: 353.1217. LRMS (EI): 382 (M•), 353 (M - Et•). p.f.: 229°C.

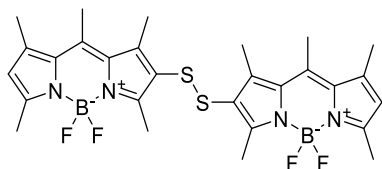
Síntese de **79**



A uma solução sob agitação do BODIPY **60** (45,0 mg, 0,141 mmol) em álcool n-butílico (15 mL) a 70°C, adicionou-se trifenilfosfina (48 mg, 0,183 mmol). A solução foi agitada sob refluxo durante 1 hora, seguido por evaporação do solvente sob pressão reduzida. Composto **79** (17 mg, 0,049 mmol, 34% de rendimento) foi obtido como um pó alaranjado, após purificação em coluna (HEX/DCM, 9:1 – 1:1). RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 6,09 (s, 1H), 2,65 (s, 3H), 2,63 (s, 3H), 2,55 (s, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,52 – 2,48 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 1,43 – 1,49 (m, 2H), 1,42 – 1,35 (m, 2H), 0,89 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). HRMS (ESI): calculado para C₁₈H₂₅BFN₂S, [M - F]⁺: 331,1810, encontrado: 331.1660; C₁₈H₂₆BF₂N₂S [M + H]⁺: 351,1878, encontrado: 351.1719; C₁₈H₂₅BF₂N₂SK [M + K]⁺: 389,1437, encontrado: 389,1466. LRMS (ESI): 351 [M

+ H)⁺, 331 [M - F]⁺.

Síntese de **80**



O composto **80** foi obtido como subproduto das reações de tioalquilação a partir de **60**. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6,14 (s, 1H), 2,60 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,26 (s, 3H). HRMS (ESI): calculado para C₂₈H₃₃B₂F₄N₄S₂, [M + H]⁺: 587,2269, encontrado 587,2254. HRMS (EI): calculado para C₂₈H₃₂B₂F₄N₄S₂, [M/2]⁺: 293,1095, encontrado 293,1063. LRMS (EI): 293 (M[•]).

5.2 Caracterização Fotofísica

Neste projeto as propriedades fotofísicas e analíticas de alguns dos fluoróforos sintetizados foram estudadas. Espectros de absorção e de emissão de fluorescência foram obtidos respectivamente em espectrofotômetro e espectrofluorímetros. A partir dos espectros obtidos foi possível

Tempo de vida de fluorescência foi obtido no sistema de espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo EasyLifeTMV (Optical Building Blocks). Utilizou-se solução diluída de sílica coloidal para determinação da função de resposta do instrumento. O tempo de vida de fluorescência foi obtido a partir de curvas monoexponenciais de decaimento construídas no software que acompanha o aparelho a partir dos dados obtidos experimentalmente para cada composto. Todas as curvas de decaimento tinham parâmetros estatísticos dentro do proposto pelo fabricante: estatística qui-quadrado entre 0,9 e 1,2; parâmetro de Durbin-Watson acima de 0,7 e estatística Z acima de -1,96.

O rendimento quântico de fluorescência foi obtido através do método comparativo aplicando-se a equação 1, onde ϕ_x é o rendimento quântico do composto estudado, ϕ_{st} é o rendimento quântico do padrão de fluoresceína em NaOH 0,1M ($\phi_{st} = 0.91$, $\lambda_{exc} = 470$ nm). m_x e m_{st} são as tangentes das linhas de tendência construídas a partir da plotagem da área de emissão e da absorbância no comprimento de onda de excitação para o composto e padrão, e n_x e n_{st} são os

índices de refração dos solventes do composto e padrão.

$$\phi_x = \phi_{st} \left[\frac{m_x}{m_{st}} \right] \left[\frac{n_x}{n_{st}} \right]^2$$

Para os estudos analíticos os BODIPYs foram dissolvidos em solução aquosa com 30% de DMSO numa concentração de 50 μM . O screening do efeito de cátions sobre a fluorescência foi realizado a partir da obtenção do espectro de emissão antes e depois da adição dos cátions em uma concentração final de 250 μM (5 eq). Para tal soluções aquosas na concentração de 10 mM dos seguintes sais foram preparadas: AgNO_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, BaCl_2 , $\text{Be}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , CdCl_2 , CoCl_2 , $\text{Cr}_4(\text{SO}_4)_5\text{OH}_2$, Cs_2CO_3 , CuCl , CuCl_2 , FeCl_3 , FeSO_4 , HgCl_2 , InCl_3 , KCl , Li_2SO_4 , MgCl_2 , MnCl_2 , NaCl , $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, SrCl_2 , e $\text{Zn}(\text{OAc})_2$.

As titulações foram realizadas através da adição contínua de pequenos volumes das soluções estoque dos cátions descritas anteriormente com concomitante obtenção do espectro de emissão e/ou espectro de emissão resolvida no tempo. Para os ensaios com controle de temperatura foram utilizados banhos de gelo ou de aquecimento. Nos experimentos com controle de pH um pHmetro digital foi utilizado no monitoramento do pH das soluções que, quando necessário, foi corrigida com HCl ou NaOH concentrado. Experimentos com pH 2 foram realizados sem agente tamponante; para o pH 4 e 6 utilizou-se acetato de sódio a 0,2 mM como agente tamponante; e para o ensaio com pH 8 utilizou-se bicarbonato de sódio a 0,2 mM como agente tamponante.

6. REFERÊNCIAS

1. VALEUR, B.; BERBERAN-SANTOS, M. N. **Molecular Fluorescence: Principles and Applications**. John Wiley & Sons, 2012.
2. WIEDEMANN, E. Ueber Fluorescenz und Phosphorescenz I. Abhandlung. **Annalen der Physik**, v. 270, n. 7, p. 446-463, 1888.
3. LAKOWICZ, J. R. (Ed.). **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Springer Science & Business Media, 2013.
4. ACUNA, A. U.; AMAT-GUERRI, F. Early history of solution fluorescence: the Lignum nephriticum of Nicolás Monardes. In: **Fluorescence of Supramolecules, Polymers, and Nanosystems**. Springer Berlin Heidelberg, 2008, p. 3-20.
5. HERSCHEL, J. F. W. On a Case of Superficial Colour Presented by a Homogeneous Liquid Internally Colourless. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, p. 143-145, 1845.
6. STOKES, G. G. On the change of refrangibility of light. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, p. 463-562, 1852.
7. JABLONSKI, A. Efficiency of anti-Stokes fluorescence in dyes. **Nature**, v. 131, n. 839-840, p. 21, 1933.
8. NICKEL, B. From the Perrin diagram to the Jablonski diagram. **EPA Newsletter - European Photochemistry Association**, p. 9-38, 1996.
9. KASHA, M. Characterization of electronic transitions in complex molecules. **Discussions of the Faraday Society**, v. 9, p. 14-19, 1950
10. O'HAVER, T. C. Development of luminescence spectrometry as an analytical tool. **Journal of Chemical Education**, v. 55, n. 7, p. 423, 1978.
11. STOKES, G. G. XXXIV.—On the application of the optical properties of bodies to the detection and discrimination of organic substances. **Journal of the Chemical Society**, v. 17, p. 304-318, 1864.
12. GOPPELSRÖDER, F. Ueber eine fluorescirende Substanz aus dem Kubaholze (Fortsetzung) und über Fluorescenzanalyse. **Journal für Praktische Chemie**, v. 104, n. 1, p. 10-27, 1868.
13. MARINI, Alberto et al. What is solvatochromism?. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 51, p. 17128-17135, 2010.
14. REICHARDT, C.. Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators. **Chemical Reviews**, v. 94, n. 8, p. 2319-2358, 1994.
15. GEDDES, C. D. Optical halide sensing using fluorescence quenching: theory, simulations and applications-a review. **Measurement Science and Technology**, v. 12, n. 9, p. R53, 2001.
16. FABBRIZZI, L. et al. Sensing of transition metals through fluorescence quenching or enhancement. A review. **Analyst**, v. 121, n. 12, p. 1763-1768, 1996.

17. WU, P. G.; BRAND, L. Resonance energy transfer: methods and applications. **Analytical Biochemistry**, v. 218, n. 1, p. 1-13, 1994.
18. SABANAYAGAM, C. R.; EID, J. S.; MELLER, A. Using fluorescence resonance energy transfer to measure distances along individual DNA molecules: Corrections due to nonideal transfer. **The Journal of Chemical Physics**, v. 122, n. 6, 061103, 2005.
19. JARES-ERIJMAN, E. A.; JOVIN, T. M. FRET imaging. **Nature Biotechnology**, v. 21, n. 11, p. 1387-1395, 2003.
20. WARNER, I. M.; PATONAY, G.; THOMAS, M. P. Multidimensional luminescence measurements. **Analytical Chemistry**, v. 57, n. 3, p. 463A-483A, 1985.
21. LEE, M. H.; KIM, J. S.; SESSLER, J. L. Small molecule-based ratiometric fluorescence probes for cations, anions, and biomolecules. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 4185-4191, 2015.
22. GRADINARU, C. C. et al. Fluorescence anisotropy: from single molecules to live cells. **Analyst**, v. 135, n. 3, p. 452-459, 2010.
23. JAMESON, D. M.; ROSS, J. A. Fluorescence polarization/anisotropy in diagnostics and imaging. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 5, p. 2685-2708, 2010.
24. MASTERS, B. R. The Development of Fluorescence Microscopy. In: **Encyclopedia of Life Sciences (ELS)**. John Wiley & Sons, Chichester, 2010
25. COONS, A. H.; KAPLAN, M. H. Localization of antigen in tissue cells II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 91, n. 1, p. 1-13, 1950.
26. SINGH, A.; GOPINATHAN, K. P. Confocal microscopy: A powerful technique for biological research. **Current Science**, v. 74, n. 10, p. 841-851, 1998.
27. DENK, W.; STRICKLER, J. H.; WEBB, W. W. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. **Science**, v. 248, n. 4951, p. 73-76, 1990.
28. OHEIM, M. et al. Principles of two-photon excitation fluorescence microscopy and other nonlinear imaging approaches. **Advanced drug delivery reviews**, v. 58, n. 7, p. 788-808, 2006.
29. OIDA, T.; SAKO, Y.; KUSUMI, A.. Fluorescence lifetime imaging microscopy (flimscopy). Methodology development and application to studies of endosome fusion in single cells. **Biophysical Journal**, v. 64, n. 3, p. 676, 1993.
30. LI, D. D.-U. et al. Time-domain fluorescence lifetime imaging techniques suitable for solid-state imaging sensor arrays. **Sensors**, v. 12, n. 5, p. 5650-5669, 2012.
31. SOINI, E.; HEMMILÄ, I. Fluoroimmunoassay: present status and key problems. **Clinical Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 353-361, 1979.
32. HEMMILÄ, I. Fluoroimmunoassays and immunofluorometric assays. **Clinical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 359-370, 1985.
33. NIELSEN, K. et al. Fluorescence polarization immunoassay: detection of antibody to Brucella abortus. **Methods**, v. 22, n. 1, p. 71-76, 2000.

34. SANCHEZ, F. G.; NAVAS, A.; LOVILLO, J. Phase-modulation fluorescence lifetime immunoassay of dichlorprop. **Analytical Biochemistry**, v. 214, n. 2, p. 359-365, 1993.
35. YOUN, H. J. et al. Fluorescence Energy Transfer Immunoassay Based on a Long-Lifetime Luminescent Metal-Ligand Complex. **Analytical Biochemistry**, v. 232, n. 1, p. 24-30, 1995.
36. HERZENBERG, L. A. et al. The history and future of the fluorescence activated cell sorter and flow cytometry: a view from Stanford. **Clinical Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 1819-1827, 2002.
37. HEID, C. A. et al. Real time quantitative PCR. **Genome Research**, v. 6, n. 10, p. 986-994, 1996.
38. KAUFMAN, T. S.; RUVEDA, E. A. The quest for quinine: those who won the battles and those who won the war. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 6, p. 854-885, 2005.
39. KYLE, R. A.; SHAMPE, M. A. Discoverers of quinine. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 229, n. 4, p. 462, 1974.
40. LAVIS, L. D.; RAINES, R. T. Bright ideas for chemical biology. **ACS Chemical Biology**, v. 3, n. 3, p. 142-155, 2008.
41. UENO, T.; NAGANO, T. Fluorescent probes for sensing and imaging. **Nature Methods**, v. 8, n. 8, p. 642-645, 2011.
42. RICHARDSON, F. S. Terbium (III) and europium (III) ions as luminescent probes and stains for biomolecular systems. **Chemical Reviews**, v. 82, n. 5, p. 541-552, 1982.
43. YUAN, J.; WANG, G. Lanthanide complex-based fluorescence label for time-resolved fluorescence bioassay. **Journal of Fluorescence**, v. 15, n. 4, p. 559-568, 2005.
44. MICHALET, X. et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. **Science**, v. 307, n. 5709, p. 538-544, 2005.
45. JAMIESON, T. et al. Biological applications of quantum dots. **Biomaterials**, v. 28, n. 31, p. 4717-4732, 2007.
46. KREMERS, G.-J. et al. Fluorescent proteins at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 124, n. 2, p. 157-160, 2011.
47. CHUDAKOV, D. M. et al. Fluorescent proteins and their applications in imaging living cells and tissues. **Physiological Reviews**, v. 90, n. 3, p. 1103-1163, 2010.
48. DEMCHENKO, A. P. **Introduction to Fluorescence Sensing**. Springer Science & Business Media, 2008.
49. MIKHEEV, Y. A.; GUSEVA, L. N.; ERSHOV, Y. A. The nature of chromaticity of triphenylmethane, xanthene, phthalocyanine, and thiazine dyes. **Russian Journal of Physical Chemistry A**, v. 84, n. 10, p. 1778-1791, 2010.
50. BAEYER, A.. Ueber eine neue Klasse von Farbstoffen. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 4, n. 2, p. 555-558, 1871.
51. NOELTING, E.; DZIEWOŃSKI, K. Zur Kenntniss der Rhodamine. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 38, n. 3, p. 3516-3527, 1905.
52. CHEN, X. et al. Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related

- derivatives. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 3, p. 1910-1956, 2011.
53. SETHNA, S. M.; SHAH, N. M. The Chemistry of Coumarins. **Chemical Reviews**, v. 36, n. 1, p. 1-62, 1945.
54. WAGNER, B. D. The use of coumarins as environmentally-sensitive fluorescent probes of heterogeneous inclusion systems. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 210-237, 2009.
55. PERKIN, W. H. VI. – On the artificial production of coumarin and formation of its homologues. **Journal of the Chemical Society**, v. 21, p. 53-63, 1868.
56. PECHMANN, H. V.; DUISBERG, C. Neue Bildungsweise der Cumarine. Synthese des Daphnetins. **Chem. Ber.**, v. 17, p. 929-936, 1884.
57. KATERINOPOULOS, H. E. The coumarin moiety as chromophore of fluorescent ion indicators in biological systems. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 30, p. 3835-3852, 2004.
58. RODRIGUEZ, J. J.; Santana; S. C. P.. Fluorescence techniques for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine environment: an overview. **Analisis**, v. 28, n. 8, p. 710-717, 2000.
59. HARRIS, F. M.; BEST, K. B.; BELL, J. D. Use of laurdan fluorescence intensity and polarization to distinguish between changes in membrane fluidity and phospholipid order. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1565, n. 1, p. 123-128, 2002.
60. STRYER, L. The interaction of a naphthalene dye with apomyoglobin and apohemoglobin: a fluorescent probe of non-polar binding sites. **Journal of Molecular Biology**, v. 13, n. 2, p. 482-495, 1965.
61. HAWE, A.; SUTTER, M.; JISKOOT, W. Extrinsic fluorescent dyes as tools for protein characterization. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 7, p. 1487-1499, 2008.
62. DOJA, M. Q. The Cyanine Dyes. **Chemical Reviews**, v. 11, n. 3, p. 273-321, 1932.
63. MISHRA, A. et al. Cyanines during the 1990s: a review. **Chemical Reviews**, v. 100, n. 6, p. 1973-2012, 2000.
64. ERNST, L. A. et al. Cyanine dye labeling reagents for sulfhydryl groups. **Cytometry**, v. 10, n. 1, p. 3-10, 1989.
65. BOENS, N.; LEEN, V.; DEHAEN, W. Fluorescent indicators based on BODIPY. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 3, p. 1130-1172, 2012.
66. TREIBS, A.; KREUZER, F. H.. Difluoroboryl-Komplexe von Di-und Tripyrrylmethenen. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, v. 718, n. 1, p. 208-223, 1968.
67. MOLECULAR PROBES Inc. Richard P. Haugland, Hee C. Kang. **Chemically Reactive Dipyrrometheneboron Difluoride Dyes**. U.S. Patent n. 4,774,339, 27 set. 1988.
68. ULRICH, G.; ZIESSEL, R.; HARRIMAN, A. The chemistry of fluorescent bodipy dyes: versatility unsurpassed. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 47, n. 7, p. 1184-1201, 2008.
69. LOUDET, A.; BURGESS, K. BODIPY dyes and their derivatives: syntheses and spectroscopic properties. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 11, p. 4891-4932, 2007.

70. WOOD, T. E.; THOMPSON, A. Advances in the chemistry of dipyrrens and their complexes. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 5, p. 1831-1861, 2007.
71. OSORIO-MARTÍNEZ, C. A. et al. 8-AminoBODIPYs: cyanines or hemicyanines? The effect of the coplanarity of the amino group on their optical properties. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 77, n. 12, p. 5434-5438, 2012.
72. FRATH, D. et al. Luminescent Materials: Locking π -Conjugated and Heterocyclic Ligands with Boron (III). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 53, n. 9, p. 2290-2310, 2014.
73. QIN, W. et al. Photophysical properties of borondipyrromethene analogues in solution. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 109, n. 33, p. 7371-7384, 2005.
74. BARUAH, M. et al. Solvent and pH dependent fluorescent properties of a dimethylaminostyryl borondipyrromethene dye in solution. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 18, p. 5998-6009, 2006.
75. KAROLIN, J. et al. Fluorescence and absorption spectroscopic properties of dipyrrometheneboron difluoride (BODIPY) derivatives in liquids, lipid membranes, and proteins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 17, p. 7801-7806, 1994.
76. YOGO, T. et al. Highly efficient and photostable photosensitizer based on BODIPY chromophore. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 35, p. 12162-12163, 2005.
77. WU, W.; CUI, X.; ZHAO, J.. Hetero Bodipy-dimers as heavy atom-free triplet photosensitizers showing a long-lived triplet excited state for triplet-triplet annihilation upconversion. **Chemical Communications**, v. 49, n. 79, p. 9009-9011, 2013.
78. JOULE, J. A.; MILLS, Keith. **Heterocyclic Chemistry**. John Wiley & Sons, 2008.
79. LEE, C.-H.; LINDSEY, J. S. One-flask synthesis of meso-substituted dipyrromethanes and their application in the synthesis of trans-substituted porphyrin building blocks. **Tetrahedron**, v. 50, n. 39, p. 11427-11440, 1994.
80. WAGNER, R. W.; LINDSEY, J. S. Boron-dipyrromethene dyes for incorporation in synthetic multi-pigment light-harvesting arrays. **Pure and Applied Chemistry**, v. 68, n. 7, p. 1373-1380, 1996.
81. LITTLER, B. J. et al. Refined synthesis of 5-substituted dipyrromethanes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 1391-1396, 1999.
82. WANG, D. et al. Carboxyl BODIPY dyes from bicarboxylic anhydrides: one-pot preparation, spectral properties, photostability, and biolabeling. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 20, p. 7675-7683, 2009.
83. KIM, H. et al. Synthesis and spectroscopic properties of a new 4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene (BODIPY®) dye. **Chemical Communications**, n. 18, p. 1889-1890, 1999.
84. WAN, C.-W. et al. Anthracene-BODIPY cassettes: syntheses and energy transfer. **Chemistry-A European Journal**, v. 9, n. 18, p. 4430-4441, 2003.
85. ONO, N. et al. A new synthesis of functional dyes from 2-acenaphtho [1, 2-c] pyrrole.

- Heterocycles**, v. 61, n. 1, p. 433-447, 2003.
86. WU, L.; BURGESS, K.. A new synthesis of symmetric boraindacene (BODIPY) dyes. **Chemical Communications**, n. 40, p. 4933-4935, 2008.
87. MOON, S. Y. et al. New Hg²⁺-selective chromo- and fluoroionophore based upon 8-hydroxyquinoline. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 181-183, 2004.
88. GABE, Y. et al. Highly sensitive fluorescence probes for nitric oxide based on boron dipyrromethene chromophore rational design of potentially useful bioimaging fluorescence probe. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 10, p. 3357-3367, 2004.
89. BARUAH, M. et al. BODIPY-based hydroxyaryl derivatives as fluorescent pH probes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 70, n. 10, p. 4152-4157, 2005.
90. LI, L.; NGUYEN, B.; BURGESS, K.. Functionalization of the 4, 4-difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene (BODIPY) core. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 10, p. 3112-3116, 2008.
91. LI, Z.; BITTMAN, R.. Synthesis and spectral properties of cholesterol- and FTY720-containing boron dipyrromethene dyes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 72, n. 22, p. 8376-8382, 2007.
92. INOUE, Naoko et al. Novel fluorescent probe for analysis of hydroperoxides based on boron dipyrromethane fluorophore. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 73, n. 5, p. 1215-1217, 2009.
93. HANSEN, A. M. et al. Tunable BODIPY derivatives amenable to 'click' and peptide chemistry. **Tetrahedron**, v. 69, n. 39, p. 8527-8533, 2013.
94. WEST, R.; PANAGABKO, C.; ATKINSON, J. Synthesis and characterization of BODIPY- α -tocopherol: a fluorescent form of vitamin E. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 9, p. 2883-2892, 2010.
95. ROHAND, T. et al. Functionalisation of fluorescent BODIPY dyes by nucleophilic substitution. **Chemical Communications**, n. 3, p. 266-268, 2006.
96. LEEN, V. et al. A versatile, modular synthesis of monofunctionalized BODIPY dyes. **Chemical Communications**, n. 30, p. 4515-4517, 2009.
97. LEEN, V. et al. 2- and 3-Monohalogenated BODIPY Dyes and Their Functionalized Analogues: Synthesis and Spectroscopy. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2011, n. 23, p. 4386-4396, 2011.
98. RURACK, K.; KOLLMANNBERGER, M.; DAUB, J.. A highly efficient sensor molecule emitting in the near infrared (NIR): 3, 5-distyryl-8-(p-dimethylaminophenyl) difluoroboradiaza-s-indacene. **New Journal of Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 289-292, 2001.
99. THORESEN, L. H. et al. Synthesis of 3, 5-Diaryl-4, 4-Difluoro-4-Bora-3a, 4a-Diaza-S-Indacene (Bodipy) Dyes. **Synlett**, n. 11, p. 1276-1278, 1998.
100. BURGHART, A. et al. 3, 5-Diaryl-4, 4-difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes: synthesis, spectroscopic, electrochemical, and structural properties. **The Journal of Organic**

- Chemistry**, v. 64, n. 21, p. 7813-7819, 1999.
101. CHEN, J. et al. 4, 4-Difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene (BODIPY) dyes modified for extended conjugation and restricted bond rotations. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 65, n. 10, p. 2900-2906, 2000.
 102. WORIES, H. J. et al. A novel water-soluble fluorescent probe: Synthesis, luminescence and biological properties of the sodium salt of the 4-sulfonato-3, 3', 5, 5'-tetramethyl-2, 2'-pyrromethene-1, 1'-BF₂ complex. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, v. 104, n. 11, p. 288-291, 1985.
 103. PAVLOPOULOS, T.e G. et al. Laser action from 2, 6, 8-position trisubstituted 1, 3, 5, 7-tetramethylpyrromethene-BF₂ complexes: part 1. **Applied Optics**, v. 29, n. 27, p. 3885-3886, 1990.
 104. ESNAL, I. et al. Nitro and amino BODIPYS: crucial substituents to modulate their photonic behavior. **RSC Advances**, v. 3, n. 5, p. 1547-1556, 2013.
 105. GUPTA, M. et al. Rational Design of Boradiazaindacene (BODIPY)-Based Functional Molecules. **Chemistry-A European Journal**, v. 19, n. 52, p. 17766-17772, 2013.
 106. JIAO, L. et al. Regioselective stepwise bromination of boron dipyrromethene (BODIPY) dyes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 76, n. 24, p. 9988-9996, 2011.
 107. LI, X.; HUANG, S.; HU, Y. Diversity-oriented derivatization of BODIPY based on regioselective bromination. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 10, n. 12, p. 2369-2372, 2012.
 108. WANG, L. et al. Regioselective 2, 6-dihalogenation of BODIPYs in 1, 1, 1, 3, 3, 3-hexafluoro-2-propanol and preparation of novel meso-alkyl polymeric BODIPY dyes. **RSC Advances**, v. 3, n. 24, p. 9219-9222, 2013.
 109. ORTIZ, M. J. et al. Synthesis and functionalization of new polyhalogenated BODIPY dyes. Study of their photophysical properties and singlet oxygen generation. **Tetrahedron**, v. 68, n. 4, p. 1153-1162, 2012.
 110. ZHU, S. et al. Controlled Knoevenagel reactions of methyl groups of 1,3,5,7-tetramethyl BODIPY dyes for unique BODIPY dyes. **RSC Advances**, v. 2, n. 2, p. 404-407, 2012.
 111. FRON, E. et al. Synthesis and photophysical characterization of chalcogen substituted BODIPY dyes. **New Journal of Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 1490-1496, 2009.
 112. LEEN, Volker et al. Synthesis of meso-halogenated BODIPYs and access to meso-substituted analogues. **Organic Letters**, v. 14, n. 24, p. 6150-6153, 2012.
 113. ZHAO, C. et al. BODIPY-based sulfoxide: Synthesis, photophysical characterization and response to benzenethiols. **Dyes and Pigments**, v. 96, n. 2, p. 328-332, 2013.
 114. LEEN, V. et al. 1,7-Disubstituted boron dipyrromethene (BODIPY) dyes: synthesis and spectroscopic properties. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 76, n. 20, p. 8168-8176, 2011.
 115. KNIGHT, J. G.; ALNOMAN, R. B.; WADDELL, P. G. Synthesis of 3-aminoBODIPY dyes via

- copper-catalyzed vicarious nucleophilic substitution of 2-halogeno derivatives. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 12, p. 3819-3829, 2015.
116. LEEN, V. et al. Vicarious nucleophilic substitution of α -hydrogen of BODIPY and its extension to direct ethenylation. **Organic Letters**, v. 13, n. 6, p. 1470-1473, 2011.
117. ZHANG, M. et al. Synthesis of pyrrolyldipyrrinato BF₂ complexes by oxidative nucleophilic substitution of boron dipyrromethene with pyrrole. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 10, n. 10, p. 2139-2145, 2012.
118. LEEN, V. et al. Direct functionalization of BODIPY dyes by oxidative nucleophilic hydrogen substitution at the 3-or 3, 5-positions. **Chemical Communications**, v. 46, n. 27, p. 4908-4910, 2010.
119. WANG, H. et al. Functionalization of 3, 5, 8-Trichlorinated BODIPY Dyes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 79, n. 21, p. 10342-10352, 2014.
120. WIRTZ, M. et al. Two-color emissive probes for click reactions. **Chemical Communications**, v. 50, n. 84, p. 12694-12697, 2014.
121. LAKSHMI, V.; RAVIKANTH, M. Polyarylated boron-dipyrromethenes containing three different types of aryl groups. **RSC Advances**, v. 4, n. 84, p. 44327-44336, 2014.
122. AHRENS, J. et al. Conjugated BODIPY DYEimers by Metathesis Reactions. **Chemistry-A European Journal**, v. 20, n. 10, p. 2901-2912, 2014.
123. HAN, J. et al. 3-and 5-Functionalized BODIPYs via the Liebeskind-Srogl reaction. **Org. Biomol. Chem.**, v. 7, n. 1, p. 34-36, 2008.
124. LAGER, E. et al. Novel meso-polyarylamine-BODIPY hybrids: synthesis and study of their optical properties. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 2053-2058, 2009.
125. BETANCOURT-MENDIOLA, L. et al. Scope and Limitations of the Liebeskind-Srogl Cross-Coupling Reactions Involving the Biellmann BODIPY. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 80, n. 11, p. 5771-57782, 2015.
126. VERBELEN, Bram et al. Direct palladium-catalysed C-H arylation of BODIPY dyes at the 3- and 3, 5-positions. **Chemical Communications**, v. 48, n. 73, p. 9129-9131, 2012.
127. VERBELEN, B. et al. Radical C-H Arylation of the BODIPY Core with Aryldiazonium Salts: Synthesis of Highly Fluorescent Red-Shifted Dyes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 127, n. 15, p. 4695-4699, 2015.
128. VERBELEN, B. et al. Radical C-H Alkylation of BODIPY Dyes Using Potassium Trifluoroborates or Boronic Acids. **Chemistry-A European Journal**, v. 21, n. 36, p. 12667-12675, 2015.
129. RURACK, K.; KOLLMANNNSBERGER, M.; DAUB, J.. Molecular switching in the near infrared (NIR) with a functionalized boron-dipyrromethene dye. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 2, p. 385-387, 2001.
130. COSKUN, A.; AKKAYA, E. U. Difluorobora-s-diazaindacene dyes as highly selective

- dosimetric reagents for fluoride anions. **Tetrahedron Letters**, v. 45, n. 25, p. 4947-4949, 2004.
131. COSKUN, A.; AKKAYA, E. U. Ion sensing coupled to resonance energy transfer: a highly selective and sensitive ratiometric fluorescent chemosensor for Ag (I) by a modular approach. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 30, p. 10464-10465, 2005.
132. ULRICH, G.; ZIESSEL, R.; HAEFELE, A. A general synthetic route to 3, 5-substituted boron dipyrromethenes: applications and properties. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 4298-4311, 2012.
133. SHANDURA, M. P.; YAKUBOVSKYI, V. P.; KOVTUN, Y. P. (4, 4-Difluoro-4-bora-3a, 4a,-diazas-indacen-3-yl) acetaldehyde: Synthesis and chemical properties. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 1386-1391, 2009.
134. SHANDURA, M. P.; YAKUBOVSKYI, V. P.; KOVTUN, Y. P. 3, 5-Bis (acetaldehyde) substituted BODIPY. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 835-841, 2013.
135. PALAO, E. et al. Selective Lateral Lithiation of Methyl BODIPYs: Synthesis, Photophysics, and Electrochemistry of New Meso Derivatives. **Organic Letters**, v. 16, n. 17, p. 4364-4367, 2014.
136. YANG, L.; YAN, H. A Mannich-Type Reaction at the meso-Methyl Position of the BODIPY Fluorophore. **Synlett**, n. 10, p. 1526-1528, 2012.
137. ULRICH, G. et al. Pyrromethene dialkynyl borane complexes for "Cascatelle" energy transfer and protein labeling. **Angewandte Chemie**, v. 117, n. 24, p. 3760-3764, 2005.
138. ULRICH, G. et al. New fluorescent aryl- or ethynylaryl-boron-substituted indacenes as promising dyes. **New Journal of Chemistry**, v. 30, n. 7, p. 982-986, 2006.
139. MORE, A. B. et al. Masking and Demasking Strategies for the BF₂-BODIPYs as a Tool for BODIPY Fluorophores. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 79, n. 22, p. 10981-10987, 2014.
140. GOZE, C. et al. Synthesis and photophysical properties of borondipyrromethene dyes bearing aryl substituents at the boron center. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 31, p. 10231-10239, 2006.
141. JIANG, X.-D. et al. Development of mono-and di-AcO substituted BODIPYs on the boron center. **Organic Letters**, v. 14, n. 1, p. 248-251, 2011.
142. COURTIS, A. M. et al. Monoalkoxy BODIPYs. A Fluorophore Class for Bioimaging. **Bioconjugate Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 1043-1051, 2014.
143. GABE, Y. et al. Tunable design strategy for fluorescence probes based on 4-substituted BODIPY chromophore: improvement of highly sensitive fluorescence probe for nitric oxide. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 3, p. 621-626, 2006.
144. BRIZET, B. et al. Boron functionalization of BODIPY by various alcohols and phenols. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 11, n. 44, p. 7729-7737, 2013.
145. KENNEDY, D. P.; KORMOS, C. M.; BURDETTE, S. C. FerriBRIGHT: a rationally designed fluorescent probe for redox active metals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 24, p. 8578-8586, 2009.

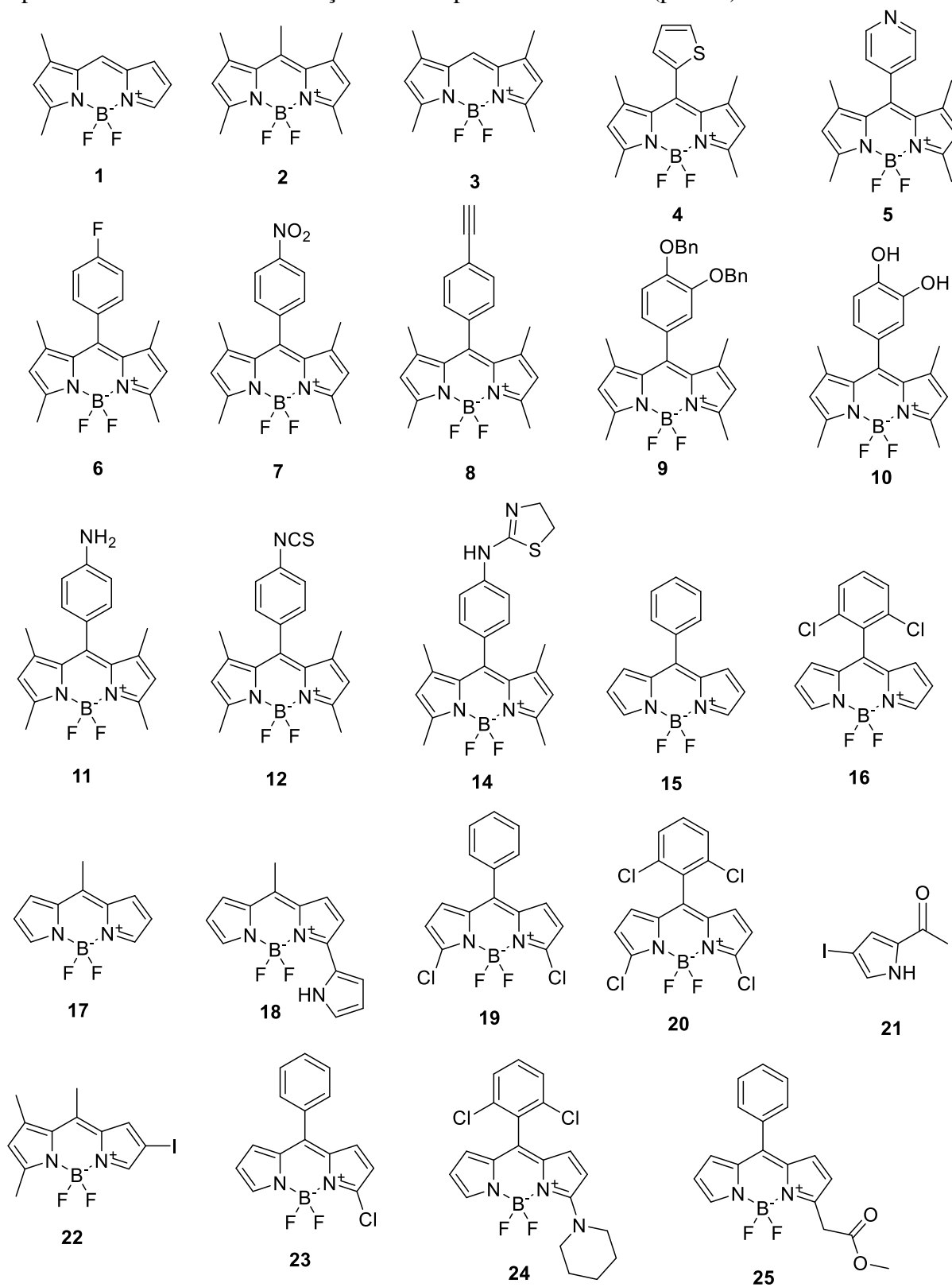
146. KIM, T.-I. et al. Visualization of tyrosinase activity in melanoma cells by a BODIPY-based fluorescent probe. **Chemical Communications**, v. 47, n. 47, p. 12640-12642, 2011.
147. DOLMAN, D. M. et al. A quantitative method for the estimation of parthenolide and other sesquiterpene lactones containing α -methylenebutyrolactone functions present in feverfew, *Tanacetum parthenium*. **Phytochemical Analysis**, v. 3, n. 1, p. 26-31, 1992.
148. HAUGLAND, Richard P. **The Handbook: A guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies**. Molecular probes, 2005.
149. ZIESSEL, R. et al. Isocyanate-, isothiocyanate-, urea-, and thiourea-substituted boron dipyrromethene dyes as fluorescent probes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 8, p. 3093-3102, 2006.
150. MALATESTI, N. et al. Isothiocyanato Boron Dipyrromethenes – The First BODIPY Analogues of Fluorescein Isothiocyanate. **Photochemistry and Photobiology**, v. 82, n. 3, p. 746-749, 2006.
151. PRIETO, J. B. et al. Photophysical properties of a new 8-phenyl analogue of the laser dye PM567 in different solvents: internal conversion mechanisms. **Chemical Physics Letters**, v. 385, n. 1, p. 29-35, 2004.
152. LI, F. et al. Design, synthesis, and photodynamics of light-harvesting arrays comprised of a porphyrin and one, two, or eight boron-dipyrin accessory pigments. **Journal of the American Chemical Society**, v. 120, n. 39, p. 10001-10017, 1998.
153. DE REZENDE, L. C. D. et al. Synthesis, Photophysical Properties and Solvatochromism of Meso-Substituted Tetramethyl BODIPY Dyes. **Journal of Fluorescence**, v. 24, n. 1, p. 257-266, 2014.
154. KEAWWANGCHAI, T.; MORAKOT, N.; WANNON, B. Fluorescent sensors based on BODIPY derivatives for aluminium ion recognition: an experimental and theoretical study. **Journal of Molecular Modeling**, v. 19, n. 3, p. 1435-1444, 2013.
155. REZENDE, L. C. D.; EMERY, F. S. Fluorescence Quenching of Two meso-Substituted Tetramethyl BODIPY Dyes by Fe (III) Cation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 5, p. S1-S17, 2015.
156. ROHAND, T. et al. Efficient synthesis of aryldipyrromethanes in water and their application in the synthesis of corroles and dipyrromethenes. **Arkivoc**, v. 10, p. 307-324, 2007.
157. QIN, W. et al. Synthesis, spectroscopy, crystal structure, electrochemistry, and quantum chemical and molecular dynamics calculations of a 3-anilino difluoroboron dipyrromethene dye. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 113, n. 2, p. 439-447, 2008.
158. ZHOU, X. et al. Highly Regioselective α -Chlorination of the BODIPY Chromophore with Copper (II) Chloride. **Organic Letters**, v. 17, n. 18, p. 4632-4635, 2015.
159. BAÑUELOS, J. et al. Photophysical Characterization of new 3-amino and 3-acetamido BODIPY dyes with solvent sensitive properties. **Journal of Fluorescence**, v. 18, n. 5, p. 899-907, 2008.

160. GANAPATHI, E. et al. Synthesis, structure, spectral, electrochemical and sensing properties of 3-amino boron-dipyrromethene and its derivatives. **Dyes and Pigments**, v. 102, p. 218-227, 2014.
161. ROHAND, T. et al. Photophysics of 3, 5-diphenoxy substituted BODIPY dyes in solution. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 6, n. 10, p. 1061-1066, 2007.
162. REZENDE, L. C. D.; EMERY, F. S. A review of the synthetic strategies for the development of BODIPY dyes for conjugation with proteins. **Orbital-The Electronic Journal of Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 62-83, 2013.
163. TROFIMOV, B. A. II. Vinylpyrroles. In: JONES, R. A. (Ed.). **Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyrroles, Part 2: The Synthesis, Reactivity, and Physical Properties of Substituted Pyrroles**. v. 48 John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 1992.
164. SCHMIDT, E. Y. et al. A straightforward synthesis of pyrroles from ketones and acetylene: a one-pot version of the Trofimov reaction. **Arkivoc**, v. 7, p. 11-17, 2005.
165. WU, G. et al. Regioselective thiocyanation of aromatic and heteroaromatic compounds using ammonium thiocyanate and oxone. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 35, p. 5831-5834, 2005.
166. FOTOUHI, L. NIKOOFAR, K.. Electrochemical thiocyanation of nitrogen-containing aromatic and heteroaromatic compounds. **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 23, p. 2903-2905, 2013.
167. NIKOOFAR, K.. A brief on thiocyanation of N-activated arenes and N-bearing heteroaromatic compounds. **Chem Sci Trans**, v. 2, p. 691-700, 2013.
168. WU, Guaili et al. Regioselective thiocyanation of aromatic and heteroaromatic compounds using ammonium thiocyanate and oxone. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 35, p. 5831-5834, 2005.
169. CUI, A. et al. Synthesis, spectral properties and photostability of novel boron-dipyrromethene dyes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 186, n. 1, p. 85-92, 2007.
170. DE REZENDE, L. C. D. et al. Thiocyanation of BODIPY dyes and their conversion to thioalkylated derivatives. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 21, p. 6031-6038, 2015.
171. WEI, Z.-L.; KOZIKOWSKI, A. P. A short and efficient synthesis of the pharmacological research tool GW501516 for the peroxisome proliferator-activated receptor δ . **The Journal of Organic Chemistry**, v. 68, n. 23, p. 9116-9118, 2003.
172. FOLKINS, P. L.; HARPP, D. N. A general methodology for the synthesis of [2.2. 1],[3.2. 1+], and [4.2. 1] bridged bicyclic disulfide systems. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2013-2017, 1992.
173. BERGBREITER, D. E. et al. Synthesis and characterization of electronically varied XCX palladacycles with functional arene groups. **Inorganica chimica acta**, v. 359, n. 6, p. 1912-1922, 2006.
174. BRATTON, L. D. et al. Discovery of highly potent and selective benzyloxybenzyl-based peroxisome proliferator-activator receptor (PPAR) δ agonists. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 17, n. 13, p. 3624-3629, 2007.

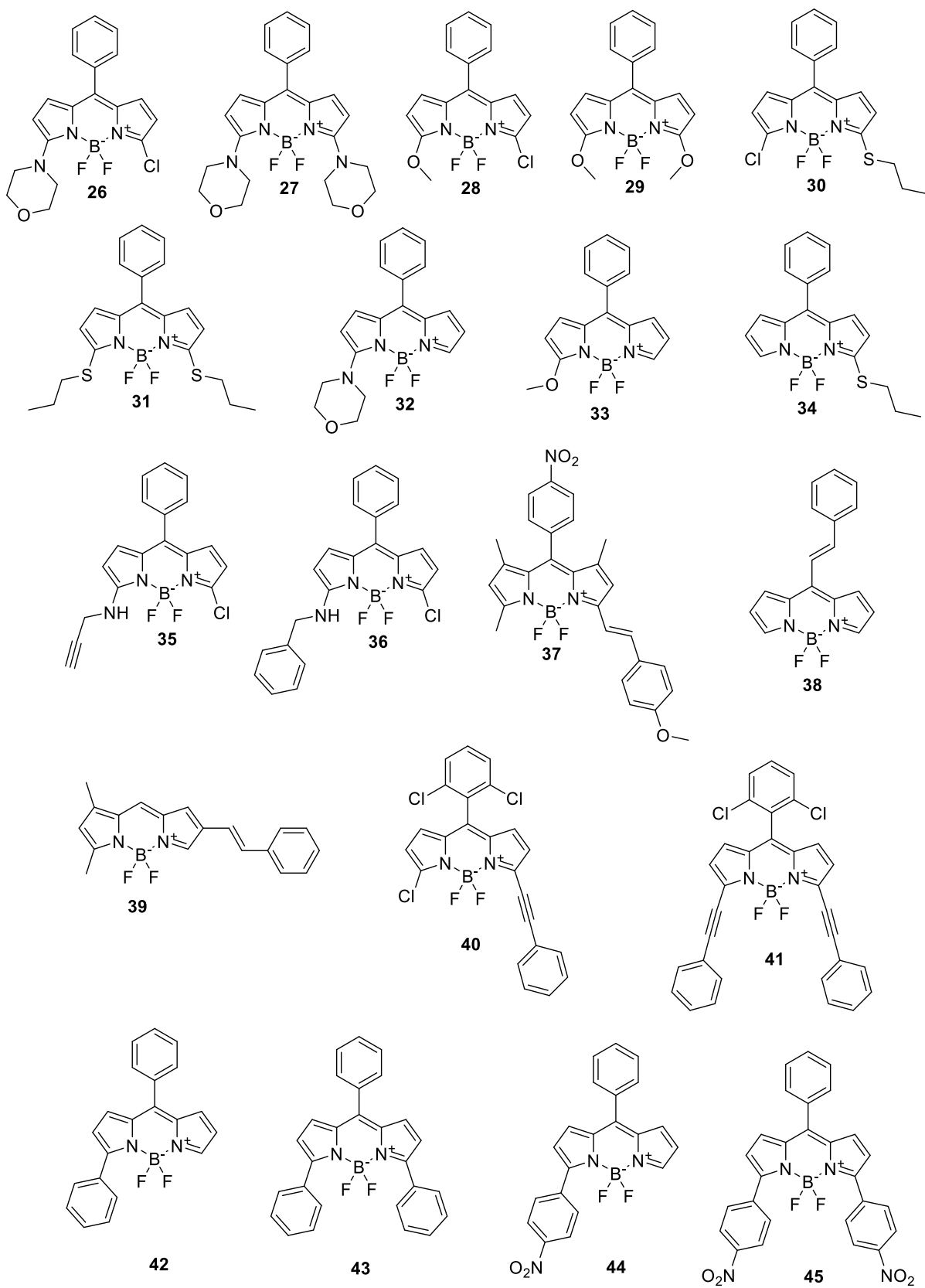
175. BOYER, F. E. et al. 5, 6-dihydropyran-2-ones possessing various sulfonyl functionalities: potent nonpeptidic inhibitors of HIV protease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 5, p. 843-858, 2000.
176. YU, Y.; LIEBESKIND, L. S. Copper-mediated, palladium-catalyzed coupling of thiol esters with aliphatic organoboron reagents. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 69, n. 10, p. 3554-3557, 2004.
177. FLOWERS, W. T. et al. Alkyl aryl sulphides from the interaction of aryl thiocyanates and alcohols under the influence of triphenylphosphine or of trialkyl phosphites. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, n. 22, p. 2394-2398, 1976.
178. FLOWERS, W. T. et al. Interaction of aryl thiocyanates and ethylene glycol under the influence of triphenylphosphine: formation of 1,2-bis (arylthio) ethanes and of aryl 2-aryloxyethyl sulphides. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, p. 1309-1312, 1979.
179. TOSTE, F. D.; LARONDE, F.; STILL, I. W. J. Thiocyanate as a versatile synthetic unit: Efficient conversion of ArSCN to aryl alkyl sulfides and aryl thioesters. **Tetrahedron Letters**, v. 36, n. 17, p. 2949-2952, 1995.
180. TOSTE, F. D.; STILL, I. W. J. Preparation of t-butyl sulfides by a novel ligand-transfer reaction of aryl thiocyanates. **Tetrahedron Letters**, v. 36, n. 25, p. 4361-4364, 1995.

APÊNDICES

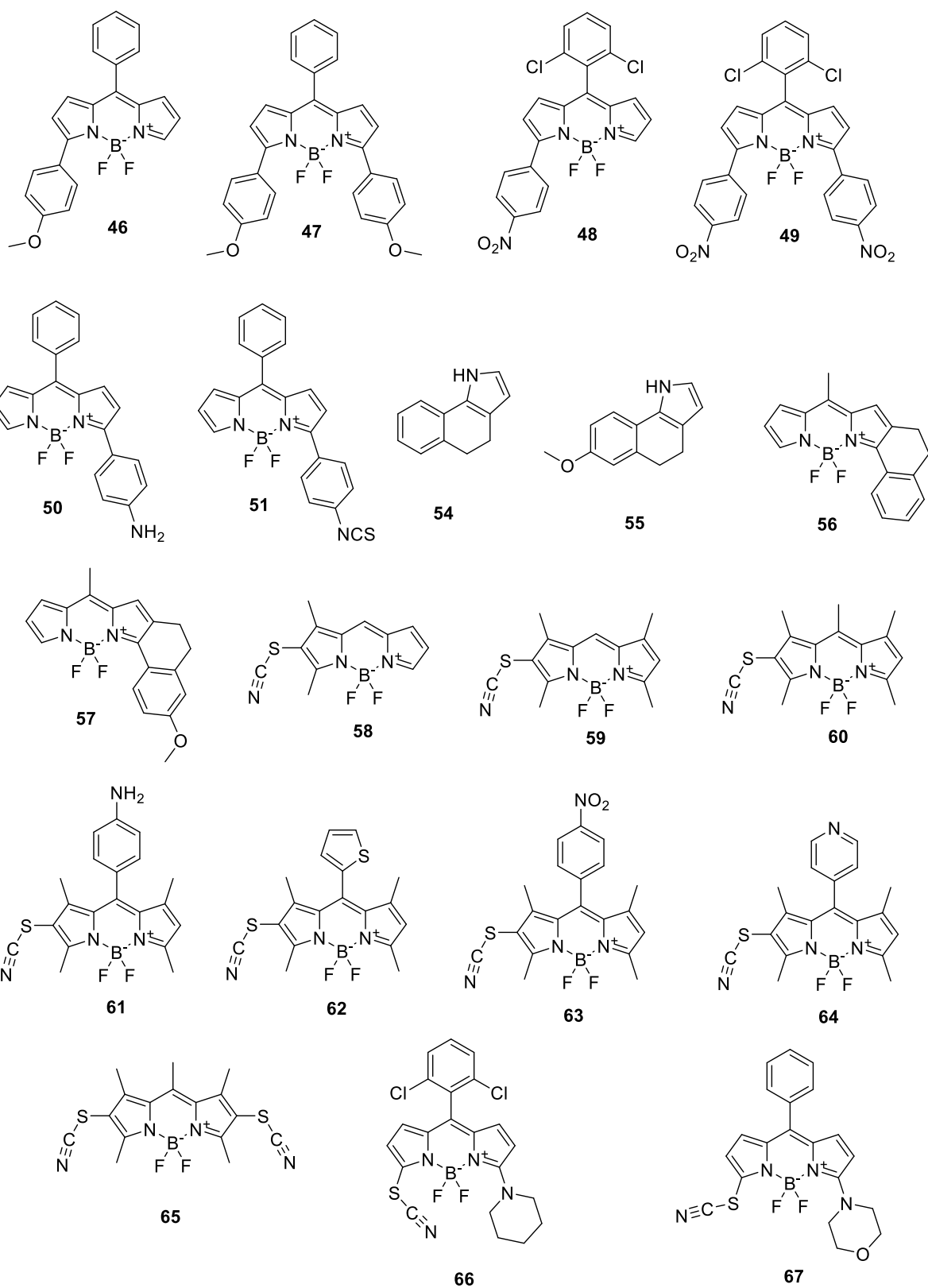
Apêndice 1: Estrutura e numeração dos compostos sintetizados (parte 1)



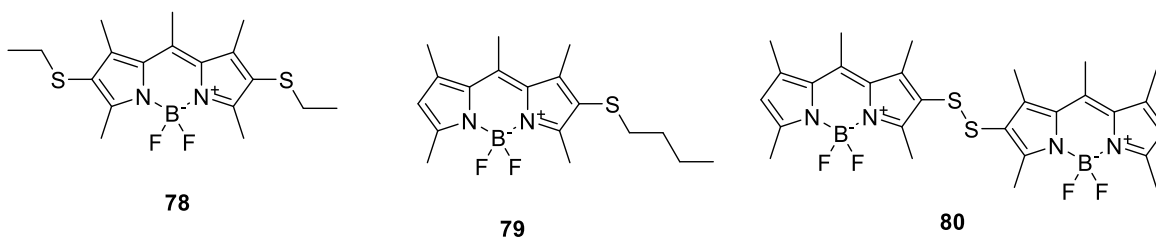
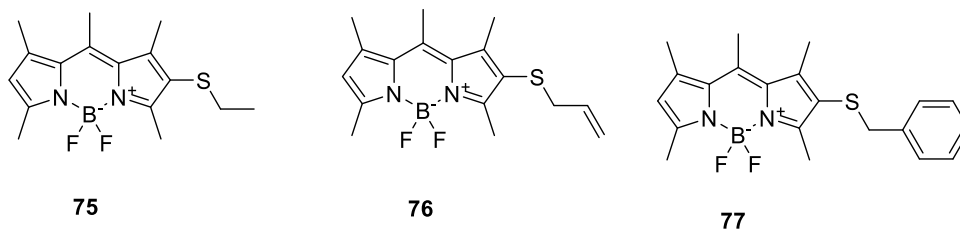
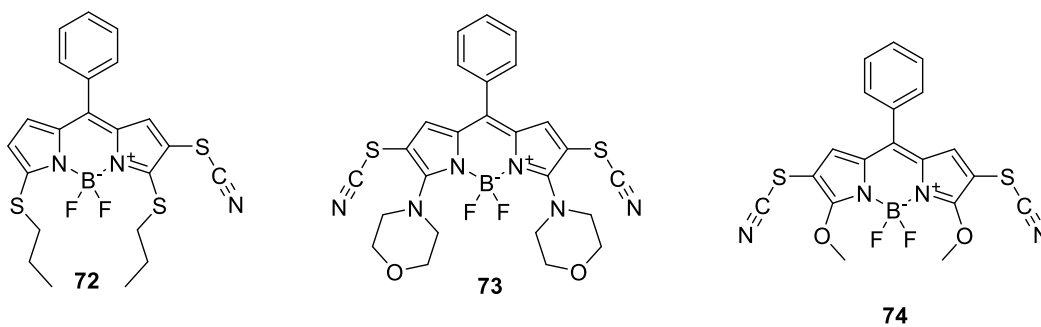
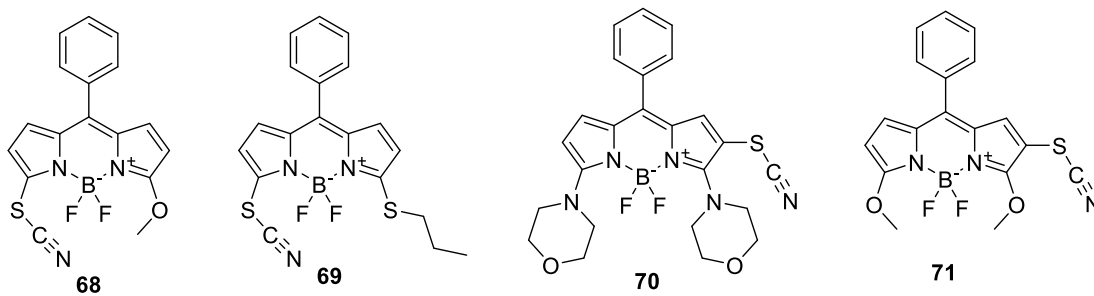
Apêndice 2: Estrutura e numeração dos compostos sintetizados (parte 2)



Apêndice 3: Estrutura e numeração dos compostos sintetizados (parte 3)



Apêndice 4: Estrutura e numeração dos compostos sintetizados (parte 4).



Apêndice 1: Propriedades ópticas da biblioteca de 1,3,5,7-tetrametil-BODIPYs

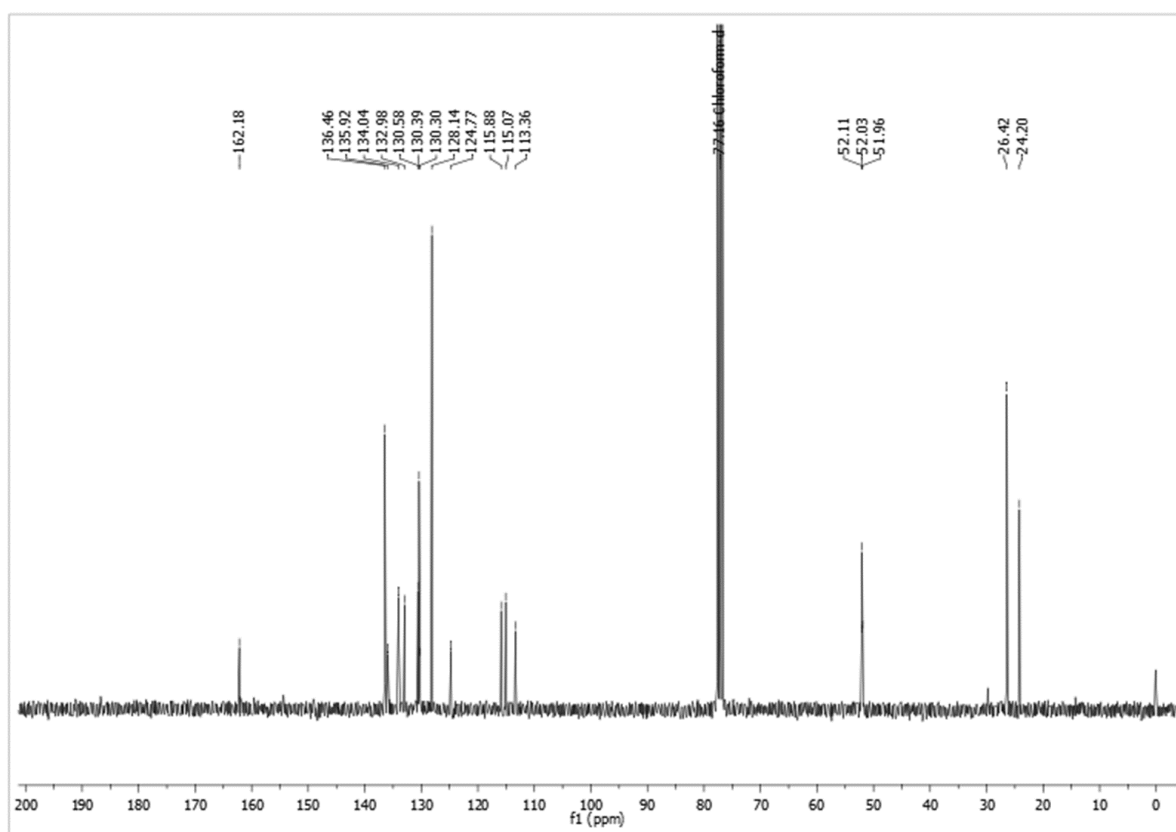
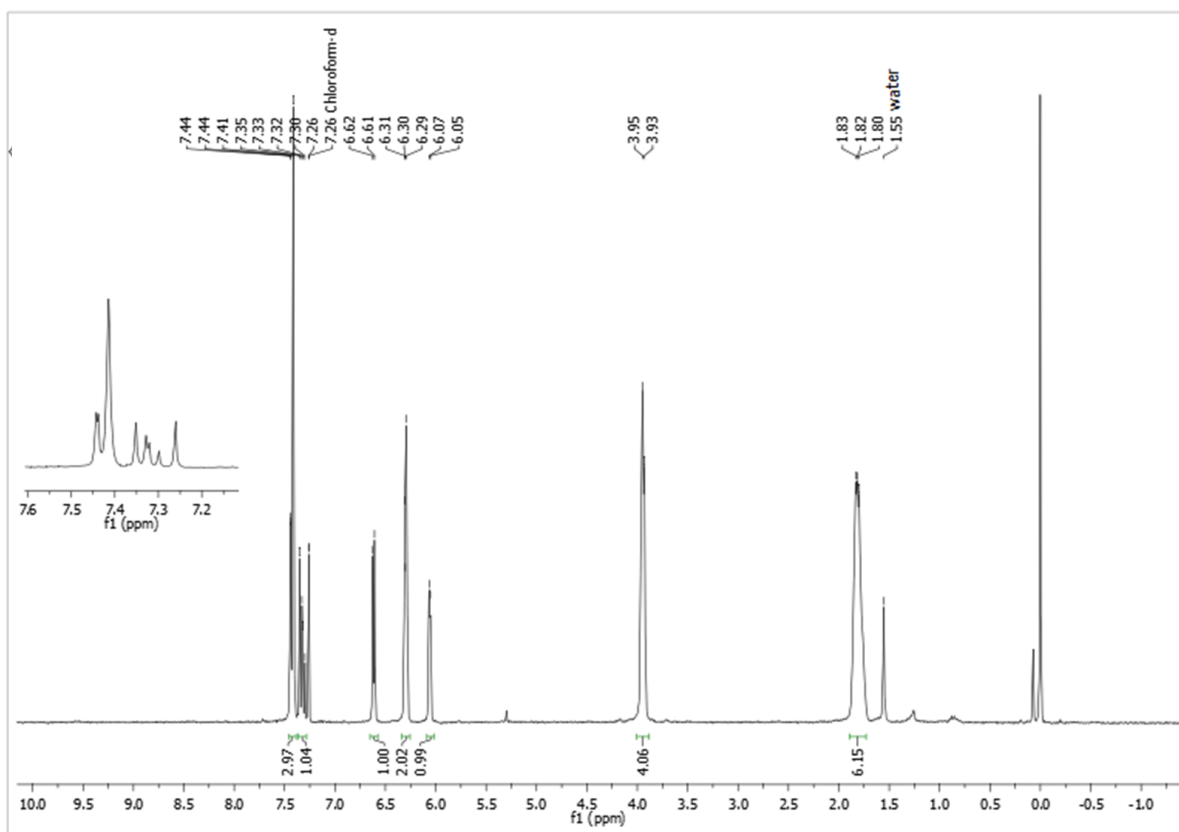
Comp./ Solv	λ (nm)		Stokes ^a	FWHM		Φ_{fl}^c	Comp./ Solv	λ (nm)		Stokes ^a	FWHM		Φ_{fl}^c
	abs	em		abs	em			abs	em				
3							8						
EtOH	503	510	273	906	598	1	EtOH	500	517	658	854	939	
C ₆ H ₁₄	506	512	232	694	517	0,95	C ₆ H ₁₄	502	521	726	766	1042	
DCM	506	513	270	824	603	0,95	DCM	502	521	726	824	843	
MeCN	500	508	315	933	651	0,96	MeCN	499	520	809	806	982	
DMSO	503	514	425	939	723	0,99	DMSO	503	525	833	822	924	
MeOH	502	509	274	905	627	0,98	MeOH	497	517	778	867	922	
4							9						
EtOH	510	530	740	764	798	0,06	EtOH	499	510	432	783	815	
C ₆ H ₁₄	513	527	518	713	773	0,06	C ₆ H ₁₄	501	515	543	754	837	
DCM	512	530	663	762	775	0,07	DCM	501	519	692	797	865	
MeCN	508	526	674	798	826	0,05	MeCN	498	510	472	802	871	
DMSO	513	530	625	790	808	0,11	DMSO	502	517	578	814	812	
MeOH	509	526	635	762	805	0,06	MeOH	498	510	472	786	828	
5							10						
EtOH	503	525	833	899	985	0,25	EtOH	498	513	587	752	771	0,009
C ₆ H ₁₄	503	523	760	796	909	0,21	C ₆ H ₁₄	499	511	471	729	797	0,29
DCM	504	523	721	848	939	0,32	DCM	501	514	505	778	783	0,24
MeCN	499	519	772	854	922	0,28	MeCN	497	513	628	804	779	0,05
DMSO	504	520	611	857	986	0,48	DMSO	500	515	583	865	856	0,001
MeOH	501	534	1233	859	1127	0,16	MeOH	497	511	551	869	795	0,005
6							11						
EtOH	500	511	431	821	840	0,68	EtOH	497	512	589	805	840	0,003
C ₆ H ₁₄	501	513	467	770	843	0,56	C ₆ H ₁₄	500	514	545	777	766	0,47
DCM	502	514	465	822	835	0,75	DCM	499	515	623	798	763	0,31
MeCN	498	510	472	856	856	0,66	MeCN	495	511	633	845	964	0,001
DMSO	502	515	503	861	873	0,85	DMSO	499	514	585	919	889	0,001
MeOH	499	510	432	821	846	0,55	MeOH	496	512	630	820	824	0,002
7							12						
EtOH	502	524	836	875	1278	0,005	EtOH	504	524	757	790	969	
C ₆ H ₁₄	504	521	647	839	1312	0,13	C ₆ H ₁₄	505	520	571	763	870	
DCM	505	528	863	882	2006	0,002	DCM	501	529	1056	801	931	
MeCN	501	522	803	890	1368	0,001	MeCN	502	521	726	808	853	
DMSO	504	526	830	895	1296	0,002	DMSO	505	526	791	821	871	
MeOH	501	525	912	883	1291	0,003	MeOH	503	514	425	792	931	

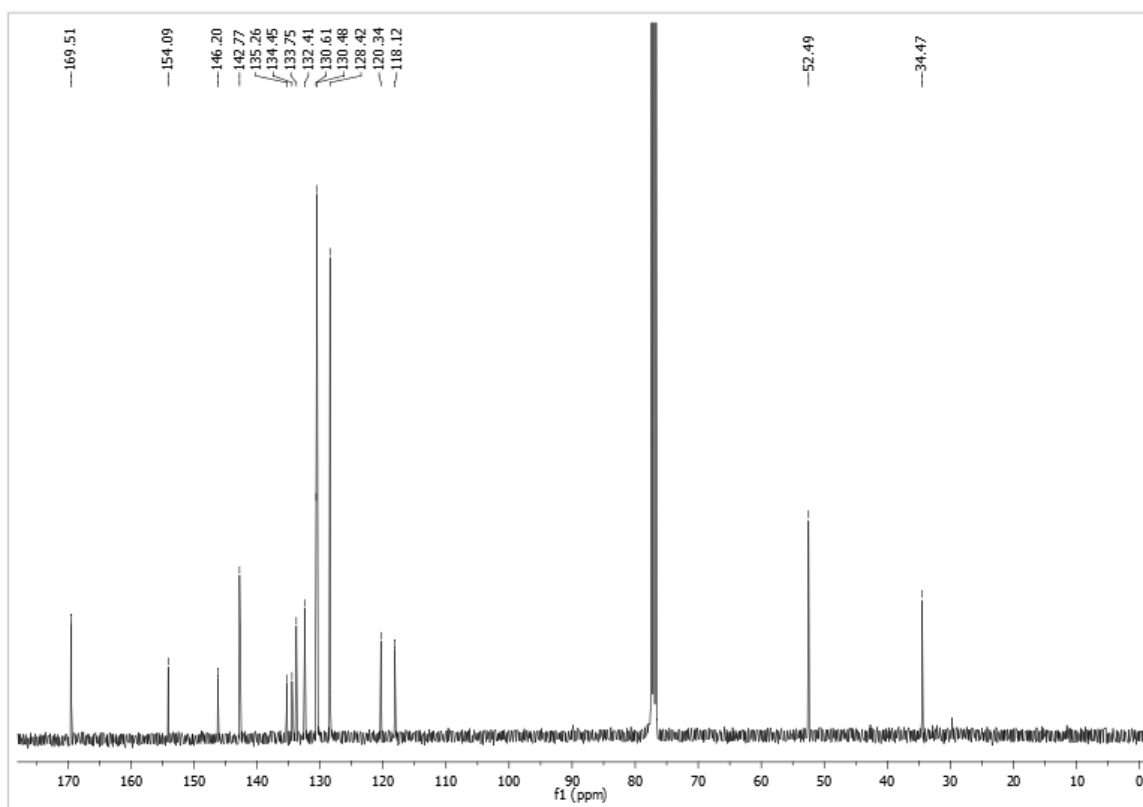
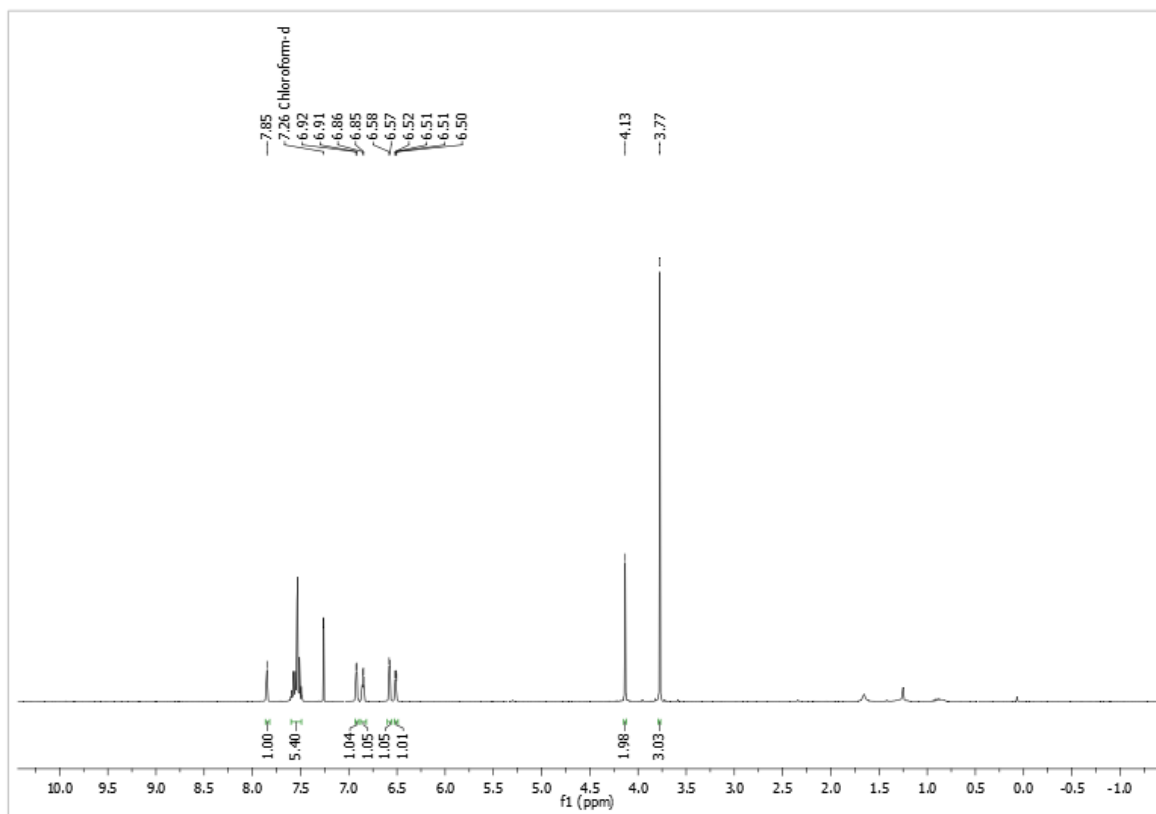
^a Desvio de Stokes em cm⁻¹. ^b Largura a meia altura em cm⁻¹. ^c Rendimento quântico de fluorescência

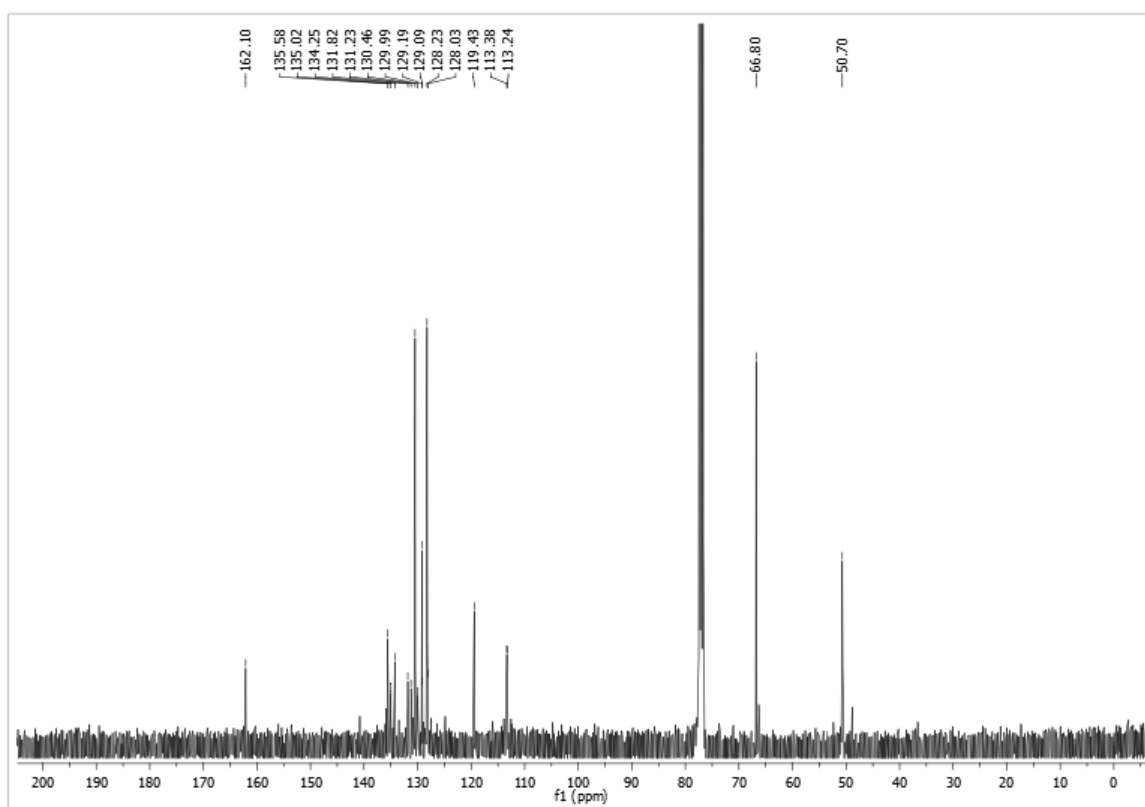
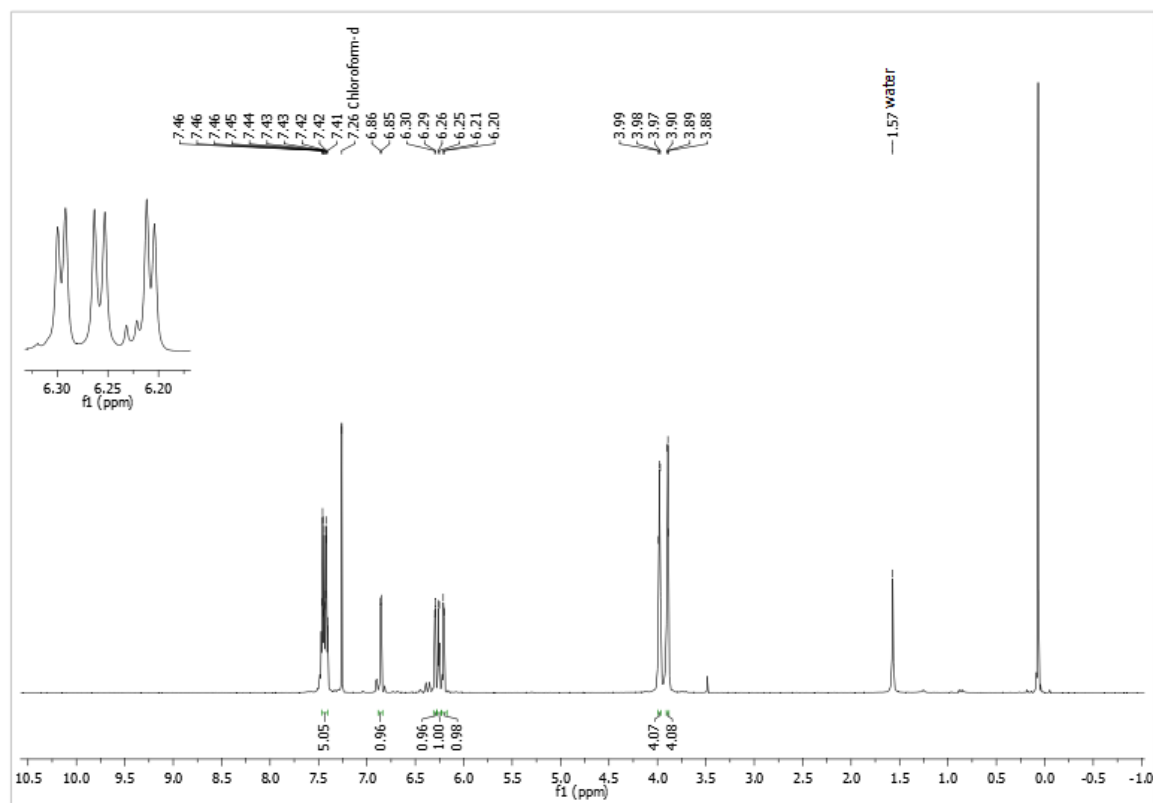
Apêndice 2: Propriedades ópticas de BODIPYs tiocianados e tioalquilados

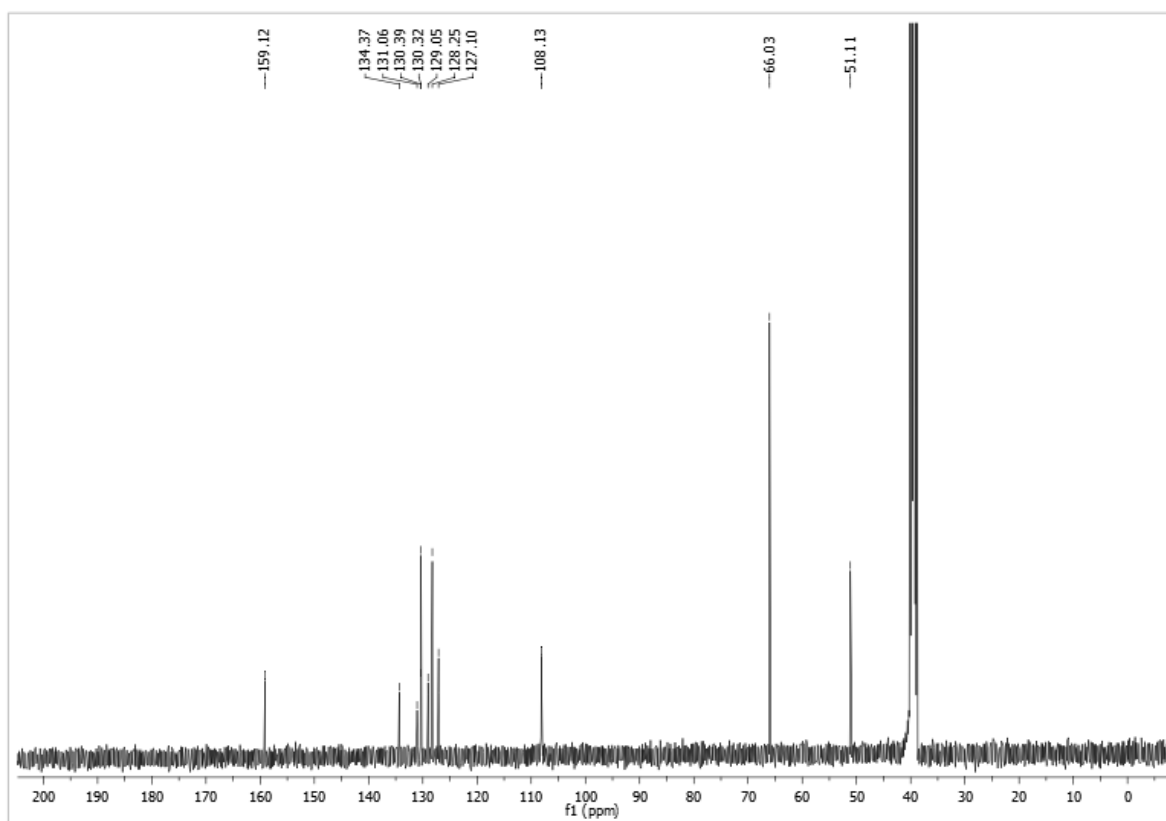
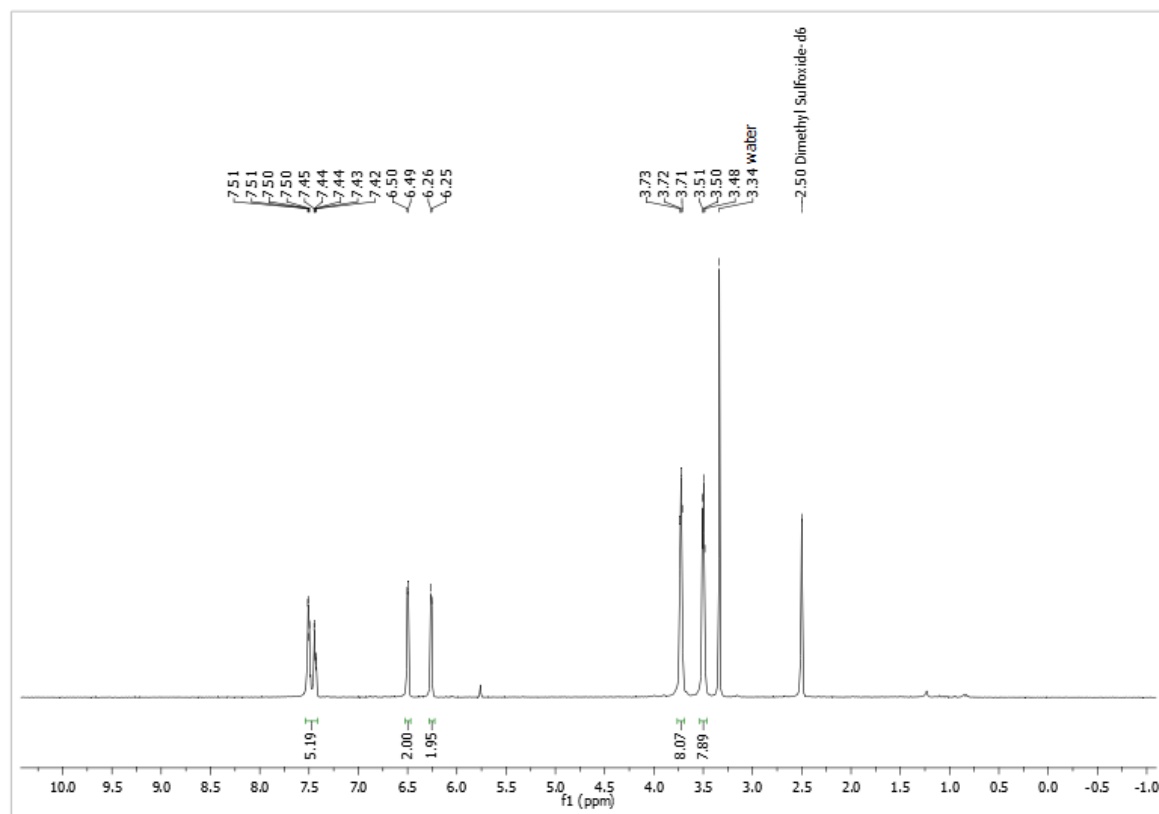
Comp./ Solv	λ (nm)		Stokes ^a	FWHM ^b		Φ_{fl} ^c	Comp./ Solv	λ (nm)		Stokes ^a	FWHM ^b		Φ_{fl} ^c
	abs	em		abs	em			abs	em				
23^d							60						
MeOH	476	551	2860	3326	2228	0,02	MeOH	496	513	668	1227	1333	0,2
MeCN	471	555	3213	3280	2382	0,005	MeCN	494	511	673	1230	1275	0,1
THF	488	555	2474	3167	2143	0,09	THF	498	515	663	1021	1274	0,05
PhCH ₃	507	561	1899	2818	2115	0,27	PhCH ₃	503	520	650	975	1207	0,06
54							61						
MeOH	495	509	556	1220	1463	0,87	MeOH	490	507	684	1174	1841	0,62
MeCN	495	508	517	1253	1482	0,9	MeCN	490	507	684	1532	2100	0,46
THF	499	515	623	1252	1478	0,98	THF	494	513	750	1214	1848	0,71
PhCH ₃	506	525	715	1009	1423	0,94	PhCH ₃	501	518	655	1046	1641	0,97
55							62						
MeOH	493	507	560	1539	1312	0,96	MeOH	459	562	3993	3591	2278	0,004
MeCN	492	507	601	1555	1317	0,94	MeCN	451	567	4536	3645	2571	0,002
THF	497	513	628	1326	1309	0,99	THF	467	569	3839	3624	2109	0,01
PhCH ₃	505	518	497	1133	1277	0,91	PhCH ₃	483	561	2879	3481	1988	0,09
56							68						
MeOH	485	505	817	1270	1619	0,93	MeOH	499	570	2496	1002	4032	0,05
MeCN	484	503	780	1339	1706	0,98	MeCN	498	581	2869	1074	4073	0,05
THF	489	510	842	1198	1683	0,93	THF	502	568	2315	1022	3387	0,11
PhCH ₃	495	516	822	1081	1615	0,99	PhCH ₃	507	561	1899	956	3065	0,23
57							69						
MeOH	490	508	723	1231	1253	0,04	MeOH	499	547	1759	1029	3436	0,09
MeCN	490	509	762	1326	1184	0,04	MeCN	498	549	1865	1036	3716	0,08
THF	493	512	753	1215	1214	0,06	THF	502	556	1935	984	3084	0,21
PhCH ₃	498	512	549	865	1182	0,27	PhCH ₃	507	544	1342	926	2613	0,38
58							70						
MeOH	502	520	690	1139	1277	0,06	MeOH	500	538	3360	1023	1413	0,1
MeCN	502	518	615	1238	1224	0,06	MeCN	499	556	3696	1055	2054	0,09
THF	506	521	569	1055	1206	0,07	THF	503	540	3180	995	1362	0,19
PhCH ₃	511	530	702	945	1210	0,01	PhCH ₃	508	542	2487	940	1235	0,37
59							71						
MeOH	494	510	635	1171	1284	0,06	MeOH	509	583	2494	1179	3047	0,04
MeCN	494	513	750	1139	1553	0,012	MeCN	507	591	2803	1227	2930	0,03
THF	498	519	812	1108	1562	0,37	THF	512	580	2290	1167	2677	0,1
PhCH ₃	503	524	797	1006	1531	0,46	PhCH ₃	517	576	1981	1089	2519	0,22

^a Desvio de Stokes em cm⁻¹. ^b Largura a meia altura em cm⁻¹. ^c Rendimento quântico de fluorescência. ^d Material de partida na síntese de **62**.

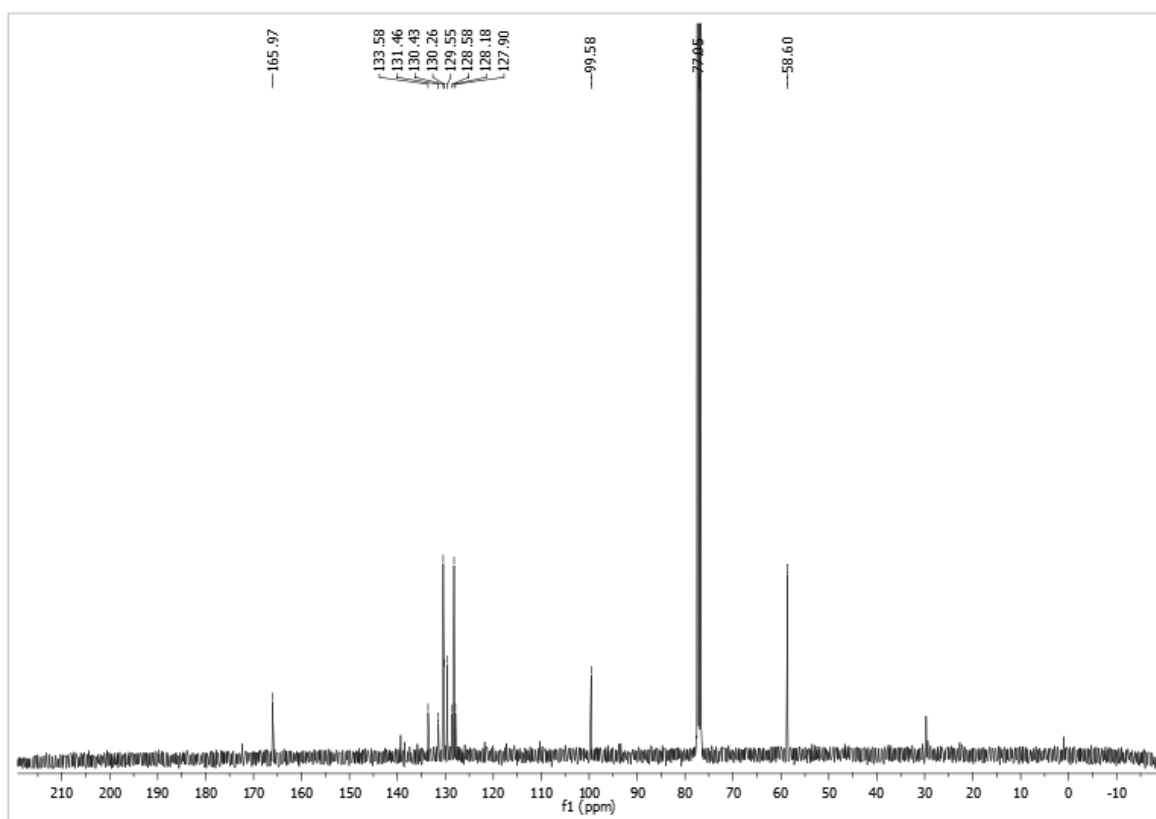
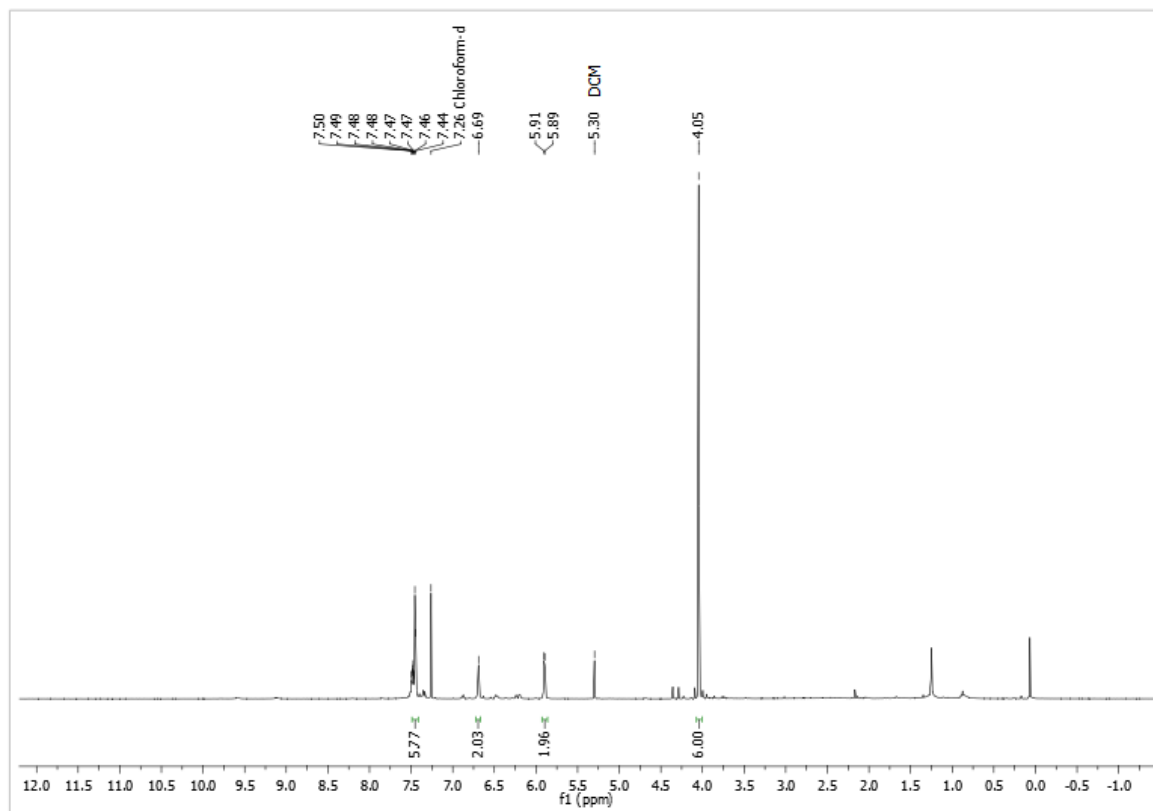
Apêndice 3: Espectros de RMN de ^1H (600 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **24** em CDCl_3 .

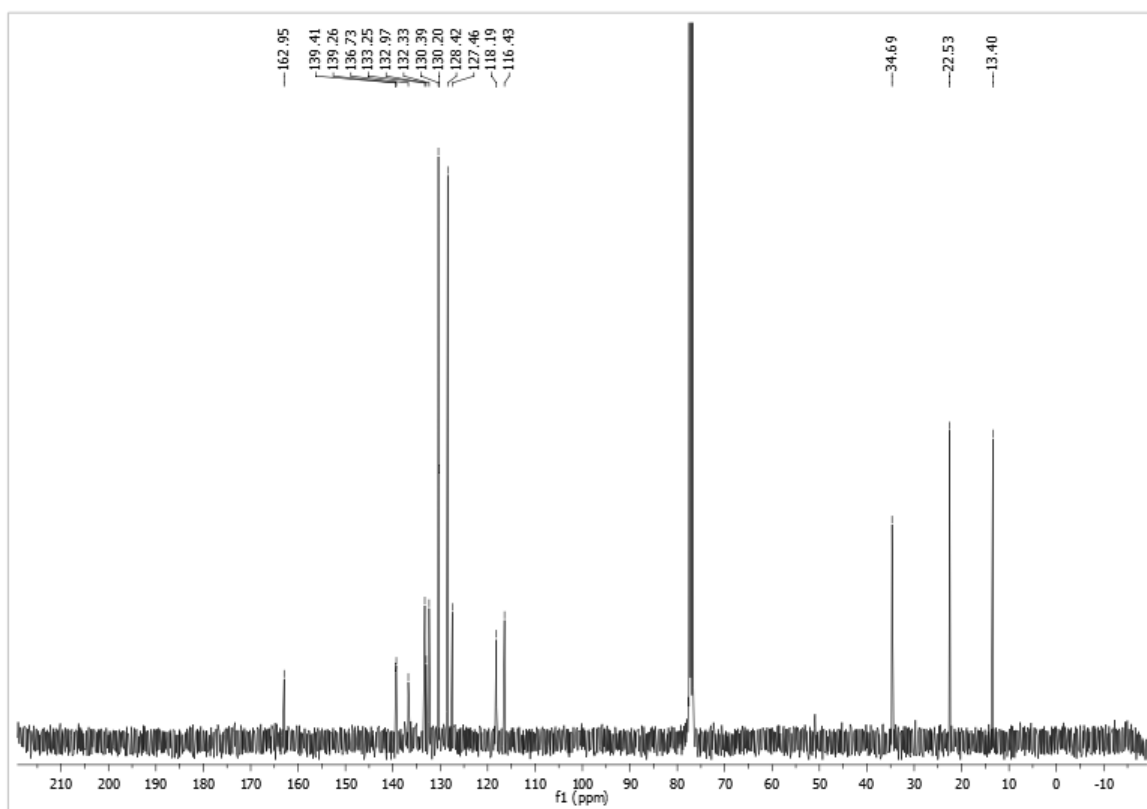
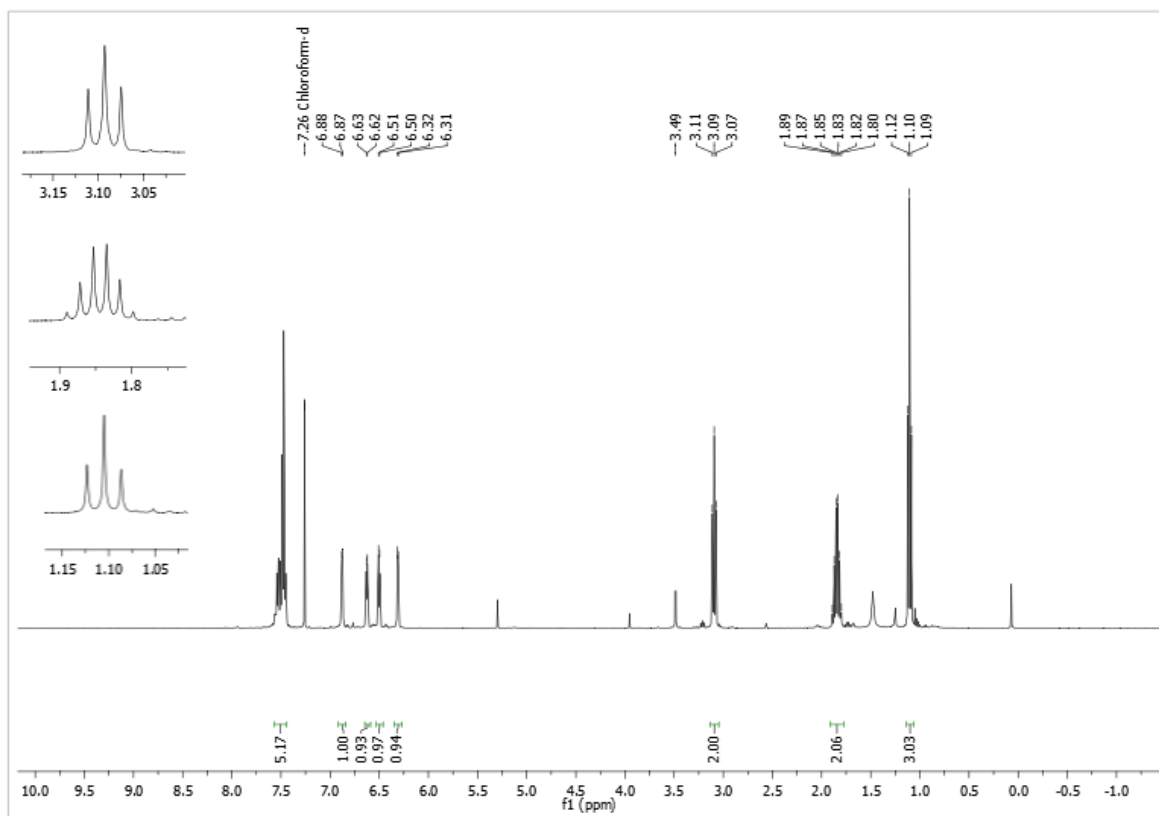
Apêndice 4: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **25** em CDCl_3 .

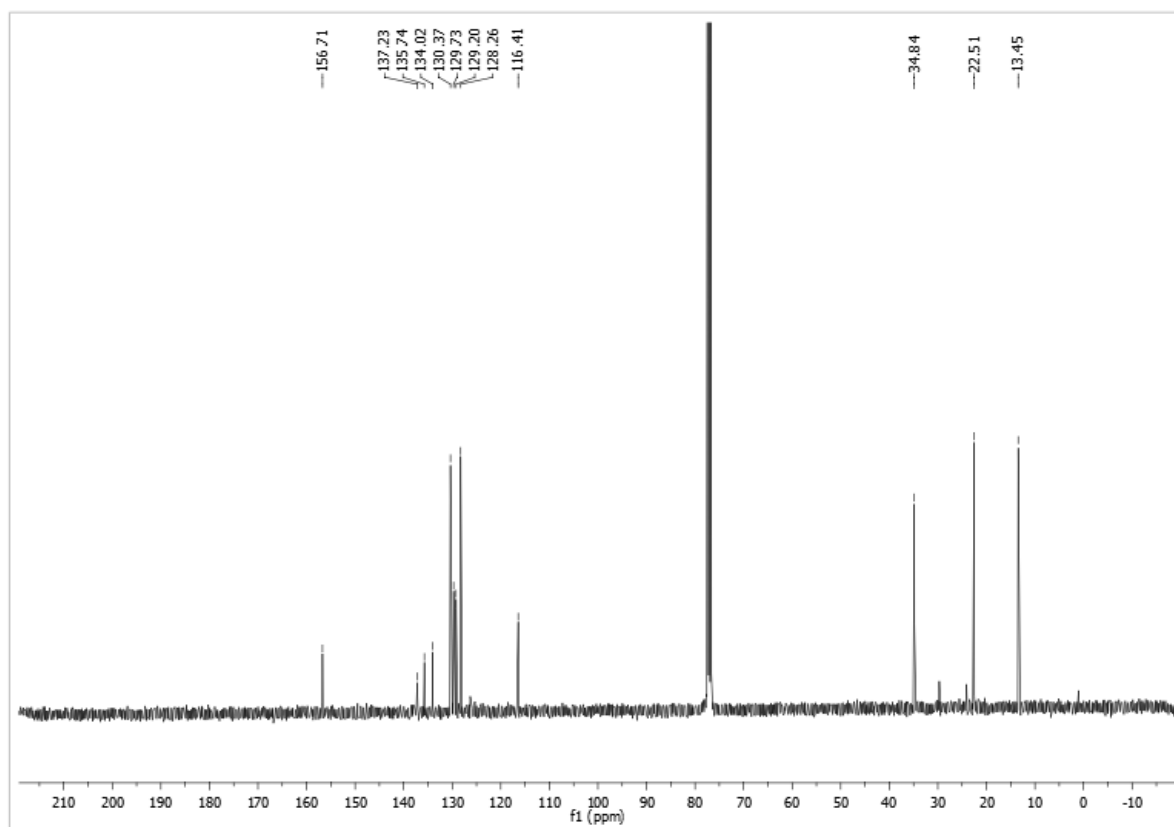
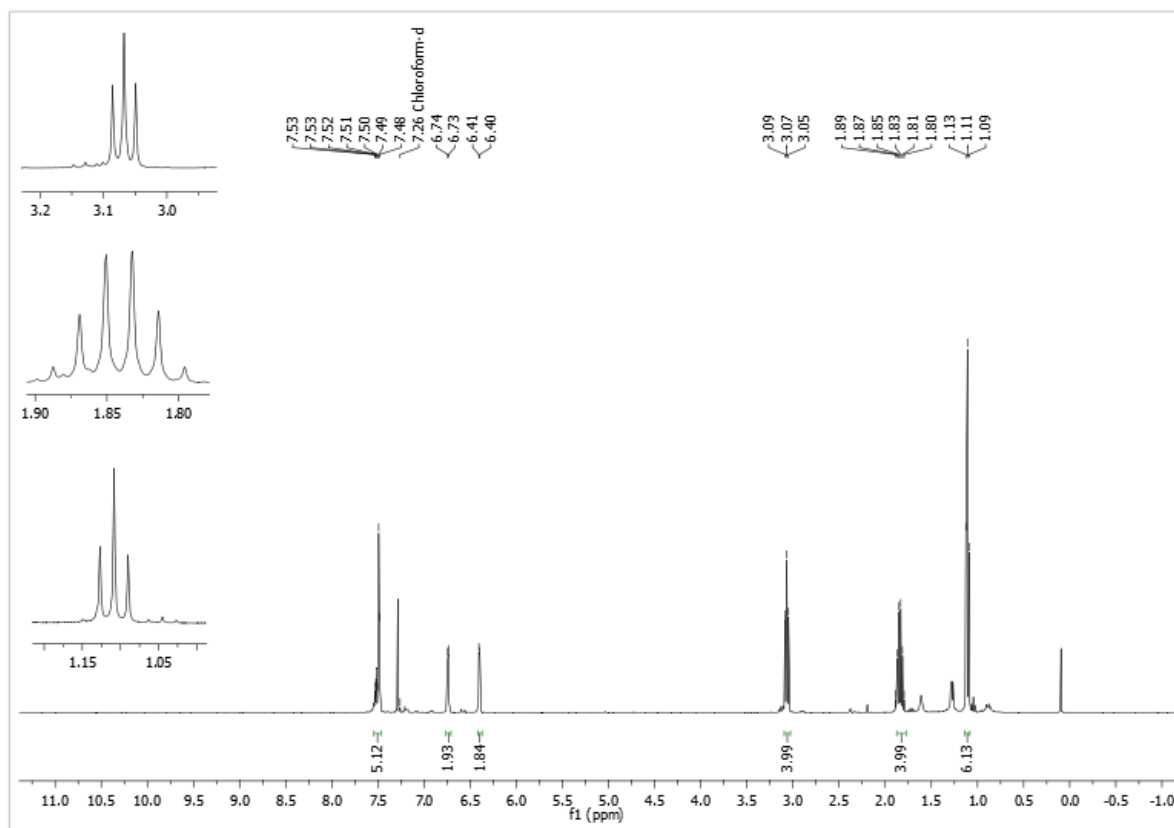
Apêndice 5: Espectros de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **26** em CDCl_3 .

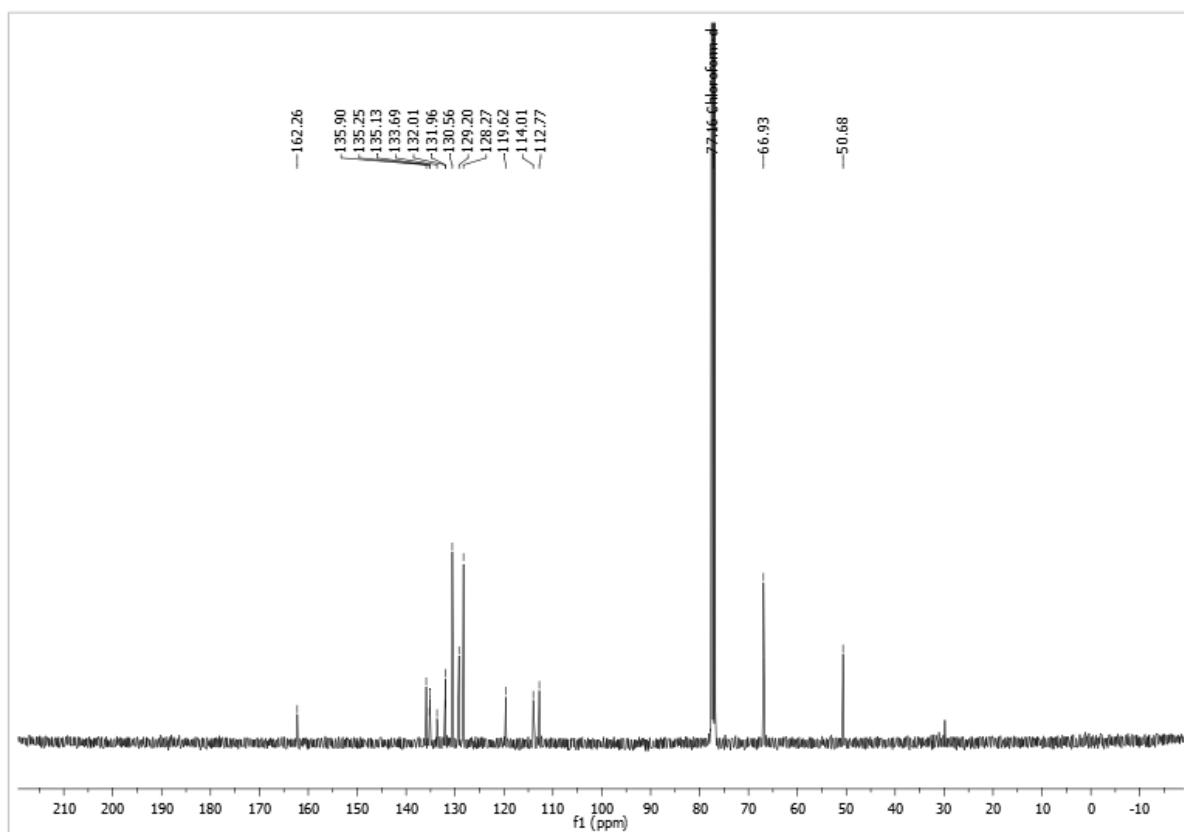
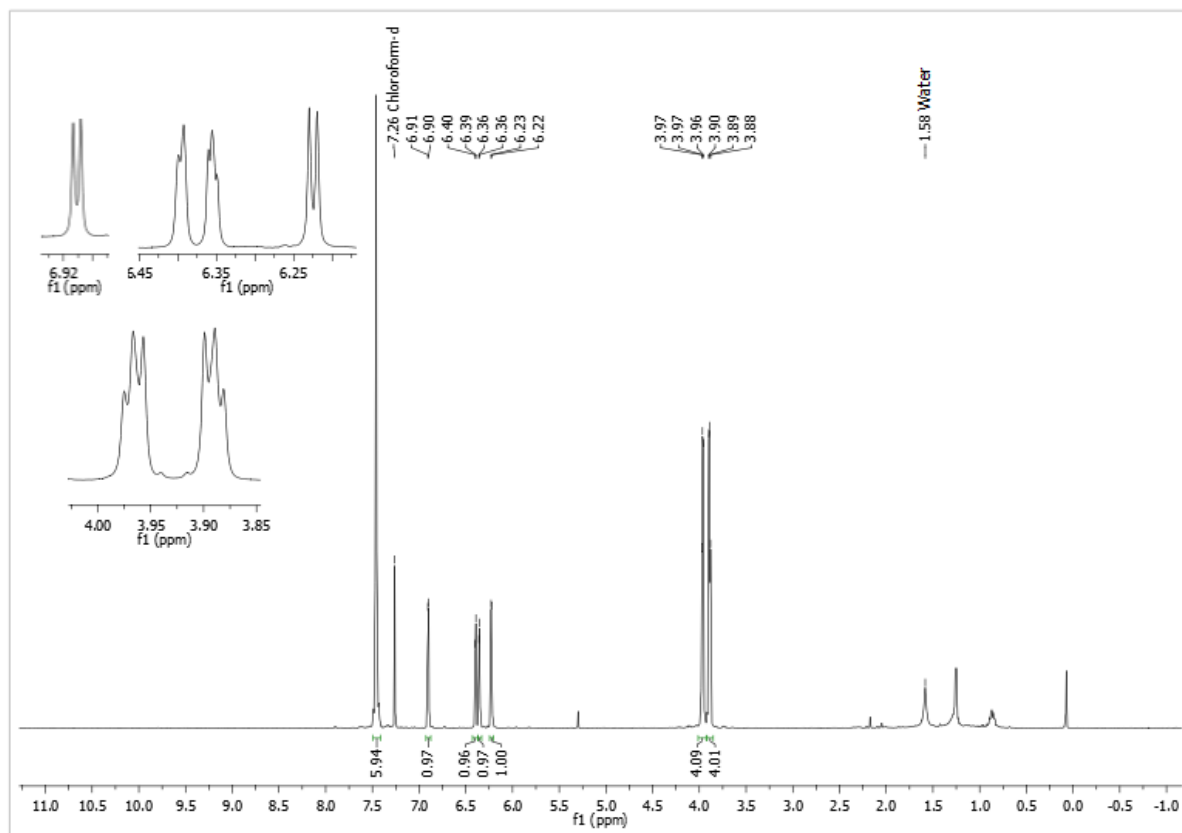
Apêndice 6: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **27** em CDCl_3 .

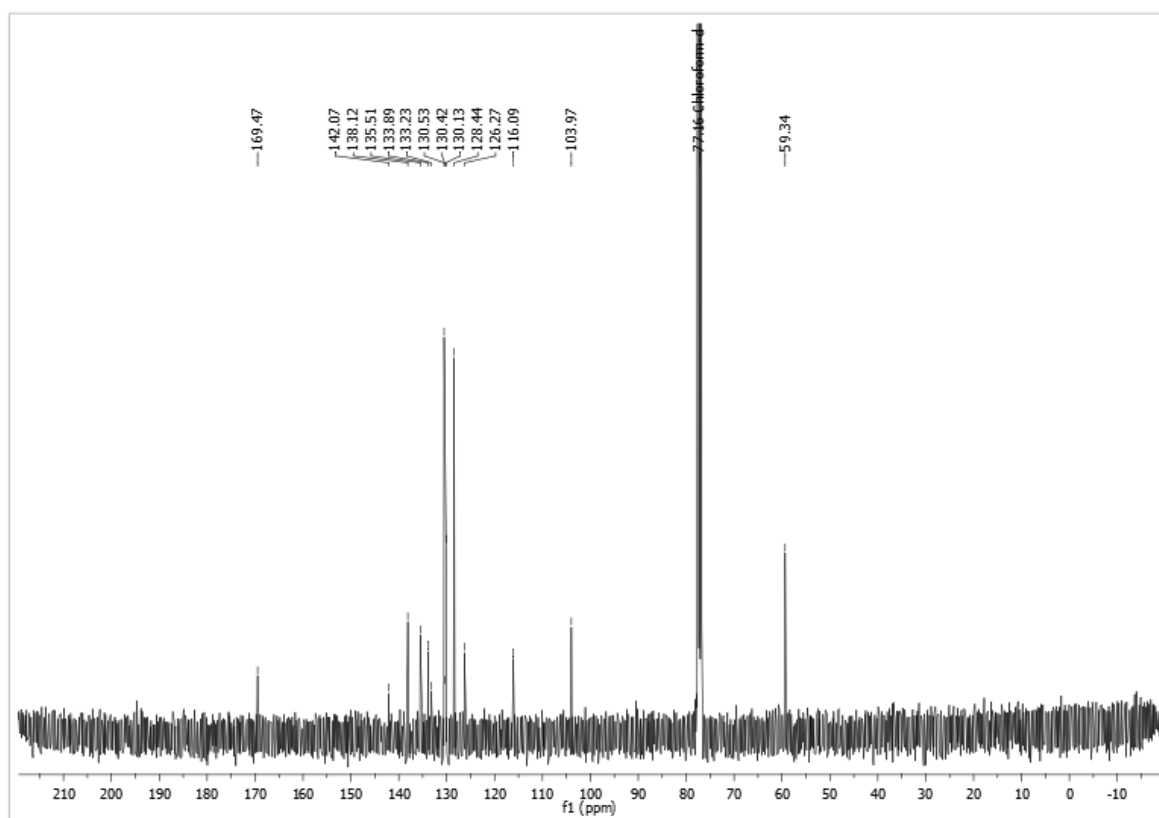
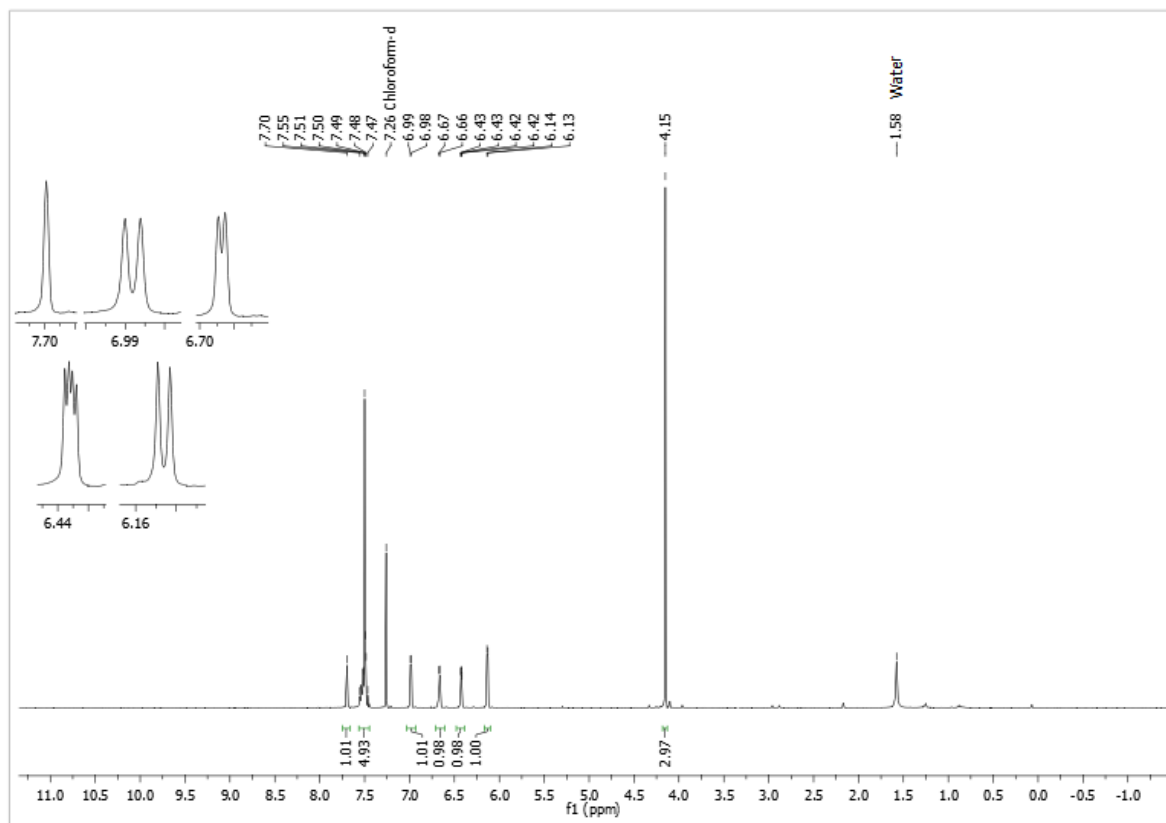
Apêndice 7: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **29** em CDCl_3 .

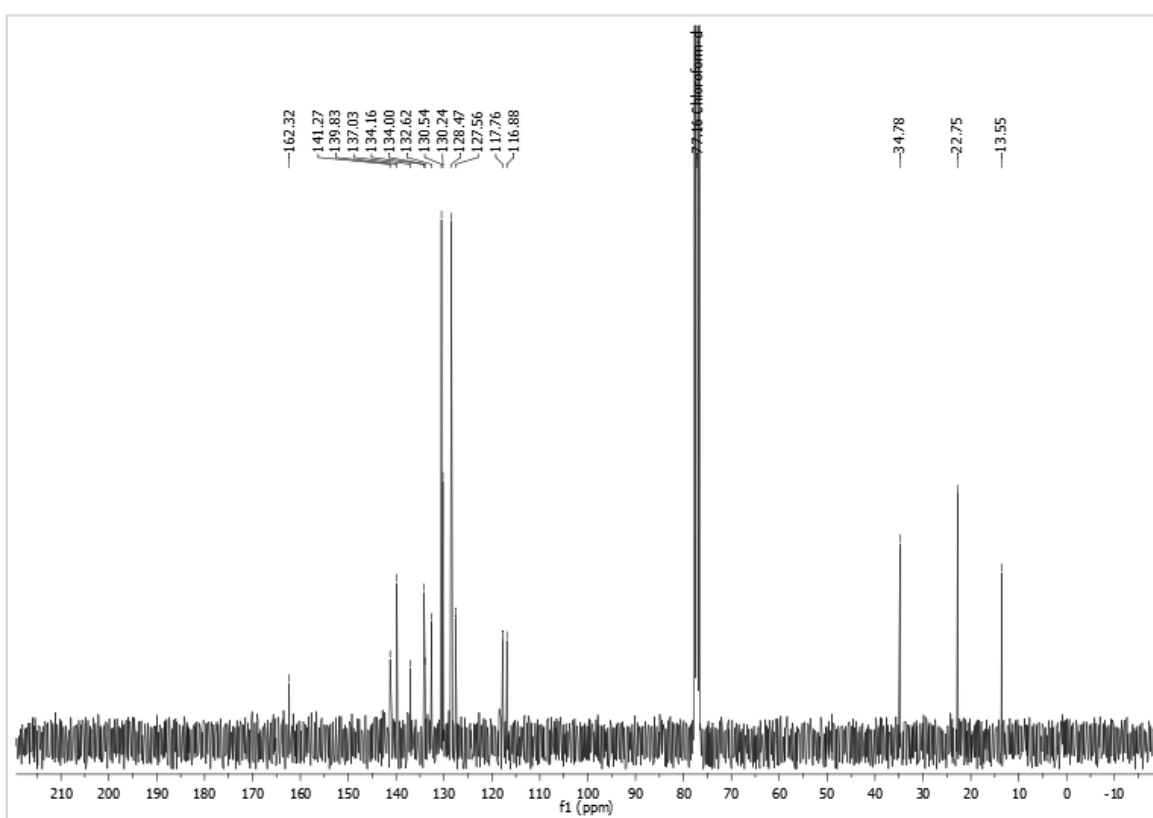
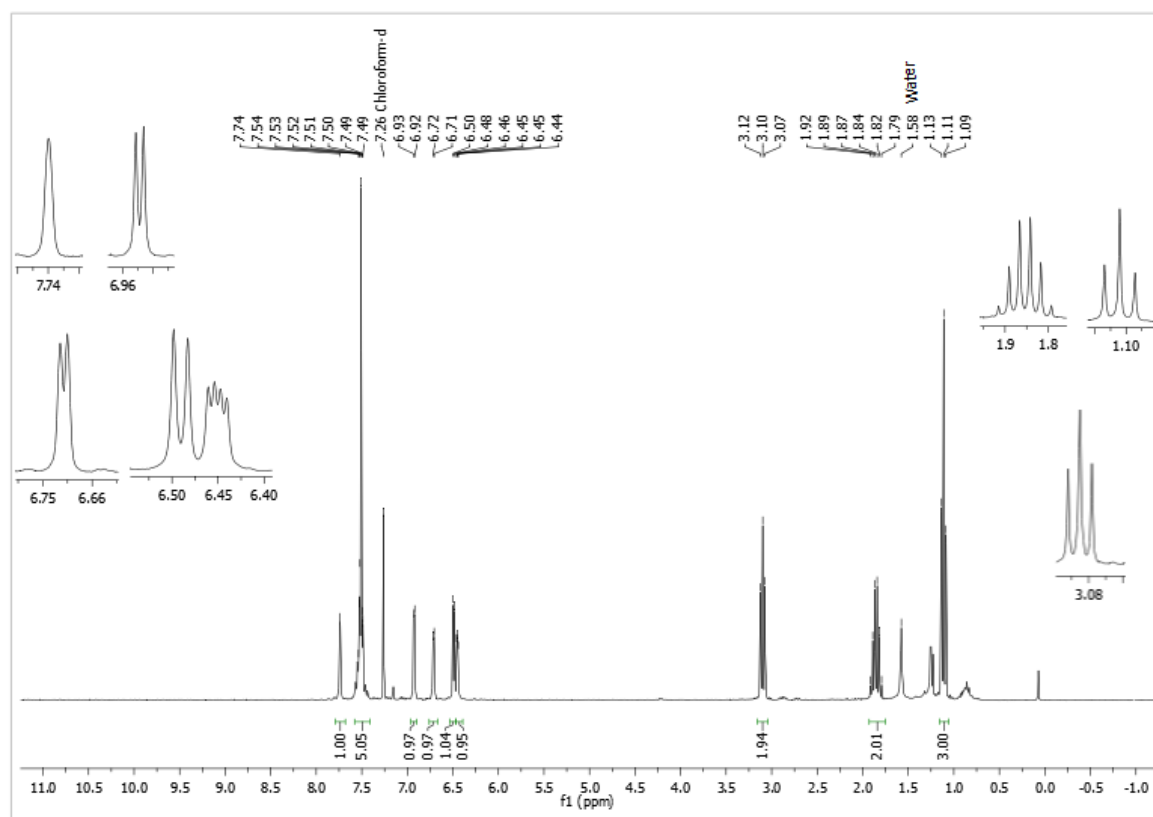


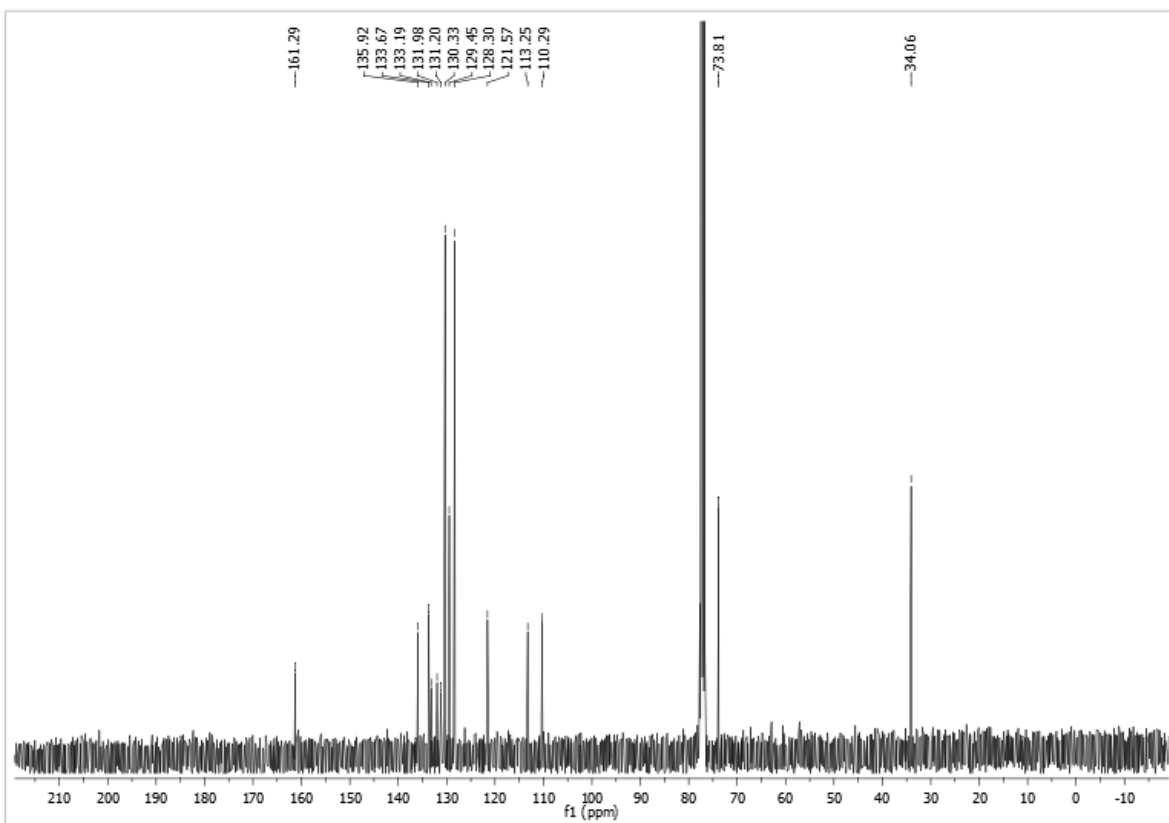
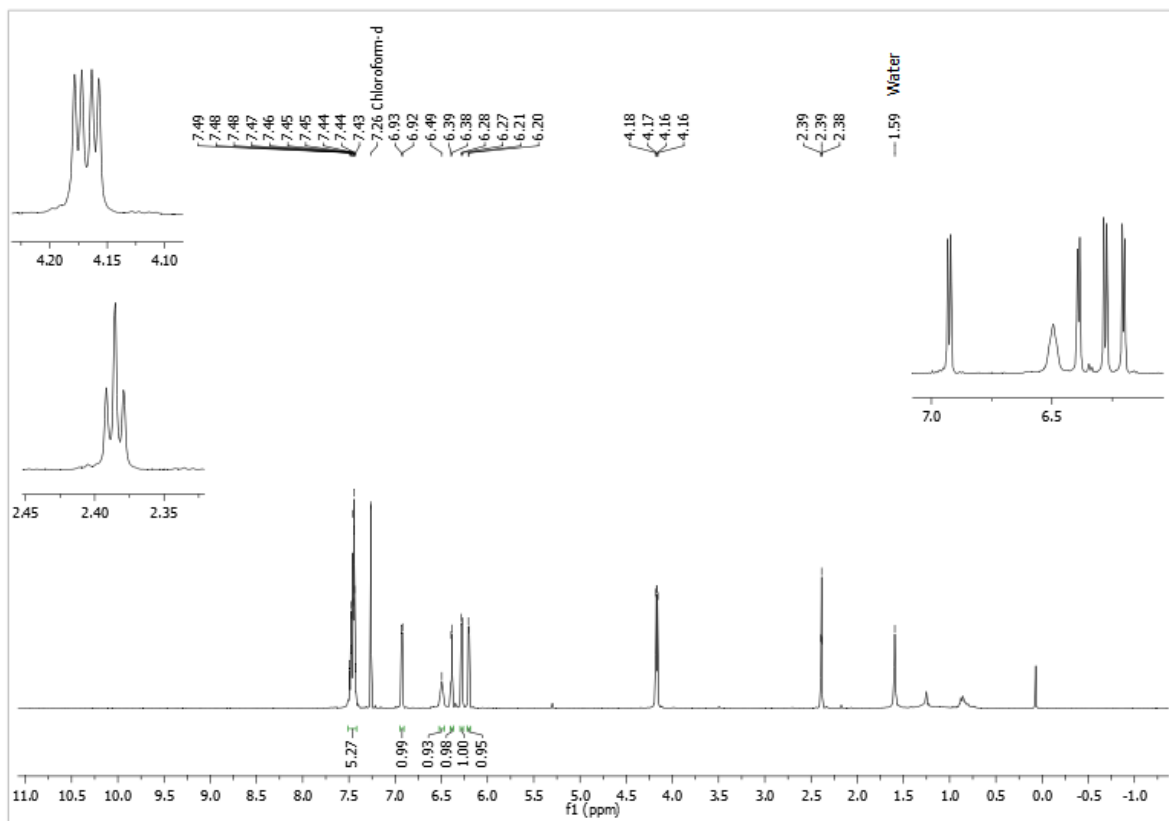
Apêndice 8: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **30** em CDCl_3 .

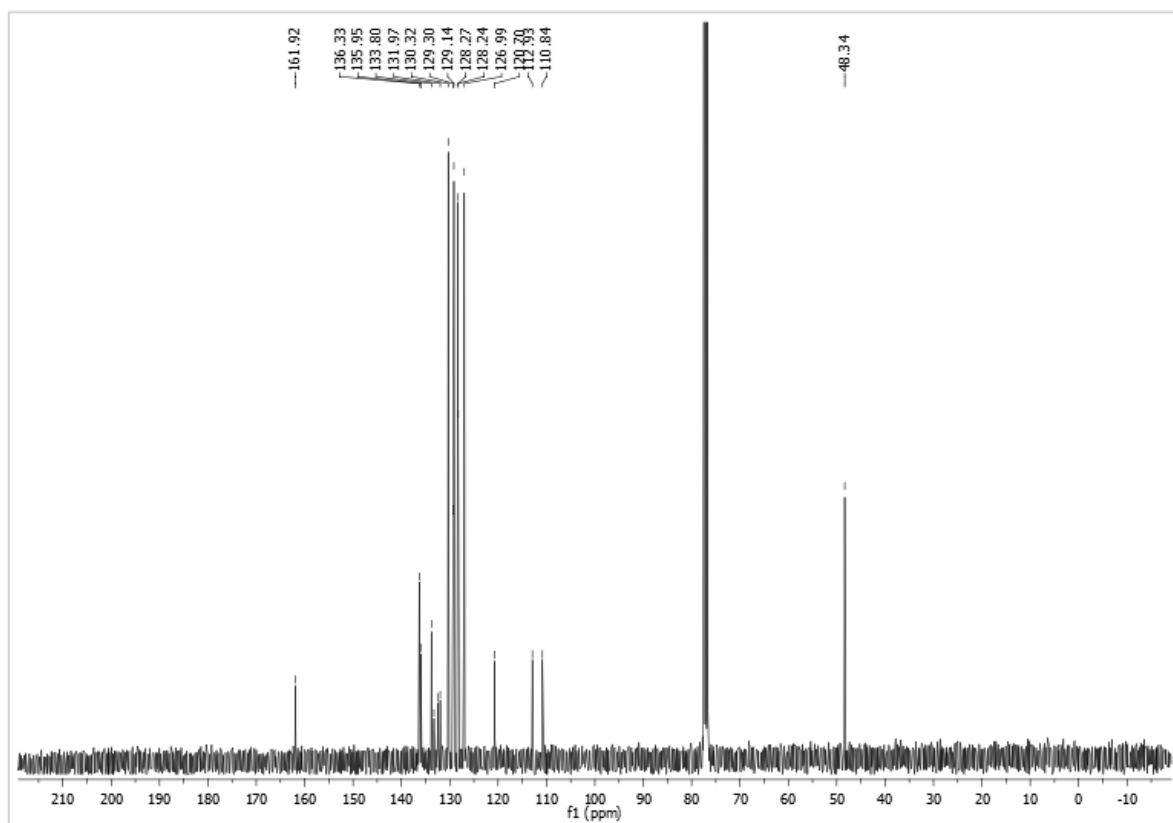
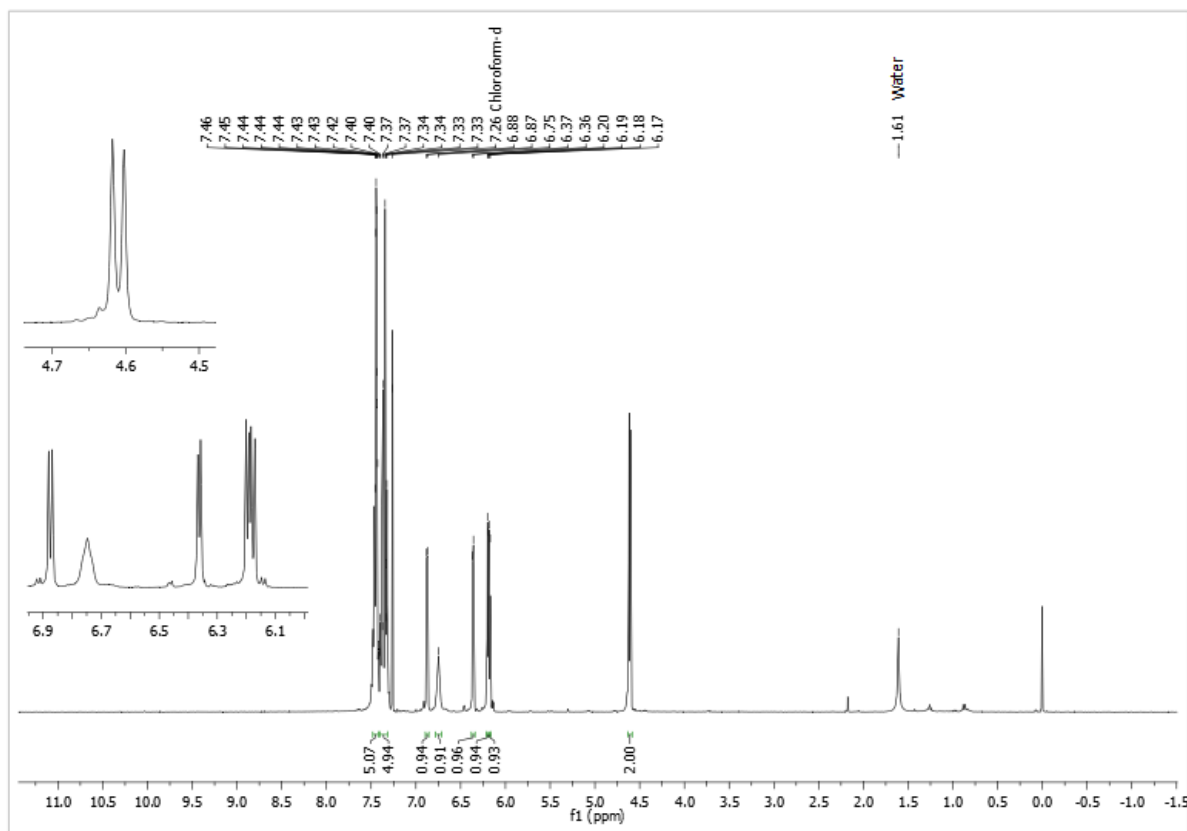
Apêndice 9: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **31** em CDCl_3 .

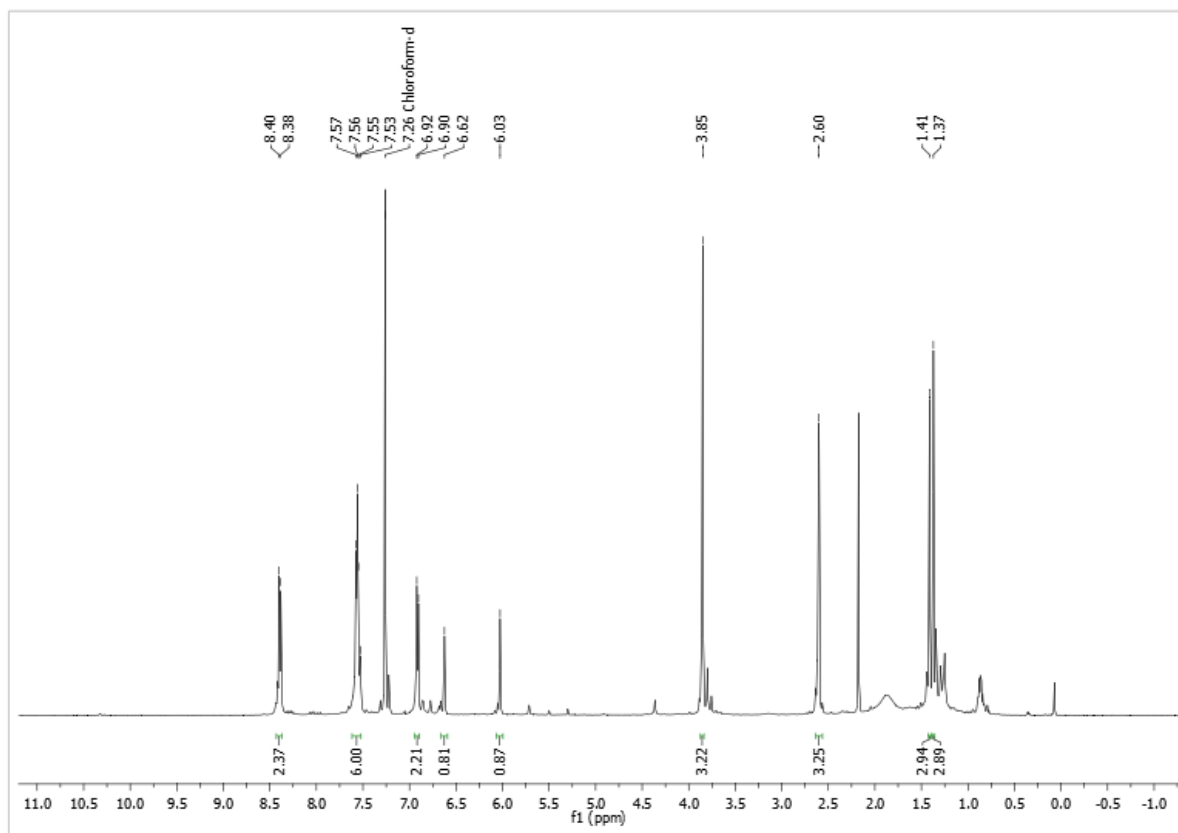
Apêndice 10: Espectros de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **32** em CDCl_3 .

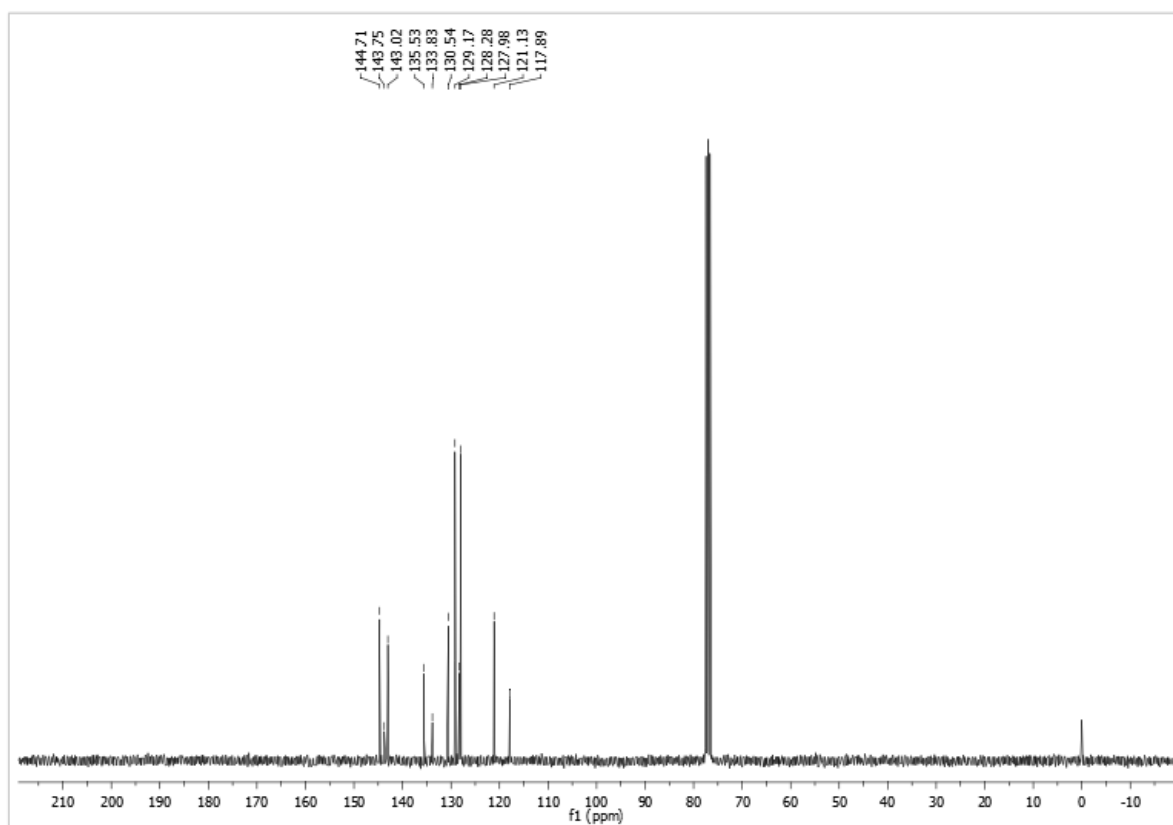
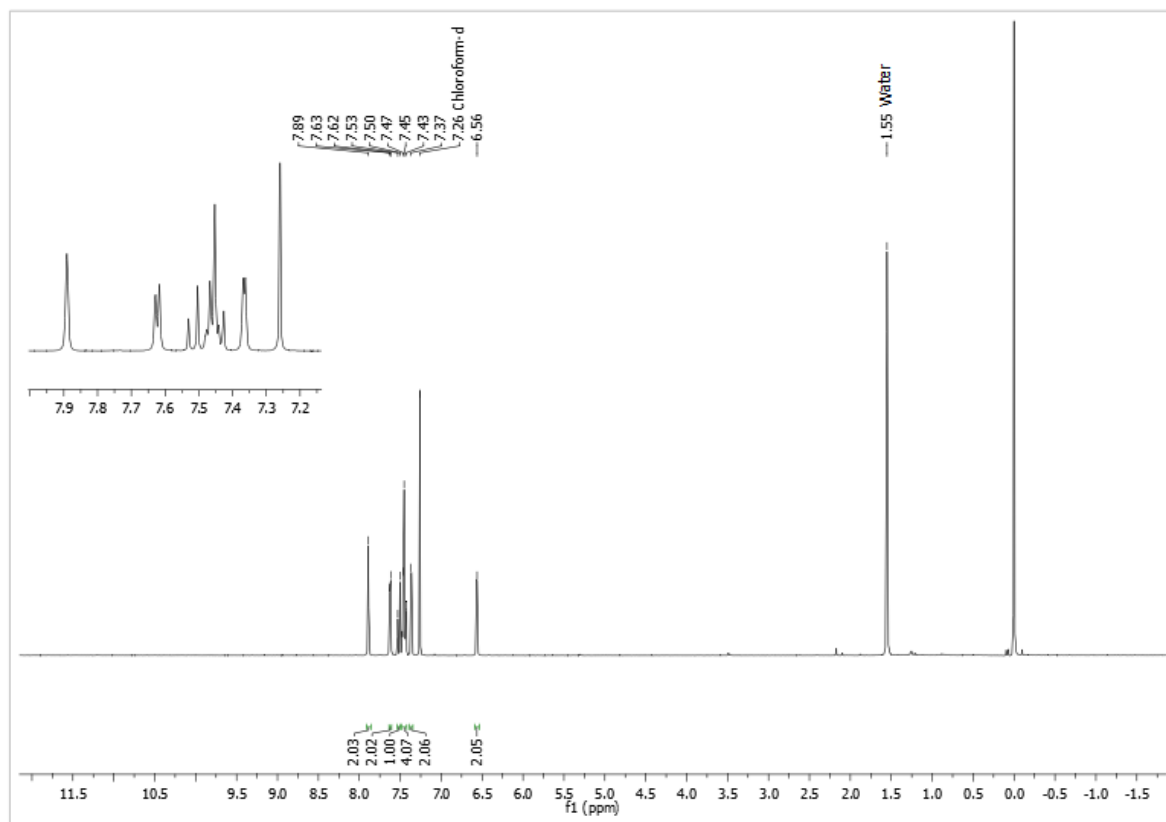
Apêndice 11: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **33** em CDCl_3 .

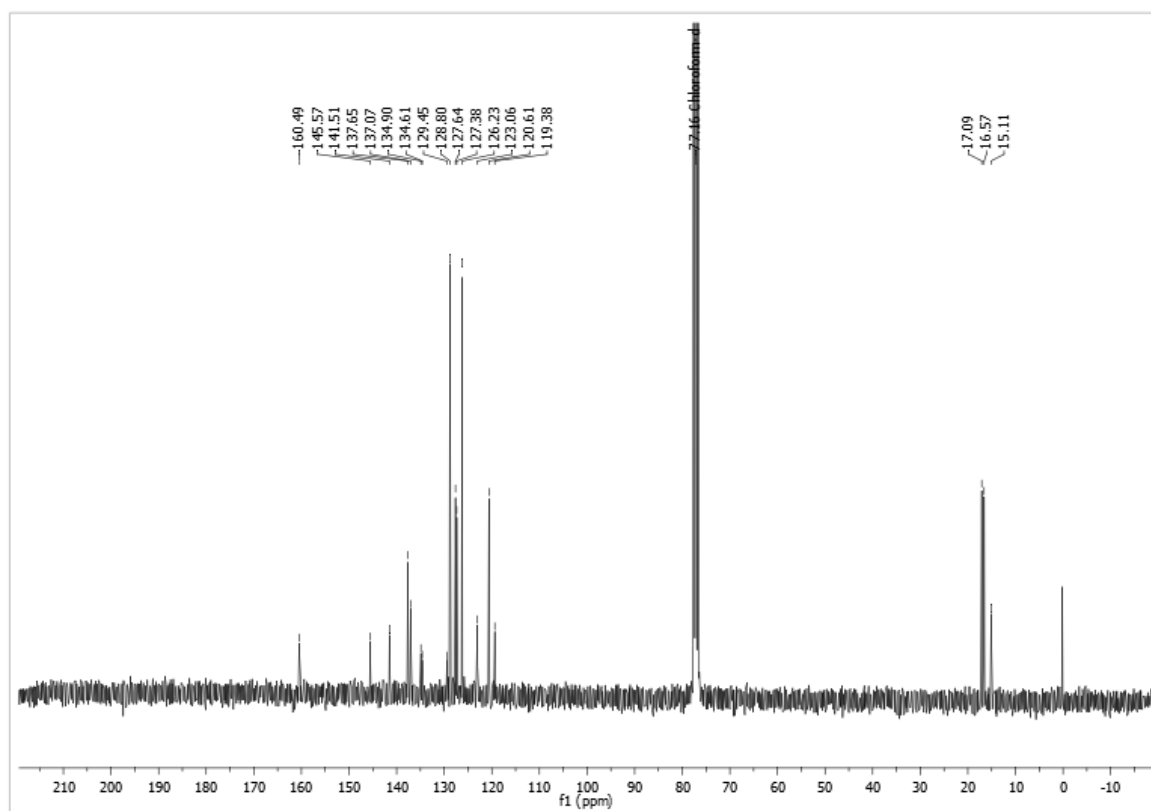
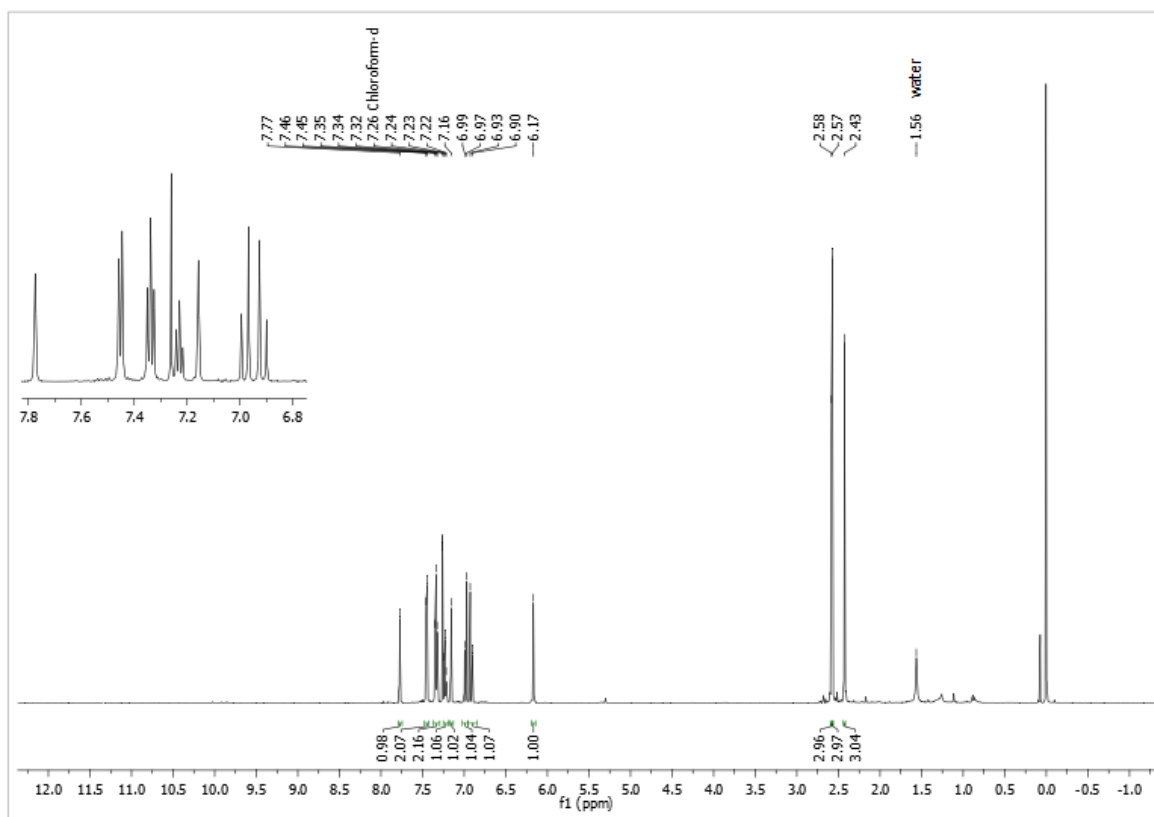
Apêndice 12: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **34** em CDCl_3 .

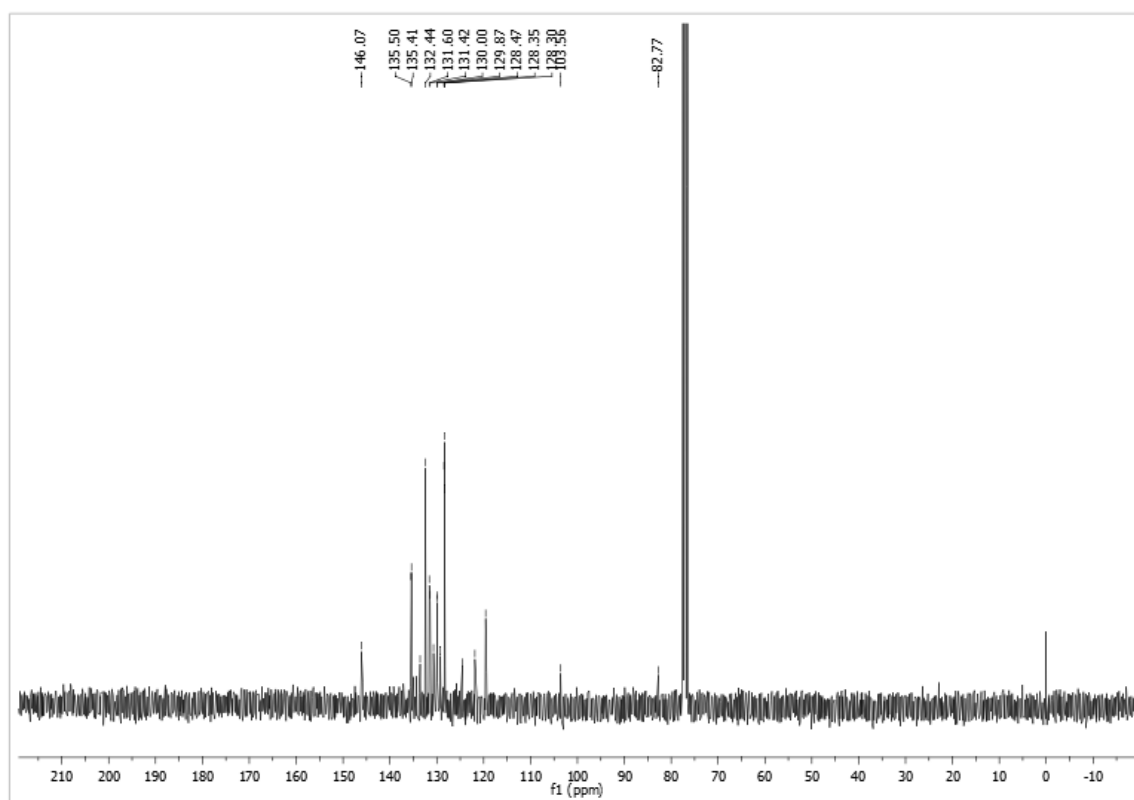
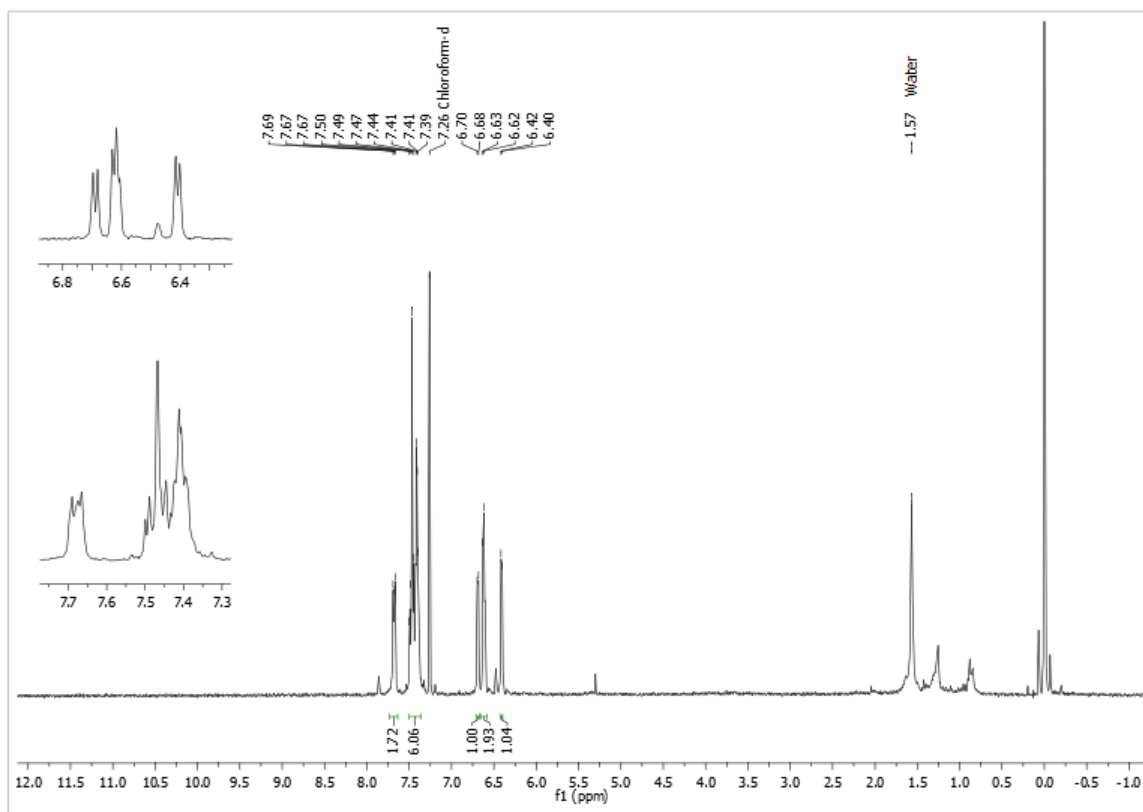
Apêndice 13: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **35** em CDCl_3 .

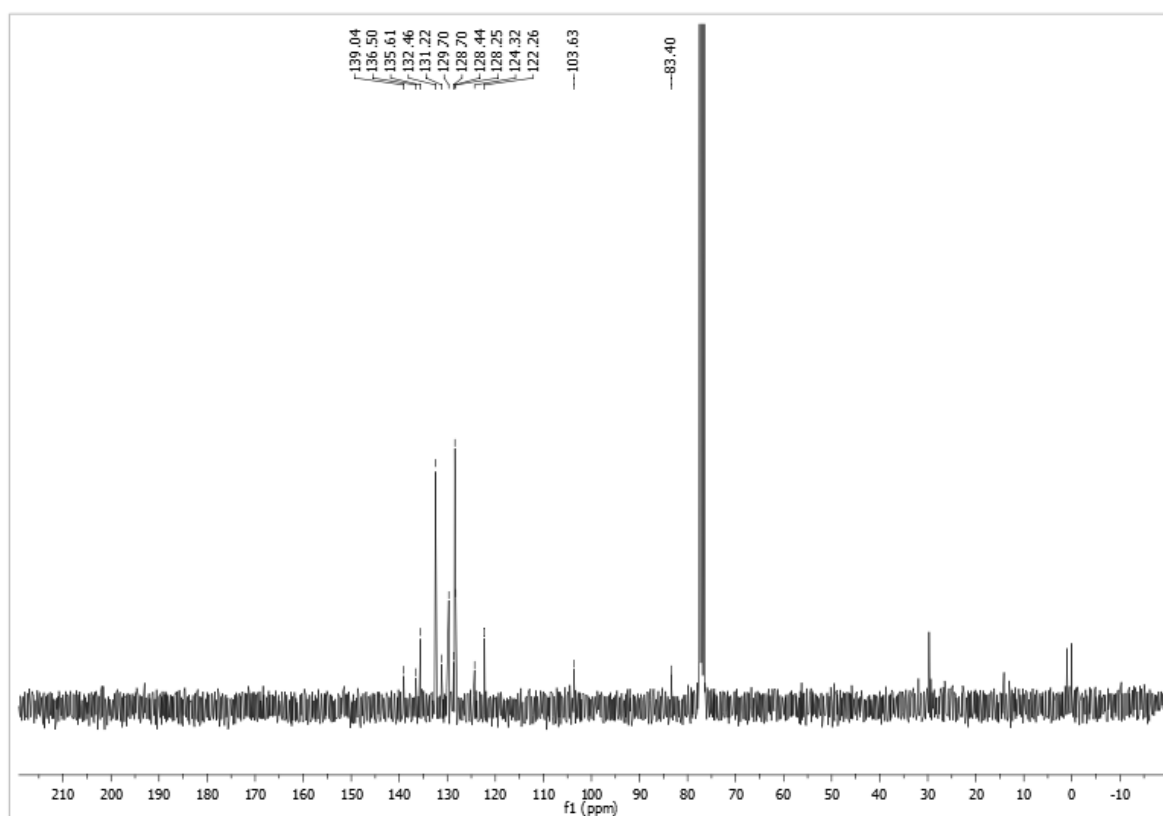
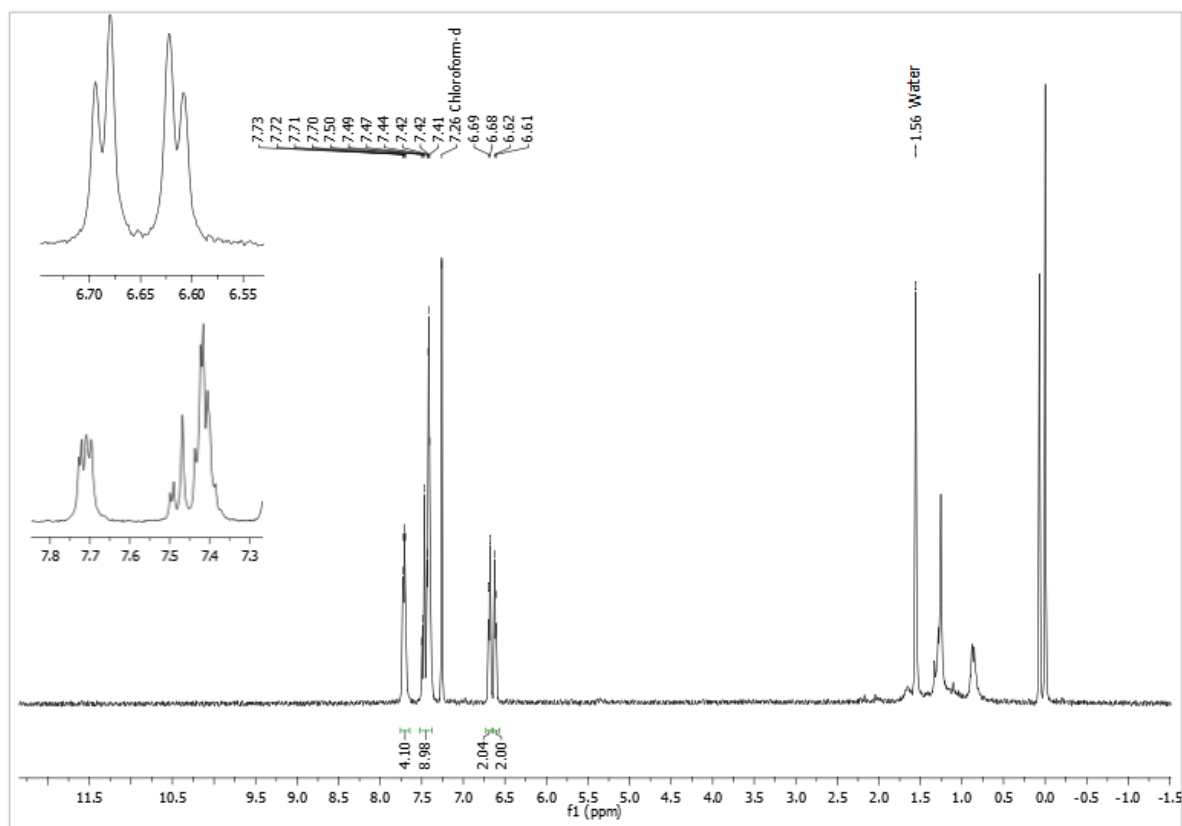
Apêndice 14: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **36** em CDCl_3 .

Apêndice 15: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) do composto **37** em CDCl_3 

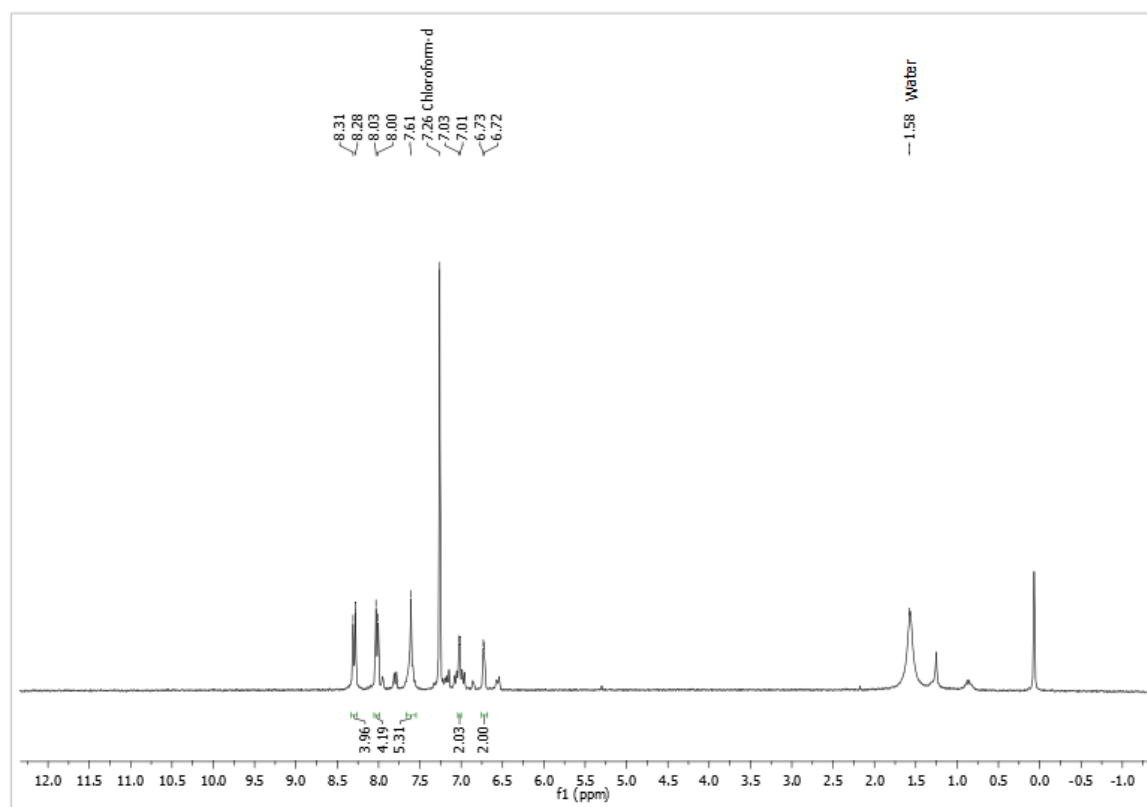
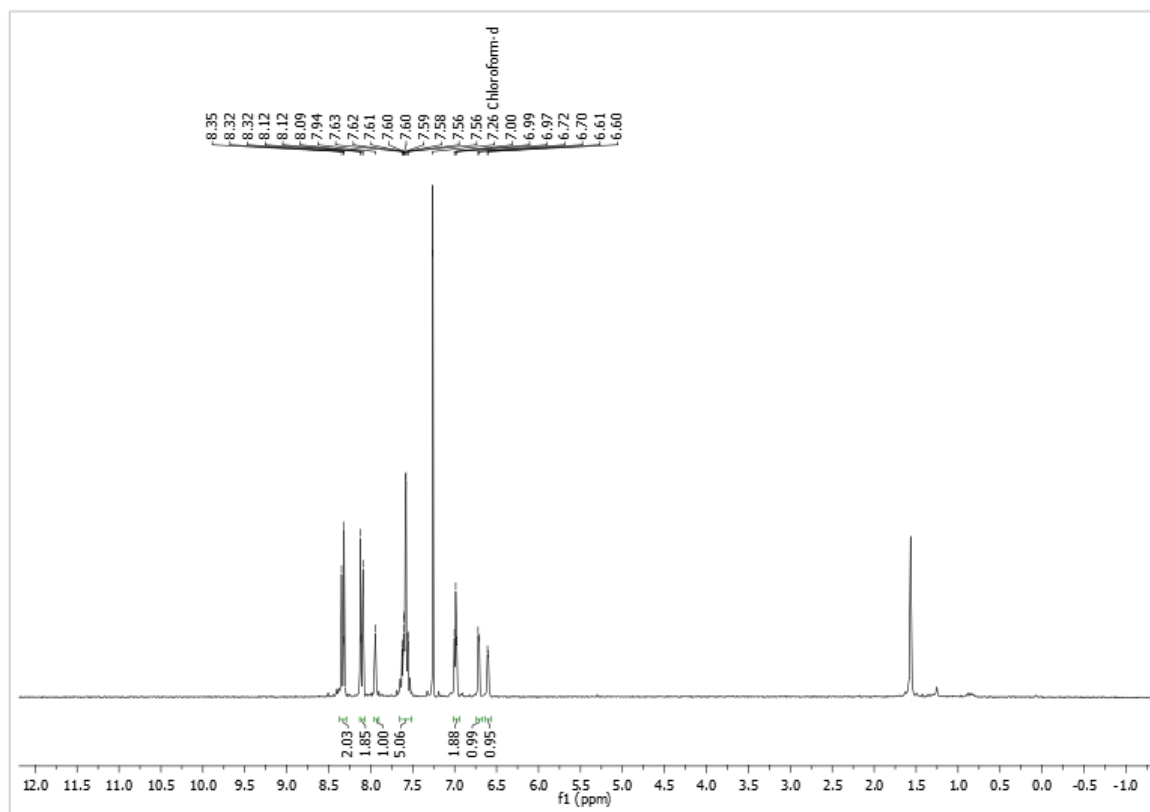
Apêndice 16: Espectros de RMN de ^1H (600 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **38** em CDCl_3 .

Apêndice 17: Espectros de RMN de ^1H (600 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **39** em CDCl_3 .

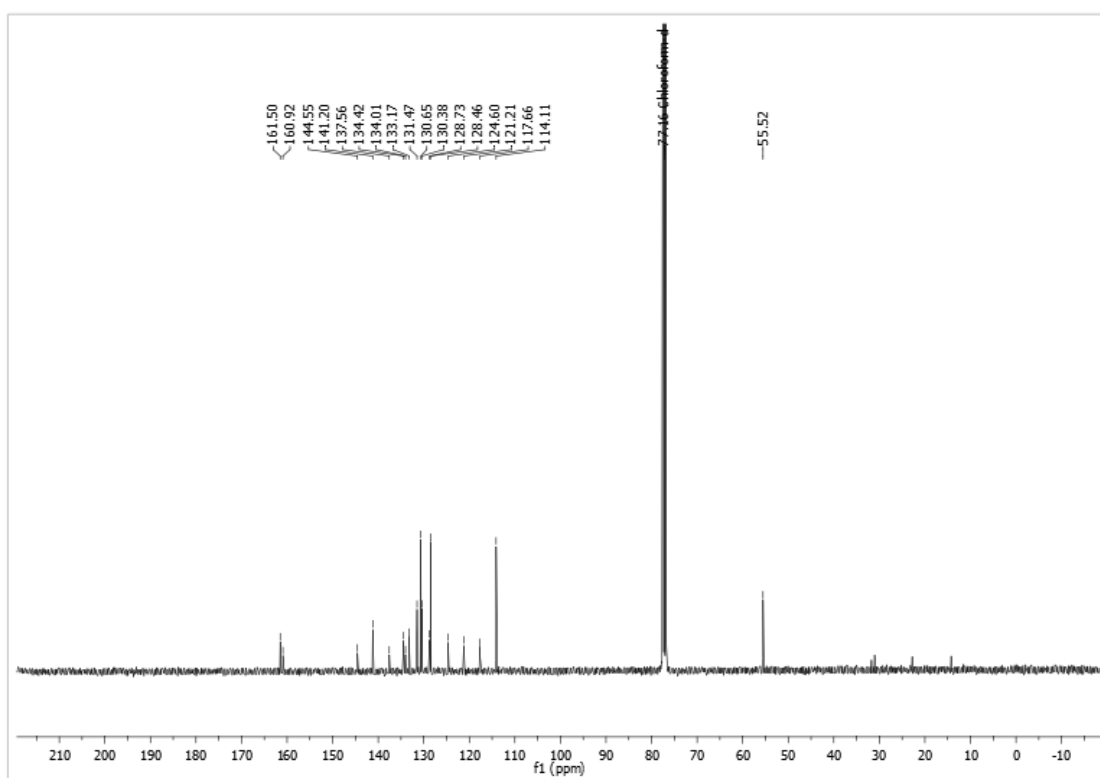
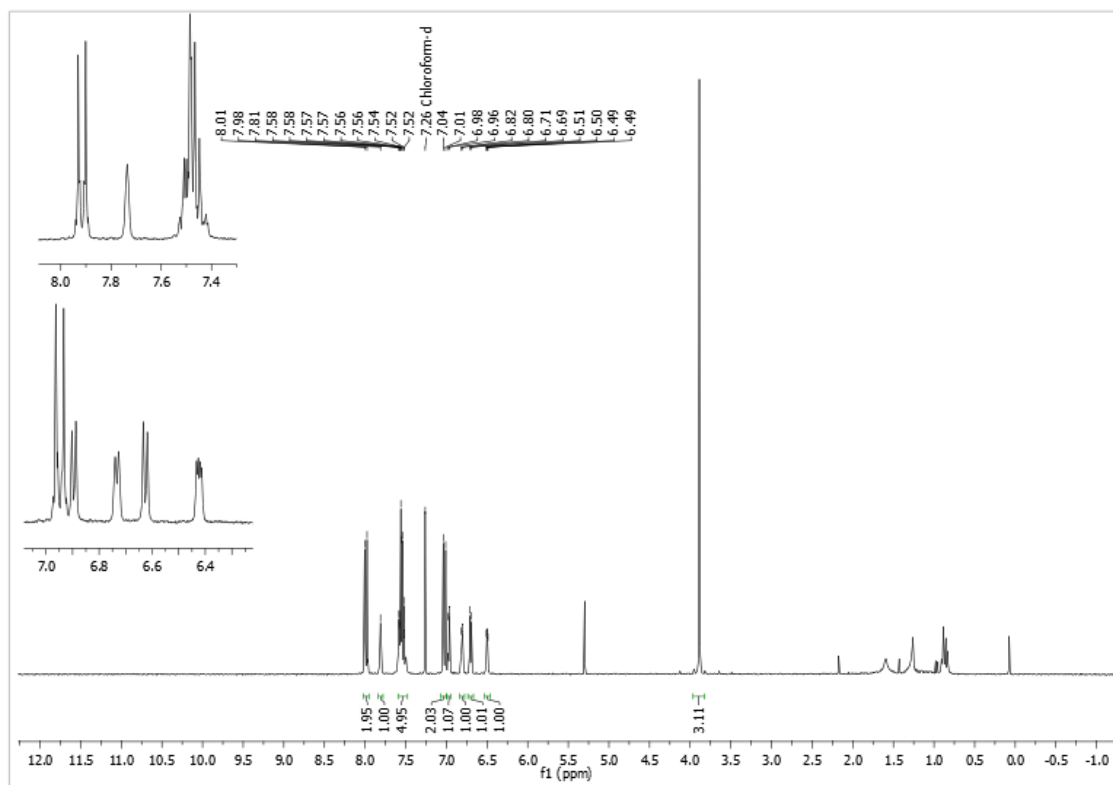
Apêndice 18: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **40** em CDCl_3 .

Apêndice 19: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **41** em CDCl_3 .

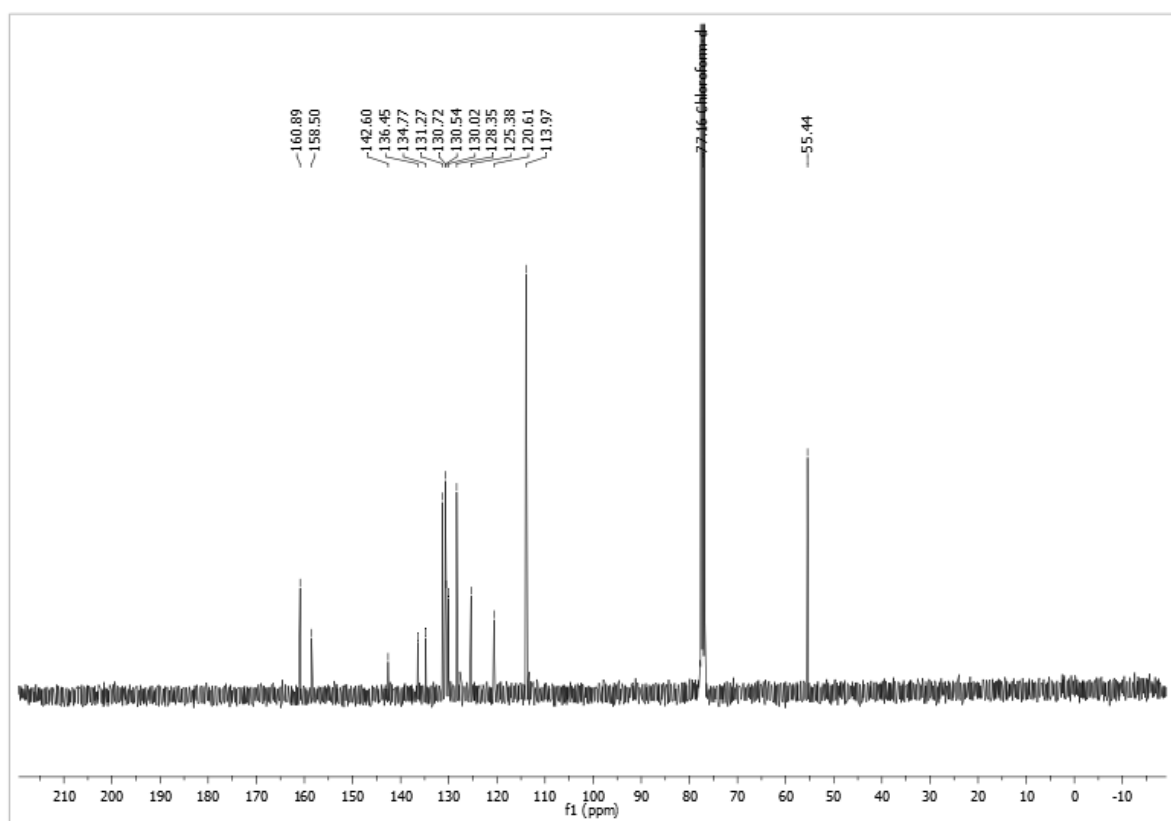
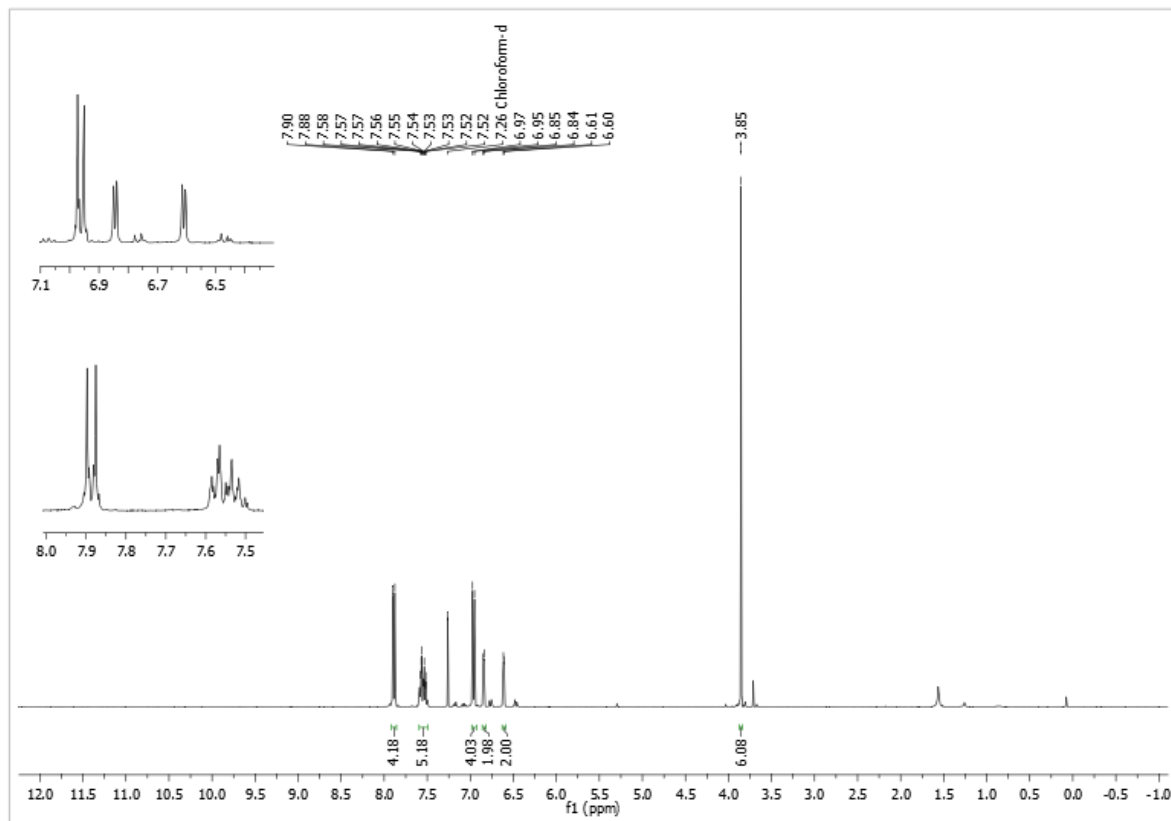
Apêndice 20: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) dos composto **44** e **45** em CDCl_3 .



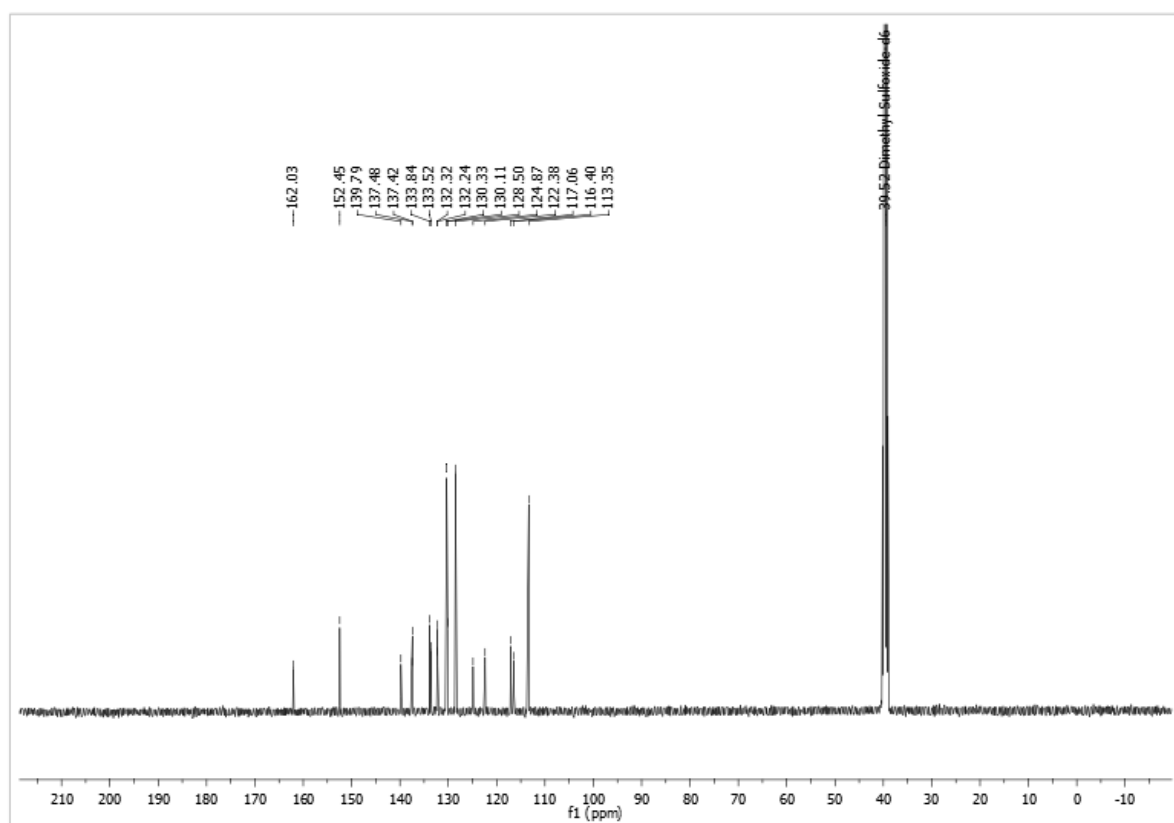
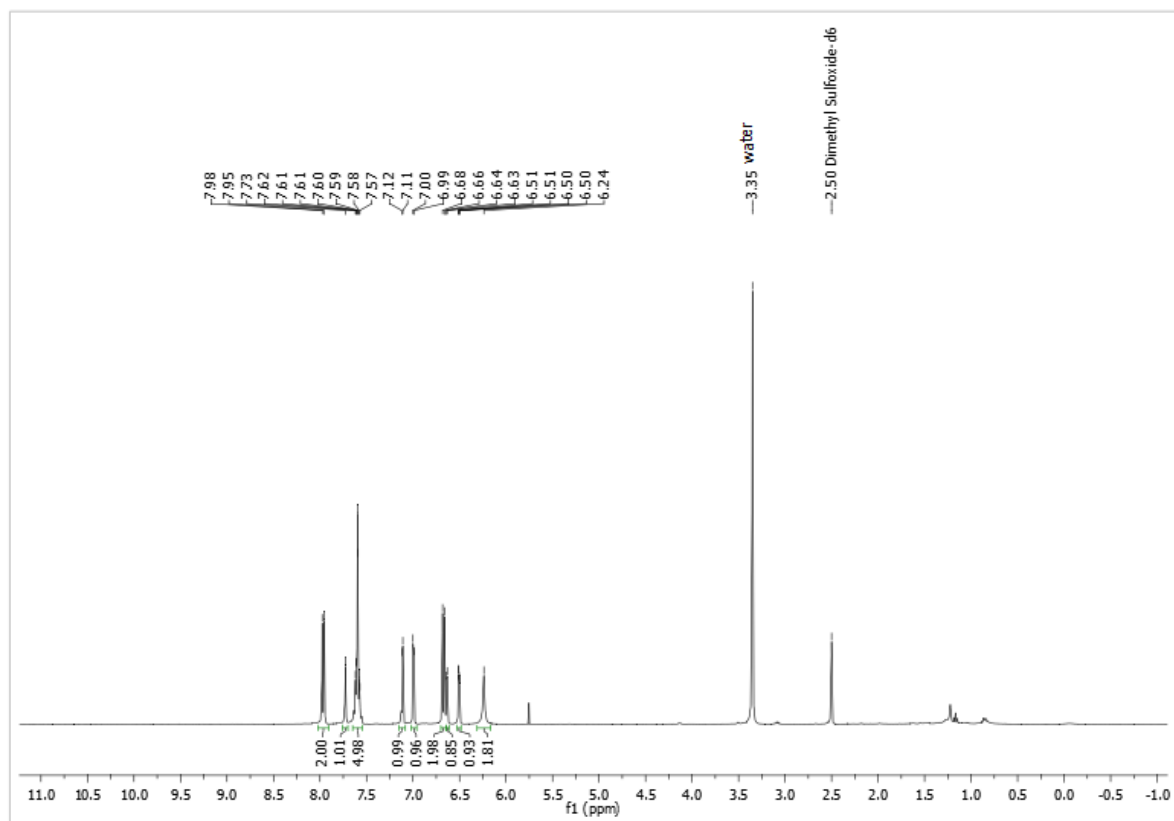
Apêndice 21: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **46** em CDCl_3 .



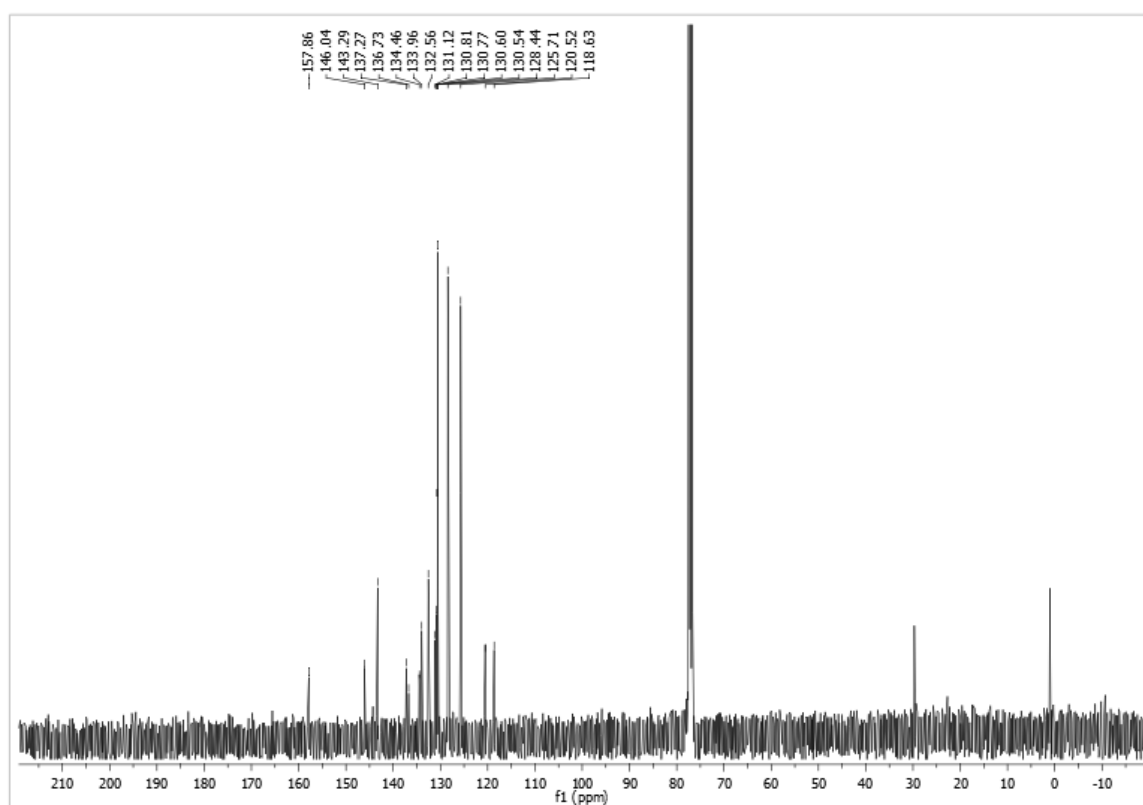
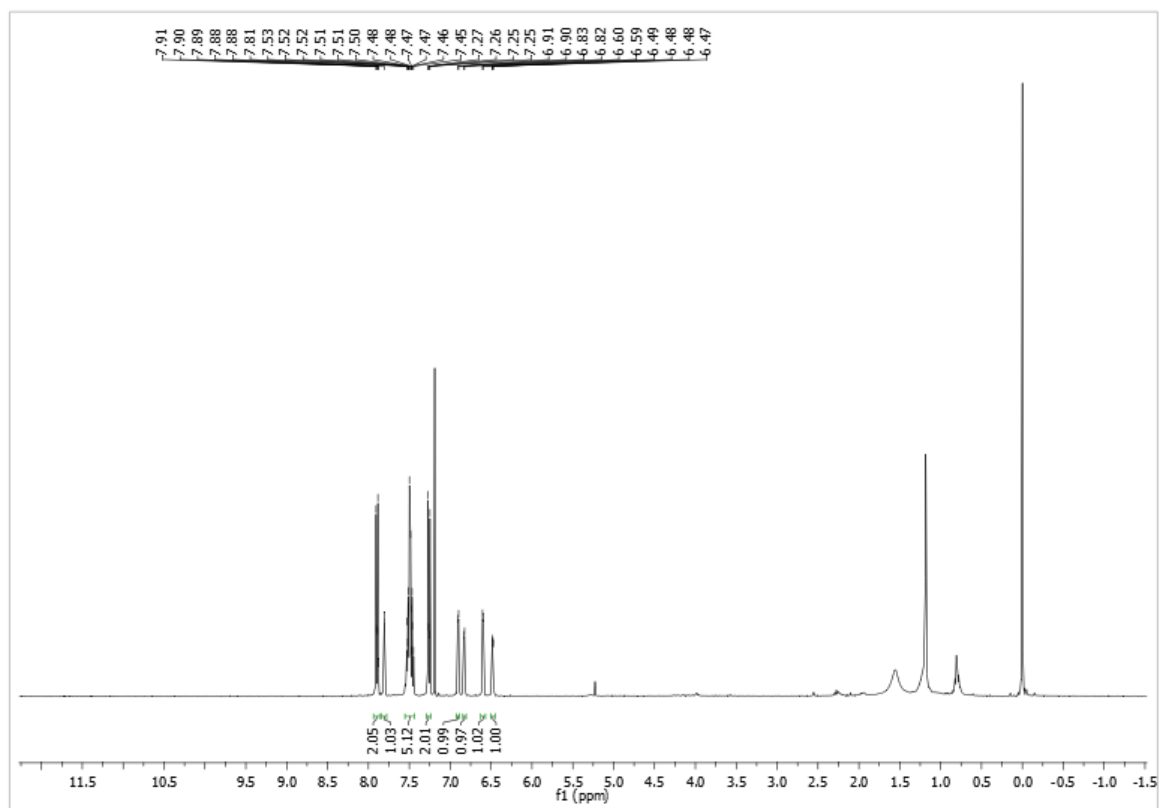
Apêndice 22: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **47** em CDCl_3 .

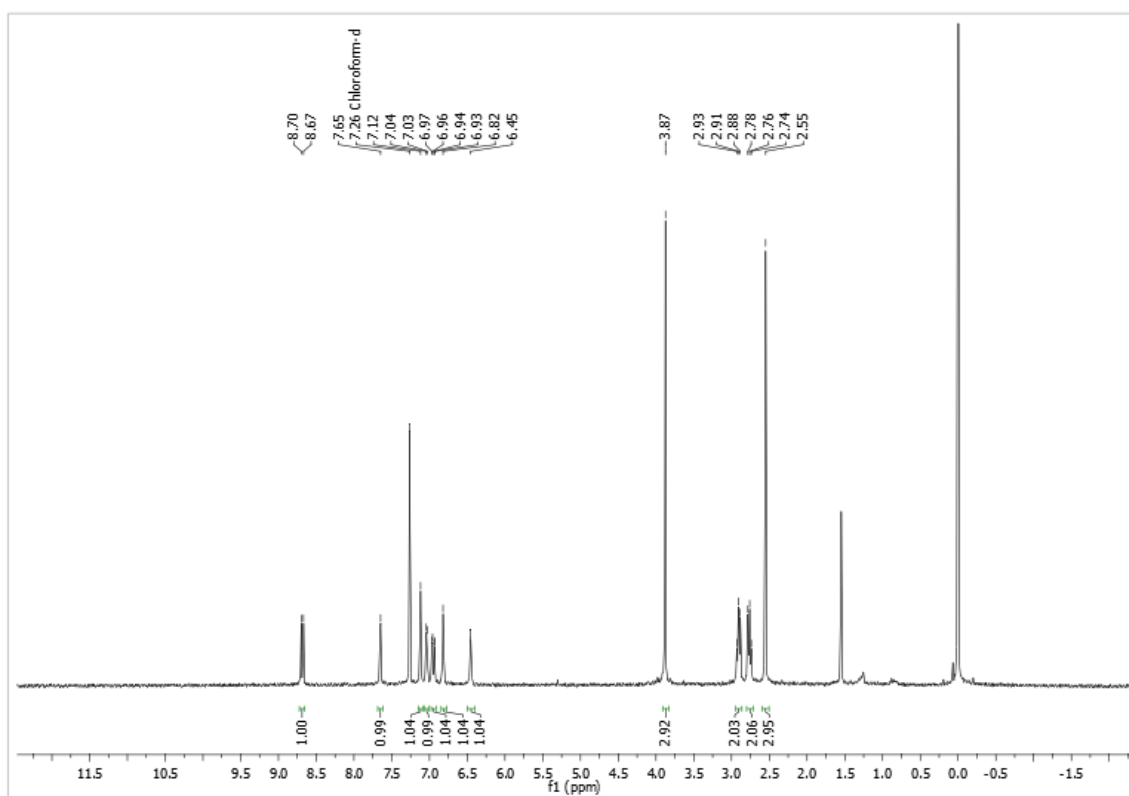
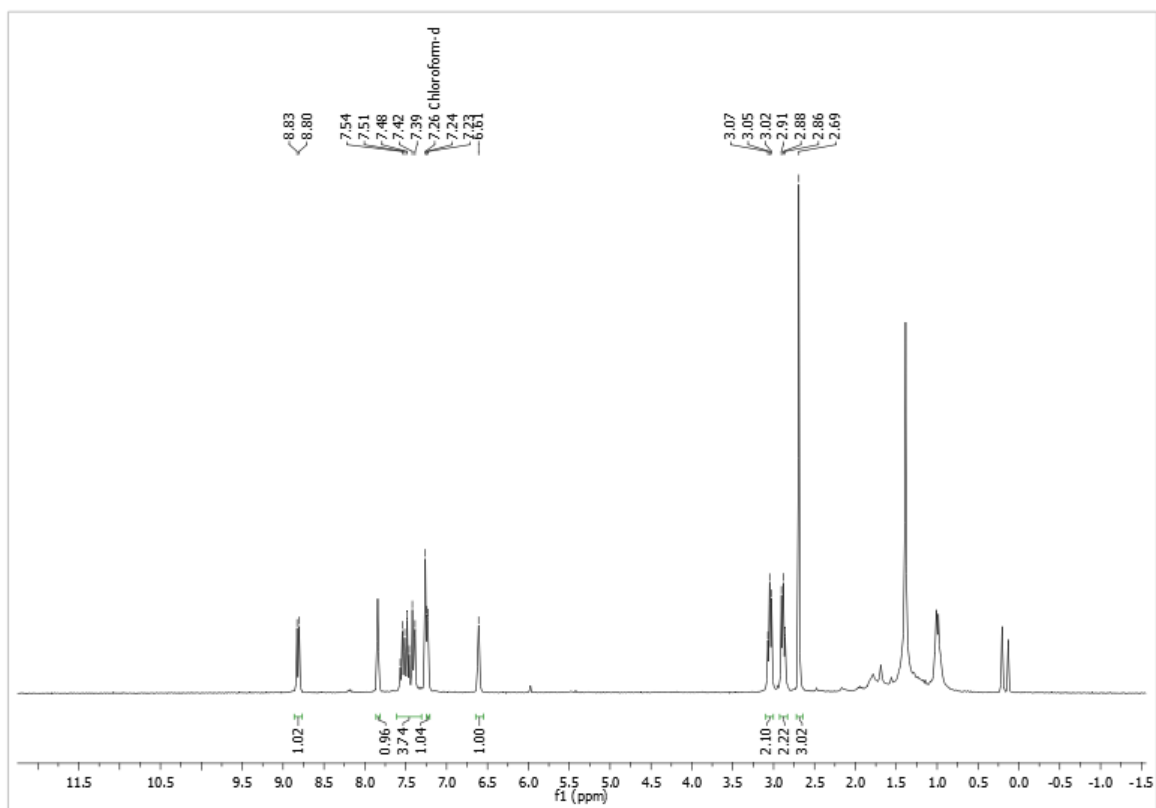


Apêndice 23: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **50** em DMSO.

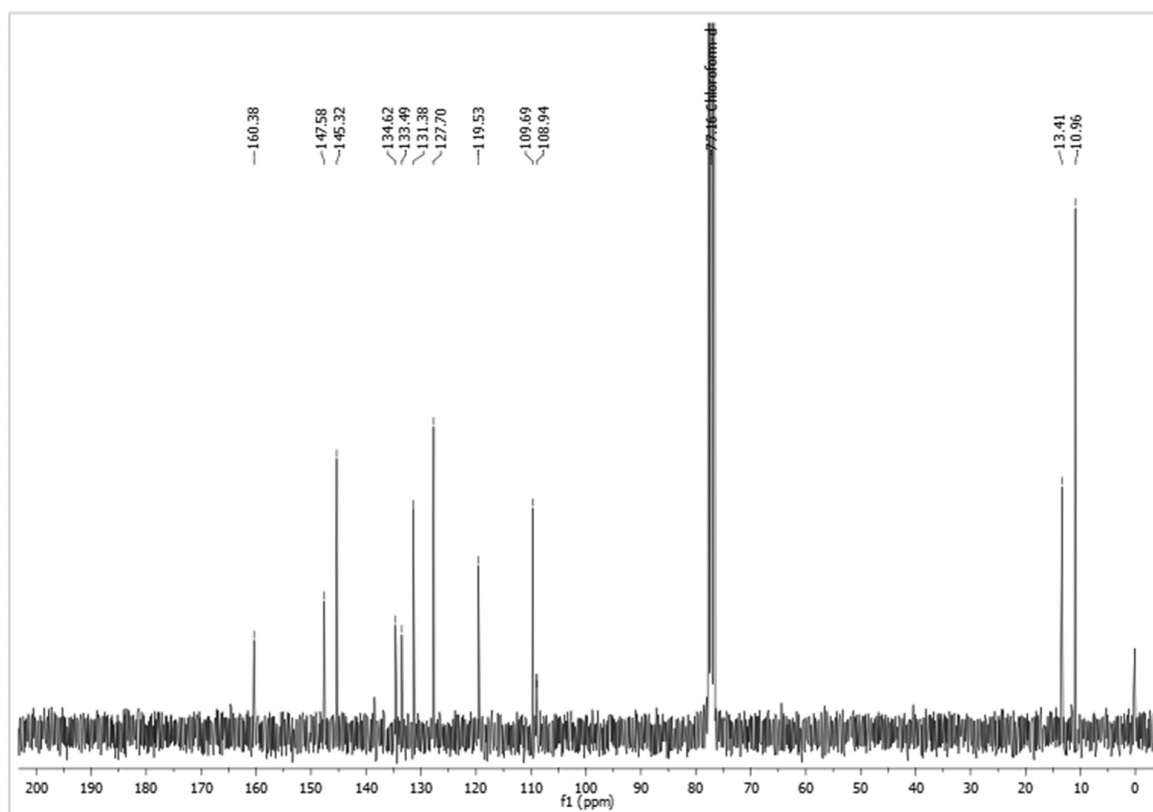
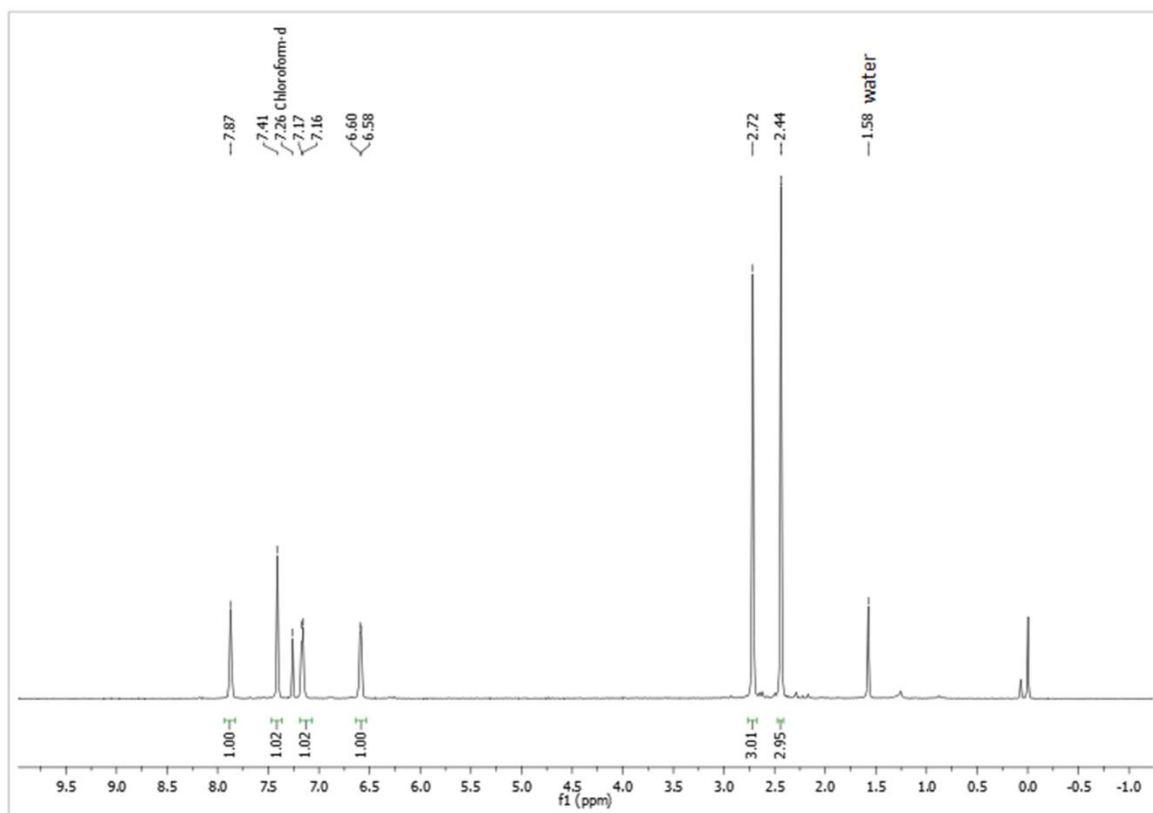


Apêndice 24: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **51** em CDCl_3 .

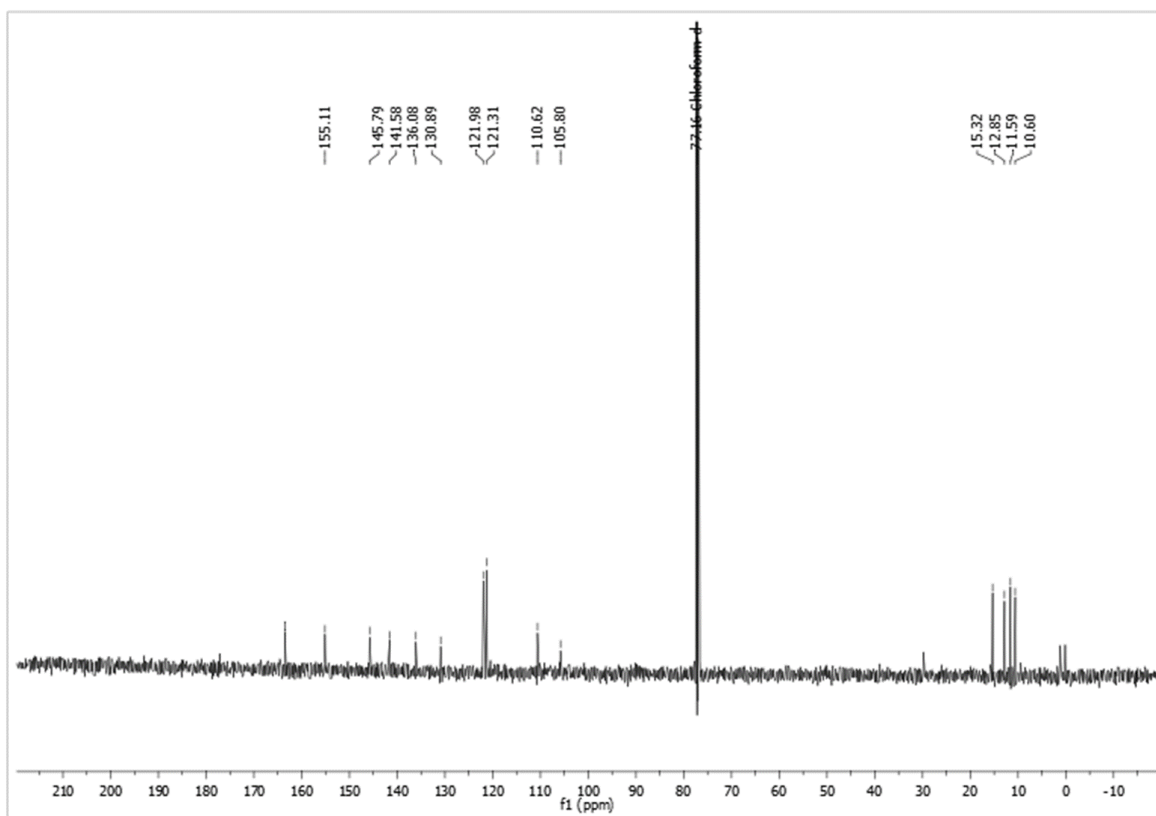
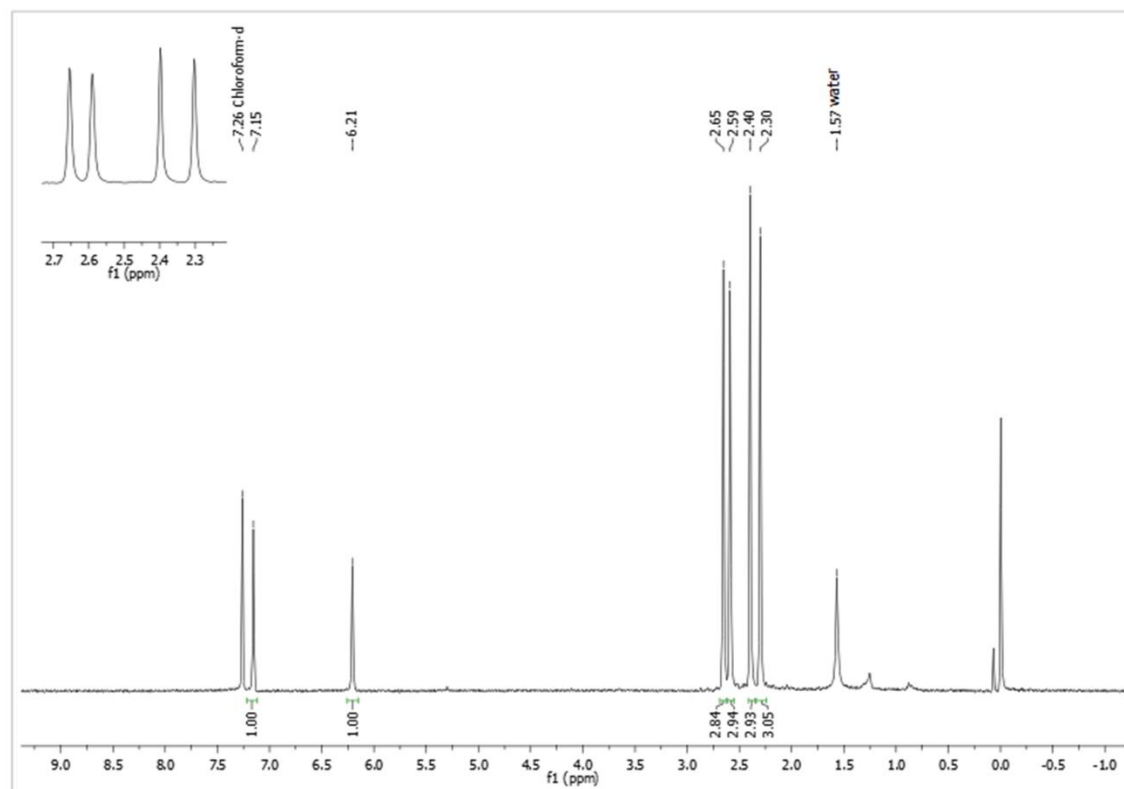


Apêndice 25: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) dos compostos **56** e **57** em CDCl_3 .

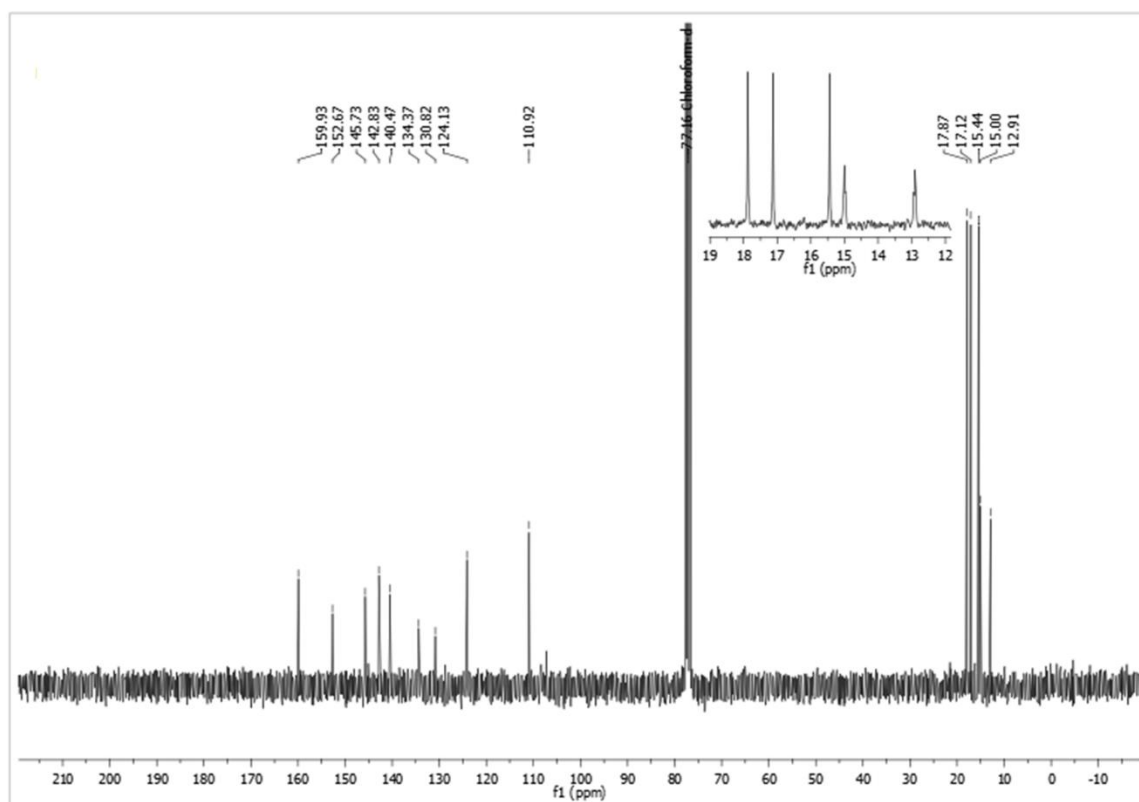
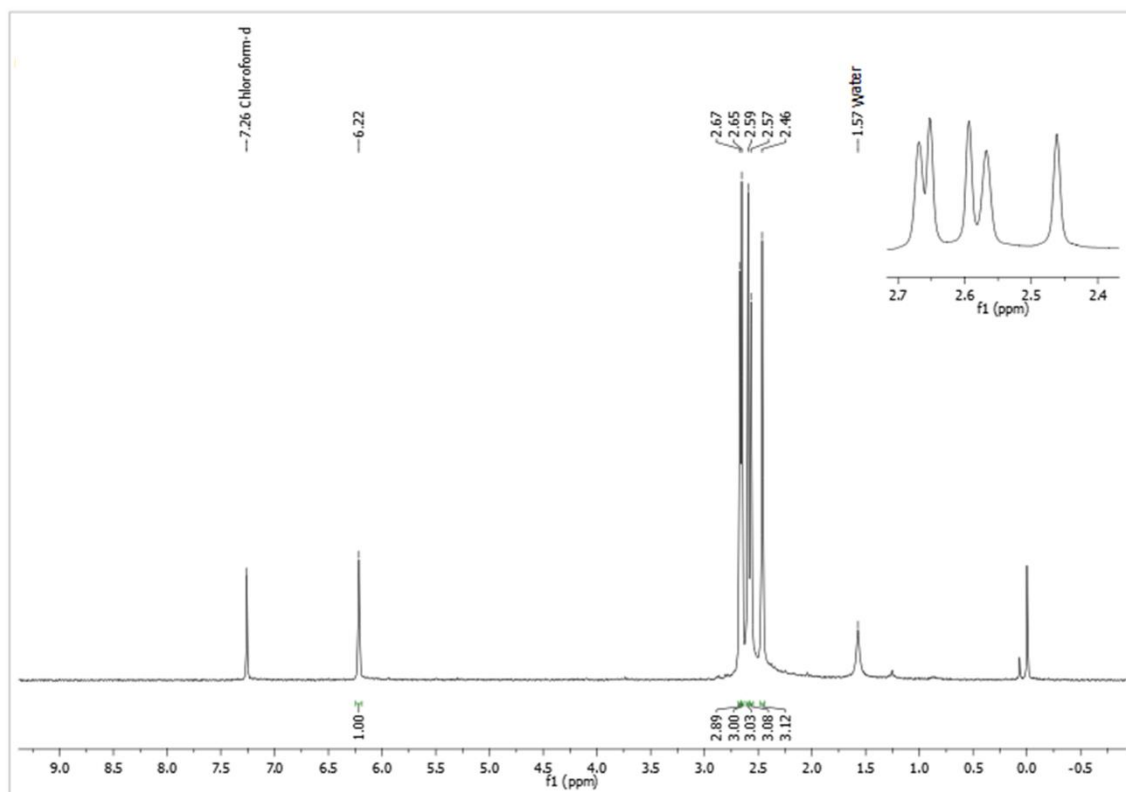
Apêndice 26: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **58** em CDCl_3 .



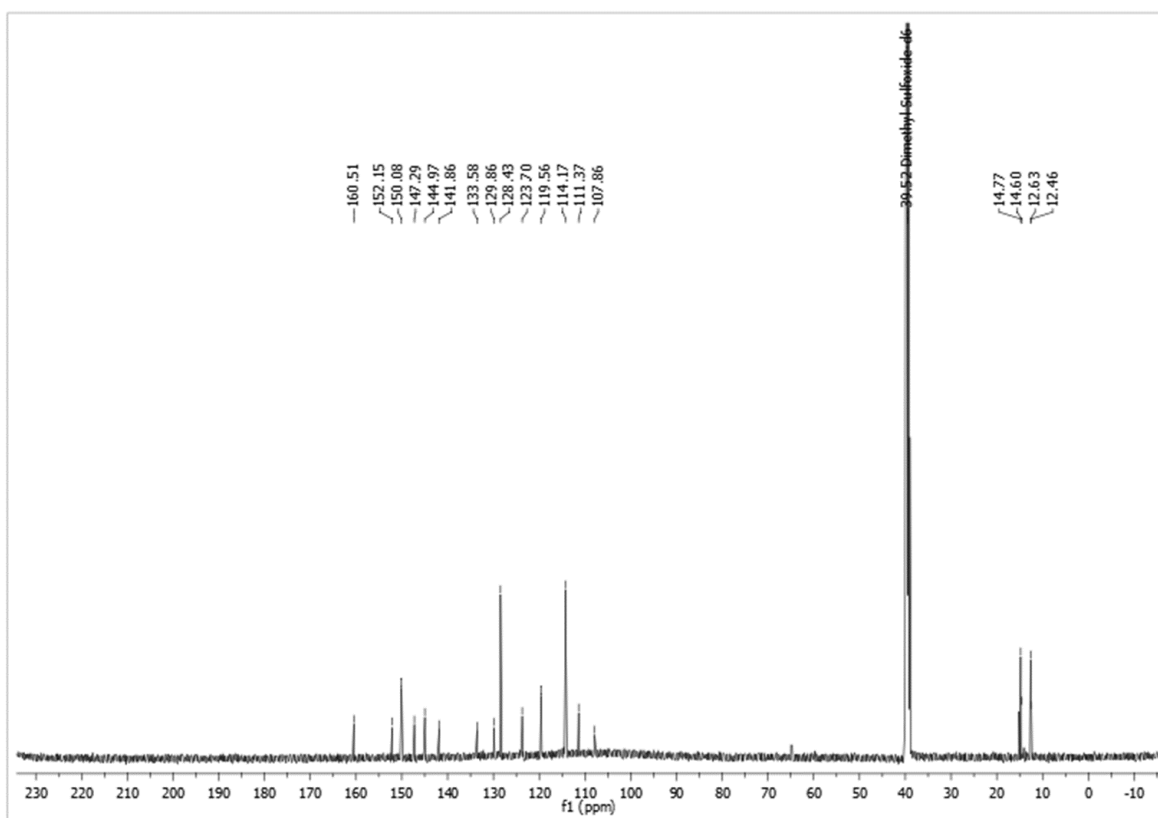
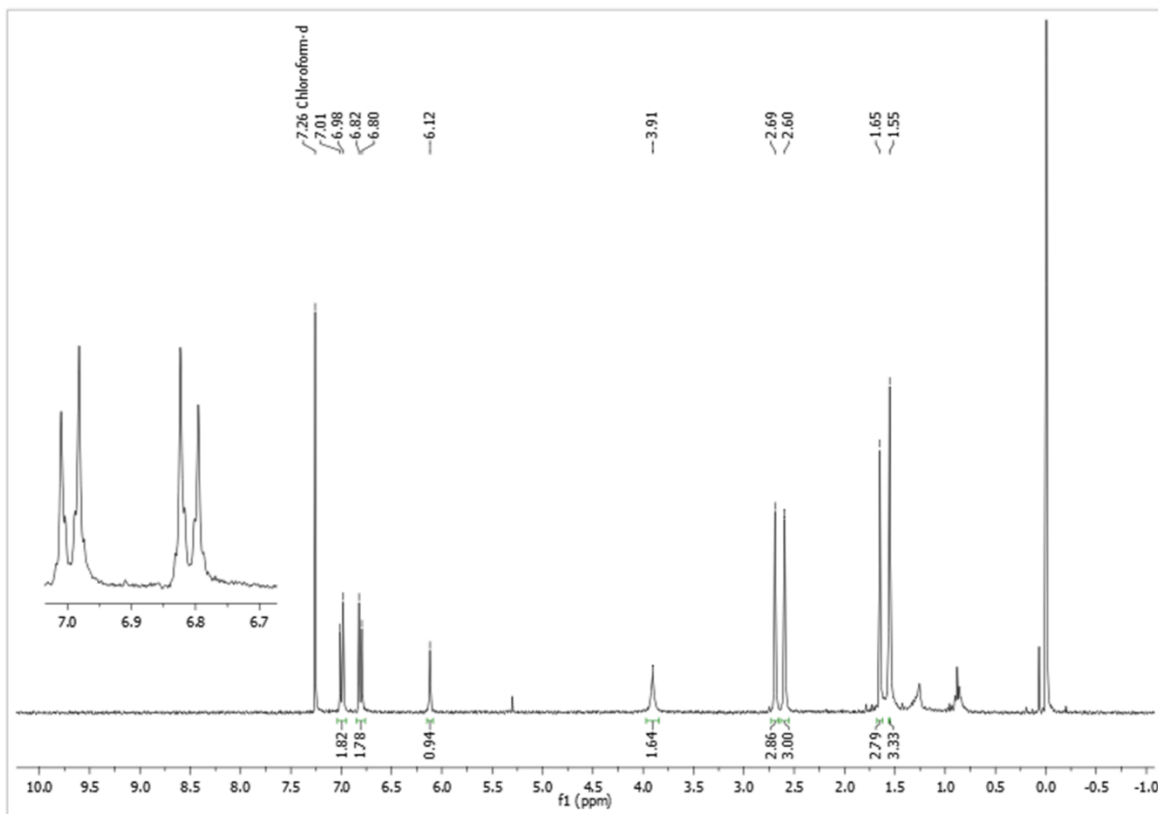
Apêndice 27: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **59** em CDCl_3 .



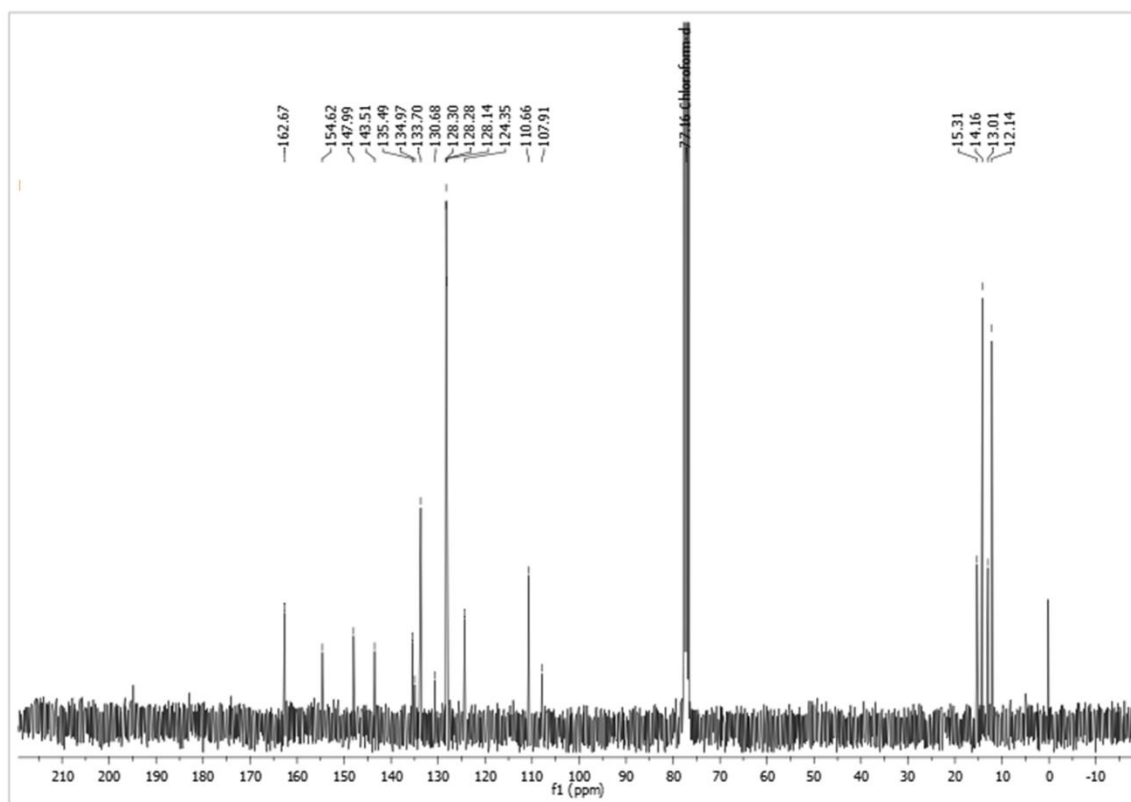
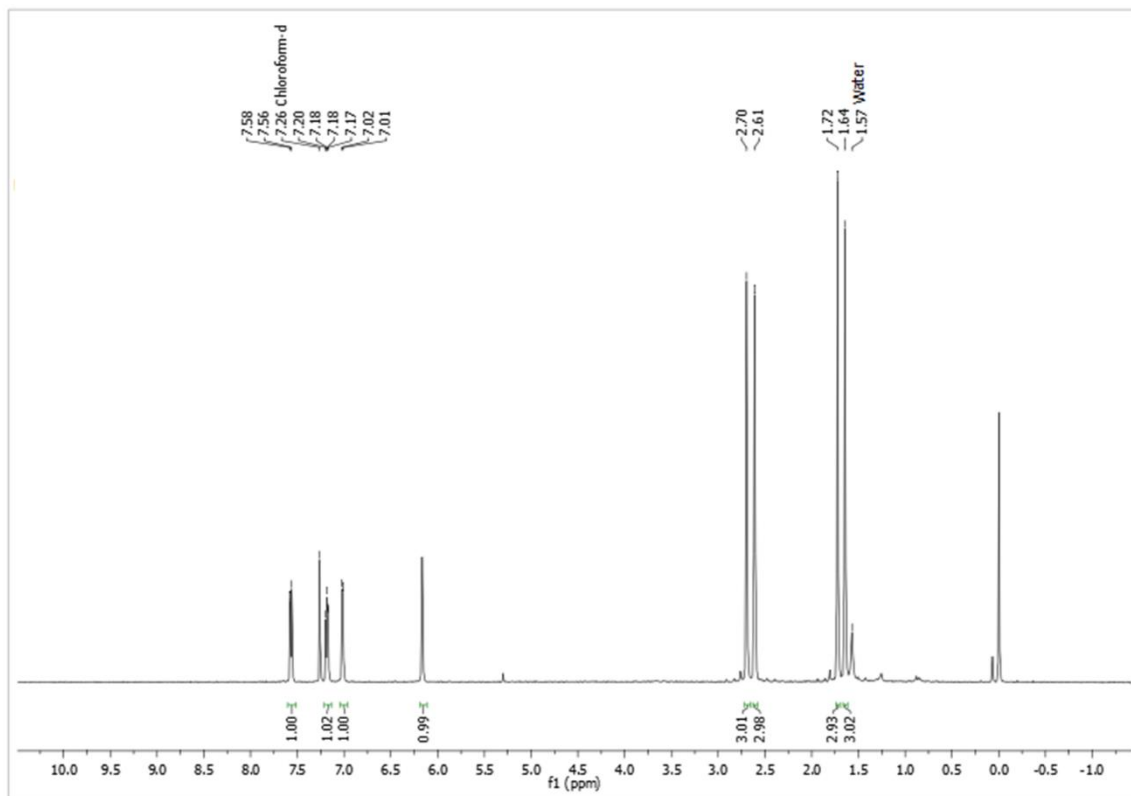
Apêndice 28: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **60** em CDCl_3 .

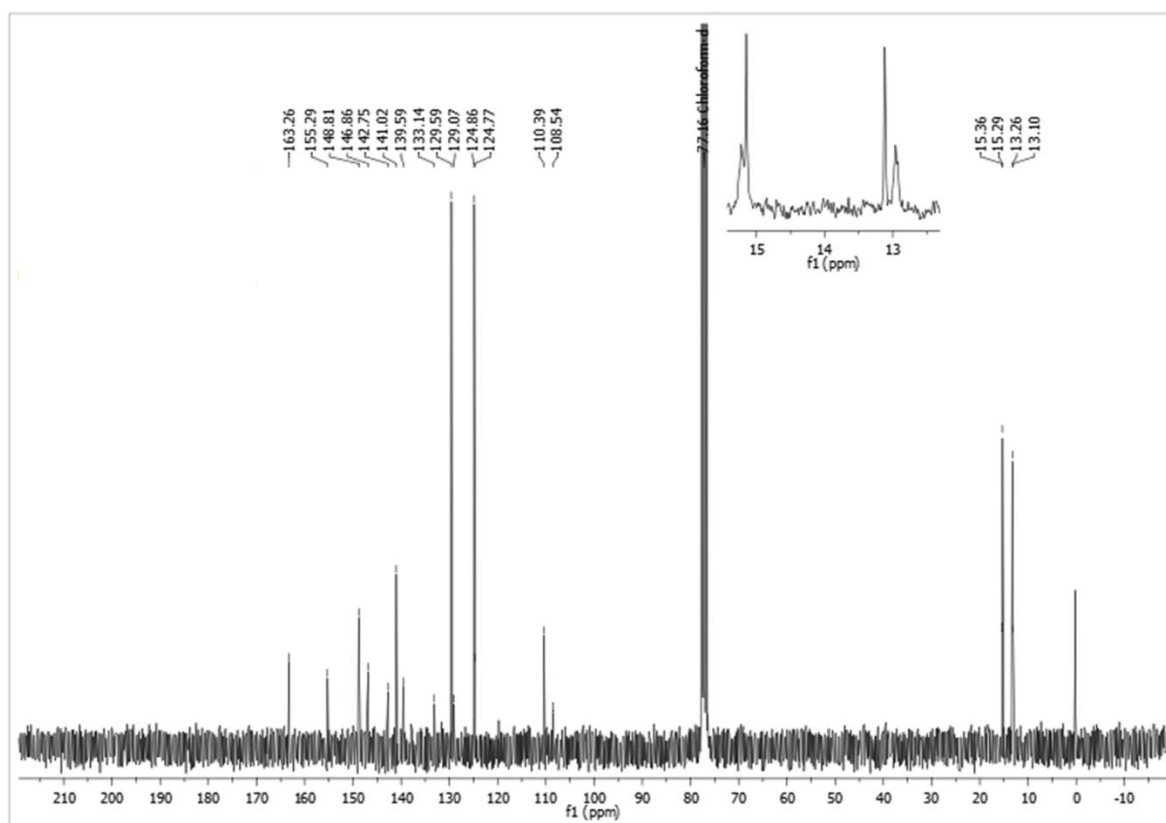
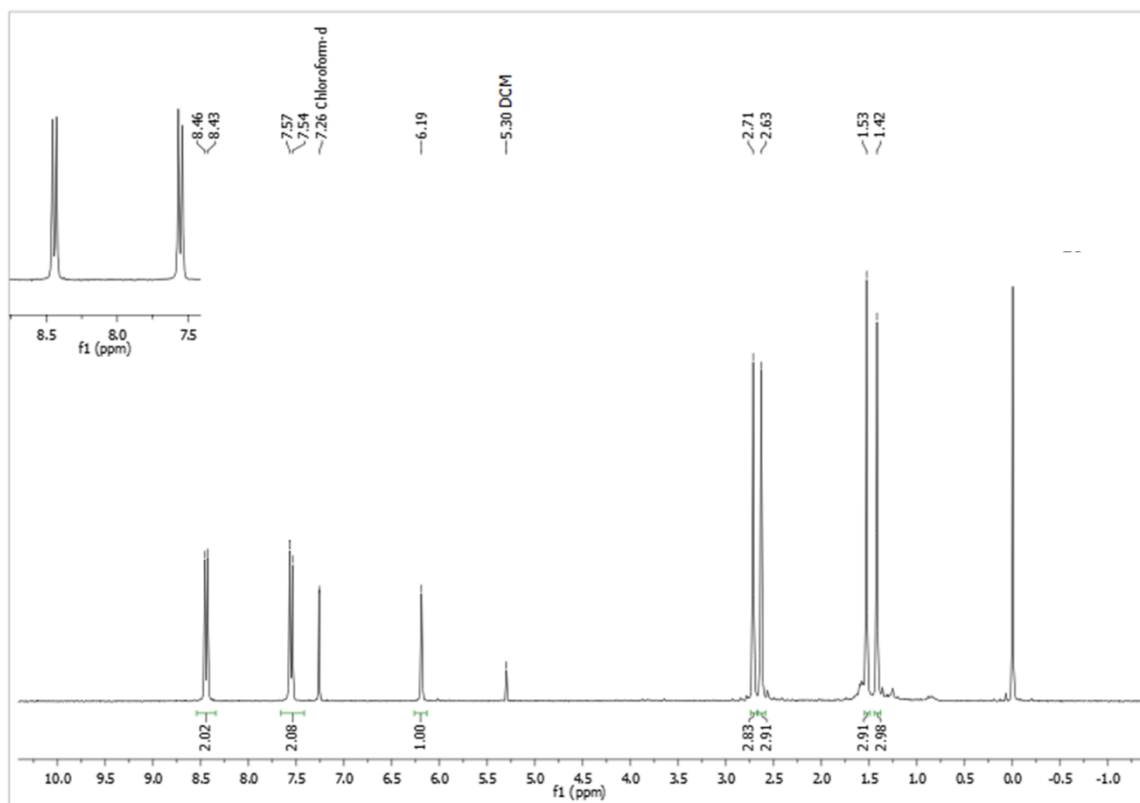


Apêndice 29: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 HMz) do composto **61** em CDCl_3 .

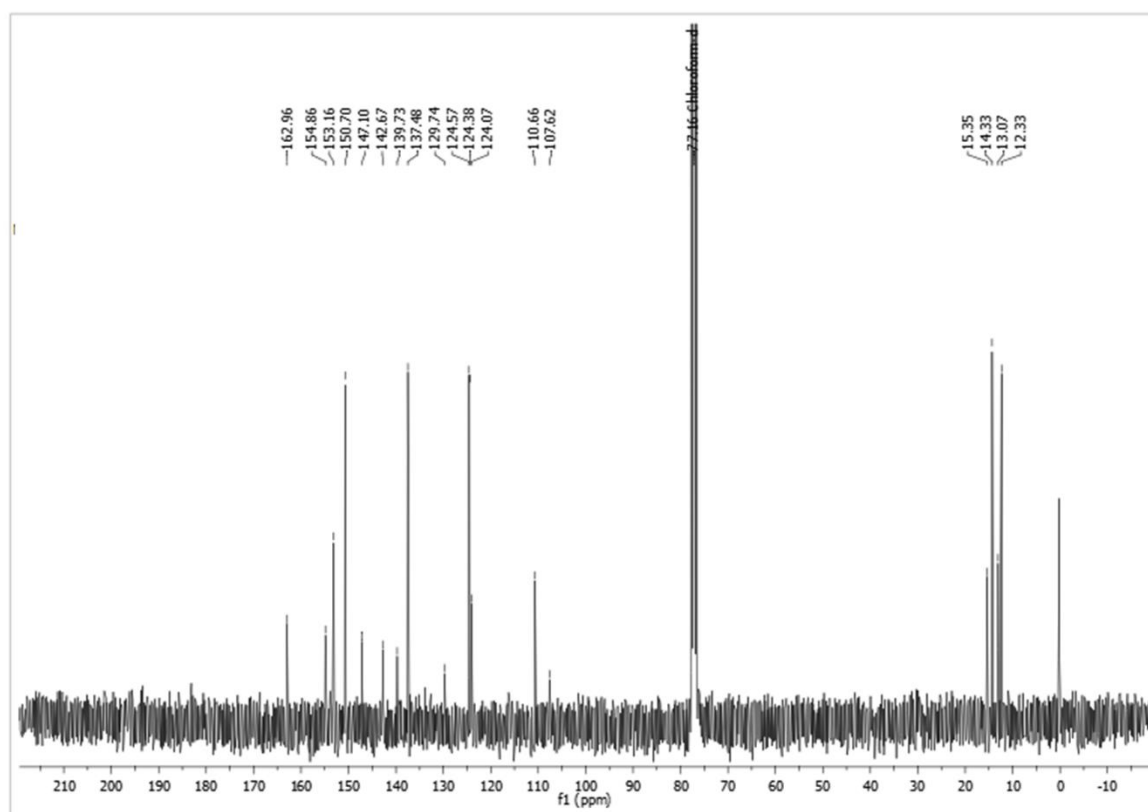
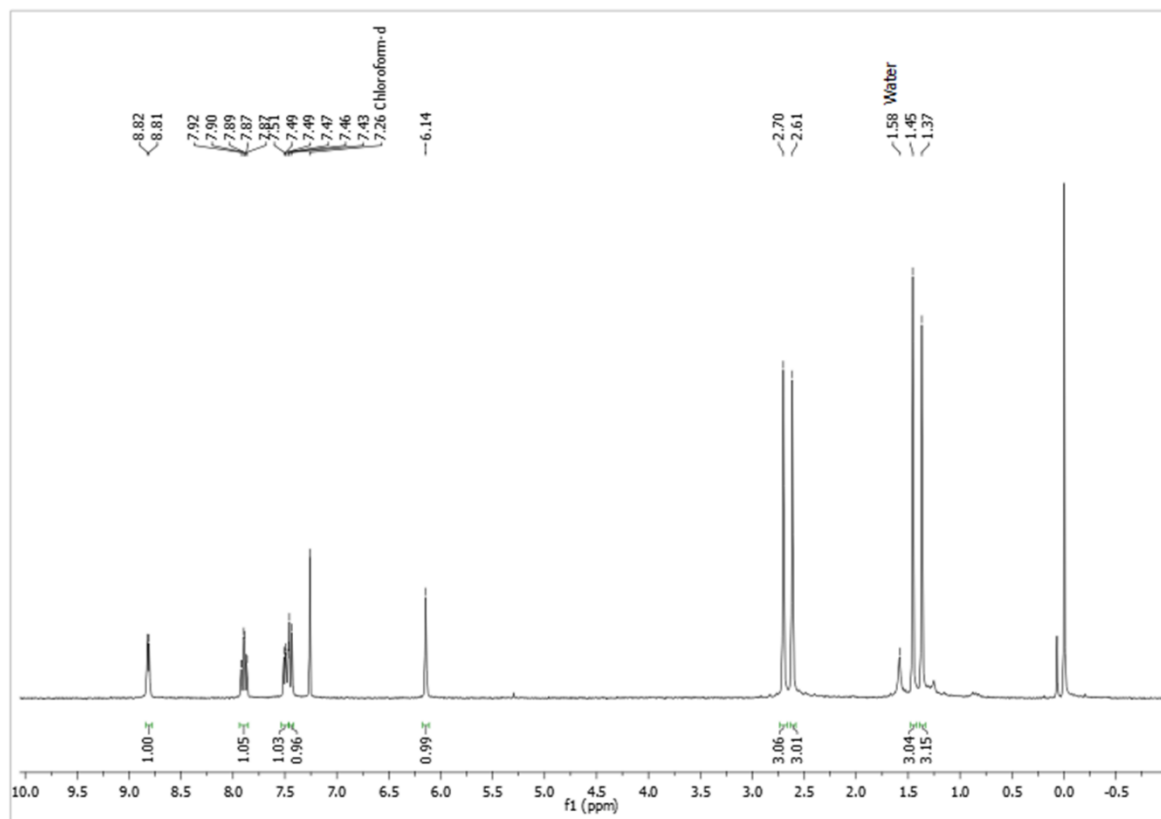


Apêndice 30: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **62** em CDCl_3 .

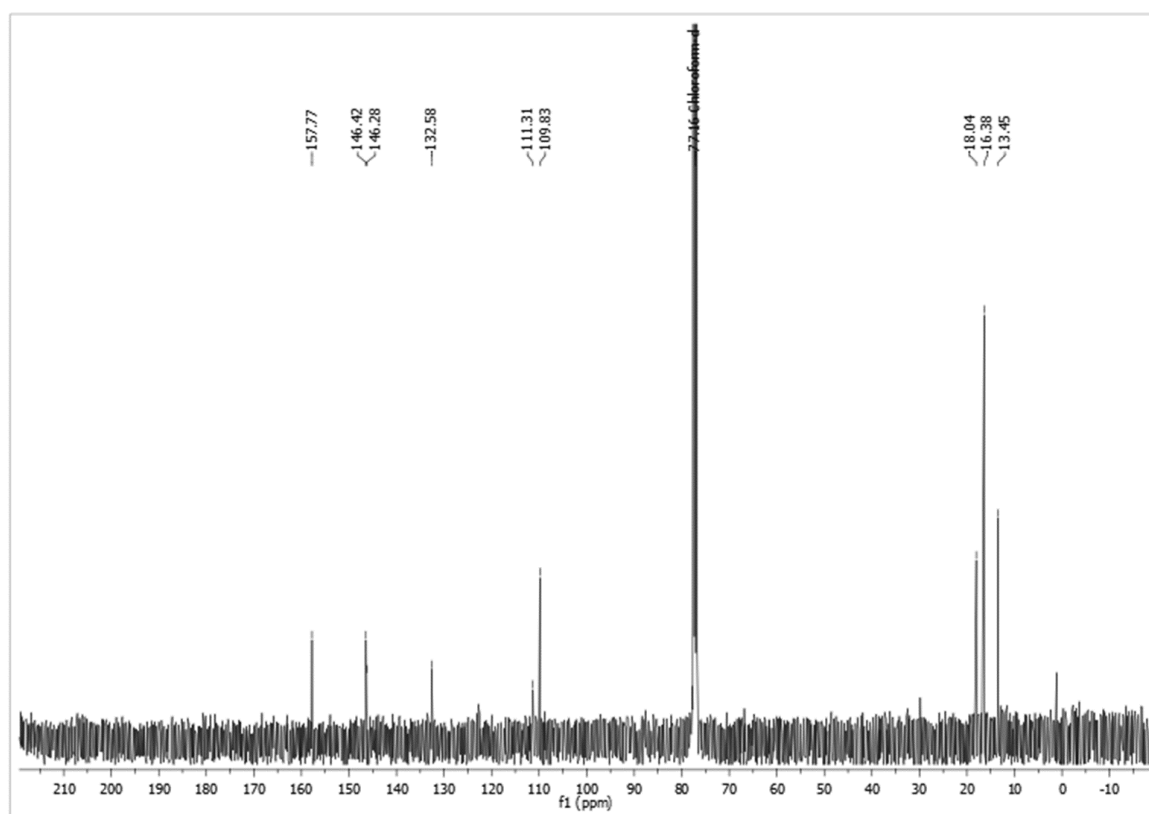
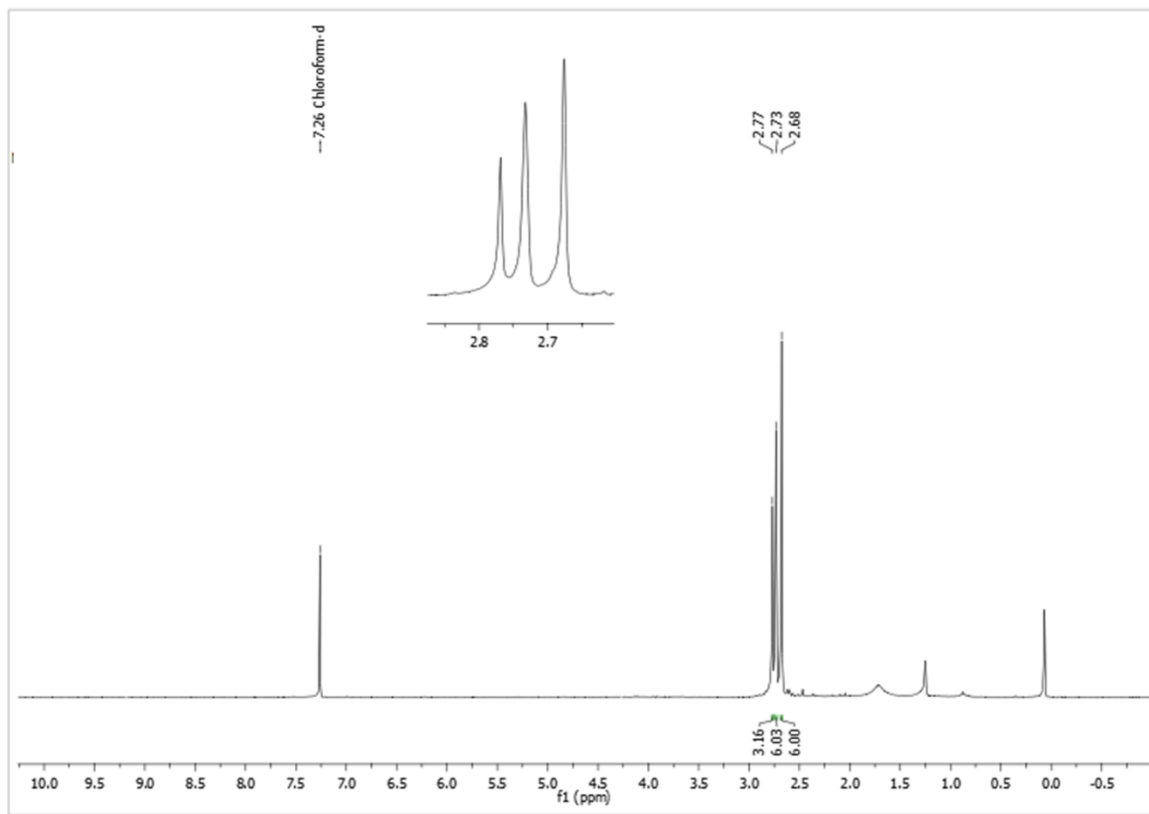


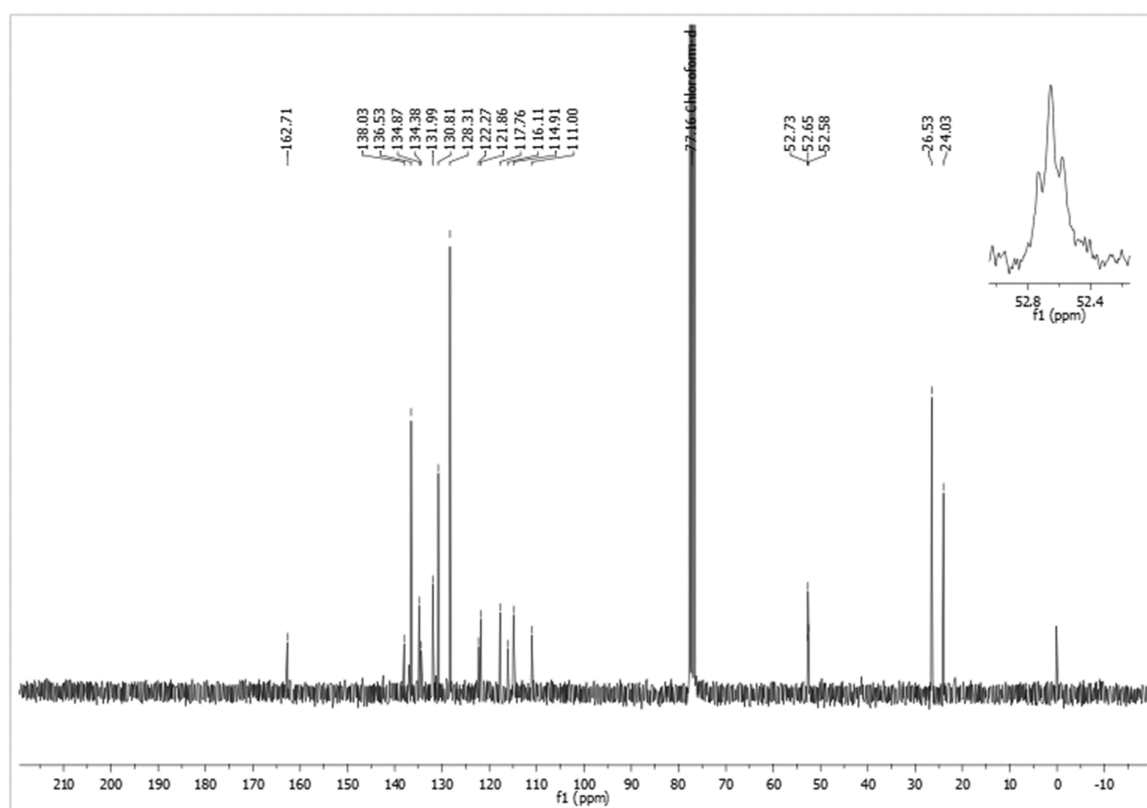
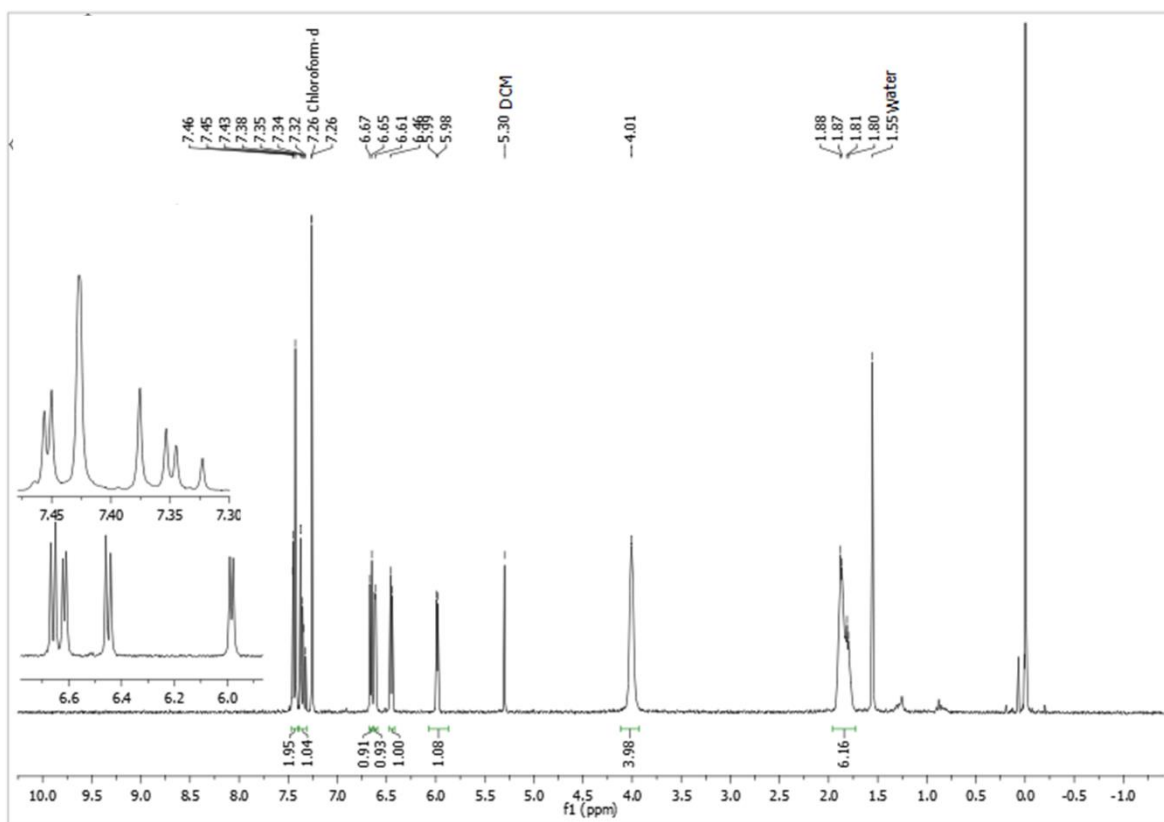
Apêndice 31: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **63** em CDCl_3 .

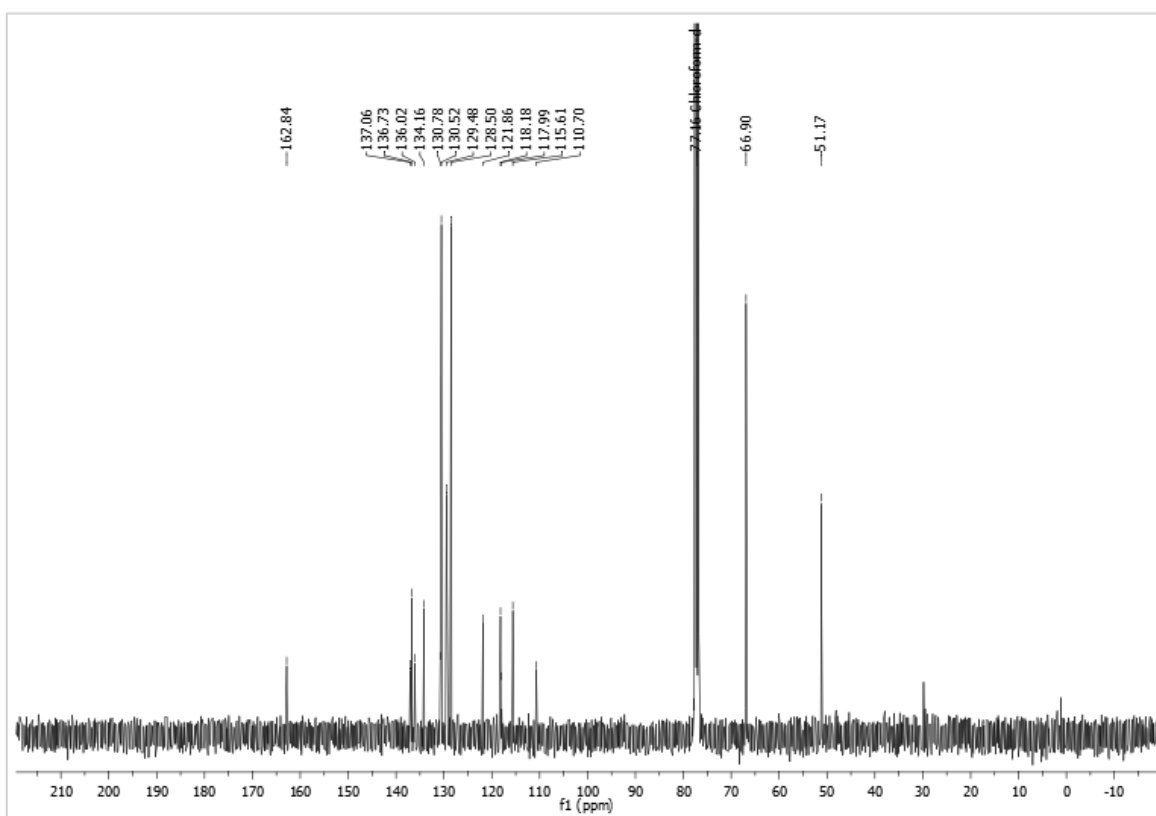
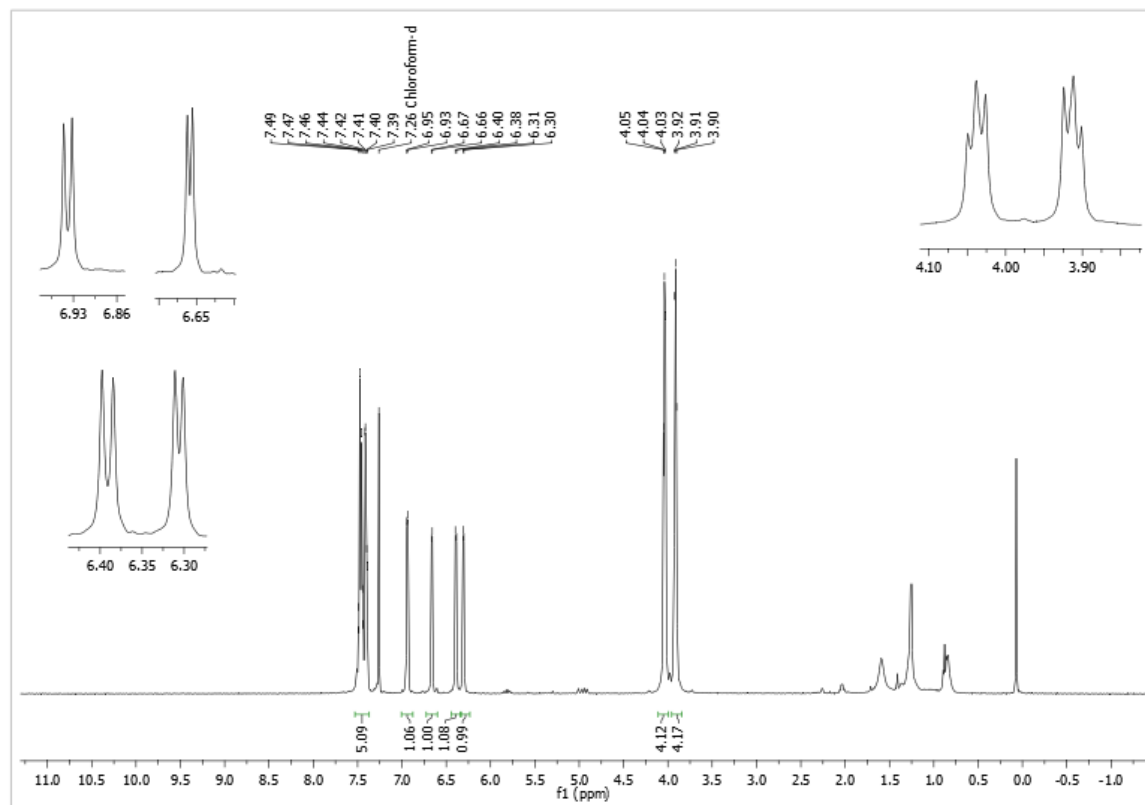
Apêndice 32: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **64** em CDCl_3 .

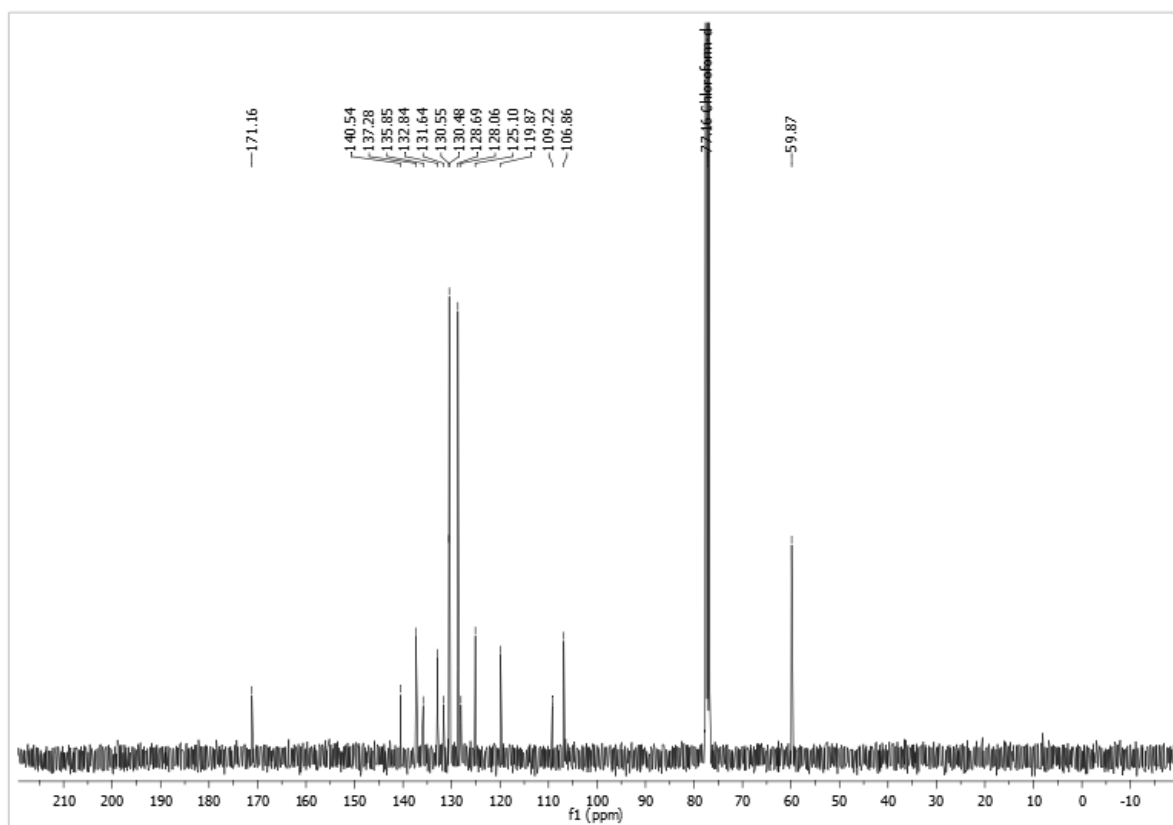
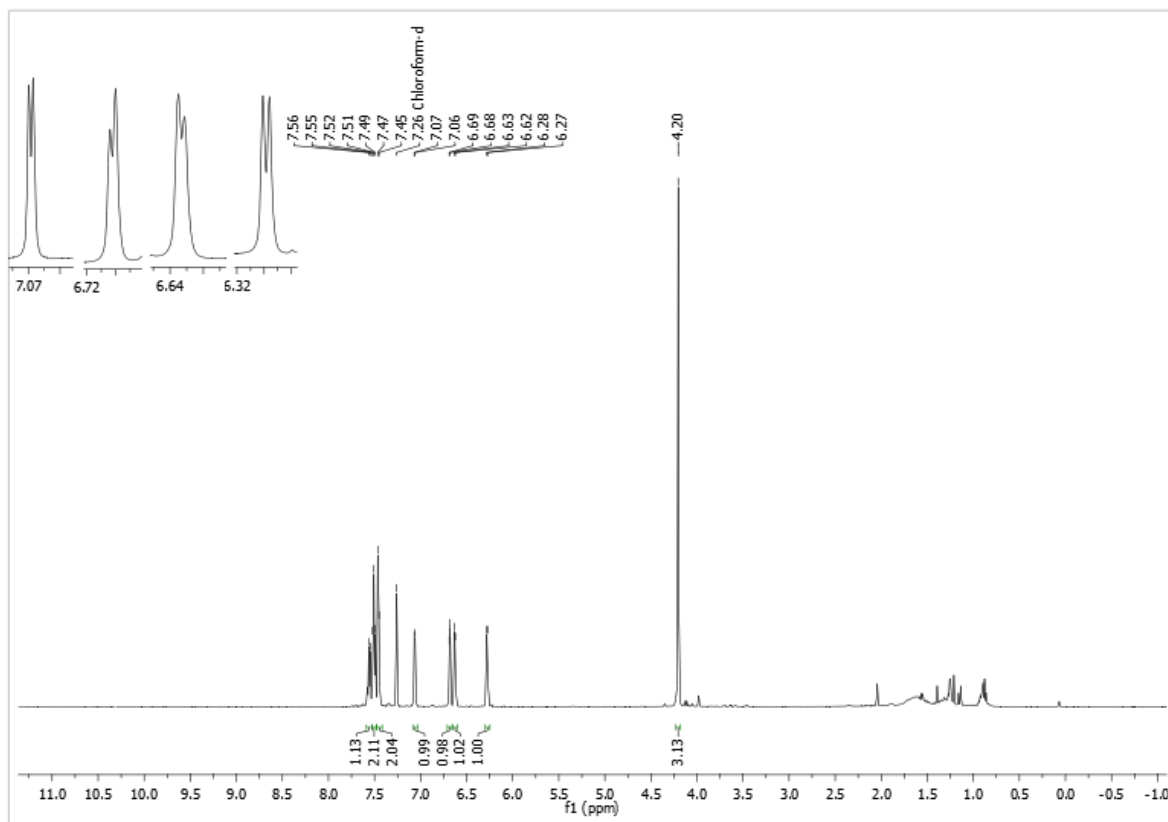


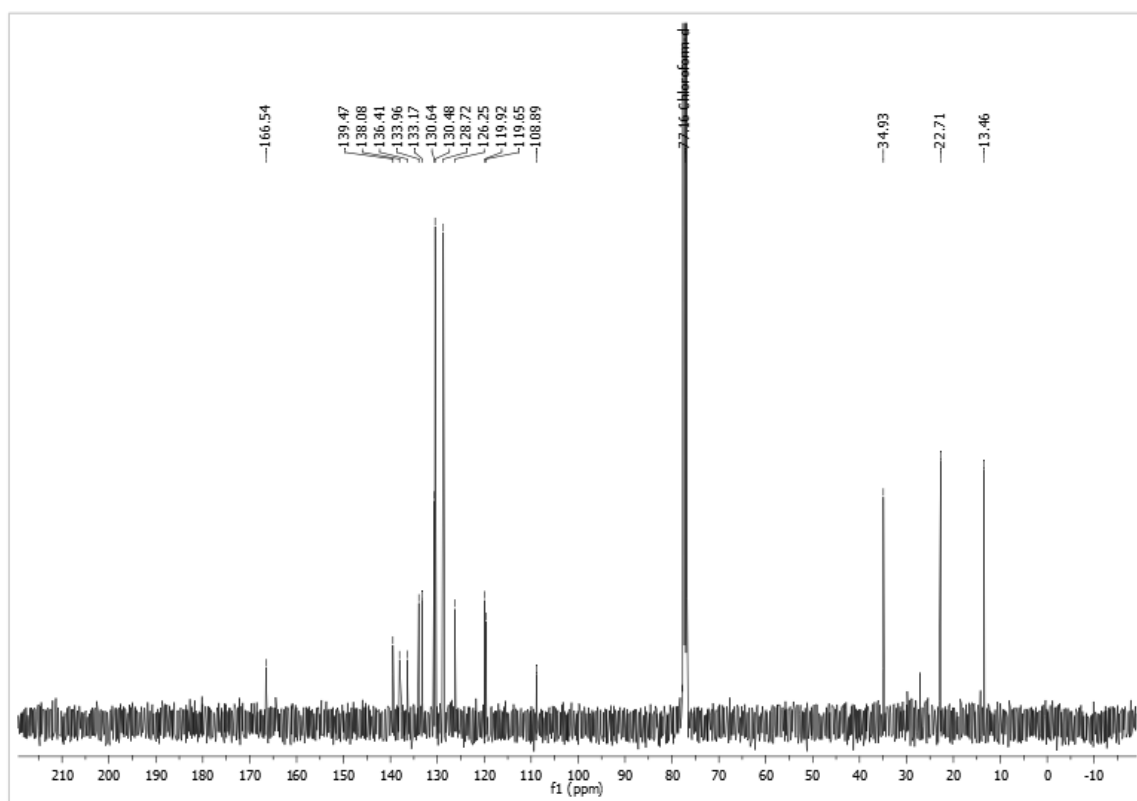
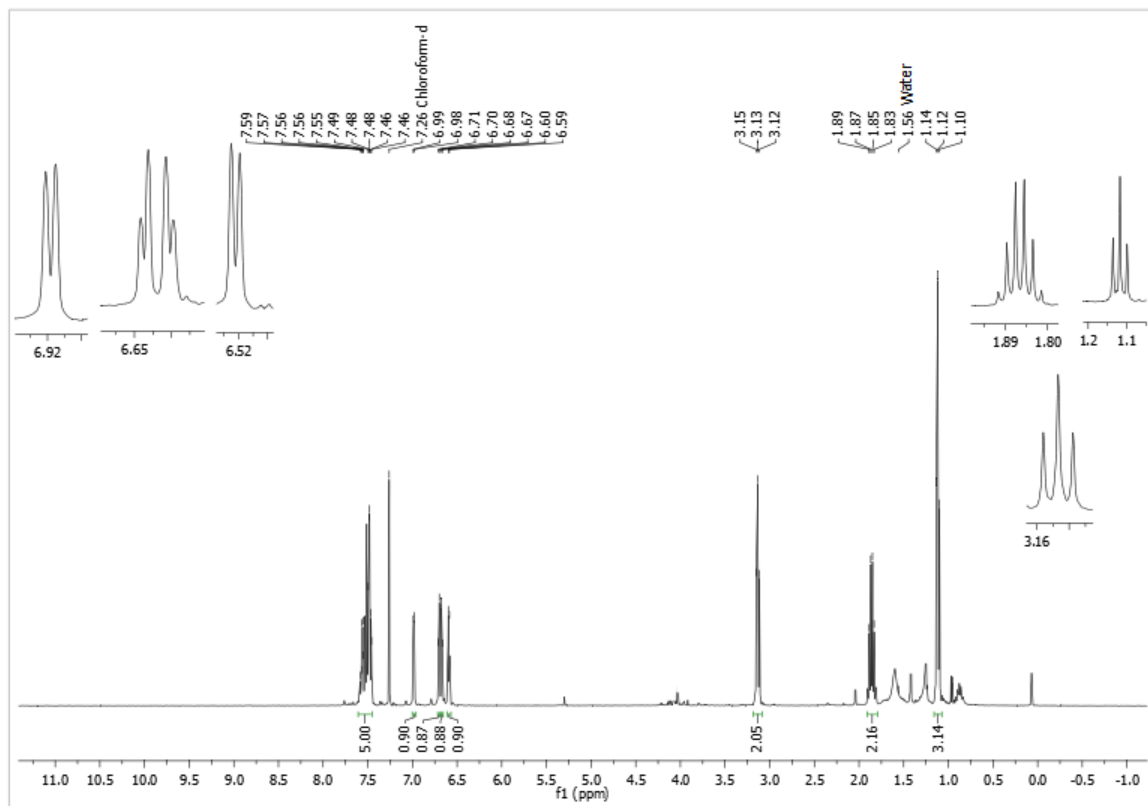
Apêndice 33: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **65** em CDCl_3 .

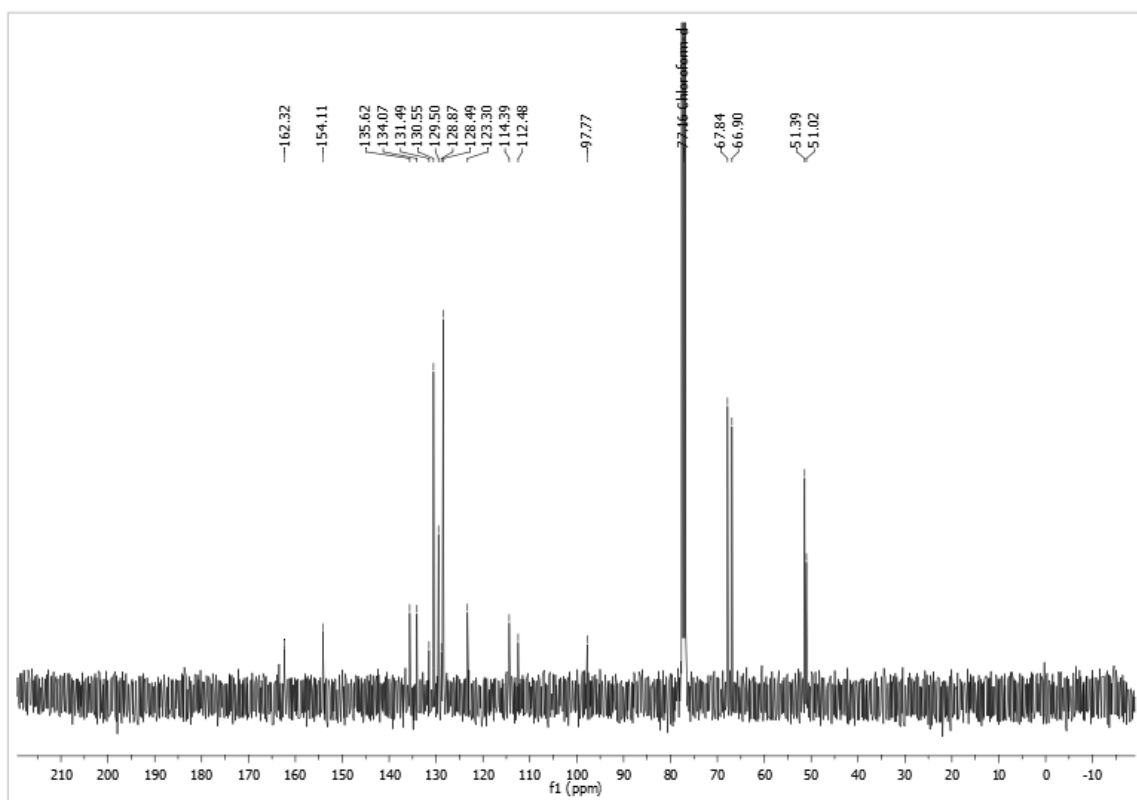
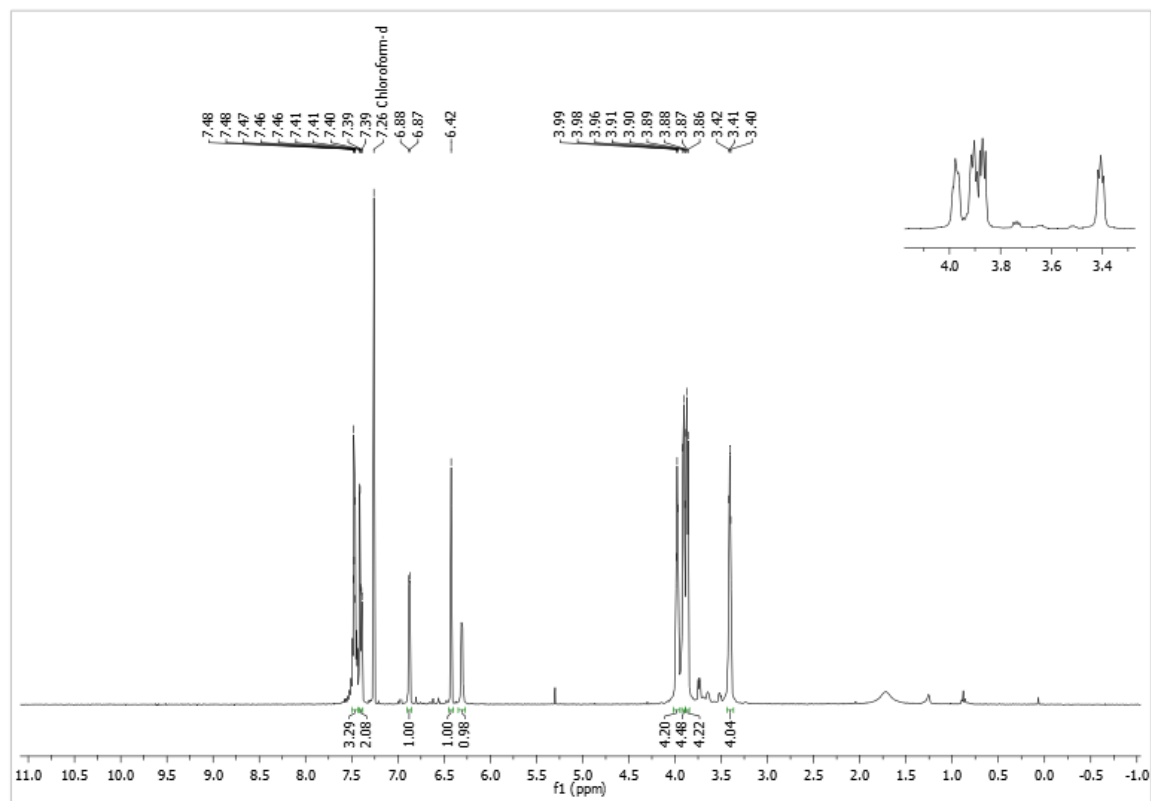


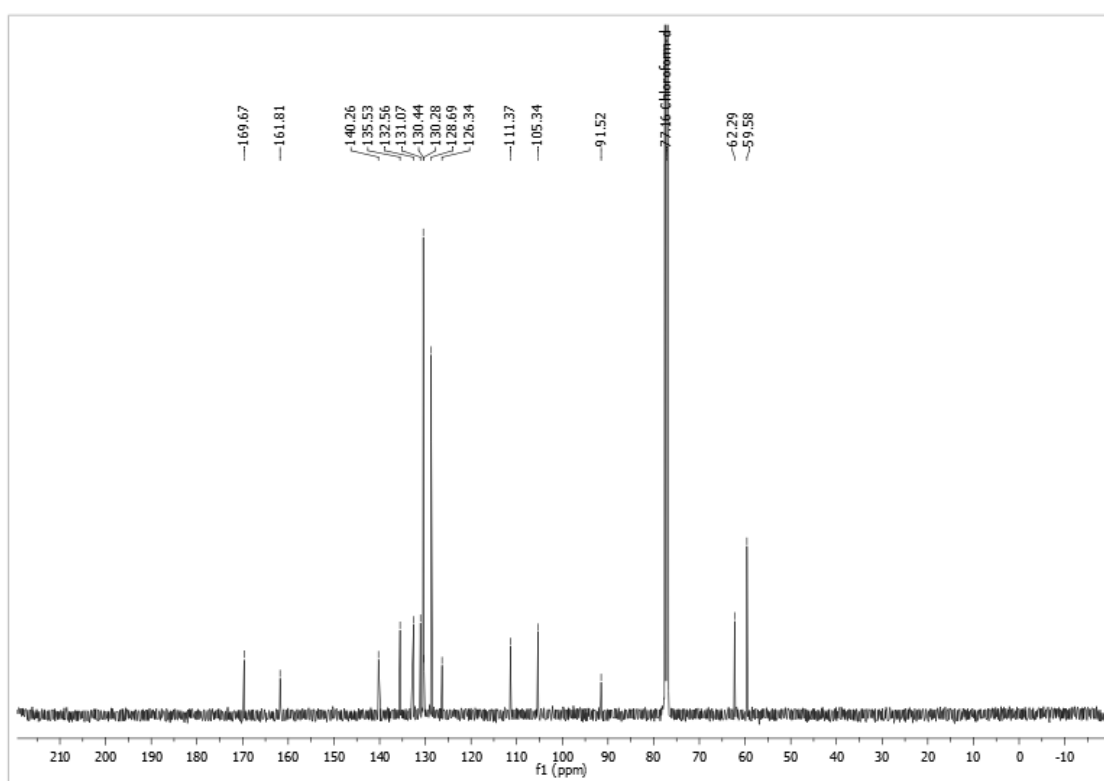
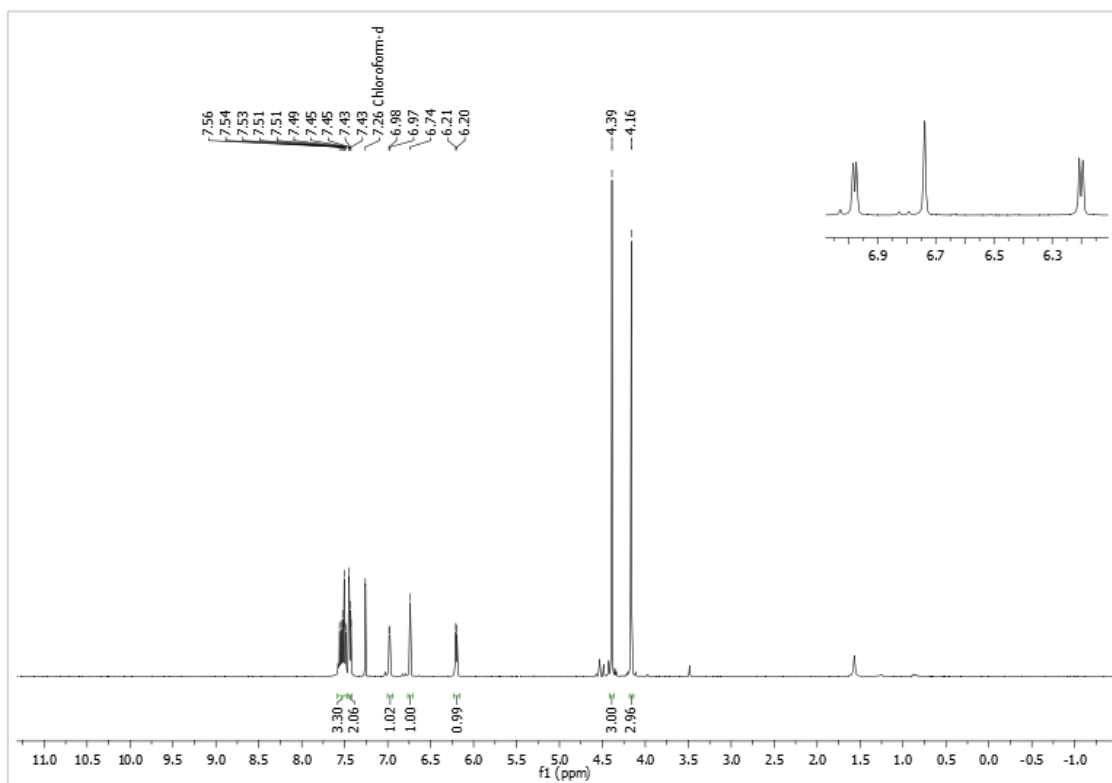
Apêndice 34: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **66** em CDCl_3 .

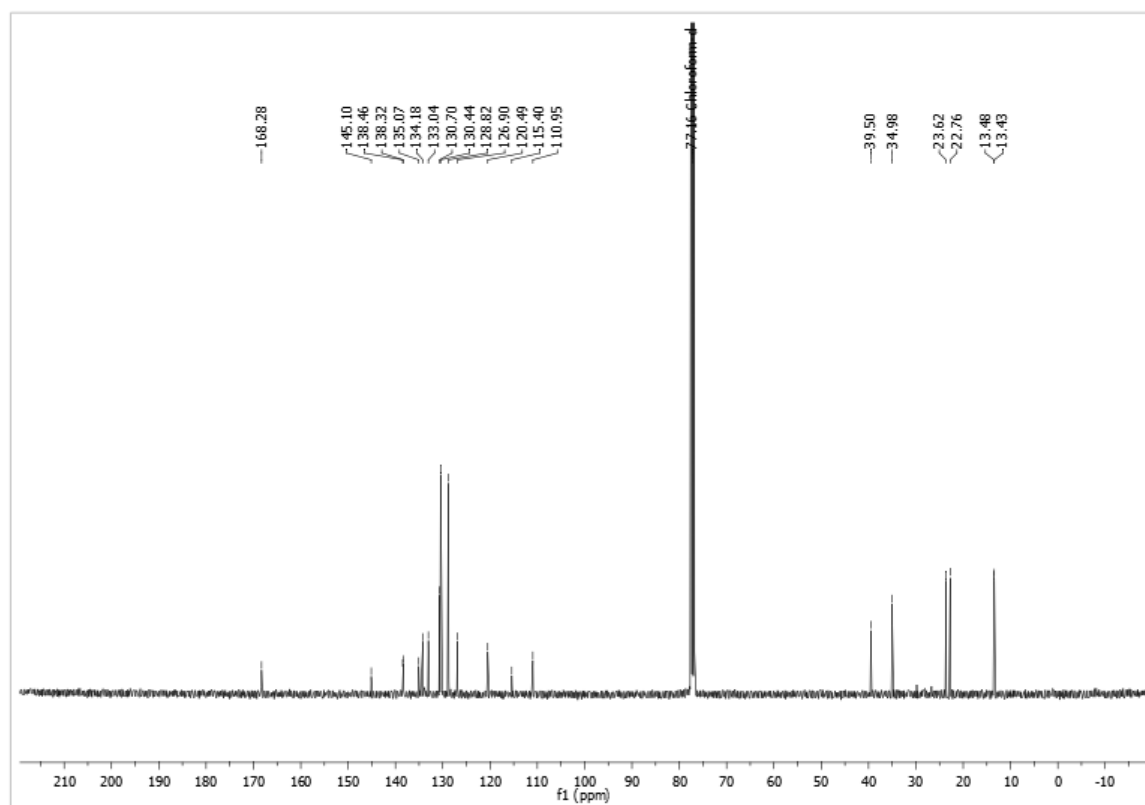
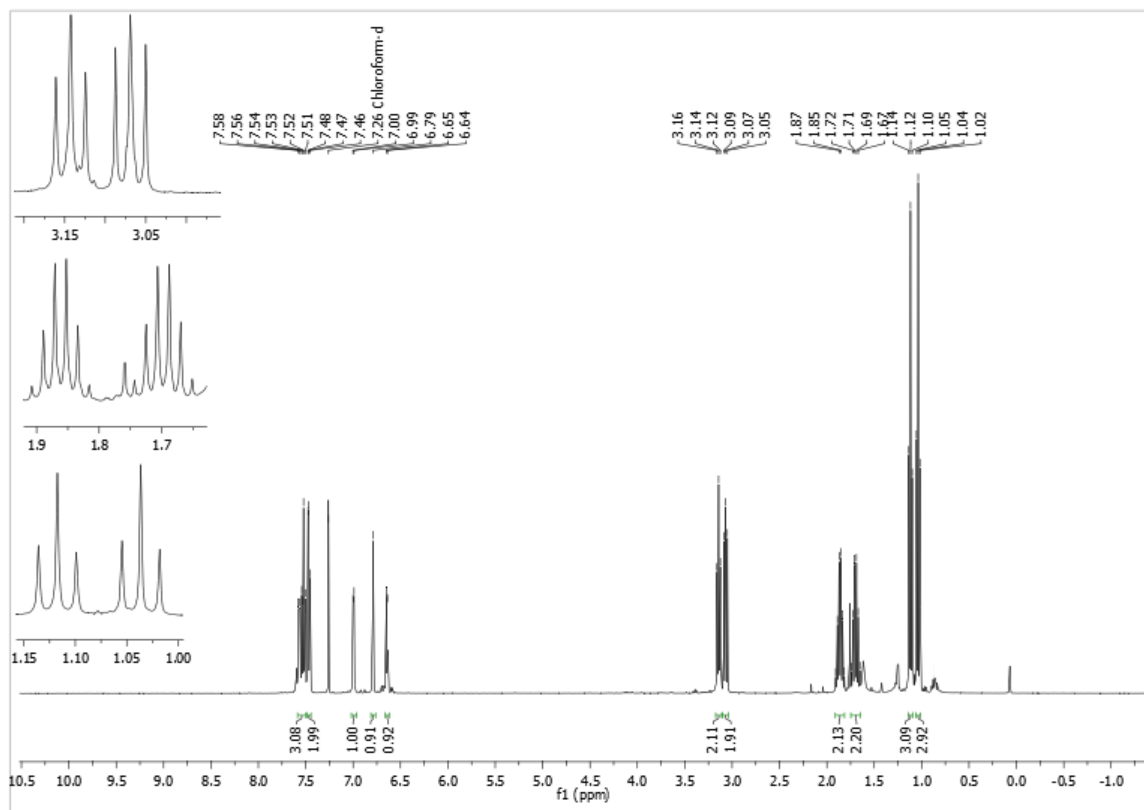
Apêndice 35: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **67** em CDCl_3 .

Apêndice 36: Espectros de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **68** em CDCl_3 .

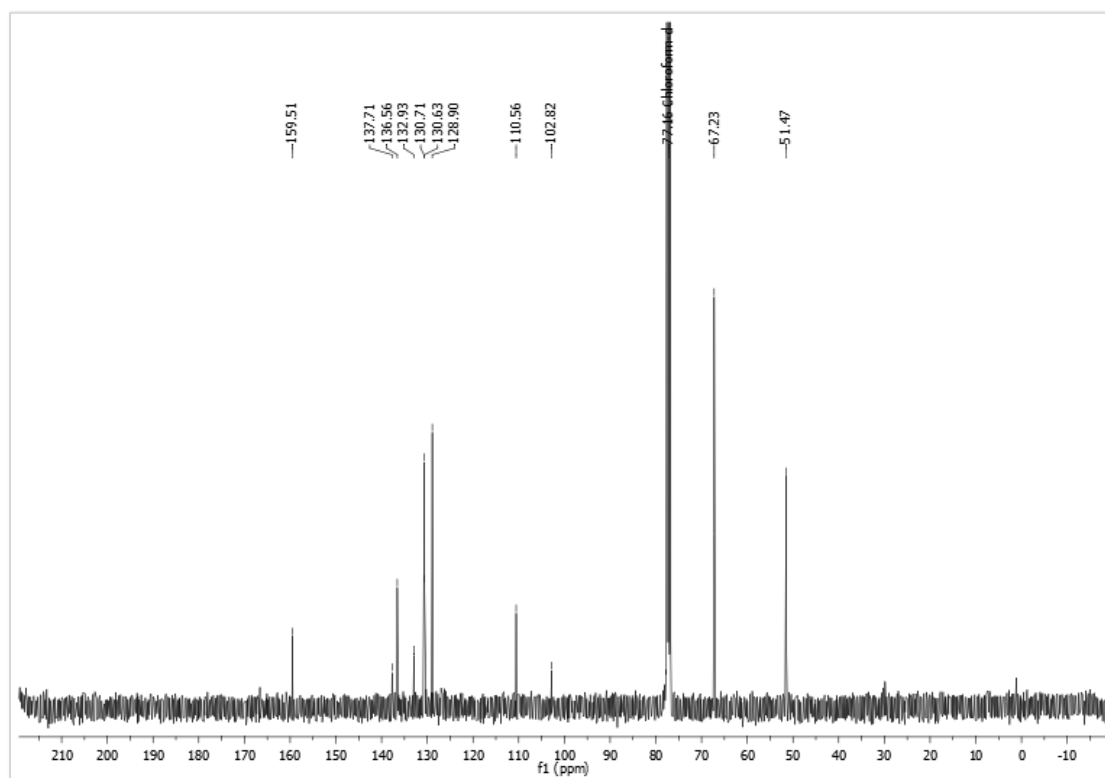
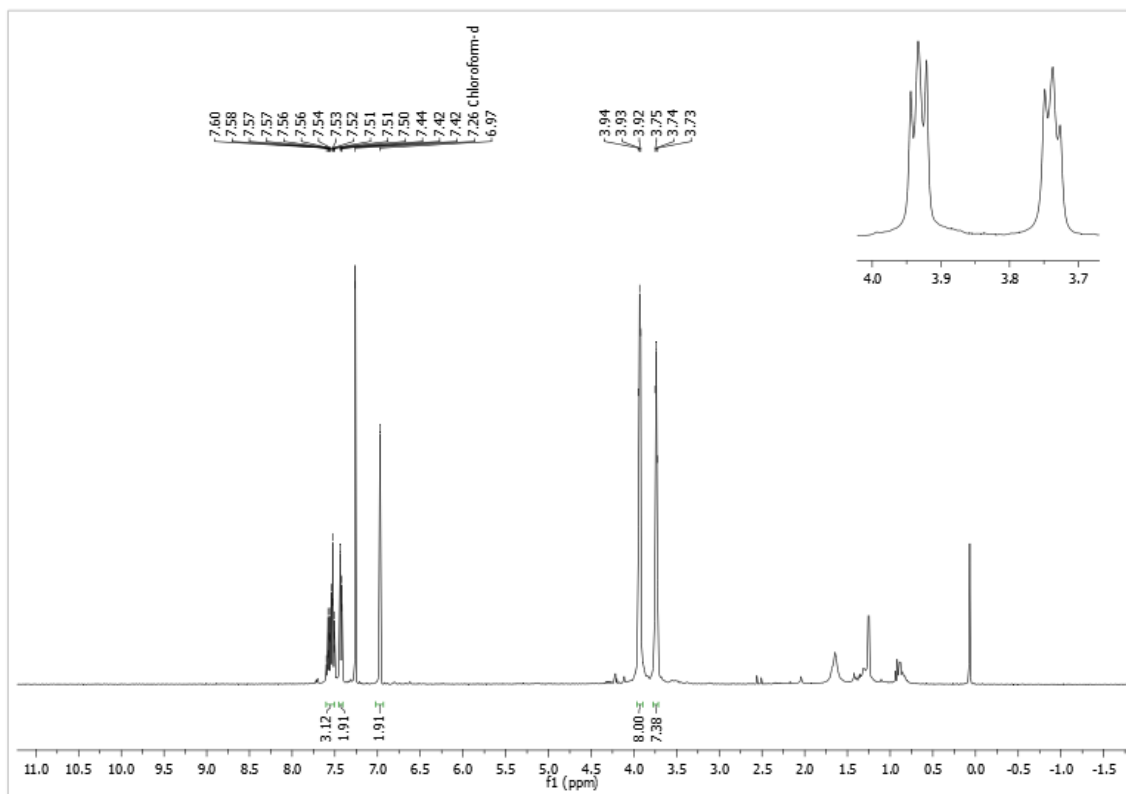
Apêndice 37: Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **69**

Apêndice 38: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **70** em CDCl_3 .

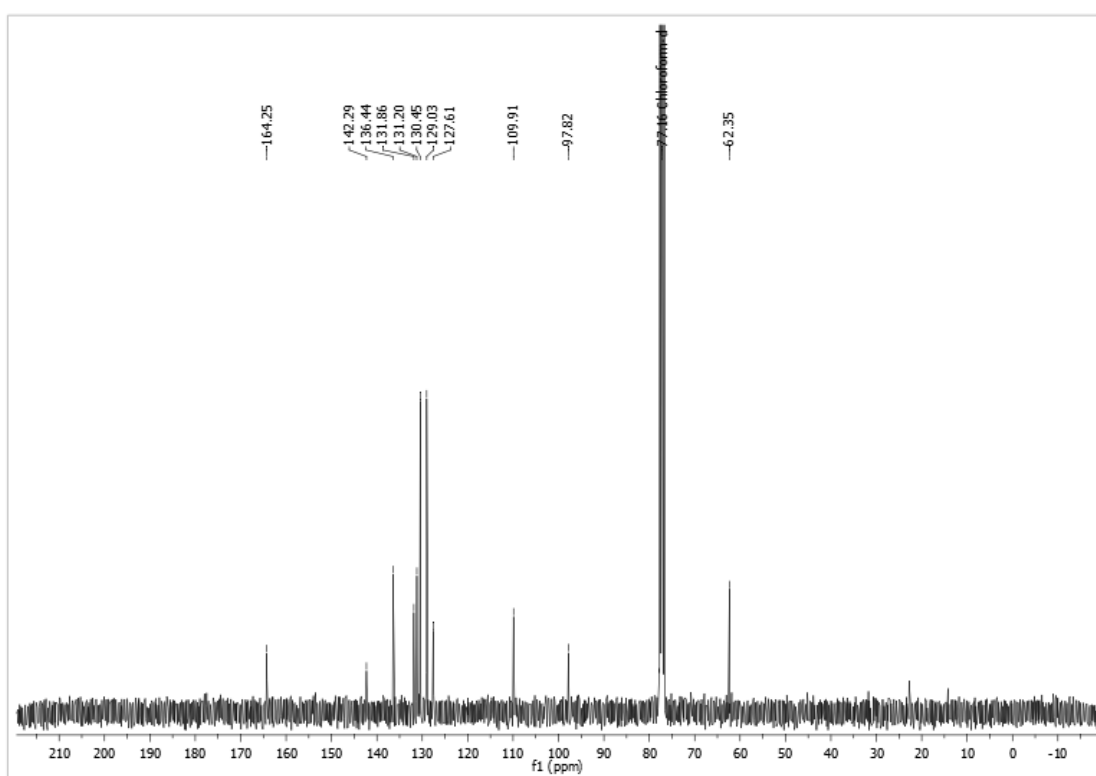
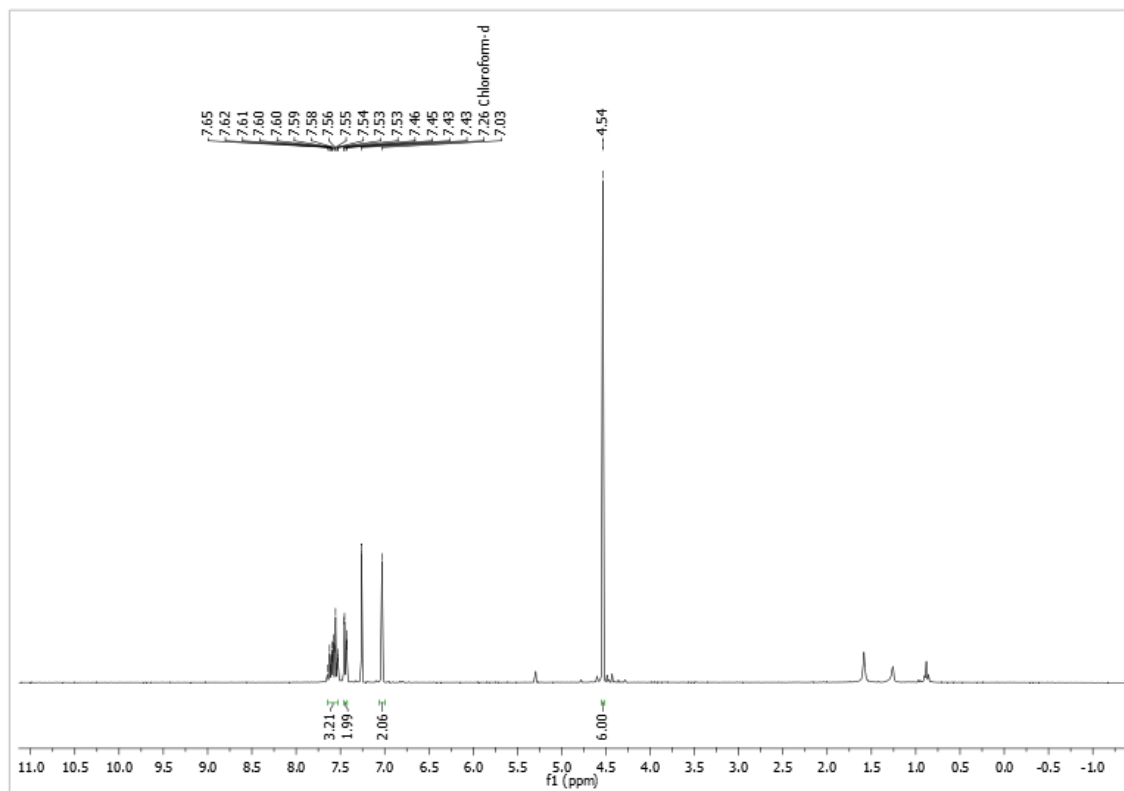
Apêndice 39: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **71**

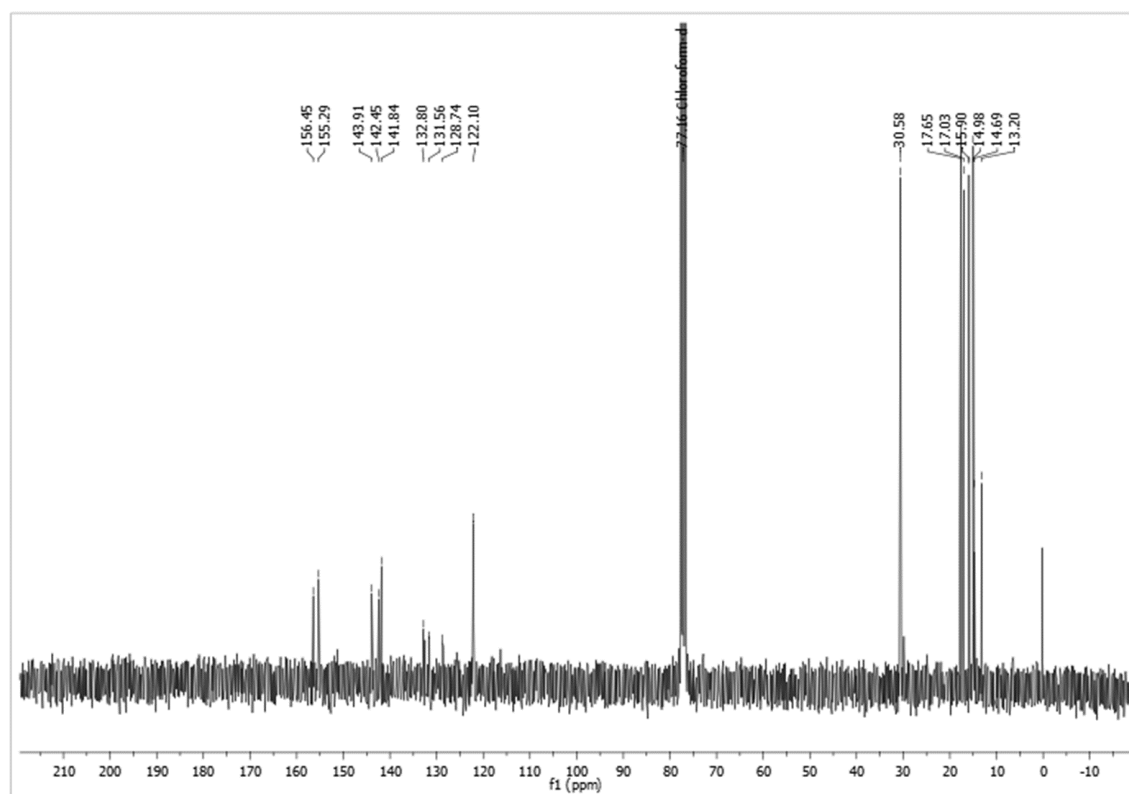
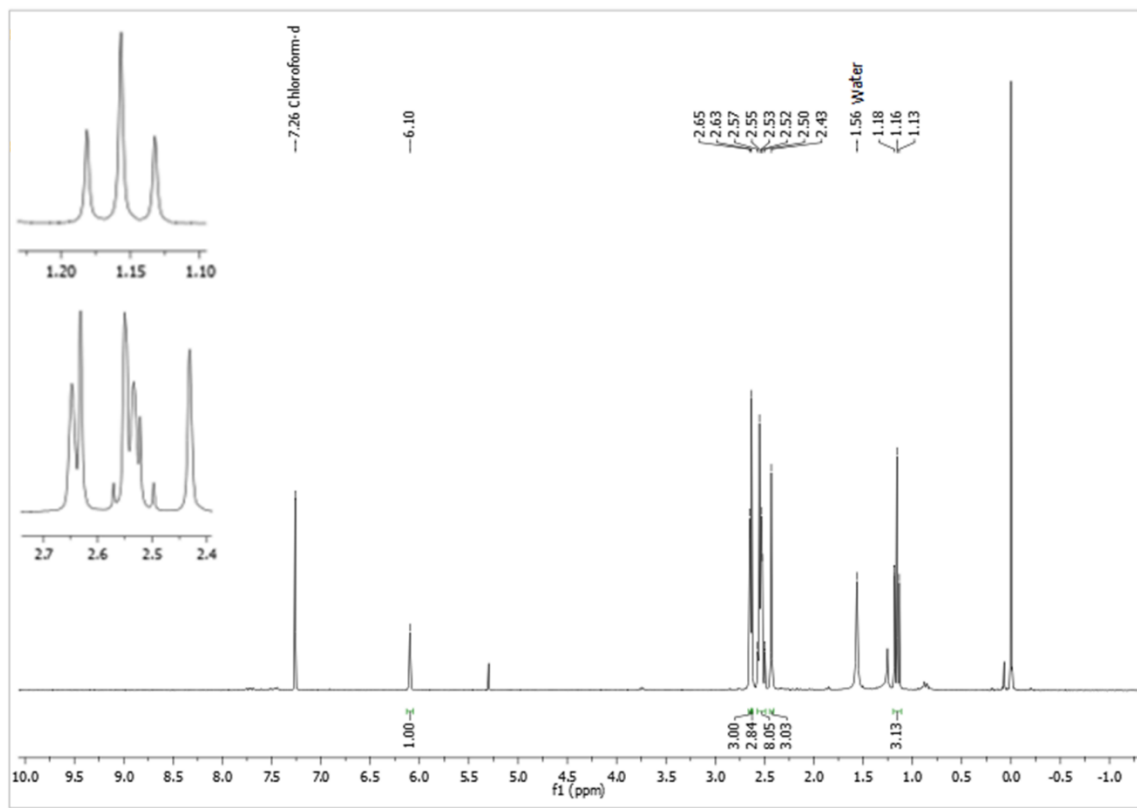
Apêndice 40: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **72** em CDCl_3 .

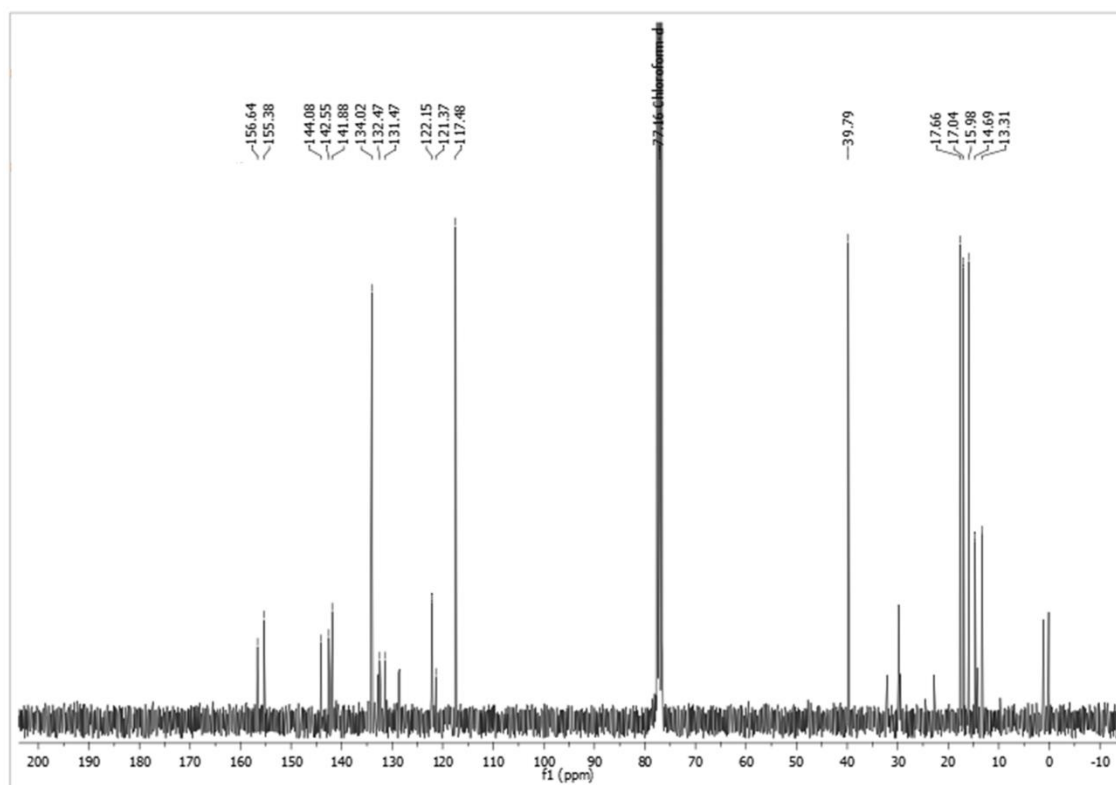
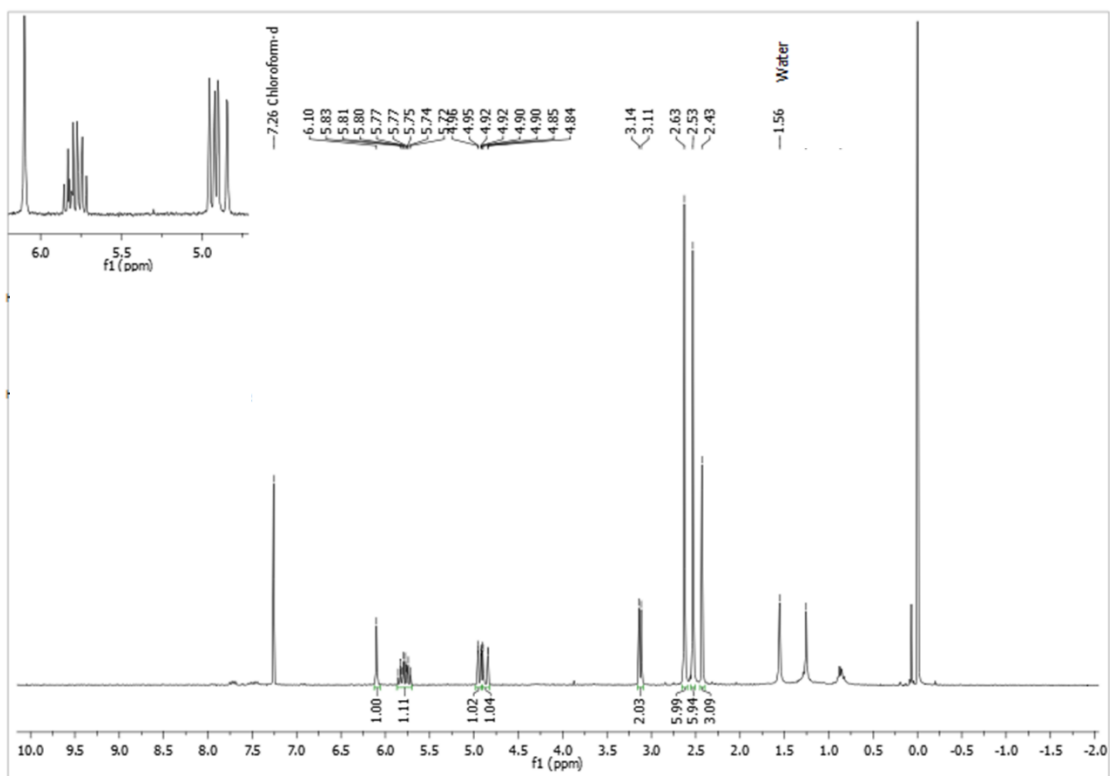
Apêndice 41: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (101 MHz) do composto **73** em CDCl_3 .

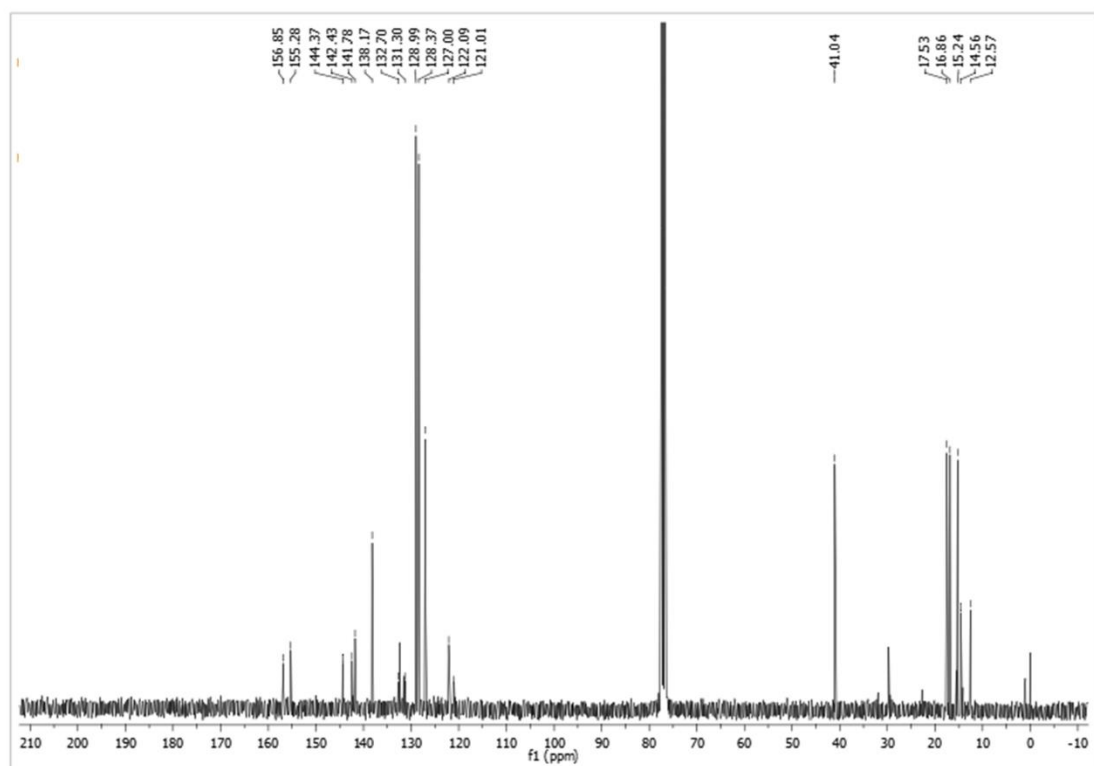
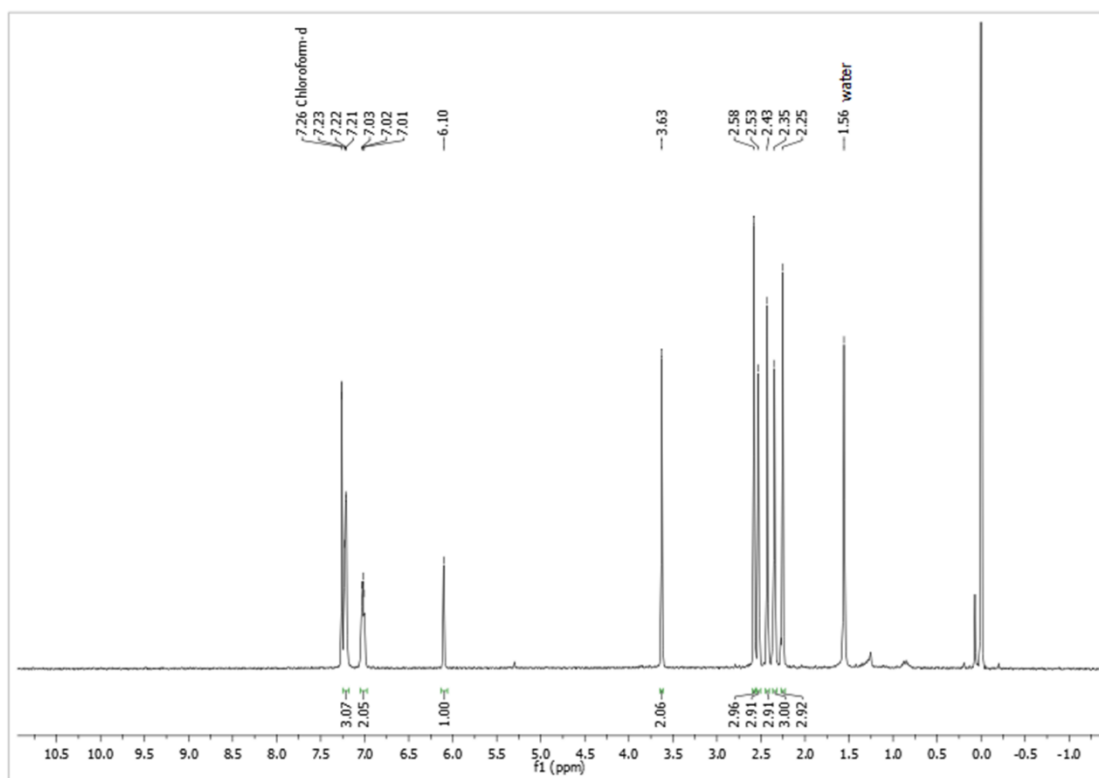


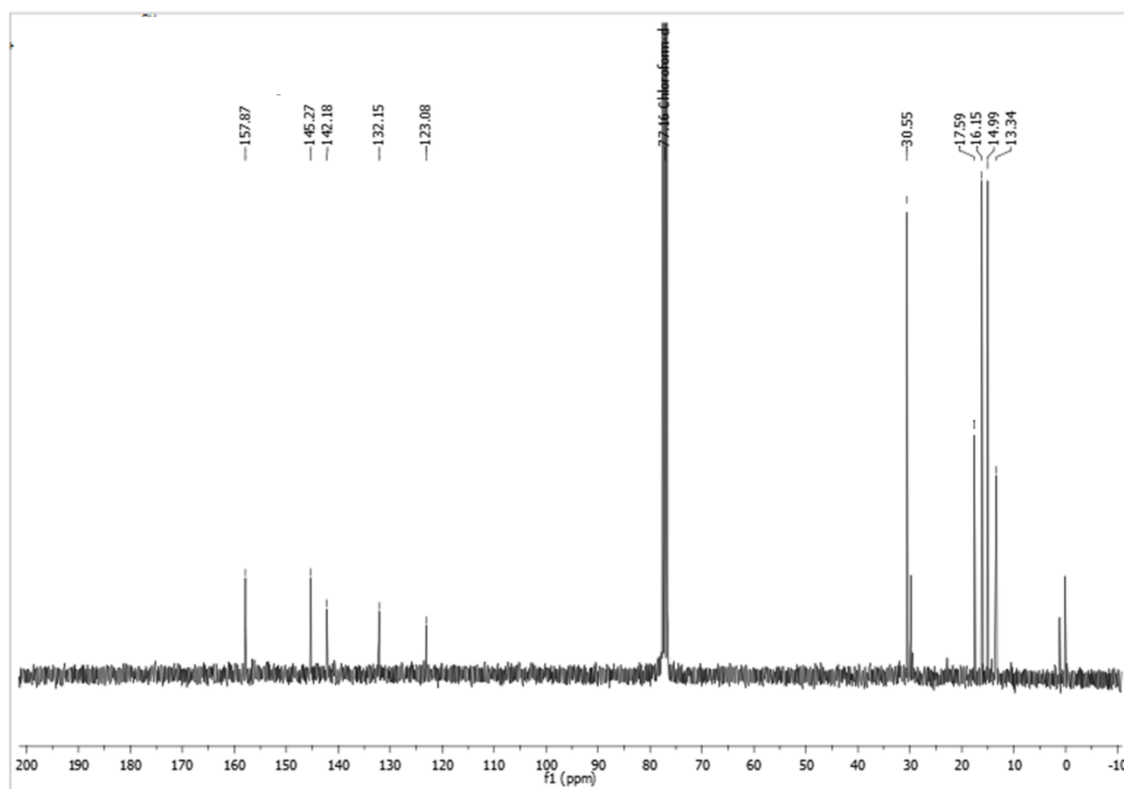
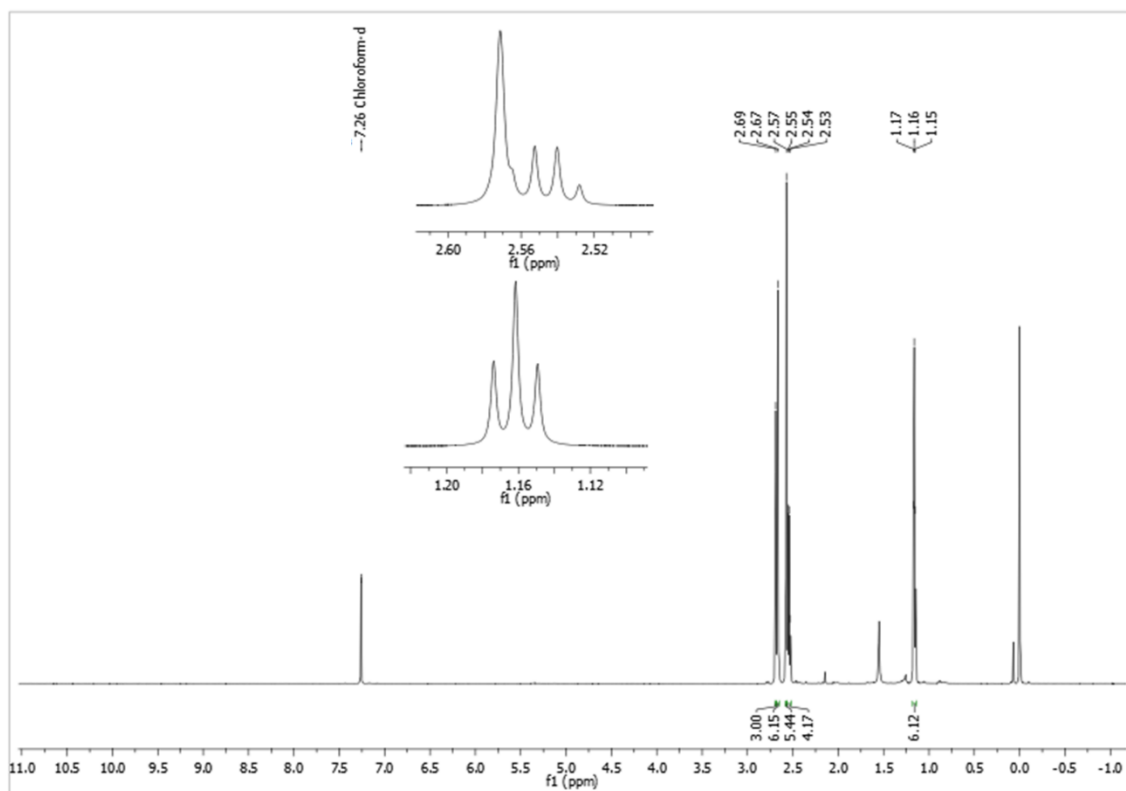
Apêndice 42: Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **74** em CDCl_3 .



Apêndice 43: Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **75**.

Apêndice 44: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **76** em CDCl_3 .

Apêndice 45: Espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **77** em CDCl_3 .

Apêndice 46: Espectros de RMN de ^1H (600 MHz) e ^{13}C (75 MHz) do composto **78** em CDCl_3 .

Apêndice 47: Espectros de RMN de ^1H dos compostos **79** (500 MHz) e **80** (300 MHz) em CDCl_3 .

