Universidade do Minho
Escola de Ciências

Daniela Filipa Costa Dantas

Azoimidazoles como sensores e sondas moleculares do tipo ótico

março de 2021

Daniela Filipa Costa Dantas **Azoimidazoles como sensores e sondas moleculares do tipo ótico**

UMinho | 2021

Universidade do Minho
Escola de Ciências

Daniela Filipa Costa Dantas

Azoimidazoles como sensores e sondas moleculares do tipo ótico

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Técnicas de Caracterização e Análise Química

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Alice Maria Esteves Dias

março de 2021

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

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

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

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

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição
CC BY

https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Agradecimentos

À Professora Doutora Alice M. Dias, um grande agradecimento pela oportunidade em realizar este trabalho e por toda a dedicação, total disponibilidade e apoio científico prestado.

Às técnicas Elisa Pinto e Vânia Azevedo, pela disponibilidade para a realização dos espetros de RMN.

À técnica Leonor Carneiro, pela disponibilidade para a realização dos ensaios de espetroscopia de absorção atómica de chama.

À Professora Eugénia Pinto, pela realização dos testes biológicos.

Aos colegas de laboratório, com um agradecimento especial à Ana Ribeiro, pelo apoio prestado e amizade.

À Sofia, por toda a amizade, apoio, gargalhadas e momentos partilhados durante o meu percurso académico.

À minha família, em especial aos meus pais e à minha irmã, pelo apoio e pela inspiração.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta dissertação.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Azoimidazoles como sensores e sondas moleculares do tipo ótico

Resumo

Cerca de 50 % dos corantes produzidos mundialmente pertencem à categoria dos corantes azo. Estes compostos apresentam uma larga gama de aplicações nas indústrias têxtil, alimentar, cosméticos e farmacêutica, assim como em dispositivos eletrónicos, sensores, interruptores fotoquímicos, entre outros. Alguns destes compostos podem exibir fenómenos de variação de cor de acordo com um estímulo externo (cromismo), como a luz, a temperatura, a polaridade do solvente, a presença de certos iões, ou a variação de pH. Consequentemente, tornam-se muito importantes no desenvolvimento de sondas e sensores colorimétricos, particularmente para a deteção de iões e monitorização de pH. Os corantes azo podem apresentar uma grande variedade estrutural, mas os compostos que contêm anéis heterocíclicos permitem obter cores mais intensas do que os seus análogos de benzeno.

Este projeto teve como objetivo a síntese, caraterização e avaliação das propriedades fotofísicas de novos azo-imidazoles e azo-pirimidinas, tendo em vista a potencialidade destes compostos como corantes halocrómicos e antimicrobianas em aplicações têxteis e no desenvolvimento de novos materiais.

Numa primeira fase, foram preparadas 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas partindo do diaminomaleonitrilo, aminas primárias e fenil-hidrazina. A oxidação destes precursores na presença de nitrato de prata deu origem a azo-imidazoles na forma de sal de HNO_3. A neutralização destes produtos deu origem a compostos muito reativos que evoluem para dar um derivado de azo-pirimidina e de imidazole, designado por dímero. Foram desenvolvidos dois métodos para a síntese deste composto. Em seguida, foi testada a reatividade dos azo-imidazoles na presença de aminas, e foram desenvolvidos três métodos para a síntese de azo-pirimidinas. O mecanismo reacional da síntese destes compostos foi elucidado recorrendo à técnica de RMN. Foram identificados três produtos que se formam durante a síntese das azo-pirimidinas. Nessa base, foi proposto um mecanismo reacional em várias etapas envolvendo um intermediário reativo que evolui de forma diferente, dependendo das condições da mistura reacional.

As propriedades colorimétricas dos azo-imidazoles, dímero e azo-pirimidinas foram estudadas recorrendo à técnica de UV-Vis. Estes compostos dão origem a soluções de tons vermelhos, azuis e violeta, respetivamente. Demonstrou-se que não apresentam um solvatocromismo apreciável. No entanto, verificou-se a existência de efeitos halocrómicos muito pronunciados.

Face à potencialidade antimicrobiana demonstrada pelas 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas, foram também testadas as propriedades antimicrobianas dos azo-imidazoles e azo-pirimidinas. Verificou-se que estes compostos são muito ativos em *C. albicans* e *C. krusei*, embora menos ativos em *S. aureus*.

Palavras-chave

Antimicrobianos, azo-imidazoles, azo-pirimidinas, halocromismo, síntese de heterociclos

Azoimidazoles as optical sensors and molecular probes

Abstract

About 50% of the dyes produced worldwide belong to the category of azo dyes. These compounds have a wide range of applications in the textile, food, cosmetics and pharmaceutical industries, as well as in electronic devices, sensors, photochemical switches, among others. Some of these compounds may exhibit phenomena of color variation according to an external stimulus (chromism), such as light, temperature, the polarity of the solvent, the presence of certain ions, or the pH variation. Consequently, they become very important in the development of colorimetric probes and sensors, particularly for ion detection and pH monitoring. Azo dyes can have a wide structural variety. In particular, compounds that contain heterocyclic rings make it possible to obtain more intense colors than their benzene analogues.

This project aimed at the synthesis, characterization and evaluation of the photophysical properties of new azo-imidazoles and azo-pyrimidines, considering the potential of these compounds as halochromic and antimicrobial dyes in textile applications and in the development of new materials.

In a first stage, 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazones were prepared starting from diaminomaleonitrile, primary amines and phenylhydrazine. The oxidation of these precursors in the presence of silver nitrate gave rise to azo-imidazoles in the form of HNO_3 salt. The neutralization of these products gave rise to very reactive compounds that evolve to give a derivative of azo-pyrimidine and imidazole, called a dimer. Two methods have been developed for the synthesis of this compound. Then, the reactivity of azo-imidazoles in the presence of amines was tested, and three methods were developed for the synthesis of azo-pyrimidines. The reaction mechanism of the synthesis of these compounds has been elucidated using the NMR techniques. Three products that are formed during the synthesis of azo-pyrimidines have been identified. On this basis, a multi-step reaction mechanism has been proposed involving a reactive intermediate that evolves differently, depending on the conditions of the reaction mixture.

The colorimetric properties of azo-imidazoles, dimers and azo-pyrimidines were studied using the UV-Vis technique. These compounds give rise to solutions of red, blue and violet tones, respectively. It has been shown that they do not have an appreciable solvatochromism. However, they exhibit very pronounced halochromic effects.

In view of the antimicrobial potential shown by their precursors 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazones, the antimicrobial properties of azo-imidazoles and azo-pyrimidines were also tested. These compounds were found to be very active in *C. albicans* and *C. krusei*, although less active in *S. aureus*.

Key words

Antimicrobials, azo-imidazoles, azo-pyrimidines, halochromism, heterocyclic synthesis

Índice

1. INTRODUÇÃO 1

1. Compostos Azo 2

1.1. Estrutura e propriedades 2

1.2. Métodos de Síntese 4

1.2.1. Reação de acoplamento azo 4

1.2.2. Reação de Mills 6

2. Cromismo 7

2.1. Fotocromismo ("*Photoswitch*") 7

2.2. Ionocromismo/Halocromismo 10

3. Sensores e Sondas Óticas 11

3.1. Sensores de iões 11

3.2. Sensores de pH 13

4. Azo-pirimidinas 15

4.1. Estruturas 15

4.2. Métodos de síntese 18

4.2.1. Condensação de um heterociclo com um sal de diazónio 18

4.2.2. Condensação de uma hidrazina heteroarílica com benzoquinona 19

4.2.3. Substituição nucleofílica de um haleto de heteroarilo com uma hidrazina arílica, seguida de desproteção e oxidação 19

2. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 20

Introdução 21

1. Reagentes de partida 22

1.1. *N*-[(*Z*)-2-amino-1,2-dicianovinil]formimidato de etilo (1) 22

1.1.1. Síntese do imidato 1 22

1.1.2. Mecanismo reacional para a síntese do imidato 1 22

1.2. 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (2.2) 23

1.2.1. Síntese dos imidazoles 2.2 23

1.2.2. Mecanismo reacional dos imidazoles 2.2 25

1.3. 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas (3) 26

1.3.1. Síntese das amidrazonas 3 26

1.3.2. Caracterização espetroscópica das amidrazonas 3 27

1.3.3. Mecanismo reacional para a síntese das amidrazonas 3 28

2. Azo-imidazoles 4 30

2.1. Azo-imidazoles na forma de sal de nitrato (4·HNO_3) 30

2.1.1. Síntese dos azo-imidazoles 4·HNO_3 30

2.1.2. Síntese do azo-imidazole 4a utilizando cloreto de cobre(II) 33
2.1.3. Caracterização espetroscópica dos azo-imidazoles na forma de sal de HNO_3 ($4{\cdot}HNO_3$) 35
2.2. Azo-imidazoles 4 na forma neutra 36
2.2.1. Neutralização dos azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 36
2.2.2. Caracterização espetroscópica dos azo-imidazoles na forma neutra (4) 38
3. Dímero (5) 39
3.1. Dímero (5) a partir do azo-imidazole ($4{\cdot}HNO_3$) 41
3.1.1. Síntese do dímero (5) a partir do azo-imidazole ($4{\cdot}HNO_3$) 41
3.2. Dímero (5) a partir da amidrazona (3) 42
3.2.1. Síntese do dímero (5) a partir da amidrazona (3) 42
3.3. Evolução do azo-imidazole (4) 42
4. Azo-pirimidinas 6 45
4.1. Azo-pirimidinas 6 a partir dos azo-imidazoles 4 45
4.1.1. Síntese da azo-pirimidina 6a a partir do azo-imidazole 4a 45
4.2. Azo-pirimidinas 6 a partir dos azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 46
4.2.1. Síntese das azo-pirimidinas 6 a partir dos azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 46
4.3. Azo-pirimidinas 6 a partir das amidrazonas 3 52
4.3.1. Síntese da azo-pirimidina 6a em duas etapas a partir da amidrazona 3a 52
4.4. Dados espetroscópicos das azo-pirimidinas 6 53
5. Estudo do mecanismo da síntese das azo-pirimidinas 6 55
6. Espetroscopia de UV-Vis 66
6.1. Azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 67
6.1.1. Efeito do solvente no espetro de UV-Vis dos azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 67
6.1.2. Efeito do substituinte R^1 no espetro de UV-Vis dos azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 68
6.1.3. Efeito do pH no espetro de UV-Vis dos azo-imidazoles $4{\cdot}HNO_3$ 69
6.2. Dímero 5 70
6.2.1. Efeito do solvente no espetro de UV-Vis do dímero 5 71
6.2.2. Efeito do pH no espetro de UV-Vis do dímero 5 71
6.3. Azo-pirimidinas 6 73
6.3.1. Efeito do solvente no espetro de UV-Vis das azo-pirimidinas 6 74
6.3.2. Efeito dos substituintes R^1 e R^2 no espetro de UV-Vis das azo-pirimidinas 6 74
6.3.3. Efeito do pH no espetro de UV-Vis das azo-pirimidinas 6 75
7. Resultados dos Testes Biológicos como Antimicrobianos 79
3. PARTE EXPERIMENTAL 80
1. Equipamentos e Reagentes 81

2. Síntese dos reagentes de partida 82

2.1. Síntese de *N*-[(*Z*)-2-amino-1,2-dicianovinil]formimidato de etilo (1) (DD 140) 82

2.2. Síntese dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (2.2) 82

2.2.1. Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-metil imidazole (2.2a) (DD 185) 82

2.2.2. Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4-metoxifenil) imidazole (2.2b) (DD 383) 83

2.2.3. Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-ciclopentil imidazole (2.2c) (DD 202) 83

2.3. Síntese das 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas (3) 83

2.3.1. Síntese de (*Z*)-5-amino-1-metil-*N*'-fenil-1*H*-imidazole-4-carboxamidrazona (3a) (DD 133) 83

2.3.2. Síntese de (*Z*)-5-amino-1-(4-metoxifenil)-*N*'-fenil-1*H*-imidazole-4-carboxamidrazona (2d) (DD 221) 84

2.3.3. Síntese de (*Z*)-5-amino-1-ciclopentil-*N*'-fenil-1*H*-imidazole-4-carboxamidrazona (3c) (DD 327) 84

3. Síntese dos azo-imidazoles (4) 85

3.1. Síntese dos azo-imidazoles na forma de nitrato de imidazólio (4·HNO_3) 85

3.1.1. Nitrato de 4-(imino(fenildiazenil)metil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-amónio (4a·HNO_3) (DD 351) 85

3.1.2. Nitrato de 4-(imino(fenildiazenil)metil)-1–(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-5-amónio (4b·HNO_3) (DD 366) 85

3.1.3. Nitrato de 1-ciclopentil-4-(imino(fenildiazenil)metil)-1*H*-imidazol-5-amónio (4c·HNO_3) (DD 348) 85

3.2. Neutralização dos azo-imidazoles 4·HNO_3 86

3.2.1. 4-(Imino(fenildiazenil)metil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-amina (4a) (DD 88) 86

3.2.2. 4-(imino(fenildiazenil)metil)-1-(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-5-amina (4b) (DD 243) 86

4. Síntese de (4*Z*)-5-amino-*N*'-(5-amino-6-imino-1-metil-4-(fenildiazenil)-1,6-di-hidropirimidin-2-il)-1-metil-*N*'-fenil-1*H*-imidazole-4-carbo-hidrazonamida (5) 87

4.1. Síntese de 5 a partir do azo-imidazole 4·HNO_3 (DD 190) 87

4.2. Síntese de 5 a partir da amidrazona 3a (DD 335) 87

5. Síntese das azo-pirimidinas (6) 88

5.1. Síntese de 6-imino-*N*^{2},*N*^{2},1-trimetill-4-(fenildiazenil)-1,6-di-hidropirimidin-2,5-diamina (6a) 88

5.1.1. Método A: a partir do azo-imidazole 4a (DD 87) 88

5.1.2. Método B: a partir do azo-imidazole 4a·HNO_3 (DD 403) 88

5.1.3. Método C: a partir da amidrazona 3a (DD 331) 89

5.2. Síntese de 6-imino-1-metil-4-(fenildiazenil)-2-(piperidin-1-il)-1,6-di-hidropirimidin-5-amina (6b) (DD 376) 89

5.3. Síntese de 6-imino-1-(4-metoxifenil)-*N*^{2},*N*^{2}-dimetil-4-(fenildiazenil)-1,6-di-hidropirimidin-2,5-diamina (6c) (DD 394) 90

5.4. Síntese de 6-imino-1-(4-metoxifenil)-4-(fenildiazenil)-2-(piperidin-1-il)-1,6-di-hidropirimidin-5-amina (6d) (DD 395) 90
6. Espetroscopia de Absorção Atómica de Chama 91
6.1. Preparação das amostras 91
6.2. Resultados 91
7. Espetroscopia de UV-Vis 93
7.1. Absortividade molar e efeito do solvente 93
7.1.1. Preparação das soluções padrão 93
Conclusões 99
Bibliografia 101

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura do antibiótico sulfonamidocrisoidina (Prontosil). 2
Figura 2: Em cima – Esquema geral de um sistema "*push-pull*"; **Em baixo** – Estrutura de um derivado do azobenzeno (alaranjado de metilo) [1]. 3
Figura 3: Interconversão dos isómeros do azobenzeno (***E*** e ***Z***) por ação da luz. 7
Figura 4: Azo-heteroarenos que podem ser utilizados como interruptores moleculares (***i16*** e ***i17*** [11], ***i18*** [18], ***i19*** [25], ***i20*** [26]). 8
Figura 5: Estruturas tautoméricas do avermelhado de metilo [27]. 10
Figura 6: Em cima - estrutura de uma molécula utilizada como sensor para a deteção de iões; **Em baixo** - Cores que o composto ***i*23** apresenta em solução, na presença de diferentes aniões [32]. ... 11
Figura 7: Estruturas de moléculas utilizadas como sensores óticos para a deteção de iões (***i*24** [36], ***i*25** [37]). 12
Figura 8: Alaranjado de metilo [38]. 13
Figura 9: Corantes utilizados em sensores óticos de pH (***i*27** [31], ***i*28** [41], ***i*29** e ***i*30** [42]). 14
Figura 10: Estruturas químicas da pirimidina, citosina, uracilo e timina. 15
Figura 11: Derivados de azo-pirimidinas e respetivas propriedades espetroscópicas de UV-Vis (λ e ε). 16
Figura 12: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a·HNO$_3$** contaminado com a amidrazona **3a** na forma ácida (400 MHz/ DMSO-d$_6$). 32
Figura 13: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a·HCl** imediatamente após a síntese (Esquerda); Espetro de ^{1}H RMN da evolução do composto **4a·HCl** no tubo, após 1 dia (Direita); (400 MHz; DMSO-d$_6$). 34
Figura 14: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a** contaminado com o composto **5** (400 MHz/ DMSO-d$_6$). 39
Figura 15: Dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}CRMN do composto **5** (400 e 100MHz/ DMSO-d$_6$). 40
Figura 16: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a** imediatamente após a síntese (Esquerda); Espetro de ^{1}H RMN da evolução do composto **4a** no tubo, após 1 dia (Direita); (400 MHz; DMSO-d$_6$). 43
Figura 17: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a** imediatamente após a síntese (Esquerda); Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a**, 16 dias após a síntese (Direita); (400 MHz; DMSO-d$_6$). 44
Figura 18: Espetro de ^{1}H RMN do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** com adição de piperidina (400 MHz; DMSO-d$_6$). 55
Figura 19: Espetro de ^{13}C RMN do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** com adição de piperidina (100 MHz; DMSO-d$_6$). 56
Figura 20: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN (400MHz/ DMSO-d$_6$) e ^{13}C RMN (100MHz/ DMSO-d$_6$) e proposta de estrutura para os compostos **A, B e C.** 59
Figura 21: Espetro de ^{1}H RMN (400MHz/ DMSO-d$_6$) da azo-pirimidina **6b** (indicado a azul) contaminada com o composto **A** (indicado a vermelho). 64
Figura 22: Espetros de UV-Vis: efeito do solvente na absorvância dos azo-imidazoles **4a·HNO$_3$** (a); **4b·HNO$_3$** (b); **4c·HNO$_3$** (c) (dados de absorvância normalizados pelo valor de absorvância no λ_{max})... 67
Figura 23: Efeito da variação do pH nos espetros de UV-Vis dos compostos **4·HNO$_3$**. 69
Figura 24: Efeito da variação do pH na cor da solução aquosa dos compostos **4·HNO$_3$n.** 70
Figura 25: Efeito do solvente no espetro de UV-Vis do composto **5** (dados de absorvância normalizados pelo valor de absorvância no λ_{max}). 71
Figura 26: Efeito da variação do pH no espetro de UV-Vis do composto **5**. 72

Figura 27: Efeito do pH na cor da solução do composto **5** em EtOH/H_2O (80:20). 73
Figura 28: Efeito da variação do pH nos espetros de UV-Vis das azo-pirimidinas **6**. 75
Figura 29: Efeito do pH na cor das soluções das azo-pirimidinas **6** em EtOH/H_2O (80:20). 77
Figura 30: Espetros de UV-Vis das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO_3**, em água..... 95
Figura 31: Curva de calibração da absorvância das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO_3**, em água..... 96

Índice de Esquemas

Esquema 1: Esquema geral da diazotização de uma amina primária aromática. 4
Esquema 2: Mecanismo da reação de diazotização de uma amina primária aromática [23]. 5
Esquema 3: Reação de acoplamento entre um sal de diazónio (***i*7**) e um fenol aromático (***i*8**), para a formação de um composto azo (***i*9**) [23]. 5
Esquema 4: Mecanismo da reação de Mills [23]. 6
Esquema 5: Síntese de derivados de 4,6-di-hidroxipirimidina [52]**.** 18
Esquema 6: Síntese de corantes azo derivados do uracilo [58]. 18
Esquema 7: Síntese de 2-(4-hidroxifenilazo)pirimidina [59]. 19
Esquema 8: Síntese de 5-(fenildiazenil)pirimidina [11]**.** 19
Esquema 9: Esquema geral de síntese. 21
Esquema 10: Esquema reacional da síntese do composto **1**. 22
Esquema 11: Mecanismo reacional proposto para a síntese do composto **1**. 23
Esquema 12: Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2** a partir do imidato **1**. 23
Esquema 13: Mecanismo reacional proposto para a síntese dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2** a partir do imidato **1**. 25
Esquema 14: Síntese de 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** a partir de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (**2.2**). 26
Esquema 15: Mecanismo reacional proposto para a síntese de 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** a partir de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2**. 29
Esquema 16: Síntese dos azo-imidazloes **4·HNO$_3$** a partir das 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3**. 30
Esquema 17: Síntese do azo-imidazloe **4a·HCl** a partir da amidrazona **3a**, utilizando cloreto de cobre(II). 34
Esquema 18: Neutralização dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**. 36
Esquema 19: Síntese do composto **5**, a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** e da amidrazona **3a**. 41
Esquema 20: Síntese do composto **5**, a partir da amidrazona **3a** e de $AgNO_3$. 42
Esquema 21: Síntese do composto **6a** a partir do azo-imidazole **4a**. 45
Esquema 22: Síntese dos compostos **6**, a partir dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**. 47
Esquema 23: Tautomerismo do composto **B**. 61
Esquema 24: Primeira parte do mecanismo reacional proposto para a reação entre o azo-imidazole **4a** e a piperidina. 62
Esquema 25: Mecanismo reacional proposto para a formação das espécies **A** e **B**, na ausência e na presença de O_2, respetivamente. 63
Esquema 26: Mecanismo reacional proposto para a regeneração da amidrazona **3a** durante a reação de formação da azo-pirimidina **6b**. 65
Esquema 27: Avaliação do efeito pH na estrutura da azo-pirimidina **6a** por espetroscopia de ^{1}H RMN: desvios químicos obtidos após adição de ácido trifluoroacético (TFA) e de trietilamina (Et_3N) em DMSO-d_6; proposta das estruturas responsáveis pela variação de cor de púpura para azul quando há aumento do pH. 78

Índice de Tabelas

Tabela 1: Condições reacionais para a síntese dos compostos **2.2**. 24
Tabela 2: Condições reacionais para a síntese dos compostos **3**..... 26
Tabela 3: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os compostos **3** (400 MHz/ DMSO-d_6). 27
Tabela 4: Condições reacionais para a síntese do composto **4a·HNO$_3$**. 31
Tabela 5: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN dos compostos **3a·HA** e **4a·HNO$_3$** (400 MHz/ DMSO-d_6). 32
Tabela 6: Condições reacionais para a síntese dos compostos **4·HNO$_3$**. 33
Tabela 7: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os compostos **4·HNO$_3$** (400 MHz/ DMSO-d_6)..... 35
Tabela 8: Condições reacionais para a neutralização dos compostos **4·HNO$_3$**. 37
Tabela 9: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os compostos **4** (400 MHz/ DMSO-d_6). 38
Tabela 10: Condições reacionais para a síntese do composto **6a** a partir do azo-imidazole **4a**..... 46
Tabela 11: Condições reacionais para a síntese do composto **6a** a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**. 47
Tabela 12: Condições reacionais para a síntese do composto **6b** a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**. 48
Tabela 13: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, testando diferentes solventes. 49
Tabela 14: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, testando diferentes condições de temperatura. 49
Tabela 15: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, utilizando $AgNO_3$ como agente oxidante. 50
Tabela 16: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6** a partir dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**, variando as condições de atmosfera interna do balão da reação 50
Tabela 17: Condições reacionais testadas para a síntese dos compostos **6** com outros substituintes. 51
Tabela 18: Condições reacionais para a síntese *in situ* do composto **6a** a partir da amidrazona **3a**. 52
Tabela 19: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN (400 MHz/ DMSO-d_6) e IV (Nujol/ cm^{-1}) para os compostos **6**. 54
Tabela 20: Dados espetroscópicos de ^{13}C RMN para os compostos **6** (100 MHz/ DMSO-d_6). 54
Tabela 21: Dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}C RMN da mistura obtida por reação do composto **4a·HNO$_3$** com a piperidina em DMSO-d_6, no tempo inicial. 56
Tabela 22: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN da evolução do composto **4a·HNO$_3$** na presença de piperidina (400 MHz/ DMSO-d_6). 57
Tabela 23: Dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}C RMN da evolução do composto **4a·HNO$_3$** na presença de piperidina (400MHz/ DMSO-d_6), após 24 horas. 58
Tabela 24: Dados espetroscópicos de UV-Vis para os compostos estudados (λ_{max}, em nm e ε, em $M^{-1}.cm^{-1}$). 66
Tabela 25: Dados de comprimento de onda máximo de absorção (λ_{max}, em nm) e respetivo valor de absorvância (Abs.) para soluções do composto **5** em EtOH/H_2O (80:20) a diferentes valores de pH. . 72
Tabela 26: Dados de comprimento de onda máximo de absorção (λ_{max}, em nm) e respetivo valor de absorvância (Abs.), para diferentes valores de pH, das soluções de EtOH/H_2O (80:20) das azo-pirimidinas **6**. 76

Tabela 27: Resultados dos testes preliminares quantitativos antibacterianos e antifúngicos dos compostos **3a-6a**. 79
Tabela 28: Percentagem de prata e grau de pureza. 91
Tabela 29: Volume inicial (*Vi*, em mL) utilizado para preparar cada uma das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, em água; concentração final (*Cf*, em mol/L) de cada uma das soluções padrão. 94
Tabela 30: Valores de absorvância registados para as soluções padrão, em água, do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, a 491 nm. 96
Tabela 31: Valores de comprimento de onda máximo, declive, ordenada na origem e coeficiente de correlação para cada curva de calibração 98

Abreviaturas

^{13}C RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
^{1}H RMN	Ressonância magnética nuclear de protão
ACN	Acetonitrilo
Ar	Arilo
C*i*	Carbono *ipso*
C*m*	Carbono *meta*
C*o*	Carbono *orto*
Comp.	Composto
C*p*	Carbono *para*
Cp	Ciclopentilo
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DAMN	Diaminomaleonitrilo
DBU	1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DMSO-d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
eq.	Equivalente
Et_3N	Trieltilamina
EtOH	Etanol
HMBC	Do inglês, *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*
HMQC	Do inglês, *Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*
i	*ipso*
J	Constante de acoplamento
m	*meta*
m	Multipleto
Me	Metilo
NOE	Do inglês, *Nuclear Overhauser Effect*
o	*orto*
OMe	Metoxilo
p	*para*

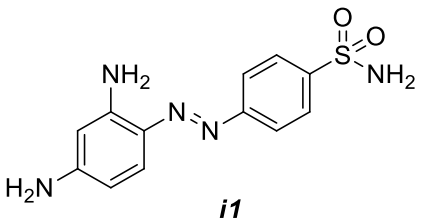
Ph	Fenilo
q	Quarteto
Ref.	Referência
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
T.a.	Temperatura ambiente
TEOF	Ortoformiato de etilo
THF	Tetra-hidrofurano
TLC	Cromatografia em camada fina (do inglês *Thin Layer Chromatography*)
UV-Vis	Ultravioleta-visível
δ	Desvio químico
ε	Coeficiente de absortividade molar
η	Rendimento da reação
λ	Comprimento de onda

1. INTRODUÇÃO

1. Compostos Azo

Os corantes apresentam uma larga gama de aplicações: fármacos, cosméticos, tintas, plásticos, indústria alimentar, indústria têxtil, entre outros, sendo que cerca de 50% dos corantes produzidos mundialmente pertencem à categoria dos corantes azo [1].

O início do estudo dos corantes azo pode ser atribuído a Peter Grieß, pela sua descoberta, em 1858, dos sais de diazónio. A química destes sais tem permitido a síntese de vários compostos azo, que apresentam diversas aplicações. A modificação das suas estruturas permite obter moléculas com uma gama cromática muito vasta, que podem ser aplicadas como corantes ou pigmentos em têxteis, plásticos ou alimentos. Em 1930, um corante azo, a sulfonamidocrisoidina (**Figura 1**), também conhecida por *Prontosil*, foi um dos primeiros antibióticos a ser comercializado, levando a uma revolução na medicina. [2] Desde então, têm sido reportados compostos azo com várias aplicações biológicas e farmacológicas, como anti-oxidantes, antivirais, antifúngicos ou antimicrobianos [3]–[6]. Esta família de compostos tem também várias aplicações tecnológicas como, por exemplo, em dispositivos eletrónicos, em sensores [7]–[9], ou no desenvolvimento de interruptores fotoquímicos ("*photoswitches*") [10]–[19].



i1

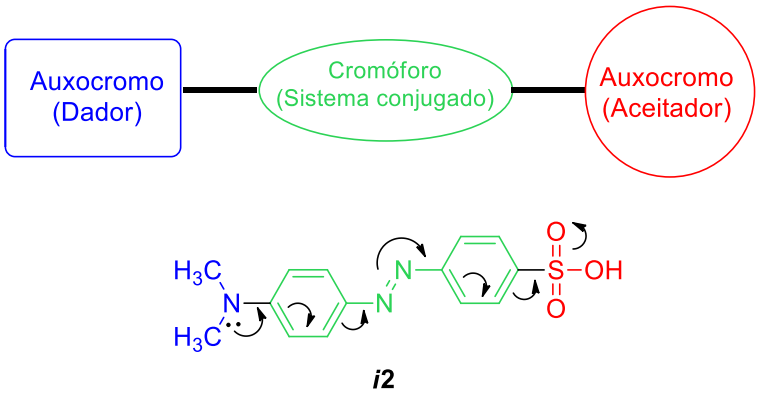
Figura 1: Estrutura do antibiótico sulfonamidocrisoidina (Prontosil).

1.1. Estrutura e propriedades

A cor dos corantes depende da sua capacidade de absorver luz na gama do visível do espetro eletromagnético (400—700 nm). De acordo com a teoria de Witt, um composto corado deve ter na sua estrutura um grupo cromóforo e um grupo auxocromo. Os cromóforos são os grupos responsáveis pela cor da molécula, pois são capazes de absorver luz na região do visível (grupos nitro, azo, e quinonas, por exemplo). Por outro lado, os auxocromos tornam as cores mais intensas quando são introduzidos nas estruturas de moléculas coloridas. Atualmente, a teoria de Witt foi substituída pela teoria eletrónica, que afirma que a cor é provocada pela excitação, usando luz visível, dos eletrões π de valência. [20]

A principal característica desta família de compostos consiste na presença de um grupo azo (—N=N—), o que possibilita a existência de uma maior extensão da conjugação eletrónica dos eletrões

π e, consequentemente, permite uma forte absorção de luz na região do visível do espetro eletromagnético. Os corantes azo apresentam na sua estrutura um grupo dador e um grupo aceitador, ambos ligados a um sistema π deslocalizado, também designado por sistema "*push-pull*" ou sistema D—π—A. A estrutura planar deste tipo de moléculas também contribui para o favorecimento da deslocalização eletrónica, aumentando também a intensidade da absorção. As propriedades fotofísicas dos compostos azo são de grande interesse no desenvolvimento de materiais óticos não-lineares e materiais para o armazenamento de dados por meio ótico. [21], [22]



***i*2**

Figura 2: Em cima – Esquema geral de um sistema "*push-pull*"; **Em baixo** – Estrutura de um derivado do azobenzeno (alaranjado de metilo) [1].

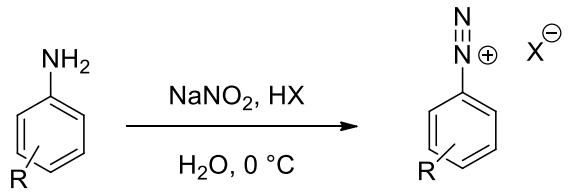
A estrutura cromofórica dos corantes azo contém dois anéis aromáticos ligados por um grupo azo (Ar—N=N—Ar). As características das moléculas, como a solubilidade ou cor, variam de acordo com a presença de diferentes substituintes nos anéis aromáticos. [21] Na **Figura 2** encontra-se esquematizada a estrutura geral de um sistema "*push-pull*" composto por um cromóforo (ou seja, um sistema de eletrões π conjugados) e auxocromos. Por exemplo, no derivado de alaranjado de metilo (***i*2**, **Figura 2**), a parcela "fenilo — azo —fenilo" serve a função de cromóforo, e os grupos dimetilamino [$-N(CH_3)_2$, dador de eletrões] e sulfonilo [$-SO_3H$, aceitador de eletrões] são os auxocromos. Assim, o par de eletrões não ligantes do átomo de nitrogénio do grupo dimetilamino pode ser transferido através do cromóforo até ao grupo aceitador ($-SO_3H$), resultando na formação de $=N^+(CH_3)_2$ (aceitador) e de $=SO_3H^-$ (dador). Consequentemente, ocorre também a transferência eletrónica no sentido contrário, levando a uma deslocalização completa da nuvem eletrónica no cromóforo, o que permite a observação de cor na região do visível. [1]

1.2. Métodos de Síntese

Os métodos clássicos para a síntese de azobenzenos são a reação de acoplamento com um sal de diazónio e a reação de Mills.

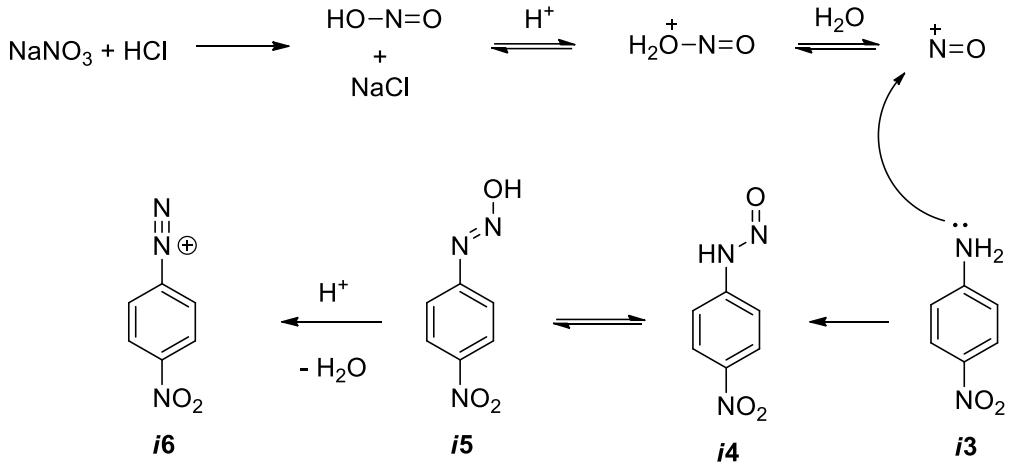
1.2.1. Reação de acoplamento azo

A maioria dos azobenzenos são obtidos através deste tipo de reação. O método baseia-se na diazotização (**Esquema 1**) inicial de uma amina primária aromática, a baixas temperaturas, seguida da reação com um nucleófilo aromático. Os tempos de reação são normalmente baixos e os rendimentos são altos. Os sais de diazónio são eletrófilos fracos que reagem com espécies ricas em eletrões, como arenos substituídos com grupos dadores de eletrões (como grupos amino ou hidroxilo). Normalmente, esta substituição ocorre na posição *para* relativamente ao grupo dador de eletrões no anel aromático ativado. Quando esta posição já se encontra ocupada, a substituição ocorre então na posição *orto*. Esta reação é altamente dependente do pH. [23]



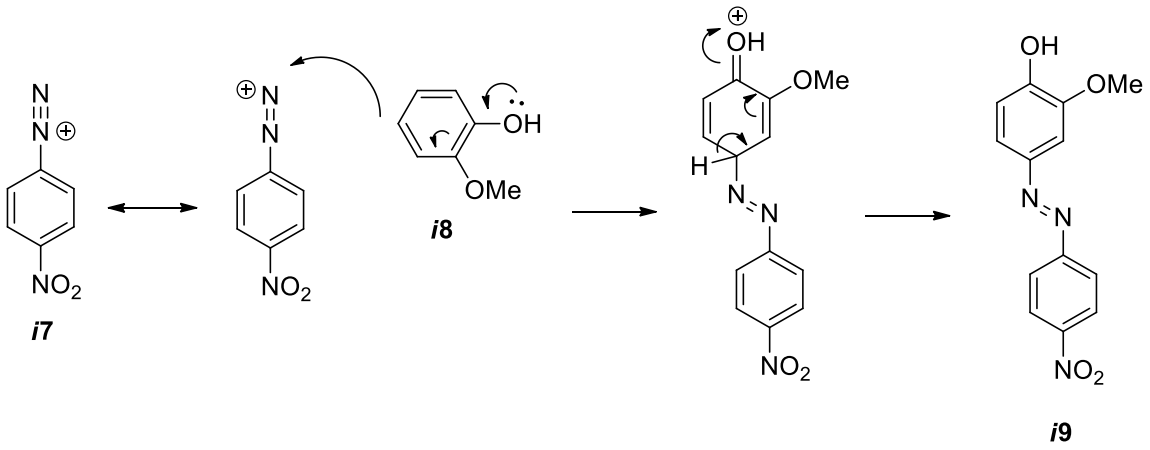
Esquema 1: Esquema geral da diazotização de uma amina primária aromática.

De acordo com o mecanismo apresentado no **Esquema 2**, para formação de um sal de diazónio a partir da uma amina primária é necessário um ácido forte (HCl, H_2SO_4 ou HBF_4) para a formação *in situ* de ácido nitroso (HNO_2), a partir de $NaNO_3$. Uma protonação adicional seguida da eliminação de H_2O fornece o agente nitrosante ($^+N{=}O$) que reage com a amina (***i*3**), levando à formação do derivado *N*-nitroso (***i*4**), um tautómero diazo *N*-hidroxilado (***i*5**). Uma segunda protonação seguida de eliminação de H_2O dá origem ao sal de diazónio (***i*6**), que se encontra estabilizado por ressonância. [23]



Esquema 2: Mecanismo da reação de diazotização de uma amina primária aromática [23].

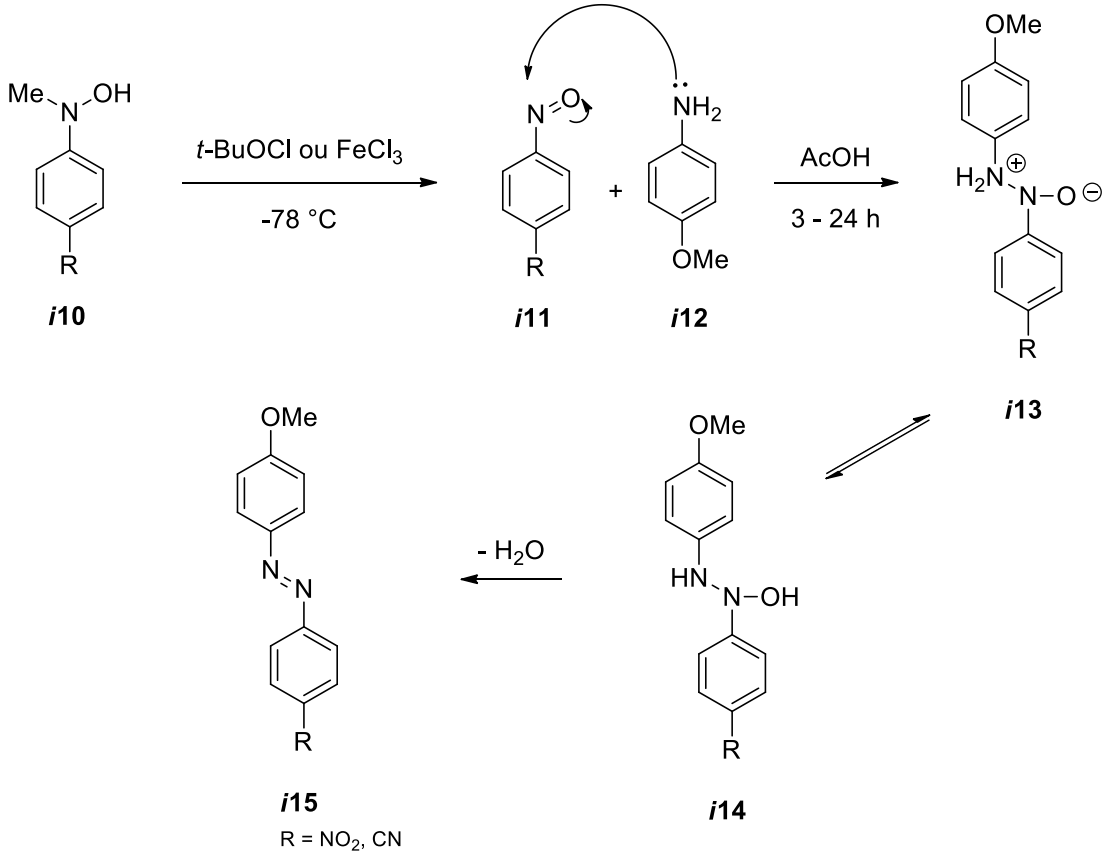
Em termos da reatividade dos reagentes de partida, os fenóis têm que reagir na forma ionizada de modo a sofrerem acoplamento, devido ao facto de as espécies neutras não serem suficientemente nucleofílicas. Deste modo, o acoplamento de fenóis tem que ser realizado em meios moderadamente básicos com controlo de pH. Por outro lado, as aminas aromáticas devem reagir em meios ligeiramente ácidos, para impedir o *N*-acoplamento sem que ocorra a redução da nucleofilicidade do anel aromático, uma vez que o grupo amino é protonado em meios fortemente ácidos. Foram propostos vários mecanismos para o acoplamento que ocorre após a formação do sal de diazónio. Atualmente, o mecanismo mais aceite envolve uma substituição eletrofílica aromática em que o fenol, ou anilina ataca o nitrogénio eletrofílico do sal de diazónio, tal como está indicado no **Esquema 3**. [23]



Esquema 3: Reação de acoplamento entre um sal de diazónio (***i*7**) e um fenol aromático (***i*8**), para a formação de um composto azo (***i*9**) [23].

1.2.2. Reação de Mills

A reação entre os compostos aromáticos nitrosados e anilinas, em ácido acético glacial, dá origem aos azobenzenos correspondentes com bons rendimentos (**Esquema 4**). O derivado nitroso aromático ***i*11** pode ser preparado pela oxidação de uma metil-hidroxilamina aromática ***i*10** com hipoclorito de *t*-butilo. Esta oxidação é rápida e precisa de ser realizada a -78 °C e em meio bastante diluído. Podem ser utilizados outros agentes oxidantes como o cloreto férrico, ácido persulfúrico (H_2SO_5), dicromato de sódio ou dicromato de potássio, ácido sulfúrico, ácido acético/H_2O_2, permanganato de potássio, carbonato de prata, entre outros. O mecanismo da reação de Mills envolve o ataque da anilina ***i*12** no derivado nitroso ***i*11**, em meio ácido, que resulta na formação do azobenzeno ***i*15** após a perda de uma molécula de água do intermediário ***i*14**. [23]



Esquema 4: Mecanismo da reação de Mills [23].

Estes métodos apresentam algumas desvantagens. No caso do acoplamento azo, os sais de diazónio utilizados podem ser explosivos, sendo necessário controlar cuidadosamente a temperatura da reação. Quanto à reação de Mills, tem o problema da obtenção de produtos secundários. [23]

2. Cromismo

Qualquer alteração na cor de um objeto, quer seja de branco para preto, de incolor para colorido, ou de uma cor para outra, pode ser facilmente detetada pelo olho humano, ou recorrendo a instrumentos espetrofotométricos simples. Assim, estas variações de cor podem fornecer sinais visuais importantes que podem ser utilizados para transmitir informação útil a um observador. Se a variação de cor for provocada por um estímulo externo, quer seja químico ou físico, torna-se possível obter uma grande gama de aplicações. Consequentemente, a investigação de compostos que sofrem mudanças de cor de forma reversível pela aplicação de um estímulo externo tem sido bastante explorada. [24]

Estes fenómenos de variação de cor são classificados e nomeados de acordo com a natureza do estímulo que provoca a alteração. [24] Alguns destes fenómenos incluem o:

- **Fotocromismo** – alteração de cor provocada por exposição à luz (normalmente luz UV);
- **Termocromismo** – alteração de cor provocada pela temperatura;
- **Solvatocromismo** – alteração de cor provocada pela alteração na polaridade do solvente.
- **Ionocromismo** – alteração de cor provocada por iões;
- **Halocromismo** – subclasse de ionocromiso, em que a alteração de cor é provocada pela variação do pH;

2.1. Fotocromismo (“*Photoswitch*”)

Os compostos azo podem existir nas formas isoméricas ***E*** e ***Z*** (

Figura 3), sendo que a forma ***E*** é tipicamente mais estável e dá origem a um espetro de absorção diferente do isómero *Z*. Estes isómeros podem ser interconvertidos utilizando luz (fotoisomerização), o que deu origem aos primeiros interruptores fotoquímicos (“*photoswitches*”).

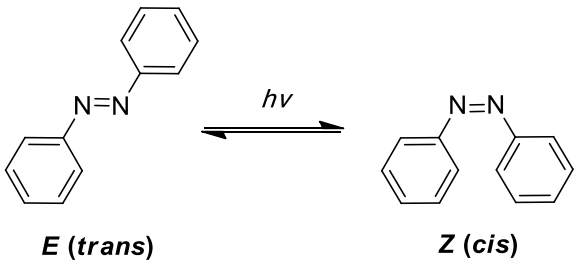


Figura 3: Interconversão dos isómeros do azobenzeno (***E*** e ***Z***) por ação da luz.

O mecanismo destes interruptores envolve uma alteração no volume, polaridade e absorção da luz, que pode ser desencadeada pela irradiação a diferentes comprimentos de onda. Este controlo espaciotemporal do movimento molecular tornou-se rapidamente a base de uma intensa investigação sobre os compostos azo, sendo o azobenzeno o tema mais popular e o arquétipo para introduzir alterações na estrutura de forma confiável (devido à sua estabilidade) e de acordo com as características desejadas para os interruptores. [2]

Compostos derivados do azobenzeno em que um ou ambos os anéis fenilo são substituídos por um anel heteroaromático são denominados por azo-heteroarenos. Estes compostos permitem ajustar a velocidade e o grau de isomerização, e também a absorção. São utilizados frequentemente em fotofarmacologia, uma vez que que muitos farmacóforos típicos contêm heterociclos aromáticos. [10] Na **Figura 4** encontram-se alguns exemplos de azo-heteroarenos que demonstraram potencialidade como interruptores fotoquímicos. Estes exemplos incluem compostos que incorporam unidades de pirimidina (***i*16**), pirazina (***i*17**), pirazole (***i*18**), imidazole (***i*19**) e purina (***i*20**).

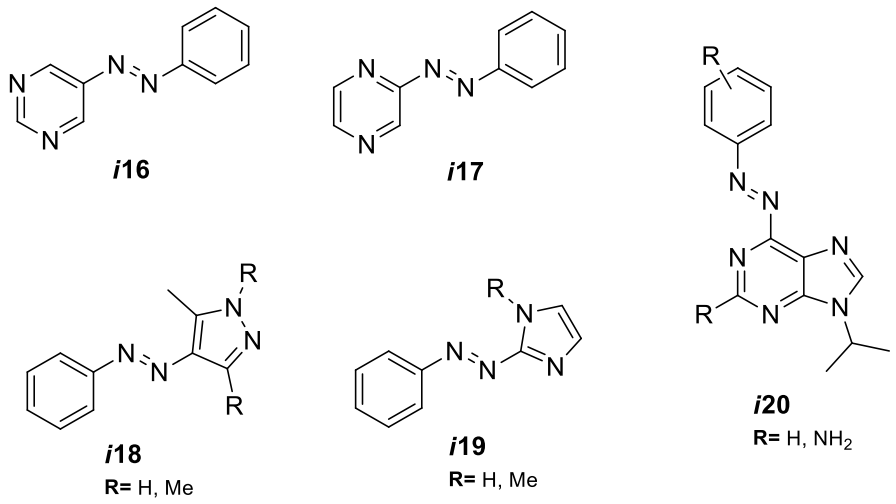


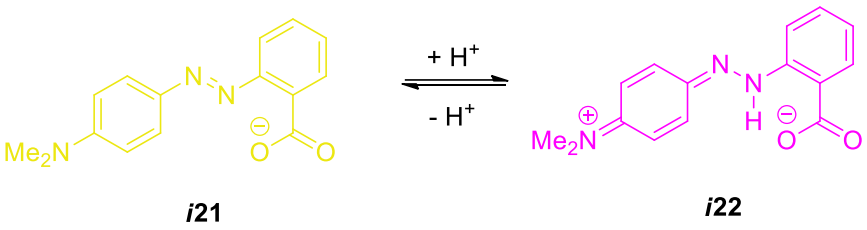
Figura 4: Azo-heteroarenos que podem ser utilizados como interruptores moleculares (***i16*** e ***i17*** [11], ***i18*** [18], ***i19*** [25], ***i20*** [26]).

Por outro lado, o controlo fotoquímico de biomoléculas (quer *in vitro*, quer *in vivo*) tem um interesse cada vez maior em biologia molecular e celular. Para aplicações em sistemas vivos, as reações fotoquímicas são vantajosas, uma vez que podem ser controladas a partir do exterior sem a adição de produtos químicos para dar início às funções biomoleculares. Ao introduzir "*photoswitches*" em moléculas bioativas, a sua atividade biológica pode ser "ligada" ou "desligada" através da foto-

isomerização entre as formas isoméricas em questão. Desta forma, têm sido desenvolvidos reguladores de canais iónicos, enzimas, recetores, e até mesmo organismos vivos, que são controlados por luz. Compostos encapsulados que podem ser libertados por foto-irradiação têm sido ligados a DNA, RNA e proteínas, para a inibição de fenómenos biológicos. Muitos processos biológicos, incluindo a expressão de genes e a transdução de sinais, necessitam de regulações, quer de forma positiva, quer de forma negativa. Biomoléculas que possuam um resíduo controlável fotoquimicamente, tal como um interruptor, são necessárias para o controlo preciso dos processos biológicos alvo. [11], [12].

2.2. Ionocromismo/Halocromismo

O ionocromismo apresenta várias aplicações tecnológicas importantes. Um dos primeiros usos dos corantes sensíveis ao pH foi a sua utilização como indicadores reversíveis em química analítica. Um indicador de pH muito utilizado é o avermelhado de metilo (**Figura 5**), que apresenta cor amarela (***i*21**) em soluções com valores de pH superiores a 6,2 e apresenta cor rosa (***i*22**) em soluções de pH inferiores a 4,2 [27].



***i*21** ***i*22**

Figura 5: Estruturas tautoméricas do avermelhado de metilo [27].

Nesta área, têm sido desenvolvidos métodos complexométricos de forma a detetar e quantificar concentrações de iões metálicos. A variação de cor de certos corantes como resposta ao pH pode ser aplicada à visualização de alterações em vários ambientes físicos e químicos. [24] Por exemplo, corantes azo sensíveis ao pH foram utilizados por Zhang *et al.* [28] em embalagens de alimentos, o que permite ao consumidor detetar a frescura dos produtos embalados e se estes se encontram adequados para consumo.

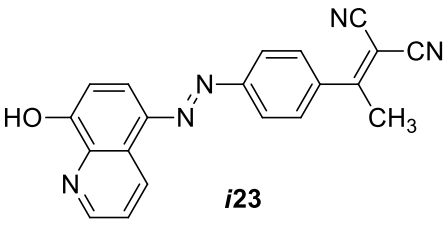
Na área dos têxteis inteligentes, tem ocorrido um crescimento no interesse em materiais que mudam de cor, os denominados têxteis "camaleão". Estes materiais podem ser utilizados numa grande variedade de situações. Quando se cobre uma superfície extensa, são capazes de dar um sinal localizado através de uma mudança de cor local, sem ser necessário incorporar vários sistemas de sensores. Têxteis halocrómicos, que incorporam corantes sensíveis às variações de pH, podem ser utilizados como sensores que indicam o pH através de uma fácil observação da cor e, por isso, podem ser aplicados numa grande gama de aplicações. Por exemplo, o pH da pele de pacientes com queimaduras varia durante o processo de cura das feridas. Ao utilizar um curativo halocrómico, seria possível, sem a remoção do penso, acompanhar o processo de cura pelo acompanhamento da mudança de cor do curativo. [29]

3. Sensores e Sondas Óticas

As sondas e sensores colorimétricos têm por base compostos que apresentam alterações foto-físicas na absorvância ou emissão, tais como desvios ipsocrómicos ou batocrómicos, ou efeitos hipercrómicos ou hipocrómicos, na presença do analito [30], [31]. Podem ser utilizados na deteção de iões [32], na medição do pH [33], para a deteção de aminoácidos, como a cisteína e a lisina [34], a deteção de NO_2 [35], entre outros.

3.1. Sensores de iões

Os iões desempenham papéis importantes em vários processos industriais e bioquímicos. Podem ser essenciais ou tóxicos para os humanos e animais, sendo assim de grande importância a sua deteção nos sistemas relevantes. A deteção de iões utilizando sondas derivadas de pequenas moléculas orgânicas, com base em alterações colorimétricas ou florescentes, apresenta vantagens em comparação com técnicas que requerem equipamentos caros, uma vez que tem um menor custo, elevada sensibilidade e maior conveniência de implementação. [30], [31]



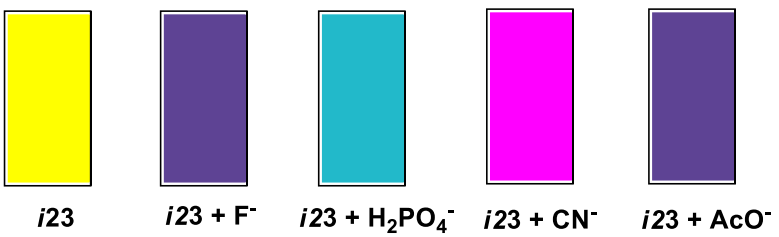


Figura 6: Em cima - estrutura de uma molécula utilizada como sensor para a deteção de iões; **Em baixo** - Cores que o composto ***i*23** apresenta em solução, na presença de diferentes aniões [32].

Na literatura são reportados vários sensores óticos para a deteção de iões. Arslan *et al.* [32] sintetizaram um composto (***i*23**, **Figura 6**) que apresenta cor amarela na ausência de iões e cores distintas na presença de diferentes aniões: fluoreto (roxo), cianeto (rosa), acetato (roxo) e di-hidrogenofosfato (azul). São também reportados outros sensores para a deteção do ião fluoreto [36] (***i*24**, **Figura 7**) e do ião acetato [37] (***i*25**, **Figura 7**).

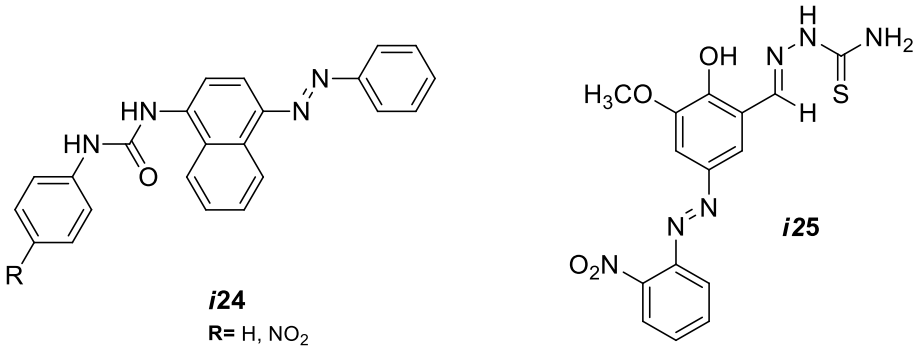
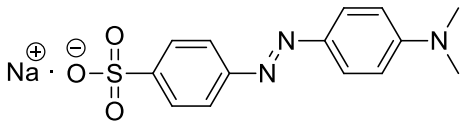


Figura 7: Estruturas de moléculas utilizadas como sensores óticos para a deteção de iões (***i*24** [36], ***i*25** [37]).

3.2. Sensores de pH

A monitorização do pH é um processo muito importante em várias áreas, como as indústrias alimentar e farmacêutica, em tratamentos de águas, entre outros. A manutenção de uma gama de pH apropriada é essencial em muitas reações físicas e químicas que ocorrem durante os processos de manufatura. A variação de pH pode afetar a qualidade do produto e a eficiência das reações químicas. Assim, o controlo contínuo, "*on-line"*, do pH durante muitos dos processos de produção é essencial. [38] A determinação do pH de soluções aquosas é um aspeto importante da química analítica, sendo efetuado de forma rotineira na maioria dos laboratórios utilizando elétrodos de vidro. No entanto, em condições de força iónica baixa ou pH elevado, a precisão dos elétrodos de vidro é limitada. Assim, as medições fotométricas oferecem uma alternativa atrativa para a monitorização "*on-line"* do pH. [33]

Um sensor ótico para a medição de pH pode ser também designado por "*optode*". O princípio destes dispositivos é simples: um corante sensível a variações de pH é imobilizado na extremidade de uma fibra ótica ou num suporte de membrana planar. Uma alteração no pH da solução que passa através da célula leva a uma alteração na absorção da membrana colorida, que é detetada utilizando um espetrofotómetro. [33], [39]. Carofiglio *et al.* [40] e Hosseini *et al.* [38] reportam a imobilização de corantes azo em suportes de celulose, com o intuito de criar sensores óticos de pH.



***i*26**

Figura 8: Alaranjado de metilo [38].

O alaranjado de metilo (***i*26**, **Figura 8**) é um corante muito utilizado como indicador de pH em titulações ácido-base, mudando de cor em condições de acidez (pH entre 3,1 – 4,4). A imobilização do alaranjado de metilo num suporte membranar de celulose alargou a sua gama de variação de cor para valores de pH entre 4,0 – 12,0 e, assim, permitiu a criação de um sensor para a monitorização "*on-line*" e contínua do pH, que tem um tempo de resposta rápido, é barato e fácil de produzir [38].

Os corantes utilizados em sensores óticos de pH podem apresentar uma grande variedade de estruturas, mas incluem maioritariamente um grupo azo na sua composição. Na **Figura 8** e na **Figura 9** encontram-se alguns dos corantes utilizados em sensores de pH. O alaranjado de metilo (***i*26**) é um derivado do azo-benzeno, o composto ***i*28** é um corante azo de benzofenona, os corantes de estrutura

***i*27** são compostos azo de benzotiazole, e os corantes ***i*29** e ***i*30** apresentam uma estrutura com vários grupos aromáticos e outros heterociclos.

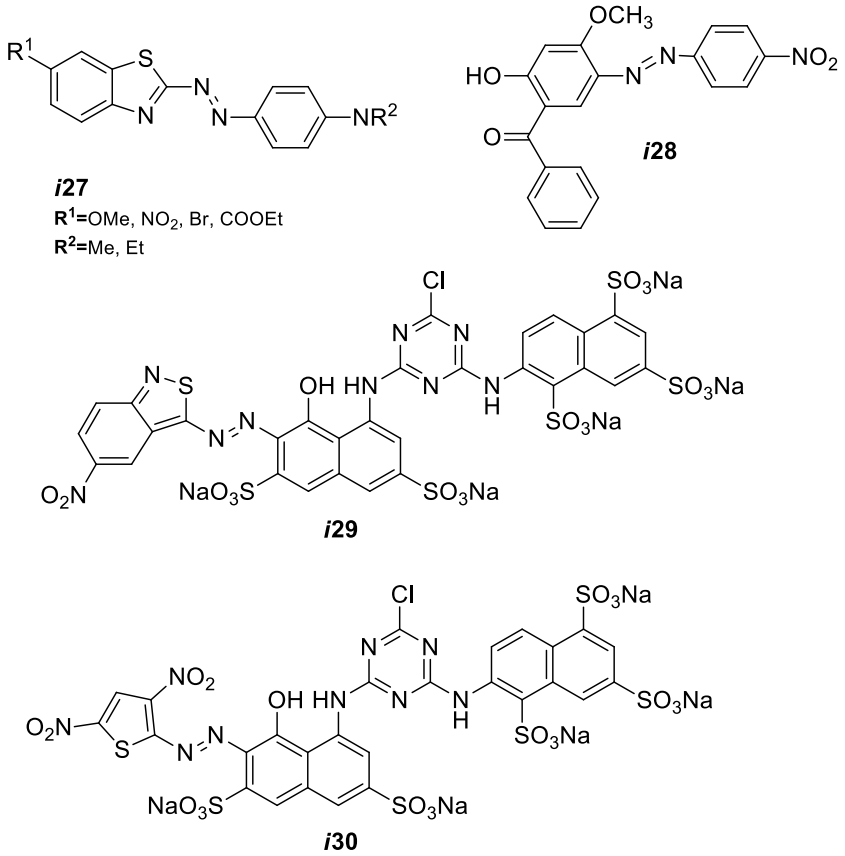


Figura 9: Corantes utilizados em sensores óticos de pH (***i*27** [31], ***i*28** [41], ***i*29** e ***i*30** [42]).

4. Azo-pirimidinas

Os corantes azo que contêm anéis heterocíclicos têm sido estudados e sintetizados de forma extensa, uma vez que permitem obter cores mais intensas do que os seus análogos de benzeno, e são amplamente aplicados na indústria têxtil, reprográfica, em sistemas óticos não-lineares, terapia fotodinâmica, entre outros [43]. Na indústria têxtil, em particular, destaca-se a sua capacidade de resistência à lavagem e à luz, o que os tornam bastante atrativos [44], sendo que existe um grande número de derivados de azo-pirimidinas utilizados como corantes têxteis para fibras sintéticas [43], [45], [46] e naturais [47], que apresentam uma gama larga de cores.

Adicionalmente, entre os corantes azo heterocíclicos, os corantes derivados de azo-pirimidinas podem ser utilizados como ligandos na formação de complexos com metais de transição [48]–[51] e que produzem sensores colorimétricos importantes para catiões e aniões [52].

4.1. Estruturas

As pirimidinas (***i*31**) são compostos heterocíclicos aromáticos de seis membros, que contêm dois átomos de nitrogénio, nas posições 1 e 3 do anel, como se pode ver pela **Figura 10**. Os compostos heterocíclicos que contêm uma fração de pirimidina são de grande interesse, uma vez que estes constituem uma importante classe de produtos naturais e não naturais, muitos dos quais exibem atividades biológicas e aplicações clínicas úteis. Purinas e pirimidinas substituídas ocorrem em grande quantidade nos organismos vivos [53]. O anel de pirimidina é um dos principais componentes do DNA e RNA, dado que pode ser encontrado nas nucleobases citosina (***i*32**), uracilo (***i*33**) e timina (***i*34**). Consequentemente, os derivados naturais de pirimidina apresentam atividades biológicas variadas e de elevado interesse como, por exemplo, atividade citotóxica, antifúngica ou antibacteriana [52], [54], [55].

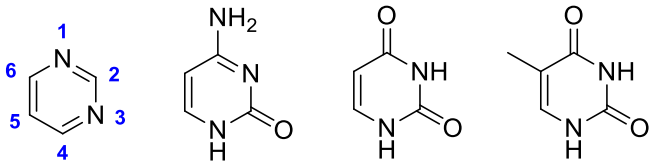
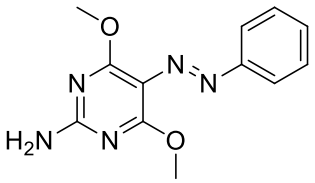


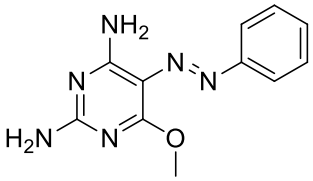
Figura 10: Estruturas químicas da pirimidina, citosina, uracilo e timina.

Na **Figura 11** encontra-se representada uma seleção de diferentes corantes derivados de azo-pirimidinas que é possível encontrar na literatura. Yazdanbakhsh *et al.* sintetizaram uma série de corantes azo dispersos derivados da 4,6-di-hidroxipirimidina (***i*38**) [52] e do uracilo (***i*39**) [56] que apresentam tons de amarelo, laranja e castanho.



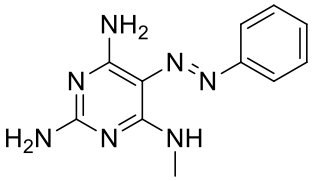
***i*35**

λ_{max}=356 nm [57]



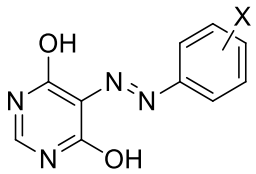
***i*36**

λ_{max}=376 nm [57]



***i*37**

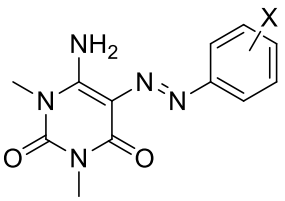
λ_{max}=390 nm [57]



***i*38**

X=*p*-OCH_3, *p*-$NHCOCH_3$, *p*-CH_3, *m*-CH_3, *o*-CF_3, *p*-F, *p*-CN, *p*-$COCH_3$, *p*-NO_2, *o*-Br, *p*-N=N-Ph

λ_{max}= 371 – 506 nm [52]

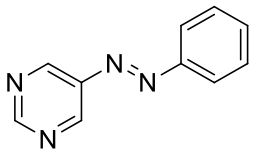


***i*39**

X=*p*-$COCH_3$, *p*-OCH_2CH_3, *p*-Cl, *p*-CH_3, *m*-CF_3, *p*-Cl, *p*-CN, *p*-NO_2

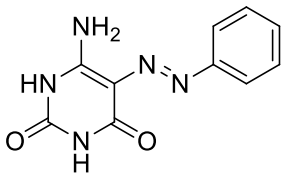
λ_{max}= 330 – 436 nm

ε = (1,4 – 2,9)x 10^4 $M \cdot cm^{-1}$ [56]



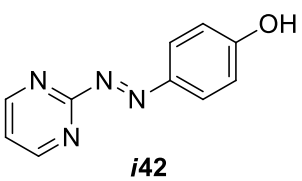
***i*40**

λ_{max}= 317 (π-π*), 426 (n-π*) nm [11]



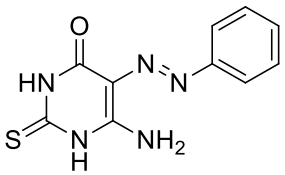
***i*41**

λ_{max}=375 (ACN), 391 (EtOH) nm [58]



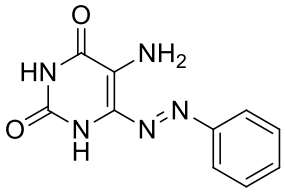
***i*42**

λ_{max}=365 nm [59]



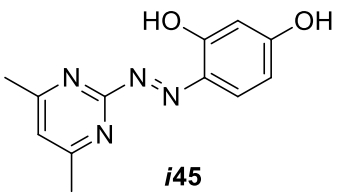
***i*43**

λ_{max}=246 nm [60]



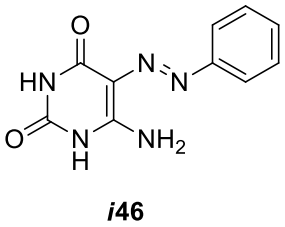
***i*44**

λ_{max}=250 nm [60]



***i*45**

λ_{max}=270, 330 nm [61]



***i*46**

λ_{max}=380 nm [62]

Figura 11: Derivados de azo-pirimidinas e respetivas propriedades espetroscópicas de UV-Vis (λ e ε).

Pode verificar-se que a maioria das estruturas apresentadas na **Figura 11** têm o grupo azo ligado na posição 5 do anel de pirimidina. No entanto, as estruturas ***i*42** e ***i*45** apresentam o grupo azo ligado à posição 2 e, na estrutura ***i*44***,* o grupo azo aparece ligado na posição 6 do anel de pirimidina.

Quase todas as estruturas apresentam grupos dadores de eletrões ligados ao anel de pirimidina: grupos amino, hidroxilo e metoxilo. Comparando as estruturas ***i*35**, ***i*36** e ***i*37**, verifica-se que, quando o anel de pirimidina apresenta grupos com maior capacidade de dar eletrões (grupos amino), ocorre um desvio do comprimento de onda de absorção máximo para valores mais elevados.

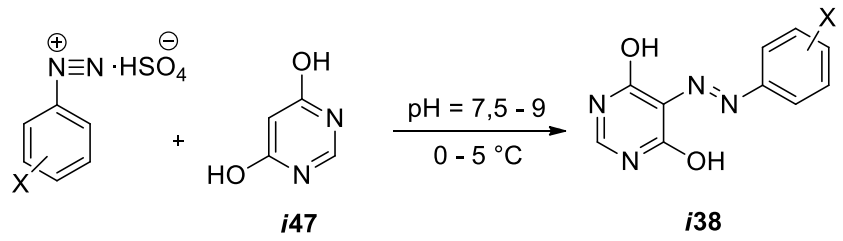
4.2. Métodos de síntese

Entre os métodos de síntese utilizados para a obtenção de azo-pirimidinas, destacam-se a reação de acoplamento com um sal de diazónio, a condensação de hidrazinas heteroarílicas com benzoquinona, e a substituição nucleofílica de um haleto de heteroarilo com uma hidrazina arílica.

4.2.1. Condensação de um heterociclo com um sal de diazónio

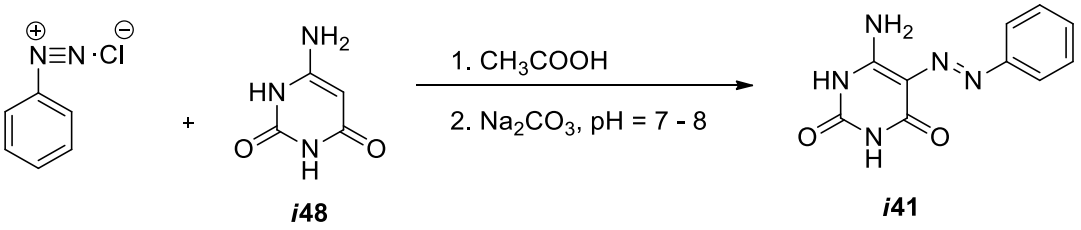
Tal como acontece para a síntese dos azobenzenos, o método mais comum para a síntese de azo-pirimidinas envolve a condensação de um heterociclo com um sal de diazónio. É necessária uma diazotização inicial de uma amina primária aromática, para ocorrer a formação de um sal de diazónio. Em seguida, dá-se o ataque nucleofílico de uma pirimidina a esse mesmo sal de diazónio, formando-se o composto azo.

Os corantes derivados de 4,6-di-hidroxipirimidina (***i*38**) reportados por Yazdanbakhsh *et al.* [52] foram sintetizados pelo método descrito no **Esquema 5**. Após a diazotização da amina aromática, esta é adicionada a uma solução de 4,6-di-hidroxipirimidina (***i*47**) em hidróxido de sódio e água, com agitação vigorosa. Após cerca de 1 hora a reação está completa. O pH é ajustado para 3 – 4 com a adição de uma solução de hidróxido de sódio e o sólido resultante é filtrado.



Esquema 5: Síntese de derivados de 4,6-di-hidroxipirimidina [52]**.**

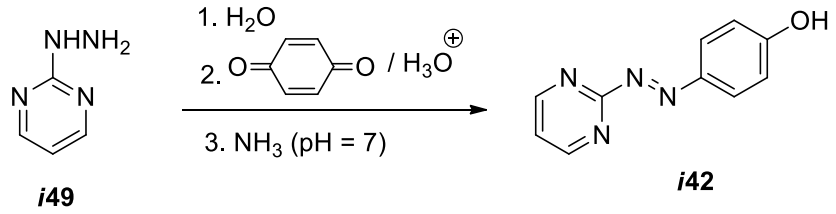
Yazdanbakhsh *et al.* [58] sintetizou uma gama de corantes azo derivados do uracilo (***i*41**), tal como está descrito no **Esquema 6**. O sal de diazónio previamente preparado é adicionado a uma solução de 6-aminopirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-diona (***i*48**) em ácido acético glacial, a 0 °C. O pH da mistura reacional é mantido entre 7 – 8 pela adição simultânea de uma solução de carbonato de sódio. Após 2 horas, a reação está terminada e o sólido resultante é recolhido.



Esquema 6: Síntese de corantes azo derivados do uracilo [58].

4.2.2. Condensação de uma hidrazina heteroarílica com benzoquinona

Garcia-Amorós *et al.* [59] sintetizaram uma azo-pirimidina ligada a um fenol (***i*42**), tal como está descrito no **Esquema 7**. Este método envolve a condensação da 2-hidrazinopirimidina ***i*49** com uma benzoquinona. A reação é rápida, dado que os autores reportam tempos de síntese por volta dos 30 minutos.

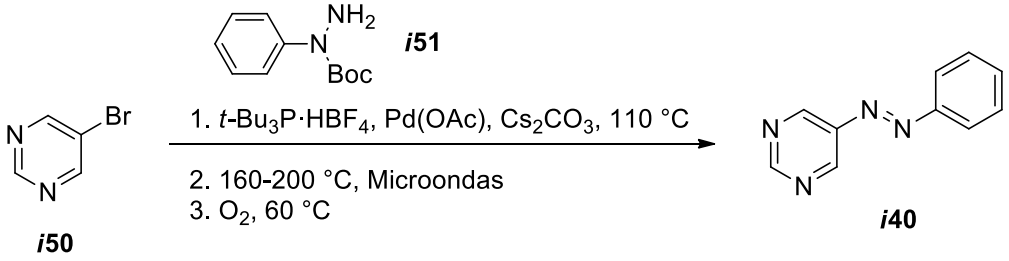


***i*49** **i*42**

Esquema 7: Síntese de 2-(4-hidroxifenilazo)pirimidina [59].

4.2.3. Substituição nucleofílica de um haleto de heteroarilo com uma hidrazina arílica, seguida de desproteção e oxidação

O método descrito por Xu *et al.* [11] para a síntese dos derivados de azo-pirimidinas ***i*40** (**Esquema 8**) inicia-se com um acoplamento de Buchwald-Hartwig, utilizando *t*-$Bu_3P{\cdot}HBF_4$, acetato de paládio(II), carbonato de césio, 5-bromopirimidina e 1-fenil-hidrazinocarboxilato de *t*-butilo. Ocorre uma reação de substituição nucleofílica entre o haleto de heteroarilo ***i*50** e a aril-hidrazina ***i*51**. Em seguida, o grupo Boc é removido por aquecimento assistido por micro-ondas e, de modo a que ocorra o passo de oxidação, a reação é exposta a oxigénio. Este método é demorado, uma vez que o passo da substituição nucleofílica ocorreu durante a noite e a etapa de oxidação ocorreu durante a noite seguinte.



***i*50** **i*40**

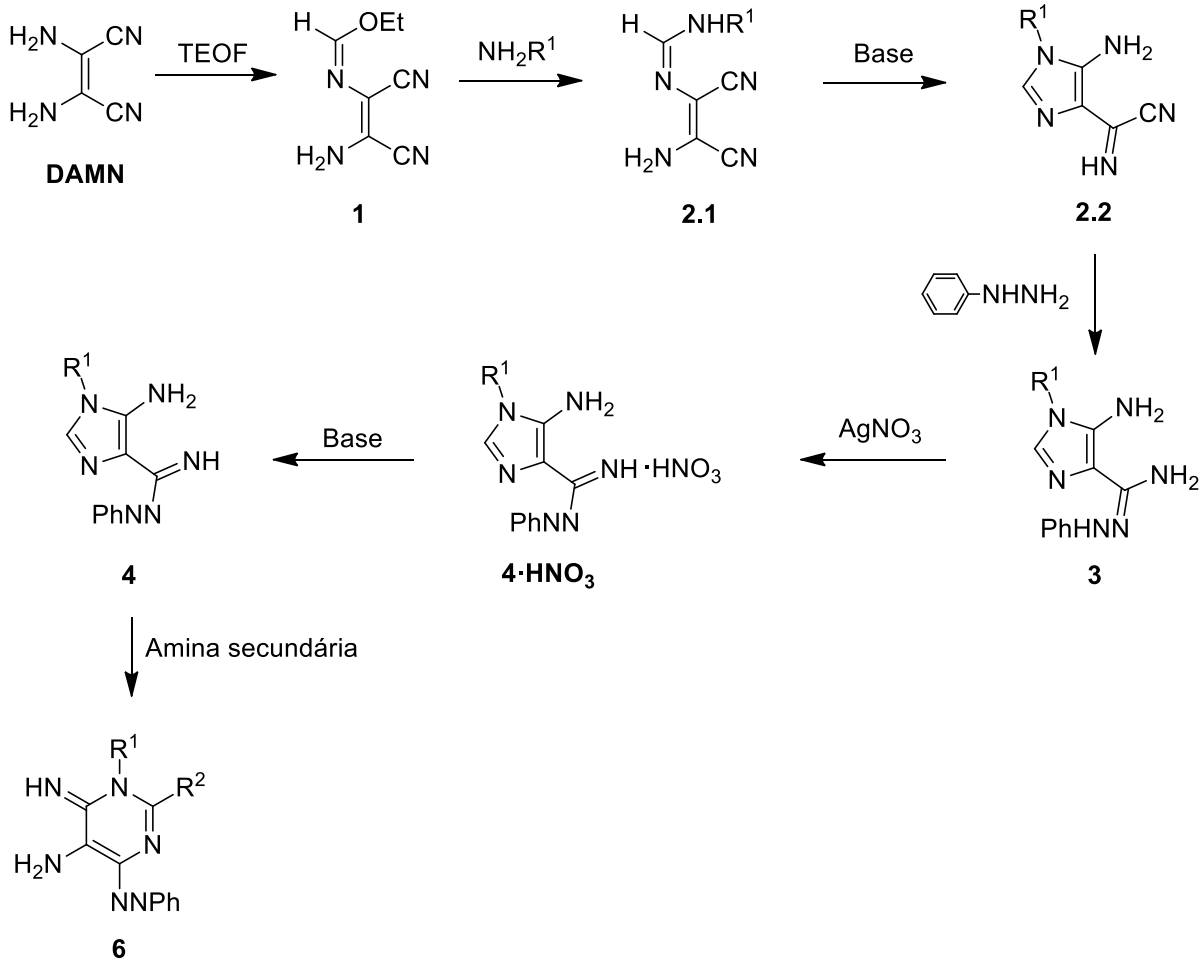
Esquema 8: Síntese de 5-(fenildiazenil)pirimidina [11]**.**

2. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Introdução

Este trabalho teve como objetivo a preparação de novos corantes antimicrobianos e halocrómicos com base nos núcleos de imidazole e de pirimidina, para o desenvolvimento de aplicações têxteis como pensos antimicrobianos.

No **Esquema 9** encontra-se o esquema geral para a síntese dos azo-imidazoles **4** partindo do diaminomaleonitrilo, aminas primárias e fenil-hidrazina. Estes azo-imidazoles (**4**) apresentaram uma reatividade muito especial na presença de aminas secundárias, gerando estruturas originais de azo-pirimidinas (**6**) através de um rearranjo inesperado.



Esquema 9: Esquema geral de síntese.

Os novos compostos azo preparados revelaram propriedades colorimétricas muito promissoras e foram depois estudados por espetroscopia de UV-Vis. Foi ainda possível submeter algumas amostras para ensaios biológicos de modo a avaliar a sua atividade antimicrobiana.

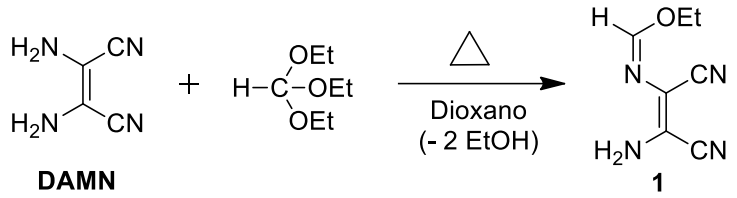
1. Reagentes de partida

A primeira etapa deste trabalho consistiu na obtenção dos reagentes de partida necessários para a síntese posterior dos compostos alvo deste trabalho. Os reagentes de partida utilizados foram o imidato **1**, os imidazoles **2.2** obtidos em duas etapas e envolvendo as amidinas **2.1** como intermediários, e ainda as amidrazonas **3**.

1.1. *N*-[(*Z*)-2-amino-1,2-dicianovinil]formimidato de etilo (1)

1.1.1. Síntese do imidato 1

O imidato **1** é o primeiro reagente de partida deste trabalho experimental. Foi obtido através dos reagentes comerciais diaminomaleonitrilo (DAMN) e ortoformiato de etilo (TEOF), de acordo com um método previamente desenvolvido [63]. A reação do DAMN com o TEOF ocorreu em refluxo de dioxano, a 123°C, e demorou cerca de 1h. O sistema de destilação permitiu a eliminação do etanol libertado durante a reação, deslocando o equilíbrio reacional no sentido da formação do produto **1** (**Esquema 10**).

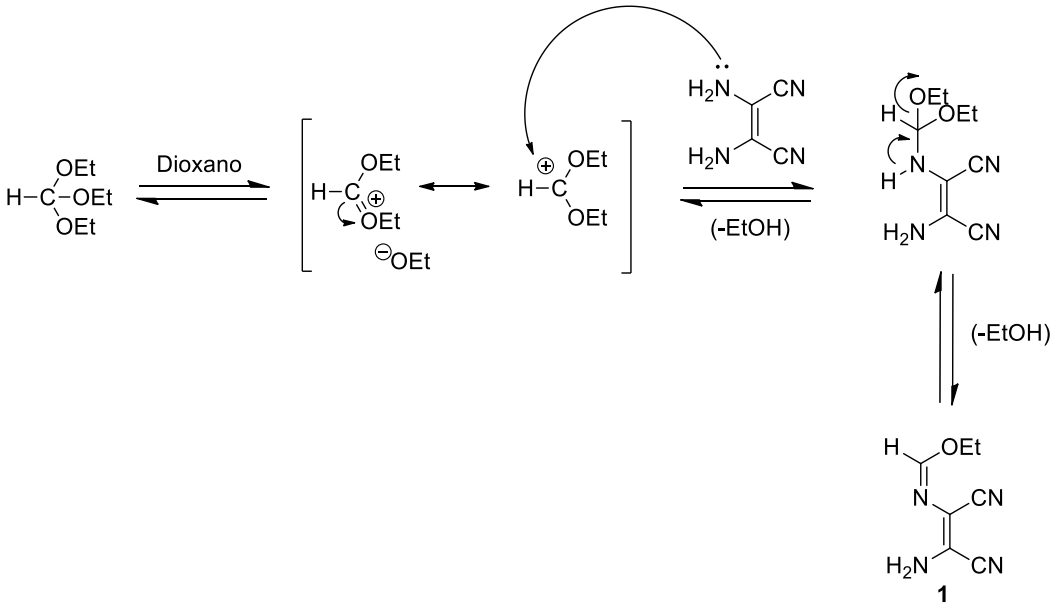


Esquema 10: Esquema reacional da síntese do composto **1**.

Quando a reação terminou, a mistura reacional foi purificada por cromatografia em coluna e, à solução recolhida, adicionou-se *n*-hexano, que fez precipitar o imidato sob a forma de um sólido cristalino de cor bege claro. Esta reação apresentou um rendimento excelente (99%). A pureza deste sólido foi confirmada por comparação dos seus dados espetroscópicos de ^{1}H RMN com os de uma amostra padrão.

1.1.2. Mecanismo reacional para a síntese do imidato 1

O mecanismo reacional proposto para a síntese do imidato **1** (**Esquema 11**) inicia-se pelo ataque nucleofílico de um dos grupos amino do DAMN ao carbono central do orto éster com a formação de um intermediário tetraédrico. Este intermediário tetraédrico dá origem ao imidato **1** por eliminação de uma molécula de etanol.



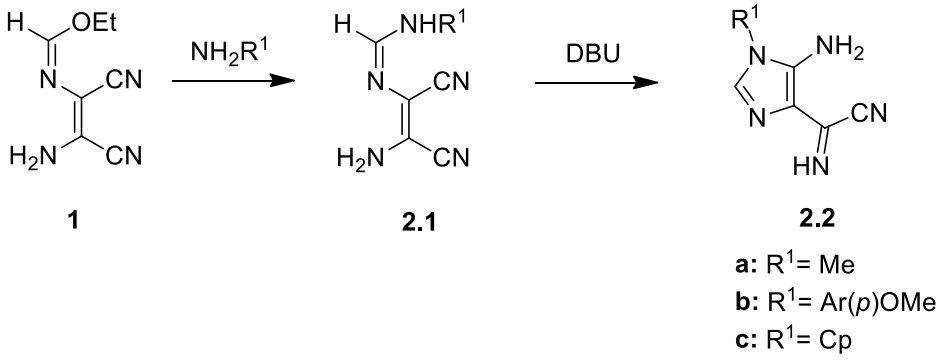
Esquema 11: Mecanismo reacional proposto para a síntese do composto **1**.

1.2. 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (2.2)

Os 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (**2.2**) são os compostos de partida chave utilizados neste trabalho. Foram obtidos a partir do imidato **1** e de aminas primárias criteriosamente selecionadas.

1.2.1. Síntese dos imidazoles 2.2

A partir do imidato **1**, foram obtidos vários imidazoles **2.2** que variam no seu substituinte R^1. A sequência reacional, que tem por base um método previamente desenvolvido [64], está descrita no **Esquema 12**.



Esquema 12: Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2** a partir do imidato **1**.

Em primeiro lugar, formou-se uma amidina **2.1** por reação do imidato **1** com diferentes aminas primárias (alifáticas e aromáticas), sendo a reação catalisada por cloreto de anilíneo. No passo seguinte, à mistura reacional do passo anterior adicionou-se uma base, o 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), que promove a ciclização do composto **2.1** *in situ*, para formar os imidazoles **2.2**. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na

Tabela 1.

Tabela 1: Condições reacionais para a síntese dos compostos **2.2**.

Comp.	Ref.	R^1	R^2NH_2 (eq.)	Condições Reacionais	η (%)*
2.2a	DD 185	Me	1,2	i. EtOH; T.a.; 15min ii. DBU; Banho de gelo; 3h30min	77
2.2b	DD 383	Ar(*p*)OMe	1,2	i. EtOH; T.a.; 4h30min ii. DBU; T.a.; 1h30min	93
2.2c	DD 202	Cp	1,2	i. EtOH; T.a.; 40min ii. DBU; T.a.; 5h30min	63

*Rendimento global das duas etapas da reação

De acordo com os dados apresentados na

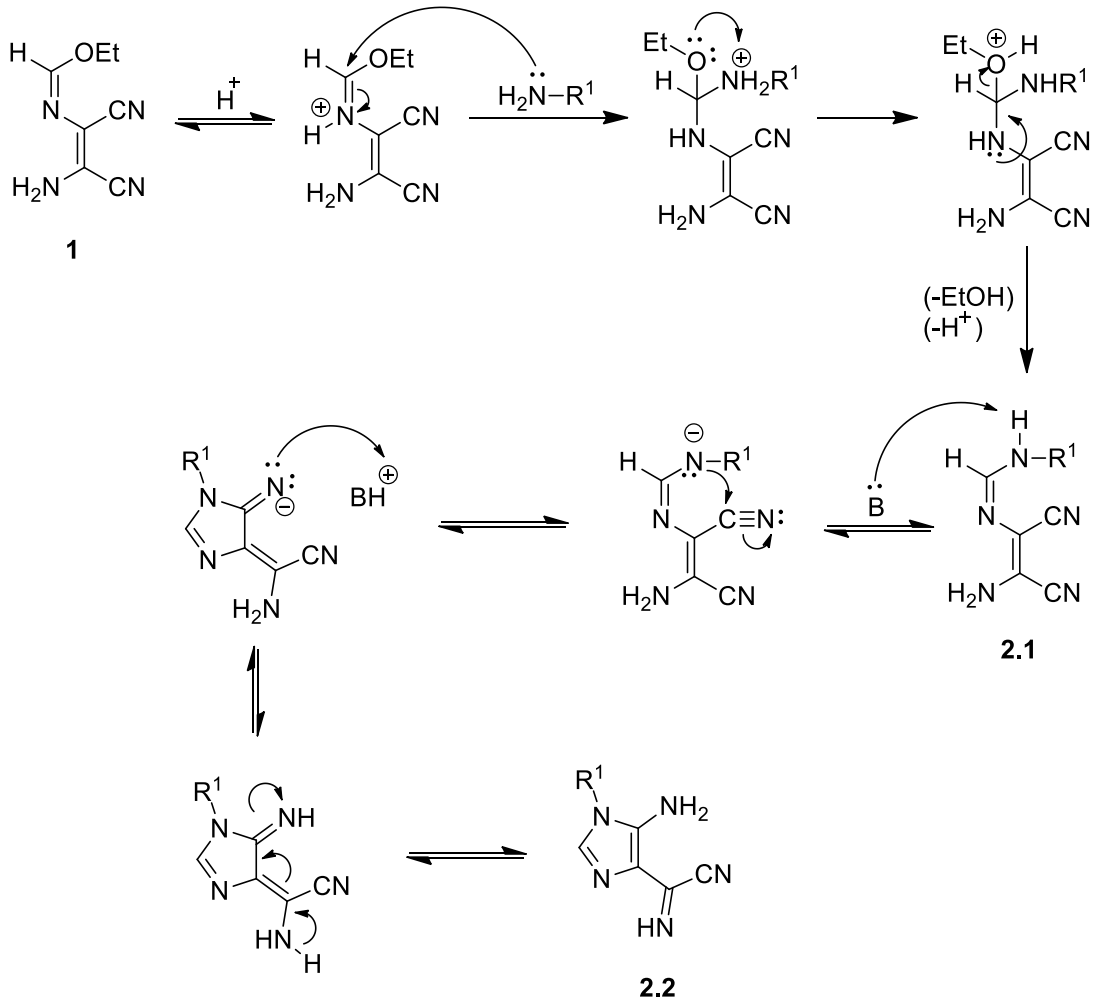
Tabela 1, verificou-se que a síntese da amidina **2.1a** através da reação do imidato **1** com metilamina foi a etapa mais rápida, demorando apenas 15 minutos. A etapa da ciclização das amidinas **2.1** foi mais rápida para a síntese do imidazole **2.2b**, demorando cerca de 1 hora e 30 minutos para terminar. De um modo geral, verificou-se que a primeira etapa da reação foi mais rápida quando o grupo R^1 é alifático (**2.2a** e **2.2c**) e a segunda etapa foi mais rápida para grupos R^1 aromáticos (**2.2b**). Estes valores podem ser explicados pelos efeitos eletrónicos dos substituintes das aminas utilizadas. Assim, as aminas alifáticas favorecem a primeira etapa porque são mais nucleofílicas. As aminas aromáticas são menos nucleofílicas devido à deslocalização do par de eletrões do átomo de nitrogénio mas, em contrapartida, aumenta o carácter ácido da amidina formada potenciando o efeito do DBU na ciclização intramolecular que origina o anel de imidazole.

Os imidazoles **2.2** foram isolados na forma de sólidos de cor amarela e bege claro. As reações foram realizadas com agitação magnética à temperatura ambiente, com exceção da segunda etapa da síntese do imidazole **2.2a**, que foi feita em banho de gelo. Os produtos formaram-se após 4 – 7 horas de reação e os rendimentos obtidos foram 63 - 93%. Os rendimentos mais baixos estão associados aos imidazoles com substituintes em R^1 alifáticos (**2.2a** e **2.2c**), o que se pode dever-se à sua maior

solubilidade, quando comparada com a dos imidazoles aromáticos. A identidade e a pureza dos imidazoles **2.2** de partida foi confirmada por comparação dos seus espetros de ^{1}H RMN com os dados espetroscópicos de amostras padrão.

1.2.2. Mecanismo reacional dos imidazoles 2.2

O mecanismo reacional proposto para a síntese dos imidazoles **2.2** a partir do imidato **1** (**Esquema 13**) inicia-se com a formação de uma amidina **2.1**. O carbono central do grupo funcional imidato **1**, uma vez protonado pelo cloreto de anilíneo (catálise ácida), sofre o ataque nucleofílico da amina primária seguido de eliminação de uma molécula de etanol. Em seguida, a amidina é desprotonada em presença de uma quantidade catalítica de DBU e ocorre ataque nucleofílico do azoto N1 da amidina ao grupo ciano mais próximo para formar o anel de imidazole. Após ciclização estabelece-se um equilíbrio com predomínio da estrutura **2.2**, uma vez que se trata da forma tautomérica mais estável.



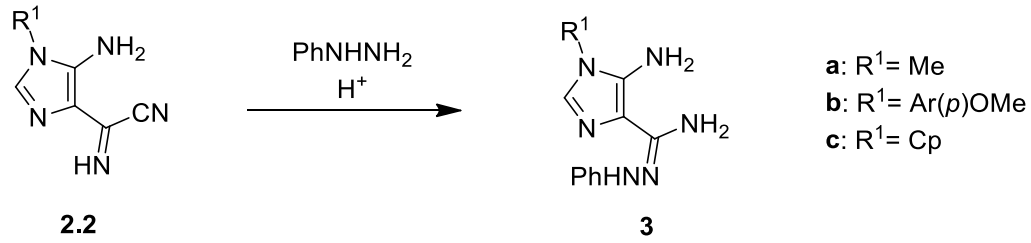
Esquema 13: Mecanismo reacional proposto para a síntese dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2** a partir do imidato **1**.

1.3. 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas (3)

Na etapa seguinte, foram preparadas várias 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas (**3**) a partir dos imidazoles **2.2** e de fenil-hidrazina. As amidrazonas **3** variam entre si pelo seu substituinte R^1, que é determinado pelo imidazole **2.2** selecionado. O método sintético tem por base a suscetibilidade do grupo 4-cianoformimidoílo (imidazoles **2.2**) ao ataque nucleofílico por parte de aminas e hidrazinas em meio ácido.

1.3.1. Síntese das amidrazonas 3

Foram preparadas várias 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** segundo um método desenvolvido em trabalho anterior [65], [66] que envolve a sequência reacional descrita no **Esquema 14**.



2.2 **3**

Esquema 14: Síntese de 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** a partir de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (**2.2**).

Neste método, os 4-cianoformimidoilimidazoles **2.2** reagem com uma hidrazina monossubstituída (neutra ou na forma de hidrocloreto), na presença de catálise ácida, para dar origem às 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas (**3**). No presente trabalho, apenas se utilizou uma hidrazina, a fenil-hidrazina, para a síntese dos compostos **3**. Os resultados obtidos encontram-se resumidos na **Tabela 2.**

Tabela 2: Condições reacionais para a síntese dos compostos **3**.

Comp.	Ref.	R^1	Fenil-hidrazina (eq.)	AcOH (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
3a	DD 133	Me	1,5	2 gotas	EtOH; Banho de gelo; N_2; 3h15min	96
3b	DD 221	Ar(*p*)OMe	1,5	3 gotas	EtOH; 8°C; N_2; 17h	94
3c	DD 327	Cp	1,5	3 gotas	EtOH; 8°C; N_2; 17h	80

As 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** são um grupo de compostos muito instáveis, que reagem muito facilmente com o oxigénio do ar, degradando rapidamente em solução, com formação de produtos intensamente corados de azul ou vermelho. De modo a evitar a degradação, as reações foram feitas à temperatura de 0 – 8°C, tendo o cuidado de manter sempre uma atmosfera de azoto dentro do balão da reação, para impedir o contacto do oxigénio com as amidrazonas formadas. Esta reação inicia-se com uma catálise ácida e, por isso, quando é utilizada a fenil-hidrazina, comercializada na forma neutra, é necessário adicionar uma quantidade catalítica de ácido acético. As reações demoraram entre 3 – 17 horas e obtiveram-se rendimentos muito bons, desde os 80% aos 96%. As 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** foram recolhidas na forma de sólidos de cor branca e bege claro, que começaram a ganhar tons azulados após alguns dias ou semanas.

1.3.2. Caracterização espetroscópica das amidrazonas 3

A pureza das amidrazonas **3** foi confirmada por ^{1}H RMN, comparando os seus espetros com os espetros de ^{1}H RMN de amostras padrão, sendo-lhes atribuída a estrutura **3**. Os dados espetroscópicos de ^{1}H RMN dos compostos **3** são apresentados na **Tabela 3**.

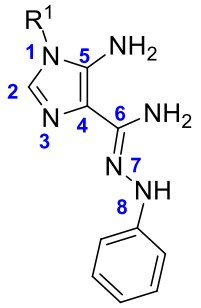


Tabela 3: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os compostos **3** (400 MHz/ DMSO-d_6).

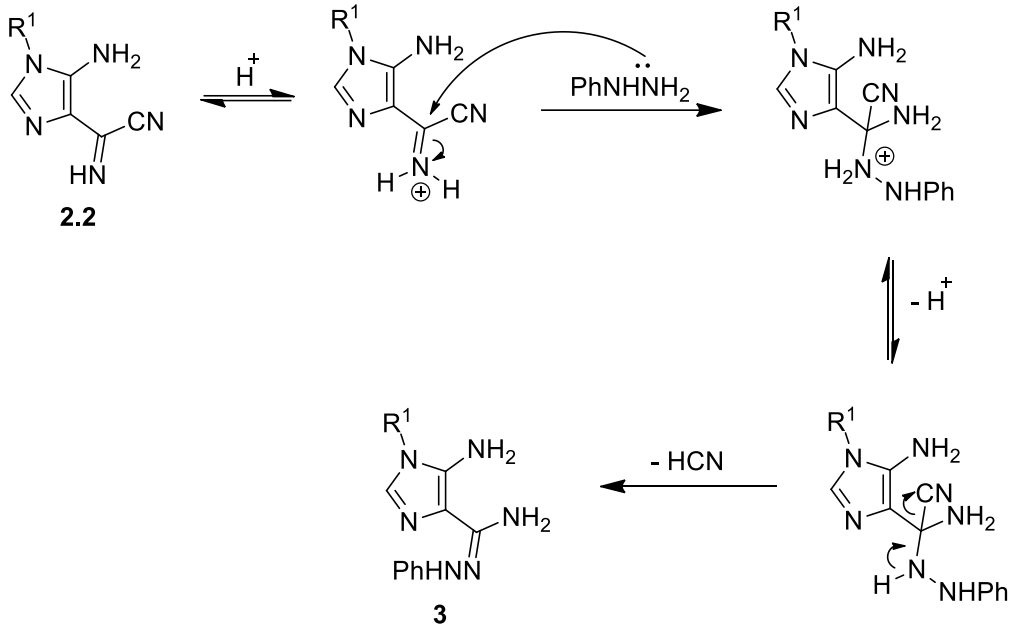
Comp.	R^1	R^1	2-H	5-NH_2	6-NH_2	8-NH	Ph
3a	Me	3,42 (3H, s)	7,13 (1H, s)	5,58 (2H, s)	5,67 (2H, s)	7,84 (1H, s)	6,57 (1H, t, *J* = 7,2 *Hz*) 6,83 (2H, d, *J* = 8,0 *Hz*) 7,10 (2H, t, *J* = 7,6 *Hz*)
3b	Ar(*p*)OMe	3,81 (3H; s) 7,09 (2H, d, *J* = 9,2 *Hz*) 7,43 (2H, d, *J* = 9,2 *Hz*)	7,30 (1H; s)	5,57 (2H; s)	5,77 (2H; s)	7,91 (1H; s)	6,57 (1H, t, *J* = 7,2 *Hz*) 6,84 (2H, d, *J* = 7,6 *Hz*) 7,11 (2H, t, *J* = 7,2 *Hz*)
3c	Cp	1,64 (2H; m) 1,77 (4H; m) 2,08 (2H; m) 4,35 (1H; qui, *J* = 9,2 *Hz*)	7,21 (1H; s)	5,62 (2H; s)	5,67 (2H; s)	7,83 (1H; s)	6,57 (1H, t, *J* = 7,2 *Hz*) 6,83 (2H, d, *J* = 7,6 *Hz*) 7,11 (2H, t, *J* = 7,2 *Hz*)

Verifica-se que estes compostos apresentam um singleto a integrar para um protão a δ 7,13 e 7,21 ppm, típico de um anel de imidazole com um grupo N^1-alquílico (compostos **3a** e **3c**, respetivamente); enquanto que o singleto a δ 7,30 ppm é típico de um anel de imidazole com um grupo N^1-arílico

(composto **3b**). Surgem ainda dois singletos largos centrados a δ 5,6 e 5,7–5,8 ppm, cada um a integrar para dois protões, típicos de dois grupos amino, os quais foram atribuídos com base no espetro de HMBC aos grupos 5-NH_2 e 6-NH_2, respetivamente. Observa-se que todos os compostos incorporam um grupo fenilo, com os protões das posições *orto* a surgir como dupletos a integrar para dois protões a δ 6,8 ppm e os protões da posição *para* como tripletos a integrar para um protão a δ 6,57 ppm. Estes desvios químicos são característicos de protões aromáticos do tipo hidrazona, sendo visível a influência dos efeitos dadores de eletrões dos grupos do tipo amino a ser exercidos nestas posições. Surge ainda um protão NH acídico, a δ 7,8–7,9 ppm, como um singleto estreito, revelando que o átomo de hidrogénio deve estar envolvido numa ligação por ponte de hidrogénio. O composto **3a** foi submetido à técnica NOE [65], irradiando o sinal NH a δ 7,8 ppm, e verificou-se um aumento dos protões 6-NH_2 e dos protões *orto* da unidade de fenil-hidrazina. Estes resultados indicam que o protão *N'*-H deve estar próximo de 6-NH_2 revelando que estas amidrazonas se encontram na configuração *Z*.

1.3.3. Mecanismo reacional para a síntese das amidrazonas 3

O mecanismo reacional proposto para a síntese de 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** a partir de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2** inicia-se com uma catálise ácida (**Esquema 15**). O composto protonado sofre então um ataque nucleofílico pela hidrazina, dando origem a um intermediário tetraédrico. De acordo com um estudo prévio [67], a utilização de uma quantidade catalítica de ácido acético em etanol favorece a eliminação de HCN, dando origem às 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3.**



Esquema 15: Mecanismo reacional proposto para a síntese de 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** a partir de 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles **2.2**.

2. Azo-imidazoles 4

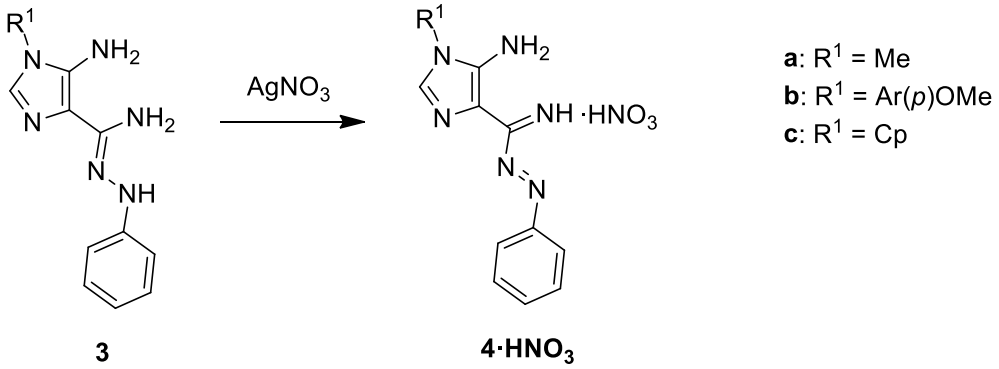
Como foi já mencionado, as 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** são compostos instáveis em solução e, quando são expostas ao ar, rapidamente adquirem tons azulados ou avermelhados muito intensos, sendo que este fenómeno foi também observado por Krauth *et al.* [68]. Segundo estes autores, as amidrazonas são muito suscetíveis à oxidação e podem apresentar potenciais de redução muito baixos. Em trabalho anterior [69], explorou-se a oxidação das amidrazonas **3** na presença de $AgNO_3$ e $CuCl_2 \cdot H_2O$, tendo-se observado a rápida formação de compostos avermelhados altamente corados. Com base nos dados espetroscópicos de ^1H RMN dos produtos isolados, propôs-se a formação de um composto azo, de estrutura **4**.

2.1. Azo-imidazoles na forma de sal de nitrato (4·HNO_3)

Neste trabalho, começou-se por oxidar as amidrazonas **3** na presença de $AgNO_3$ e os azo-imidazoles obtidos foram isolados na forma de sais de nitrato. As reações demonstraram vários problemas que se verificou estarem associados à elevada reatividade destes azo-imidazoles e foi necessário realizar um número bastante elevado de ensaios para otimizar as condições reacionais.

2.1.1. Síntese dos azo-imidazoles 4·HNO_3

As 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3** reagiram rapidamente na presença de $AgNO_3$, dando origem aos azo-imidazoles **4** na forma de sal de HNO_3, tal como está descrito no **Esquema 16**.



3 **4·HNO_3**

Esquema 16: Síntese dos azo-imidazloes **4·HNO_3** a partir das 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas **3**.

Na **Tabela 4** encontram-se resumidos os diferentes ensaios realizados para a obtenção do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**.

Tabela 4: Condições reacionais para a síntese do composto **4a·HNO$_3$**.

Ref.	$AgNO_3$ (eq.)	Condições Reacionais	η (%)*
DD 65	2,2	ACN; Banho de gelo; 3min	**(a)**
DD 74	2,2	ACN; Banho de gelo; 10min	**(a)**
DD 75	2,2	ACN; Banho de gelo; 15min	**(a)**
DD 78	3	ACN; Banho de gelo; 20min	88
DD 80	3	ACN; Banho de gelo; 20min	**(a)**
DD 83	3	ACN; Banho de gelo; 15min	91
DD 84	3	ACN; Banho de gelo; 30min	99
DD 94	3	ACN; Banho de gelo; 35min	**(a)**
DD 97	3	ACN; Banho de gelo; 35min	82
DD 114	3	ACN; Banho de gelo; 1h	99
DD 120	3	ACN; Banho de gelo; 1h	**(a)**
DD 281	3	ACN/EtOH; T.a.; 2min	65
DD 285	3	ACN/EtOH; T.a.; 5min	94
DD 294	3	ACN/EtOH; T.a.; 5min	99
DD 310	3	ACN/EtOH; T.a.; 5min	99
DD 316	3	ACN/EtOH; T.a.; 10min	97
DD 319	3	ACN/EtOH; T.a.; 15min	99
DD 333	3	ACN/EtOH; T.a.; 10min	89
DD 343	3	ACN/EtOH; T.a.; 15min	86
DD 344	3	ACN/EtOH; T.a.; 10min	99

***Os compostos contêm prata na forma sólida
(a) Os sólidos contêm amidrazona **3a·HA**

Nos primeiros ensaios, utilizou-se 2,2 equivalentes de $AgNO_3$ e selecionou-se o acetonitrilo (ACN) como solvente. As reações demoraram entre 3 – 15 minutos e obteve-se um sólido avermelhado escuro. Os resultados, inicialmente, não se mostraram reprodutíveis e os sólidos não se apresentaram puros por TLC. Os sólidos foram submetidos para análise de ^{1}H RMN, tendo-se confirmado que muitos dos produtos estavam impuros e foi possível identificar dois compostos distintos no espetro (**Figura 12**).

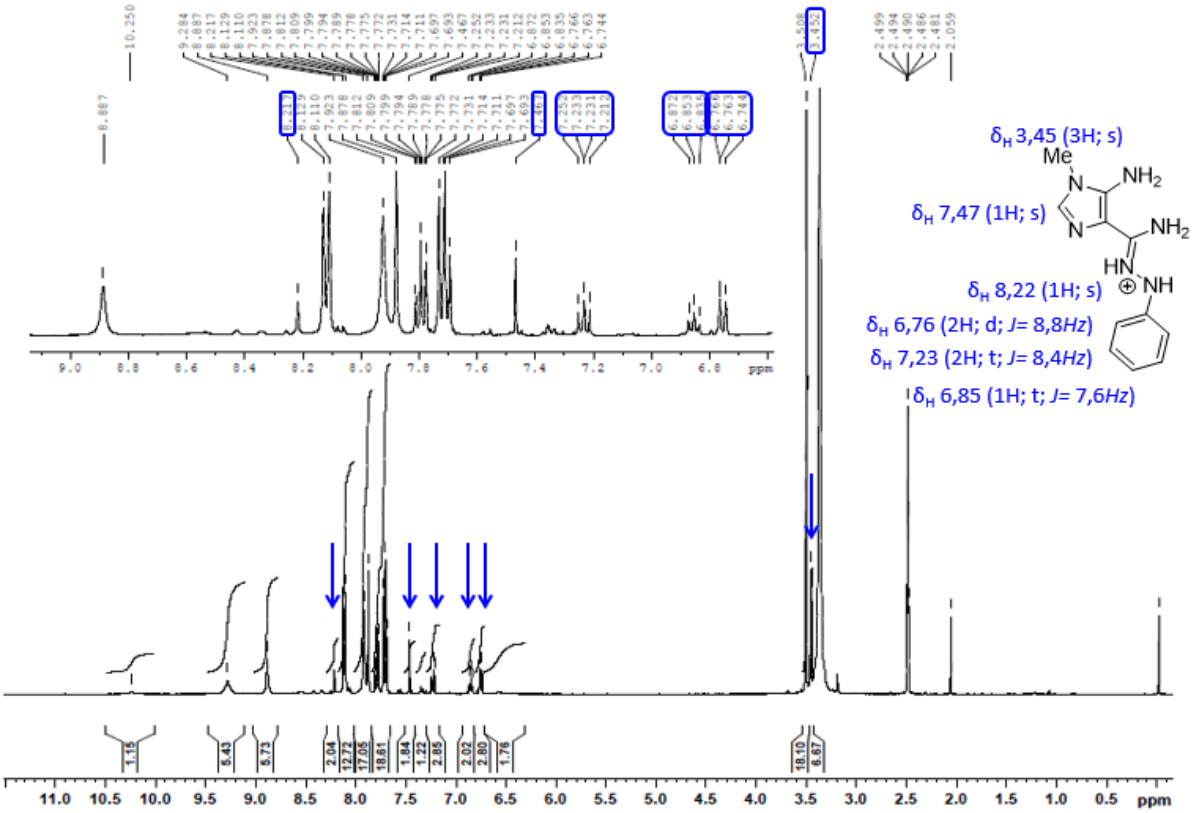
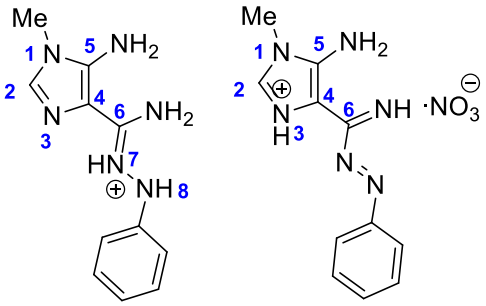


Figura 12: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a·HNO$_3$** contaminado com a amidrazona **3a** na forma ácida (400 MHz/ DMSO-d$_6$).



3a·HA **4a·HNO$_3$**

Tabela 5: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN dos compostos **3a·HA** e **4a·HNO$_3$** (400 MHz/ DMSO-d$_6$).

Comp.	1-CH$_3$	2-H	3-NH$^+$	5-NH$_2$	6-NH$_2$ 6-NH	8-NH	Ph
3a·HA	3,45 (3H; s)	7,45 (1H; s)	—	6,60 (2H; sl)	8,32 (1H; sl)	8,21 (1H; s)	6,84 (1H; t; *J= 7,6Hz*) 6,75 (2H; m) 7,22 (2H; t; *J= 7,2Hz*)
4a·HNO$_3$	3,51 (3H; s)	7,87 (1H; s)	9,28 (1H; sl)	7,92 (2H; s)	8,89 (1H; s)	—	7,71 (2H; t; *J= 8,0Hz*) 7,79 (1H; t; *J= 7,2Hz*) 8,12 (2H; d; *J= 7,6Hz*)

Por comparação com os dados espetroscópicos de ^{1}H RMN de amostras padrão do produto final e do reagente de partida (**Tabela 5**), foi possível atribuir os sinais do composto maioritário ao azo-

imidazole **4a·HNO$_3$**, enquanto que os sinais restantes (identificados com setas azuis na **Figura 12**) foram identificados como pertencendo à forma ácida da amidrazona de partida.

Nos ensaios seguintes, aumentámos a quantidade de $AgNO_3$ utilizada, de forma a garantir que todo o reagente de partida se converte no azo-imidazole final. No entanto, verificámos que os resultados continuaram a ser não reprodutíveis nestas condições, uma vez que os sólidos obtidos tanto eram isolados puros, como vinham contaminados com a amidrazona de partida **3** na forma ácida. Nestes casos, observámos muitas vezes a formação de produtos de consistência pegajosa, que atribuímos à co-precipitação do produto final com a amidrazona de partida. A adição de mais acetonitrilo não permitiu a dissolução destes depósitos, pelo que recorremos a um co-solvente mais polar, o etanol (EtOH), para este propósito. Assim, nos ensaios posteriores, utilizámos uma mistura de ACN/EtOH na proporção de 80:20. Desta forma, foi possível obter o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** puro, de forma reprodutível, com rendimentos excelentes (86 – 99 %).

Estas condições foram então utilizadas para a preparação dos restantes azo-imidazoles **4·HNO$_3$** e os resultados obtidos encontram-se resumidos na **Tabela 6**. Nesta etapa de síntese dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**, os iões Ag^+ são reduzidos a Ag^0, que precipita juntamente com o composto desejado. Assim, os sólidos recolhidos contêm sempre uma quantidade equivalente de prata no estado sólido.

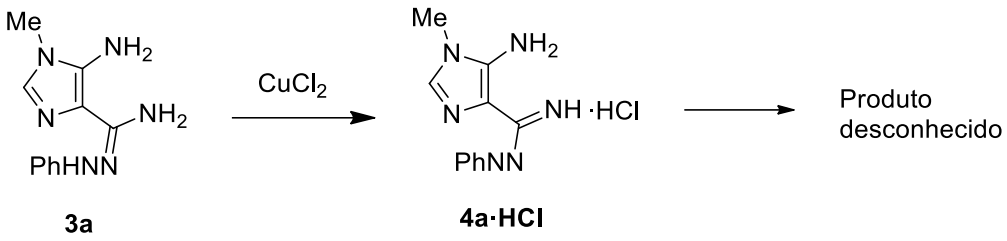
Tabela 6: Condições reacionais para a síntese dos compostos **4·HNO$_3$**.

Comp.	Ref.	R^1	$AgNO_3$ (eq.)	Condições Reacionais	η (%)*
4a·HNO3	DD 351	Me	3	ACN/EtOH; T.a.; 15min	99
4b·HNO3	DD 366	Ar(*p*)OMe	3	ACN/EtOH; T.a.; 15min	82
4c·HNO3	DD 348	Cp	3	ACN/EtOH; T.a.; 15min	93

*****Os compostos contêm prata na forma sólida

2.1.2. Síntese do azo-imidazole 4a utilizando cloreto de cobre(II)

Na tentativa de encontrar um agente oxidante mais económico, foi também testada a oxidação das amidrazonas com cloreto de cobre(II), como está descrito no **Esquema 17**. A uma suspensão da amidrazona **3a** em acetonitrilo e em banho de gelo, adicionou-se 2 equivalentes de cloreto de cobre(II). Após cerca de 15 minutos a reação estava completa e o sólido foi filtrado e recolhido. Por espetroscopia de ^{1}H RMN verificou-se tratar-se do azo-imidazole **4a** na forma ácida.



3a **4a·HCl**

Esquema 17: Síntese do azo-imidazloe **4a·HCl** a partir da amidrazona **3a**, utilizando cloreto de cobre(II).

No entanto, verificou-se que o composto não era estável em solução, como se pode ver pela **Figura 13**, e após 24 horas evoluiu para um novo composto que ainda não foi possível identificar. Assim, decidimos continuar a realizar a síntese dos azo-imidazoles **4a** utilizando apenas o nitrato de prata, uma vez que os compostos **4·HNO$_3$** são estáveis.

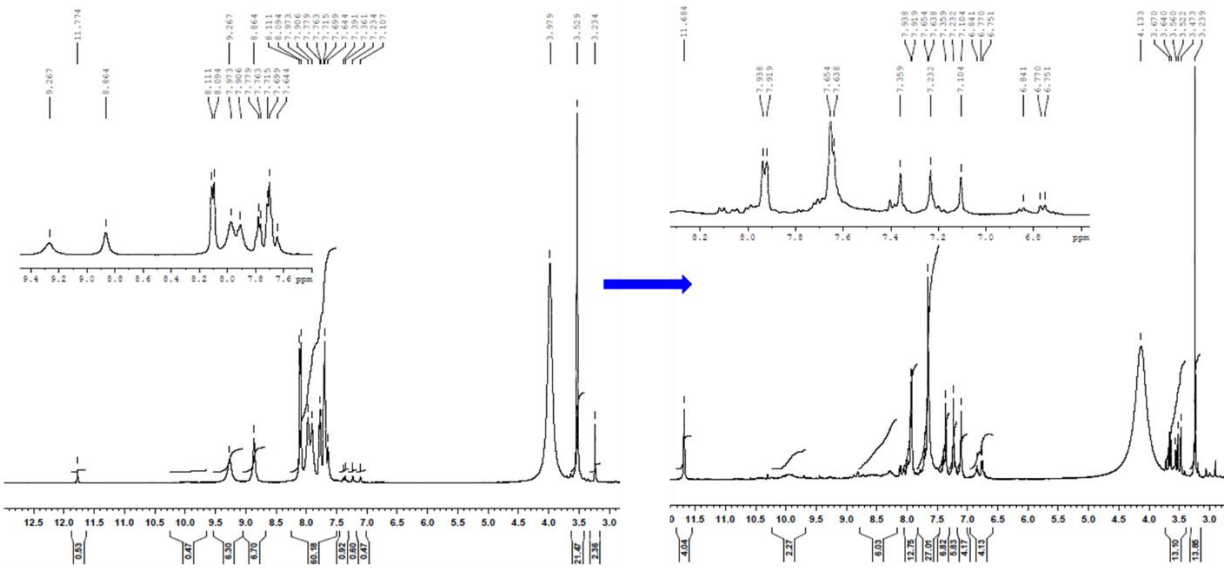
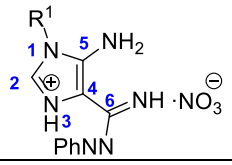


Figura 13: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a·HCl** imediatamente após a síntese (Esquerda); Espetro de ^{1}H RMN da evolução do composto **4a·HCl** no tubo, após 1 dia (Direita); (400 MHz; DMSO-d$_6$).

2.1.3. Caracterização espetroscópica dos azo-imidazoles na forma de sal de HNO_3 (**4·HNO_3**)

Na **Tabela 7** apresentam-se os dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os azo-imidazoles **4·HNO_3**. Estes compostos apresentam um singleto a integrar para um protão a δ 7,9 – 8,1 ppm, correspondente ao anel de imidazole. Surgem dois protões acídicos como singletos largos centrados a δ 9,3 – 9,5 ppm e δ 8,9 – 9,1 ppm. Verifica-se ainda a presença de um singleto a integrar para dois protões, a δ 7,8 – 7,9 ppm, que corresponde ao grupo amino da posição 5. Todos os compostos apresentam uma unidade de fenilo, com: (a) os sinais dos protões da posição *orto* como dupletos a integrar para dois protões a δ 8,1 ppm, (b) os sinais dos protões da posição *meta* como tripletos a δ 7,7 ppm a integrar para dois protões, e (c) os sinais dos protões da posição *para* a integrarem para um protão apresentando-se como um tripleto a δ 7,8 ppm.

Tabela 7: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os compostos **4·HNO_3** (400 MHz/ DMSO-d_6).



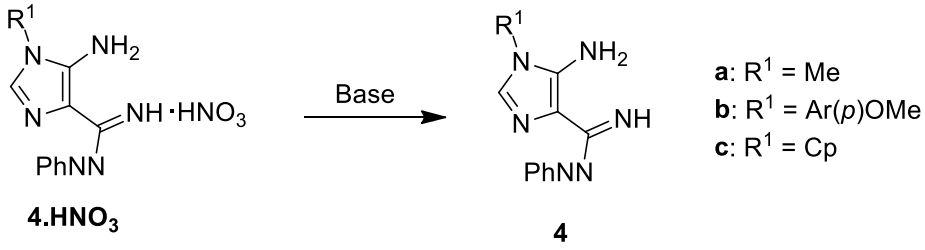
Comp.	R^1	R^1	2-H	3-NH $^+$	5-NH_2	6-NH	Ph
4a·HNO_3	Me	3,51 (3H; s)	7,87 (1H; s)	9,28 (1H; sl)	7,92 (2H; s)	8,89 (1H; sl)	7,71 (2H; t; *J= 8,0Hz*) 7,79 (1H; t; *J= 7,2Hz*) 8,12 (2H; d; *J= 7,6Hz*)
4b·HNO_3	Ar(*p*)OMe	3,84 (3H; s) 7,18 (2H; d; *J= 8,8Hz)* 7,52 (2H; d; *J= 6,8Hz)*	8,02 (1H; s)	9,54 (1H; sl)	7,78 (2H; s)	9,08 (1H; sl)	7,71 (2H; t; *J= 8,0Hz*) 7,80 (1H; t; *J= 7,2Hz*) 8,09 (2H; d; *J= 7,6Hz*)
4c·HNO_3	Cp	1,67 (2H; m) 1,83 (4H; m) 2,13 (2H; m) 4,52 (1H; qui; *J = 7,2Hz*)	8,09 (1H, s)	9,34 (1H; sl)	7,90 (2H; s)	8,92 (1H; sl)	7,72 (2H; t; *J= 8,0Hz)* 7,76 (1H; t; *J= 7,6Hz*) 8,11 (2H; d; *J= 7,2Hz*)

2.2. Azo-imidazoles 4 na forma neutra

Na etapa seguinte procedeu-se à neutralização dos sais anteriormente obtidos. No entanto, o processo foi bem mais difícil do que o que se previa, uma vez que as formas neutras se mostraram muito mais reativas do que as correspondentes formas de sal. Assim, foram necessários vários ensaios para tentar isolar o produto antes deste evoluir no sentido da formação de produtos laterais extremamente corados.

2.2.1. Neutralização dos azo-imidazoles 4·HNO_3

Após a síntese dos compostos **4·HNO_3**, pretendeu-se obter estas moléculas na forma neutra utilizando uma base, como está descrito no **Esquema 18**.



4.HNO_3 **4**

Esquema 18: Neutralização dos azo-imidazoles **4·HNO_3**.

Foram testadas diferentes bases em diversas condições, apresentando-se um resumo das condições reacionais utilizadas na **Tabela 8**. Inicialmente, o composto **4a·HNO_3** foi dissolvido em água destilada e adicionou-se trietilamina (Et_3N), o que fez precipitar de imediato um sólido cinzento escuro. Este sólido foi filtrado sob vácuo, recolhido e analisado por espetroscopia de ^1H RMN. No espetro obtido foi identificado um único composto, ao qual se atribuiu a estrutura **4a**. Foram efetuados dois ensaios com a trietilamina: um ensaio realizado à temperatura ambiente e um outro ensaio realizado em banho de gelo. Verificou-se que, no ensaio realizado em banho de gelo, o rendimento foi superior (82 %) ao obtido no ensaio realizado à temperatura ambiente (70 %). Nos ensaios seguintes, foi testada a neutralização do composto **4a·HNO_3** utilizando hidróxido de sódio (NaOH) e o rendimento aumentou para 92 – 99 %.

Como o composto **4a·HNO_3** é solúvel em água, testámos a possibilidade de remover a prata sólida durante esta etapa de síntese. Para tal, o composto foi dissolvido em água destilada e, de seguida, efetuou-se uma filtração sob vácuo, utilizando fibra de vidro para reter e remover a prata da solução. De seguida, efetuou-se o mesmo procedimento utilizado nos ensaios anteriores e obteve-se um composto puro, sem prata, mas com rendimentos mais baixos (32 % e 34 %).

Tabela 8: Condições reacionais para a neutralização dos compostos **4·HNO$_3$**.

Comp.	Ref.	R[1]	Base (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
4a	DD 82	Me	Et_3N (3 eq.)	H_2O; T.a.; 3min	70 **(a)**
	DD 85	Me	Et_3N (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	82 **(a)**
	DD 88	Me	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	99 **(a)**
	DD 104	Me	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	32 **(b)**
	DD 136	Me	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	34 **(b)**
	DD 299	Me	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	93 **(a)**
	DD 301	Me	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	92 **(a)**
4b	DD 225	Ar(*p*)OMe	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	**(c)**
	DD 232	Ar(*p*)OMe	$Na_2CO_3{\cdot}10H_2O$ (1,5 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	**(c)**
	DD 238	Ar(*p*)OMe	$NaHCO_3$ (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	95 **(a)**
	DD 243	Ar(*p*)OMe	$NaHCO_3$ (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	99 **(a)**
4c	DD 219	Cp	NaOH (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	**(c)**
	DD 233	Cp	$Na_2CO_3{\cdot}10H_2O$ (1,5 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	**(c)**
	DD 251	Cp	$NaHCO_3$ (3 eq.)	H_2O; Banho de gelo; 3min	**(c)**

(a) Sólido contém prata metálica
(b) Sólido sem prata
(c) Produto impuro

Quando se tentou aplicar este método à neutralização do composto **4b·HNO$_3$**, verificou-se que o produto obtido dava origem a uma mistura de compostos, quando analisado por ^{1}H RMN. De seguida, testou-se a neutralização com uma base mais fraca, o carbonato de sódio ($Na_2CO_3{\cdot}10H_2O$) e obtivemos o mesmo resultado. Por fim, experimentou-se o bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), que se mostrou capaz de neutralizar o composto **4b·HNO$_3$**, dando origem ao composto **4b** com rendimentos entre os 95 % e 99 %. A remoção da prata sólida durante a etapa de neutralização não se mostrou viável para este composto, uma vez que o azo-imidazole **4b·HNO$_3$** não é totalmente solúvel em água.

Não foi possível obter a forma neutra do composto **4c·HNO$_3$** utilizando as condições testadas, dado que todos os produtos obtidos nos diversos ensaios realizados se encontravam impuros.

2.2.2. Caracterização espetroscópica dos azo-imidazoles na forma neutra (4)

Estes produtos foram caracterizados por ^{1}H RMN e os dados obtidos encontram-se resumidos na **Tabela 9**.

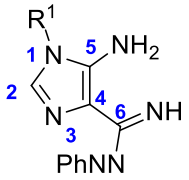


Tabela 9: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN para os compostos **4** (400 MHz/ DMSO-d_6).

Comp.	R^1	R^1	2-H	5-NH_2	6-NH	Ph
4a	Me	3,44 (3H; s)	7,10 (1H; s)	6,43 (2H; s)	8,05 (1H; s)	7,82 (2H; sl) 7,60 (3H; sl)
4b	Ar(*p*)OMe	3,84 (3H; s) 7,18 (2H; d; *J= 8,8Hz)* 7,52 (2H; d; *J= 6,8Hz)*	8,01 (1H; sl)	Não é visível	9,23 (1H; sl)	8,08 (2H; sl) 7,72 (3H; sl)

Tal como evidenciado nesta tabela, os sinais observados surgem na forma de bandas largas e muito largas que sugerem a presença de vários tautómeros/isómeros. Por adição de ácido foi possível observar um conjunto de bandas estreitas correspondentes às formas protonadas caracterizadas na secção **2.1.3** (**Tabela 7**), o que comprovou que os produtos tinham a estrutura da forma neutra pretendida. No entanto, não foi possível caracterizar estes produtos por ^{13}C RMN, dado que a grande maioria dos sinais ficaram diluídos no ruído de fundo, possivelmente devido ao tautomerismo.

3. Dímero (5)

Durante as reações de neutralização dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$** verificámos que, por vezes, o produto final estava impuro, sendo possível identificar um segundo composto nos espetros de ^{1}H RMN (**Figura 14**). Os sinais adicionais (identificados com setas azuis) foram atribuídos ao composto de estrutura **5**, já identificado em trabalho anterior (resultados não publicados), que foi designado como dímero.

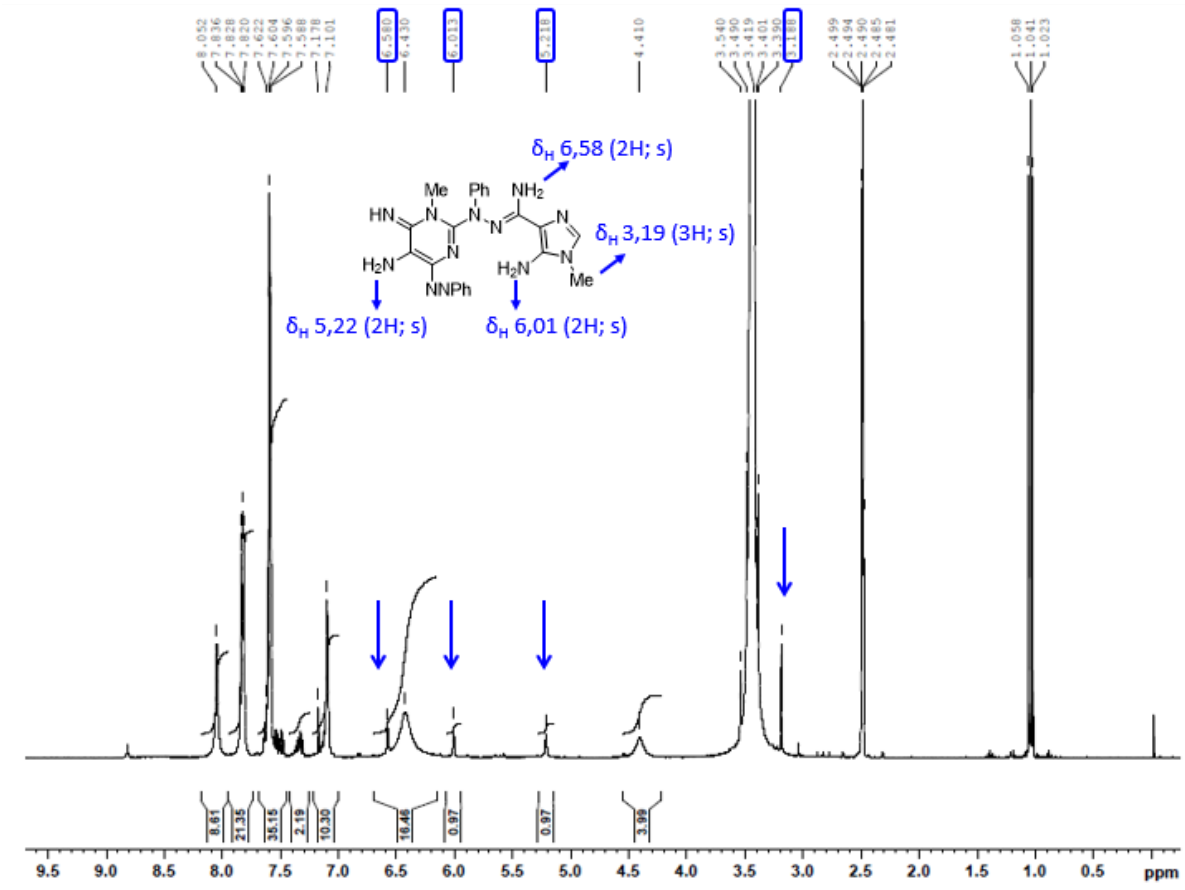


Figura 14: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a** contaminado com o composto **5** (400 MHz/ DMSO-d$_6$).

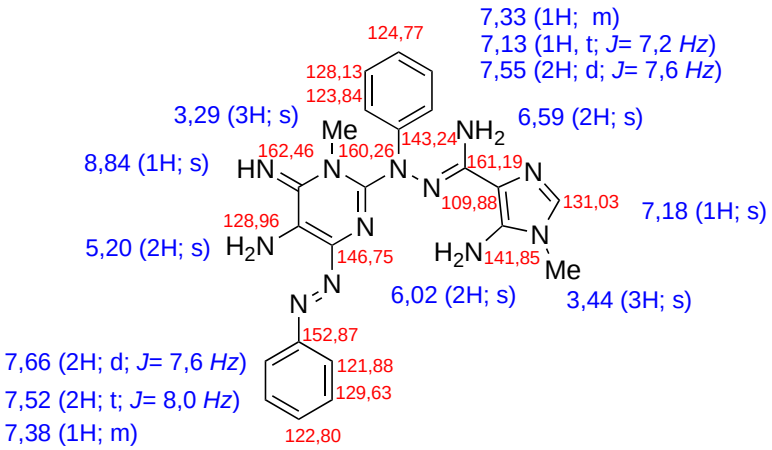


Figura 15: Dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}CRMN do composto **5** (400 e 100MHz/ DMSO-d_6).

Os dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}C RMN do composto **5** encontram-se resumidos na **Figura 15**. O espetro de protão apresenta dois conjuntos de sinais atribuídos a dois anéis de benzeno que surgem com integrações equivalentes: (1) um grupo fenilo monossubstituído do tipo azo (δ 7,66; 7,52 e 7,38 ppm); (2) um outro grupo fenilo monossubstituído, mais do tipo hidrazo (δ 7,55; 7,33 e 7,13 ppm). Observam-se ainda dois grupos metilo a δ 3,44 e 3,29 ppm, cujas correlações a três ligações (HMBC) demonstraram que estão incorporados numa unidade de 5-aminoimidazole e numa unidade de pirimidina, respetivamente. Verifica-se que os sinais a δ 3,44 correlacionam com os sinais dos carbonos C4 (δ 141,85 ppm) e C5 (δ 109,88 ppm) do anel de imidazole. Por outro lado, os sinais a δ 3,29 correlacionam com os sinais dos carbonos C2 (δ 160,26 ppm) e C6 (δ 162,46 ppm) do anel de pirimidina. Adicionalmente, as correlações dos singletos dos grupos NH_2 a δ 6,02 e 6,59 ppm (correlacionam com δ 109,88 a três ligações), ambos a integrar para dois protões, e do singleto de 2-H a δ 7,18 ppm (correlação com δ 131,03 ppm, a uma ligação; e com δ 141,85 e δ 109,88, a três ligações) confirmaram a presença do 5-aminoimidazole. Por outro lado, as correlações do singleto a δ 8,84 ppm, a integrar para um protão, com C6 (δ 162,46 ppm) e C5 (δ 128,96 ppm) a três ligações, apoiaram a presença da 5-aminopirimidina.

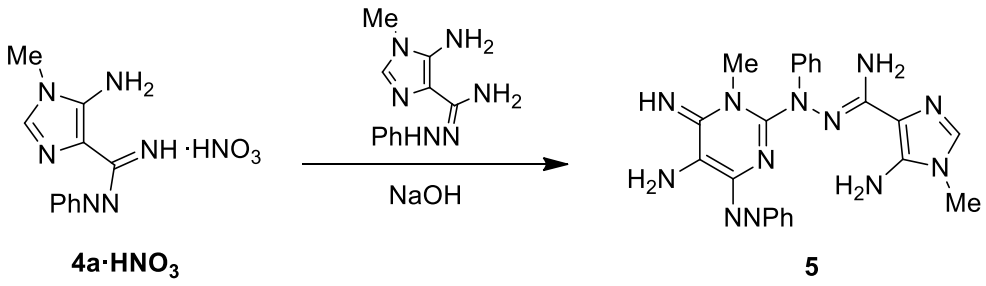
De forma a esclarecer a reação de formação deste composto e, subsequentemente, evitar a sua formação durante a neutralização dos azo-imidazoles **4·HNO_3**, foram testados diferentes métodos para a sua obtenção.

3.1. Dímero (5) a partir do azo-imidazole (4·HNO_3)

Inicialmente, pensou-se que a formação do composto **5** estivesse relacionada com a presença de vestígios do sal de amidrazona **3·HA** no reagente de partida utilizado. De forma a verificar esta hipótese, utilizou-se um azo-imidazole **4a·HNO_3** contaminado com a amidrazona **3a** na forma de sal, e colocou-se a reagir com trietilamina. Foi obtido um sólido azul escuro que se mostrou puro por ^{1}H RMN e que foi identificado como sendo o dímero **5**.

3.1.1. Síntese do dímero (5) a partir do azo-imidazole (4·HNO_3)

Seguidamente, foi possível verificar que o dímero **5** pode ser sintetizado a partir do azo-imidazole **4a·HNO_3**, na presença de 0,1 equivalentes da amidrazona **3a** e 1 equivalente de NaOH, como está descrito no **Esquema 19**.



4a·HNO_3 **5**

Esquema 19: Síntese do composto **5**, a partir do azo-imidazole **4a·HNO_3** e da amidrazona **3a**.

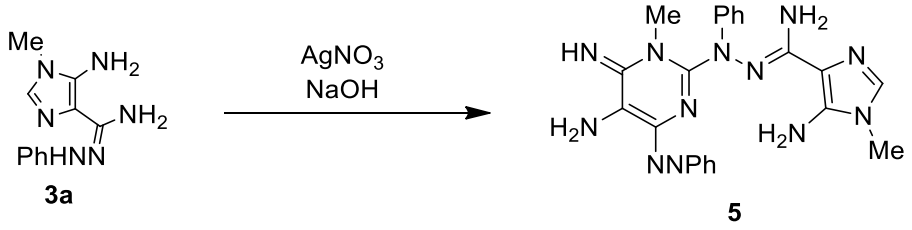
Assim, a uma suspensão do composto **4a·HNO_3** em acetonitrilo adicionou-se a amidrazona **3a** e o hidróxido de sódio, o que deu origem à formação de uma solução de cor azul intensa. Após cerca de 15 minutos, a reação estava completa. A solução foi filtrada sob vácuo, utilizando fibra de vidro para reter e remover a prata sólida, e a solução recolhida foi evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. O sólido obtido por precipitação com ACN mostrou-se puro por espetroscopia de ^{1}H RMN e foi identificado como sendo o composto **5**. Esta reação teve um rendimento de 16 %, o que pode ser justificado pela elevada solubilidade do composto em acetonitrilo.

3.2. Dímero (5) a partir da amidrazona (3)

Uma vez confirmado que o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** reage com a amidrazona **3a** para dar o dímero **5**, decidiu-se testar a síntese *in situ* partindo da amidrazona e de $AgNO_3$.

3.2.1. Síntese do dímero (5) a partir da amidrazona (3)

O segundo método de síntese do dímero **5** encontra-se descrito no **Esquema 20** e envolve o tratamento da amidrazona com NaOH na presença de uma quantidade catalítica de $AgNO_3$.



Esquema 20: Síntese do composto **5**, a partir da amidrazona **3a** e de $AgNO_3$.

Neste método, preparou-se uma suspensão da amidrazona **3a** em ACN/H_2O (1:1) e adicionou-se 2 equivalentes de NaOH e 0,1 equivalentes de $AgNO_3$. Formou-se uma solução de cor azul intensa e, após cerca de 20 minutos, a reação estava terminada. A adição de água destilada à solução levou à precipitação de um sólido azul escuro, que foi filtrado sob vácuo, sendo o rendimento desta reação de 60 %. O sólido recolhido mostrou-se puro por espetroscopia de ^{1}H RMN e foi identificado como sendo o composto de estrutura **5**.

3.3. Evolução do azo-imidazole (4)

Na secção **3.1** concluíu-se que a presença do sal de amidrazona **3·HA** como contaminante dos produtos **4·HNO$_3$** leva a que a neutralização destes resulte na formação do composto **5**. No entanto, no seguimento do trabalho de síntese, observou-se que a neutralização dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$** que se mostravam puros por espetroscopia de ^{1}H RMN, por vezes continuavam a dar origem a produtos impuros, contaminados com o composto **5**. Uma possível explicação para estes resultados surgiu do estudo da estabilidade dos compostos **4**.

De forma a avaliar a estabilidade dos azo-imidazoles **4**, foram realizados vários ensaios de espetroscopia de ^{1}H RMN. No primeiro ensaio, preparou-se uma amostra do composto **4a** imediatamente após a sua síntese e, como se pode ver na **Figura 16** (Esquerda), o sólido encontrava-se puro.

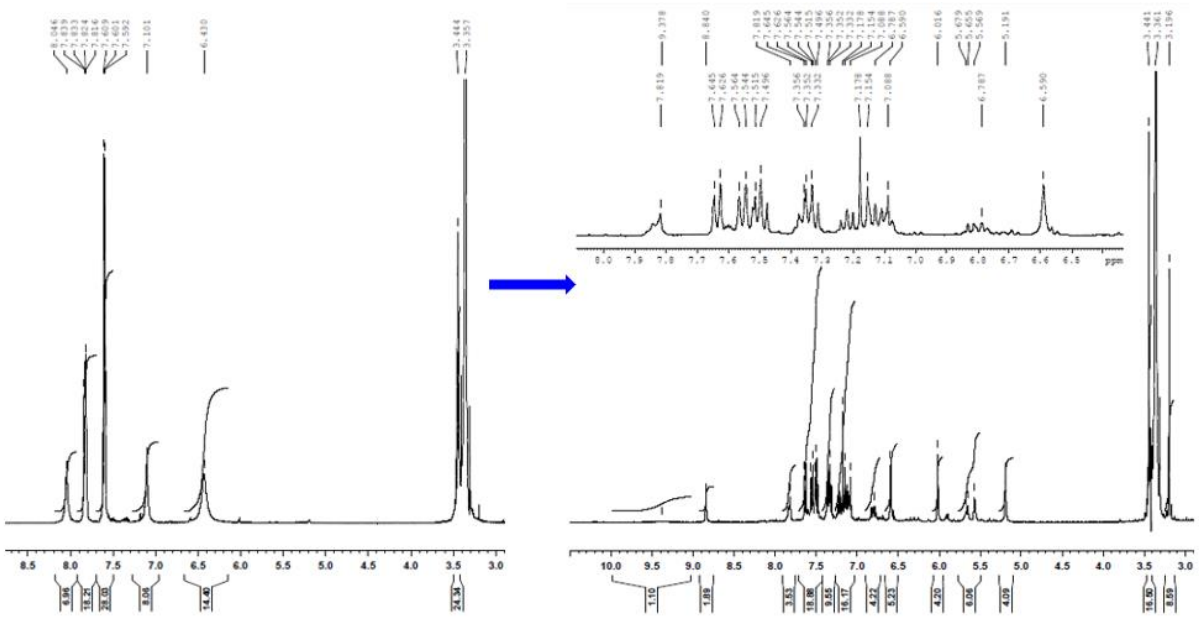


Figura 16: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a** imediatamente após a síntese (Esquerda); Espetro de ^{1}H RMN da evolução do composto **4a** no tubo, após 1 dia (Direita); (400 MHz; DMSO-d_6).

Após 1 dia, adquiriu-se novamente o espetro de ^{1}H RMN do mesmo tubo, contendo a mesma amostra, e obteve-se o resultado apresentado na **Figura 16** (Direita). Os sinais deste segundo espetro correspondem ao dímero **5**. Estes resultados permitem concluir que os compostos **4** não são estáveis em solução, sendo que evoluem de forma a originarem o composto **5**.

Num segundo ensaio, preparou-se novamente uma amostra do composto **4a** imediatamente após a sua síntese que, como se pode ver na **Figura 17** (Esquerda), também se encontrava puro. Após 16 dias, preparou-se uma nova amostra do mesmo sólido utilizado anteriormente, e obteve-se o espetro de ^{1}H RMN que se pode ver na **Figura 17** (Direita). Os sinais do espetro de ^{1}H RMN da segunda amostra foram atribuídos ao composto **5**. Com base nestes resultados podemos concluir que os azo-imidazoles **4** também não são estáveis na forma sólida, dando origem ao dímero **5** após permanecer alguns dias em solução.

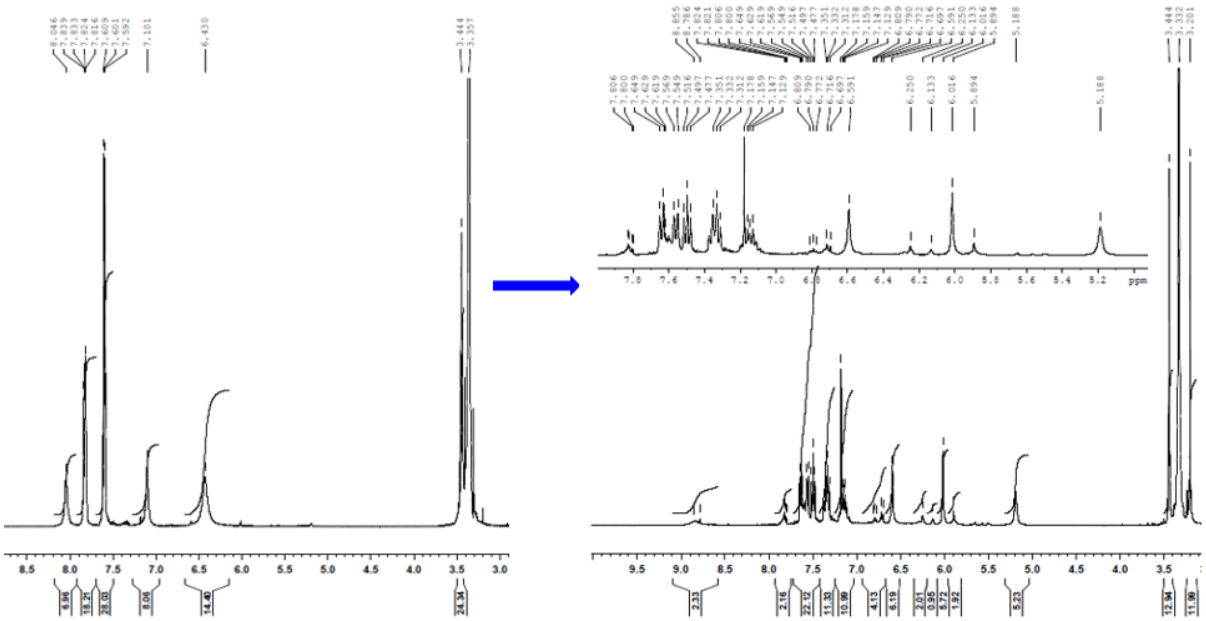


Figura 17: Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a** imediatamente após a síntese (Esquerda); Espetro de ^{1}H RMN do composto **4a**, 16 dias após a síntese (Direita); (400 MHz; DMSO-d_6).

Em suma, a presença do composto **5** como contaminação nos produtos da reação de neutralização dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$** pode ser devida não só à presença do sal de amidrazona **3·HA** como contaminante dos reagentes de partida, como pode também ser explicada pelo facto de o produto final (azo-imidazole **4**) evoluir facilmente de modo a dar o composto **5**.

Para além disso, as evidências sugerem que, na evolução dos compostos **4** para o dímero **5**, ocorre uma etapa de oxidação onde são libertados eletrões que reduzem o azo-imidazole **4**, regenerando a amidrazona de partida (**3**). Assim, estes resultados revelam que a reação de oxidação das amidrazonas **3** em azo-imidazoles **4** parece ser um processo reversível.

4. Azo-pirimidinas 6

Uma vez demonstrado que os azo-imidazoles **4** reagiam muito facilmente com as amidrazonas **3** através do grupo NH da unidade de hidrazona, para dar um derivado de azo-pirimidina (composto **5**), testou-se a reatividade destes azo-imidazoles na presença de uma grande variedade de aminas para gerar outras 2-amino azo-pirimidinas.

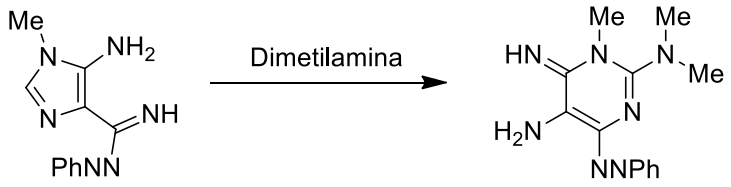
4.1. Azo-pirimidinas 6 a partir dos azo-imidazoles 4

No sentido de obter outras 2-amino azo-pirimidinas, foram realizados vários ensaios preliminares em que os azo-imidazoles **4** foram combinados com aminas como o amoníaco, anilina, benzilamina, dimetilamina, piperidina, morfolina, etc. Os resultados demonstraram que as reações com aminas primárias apenas originaram o dímero **5**, evidenciando que se comportaram unicamente como bases. No entanto, as reações com algumas aminas secundárias foram promissoras, uma vez que ocorreram reações muito rápidas com formação de produtos altamente corados que surgiam como manchas de cor e posição diferentes das manchas do composto **5** em TLC.

4.1.1. Síntese da azo-pirimidina 6a a partir do azo-imidazole 4a

Com base nos ensaios preliminares, os azo-imidazoles **4** foram combinados com aminas secundárias na tentativa de obter as azo-pirimidinas de estrutura **6**. No **Esquema 21** encontra-se representada a reação de síntese dos compostos **6a** e as condições reacionais utilizadas encontram-se resumidas na **Tabela 10**.

.



4a **6a**

Esquema 21: Síntese do composto **6a** a partir do azo-imidazole **4a**.

Tabela 10: Condições reacionais para a síntese do composto **6a** a partir do azo-imidazole **4a**.

Ref.	Dimetilamina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
DD 69-2	3	ACN; Banho de gelo; 30min	**(a)**
DD 87	3,2	ACN; Banho de gelo; 30min	18
DD 102	3	ACN; Banho de gelo; 15min	8
DD 106	3	ACN; Banho de gelo; 10min	**(b)**

(a) Não foi possível isolar
(b) Produto com impurezas

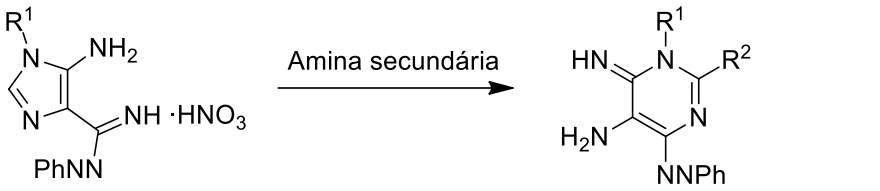
Neste método, fez-se reagir uma suspensão do azo-imidazole **4a** com dimetilamina (1,2 – 3 equivalentes) em acetonitrilo, sob agitação magnética, em banho de gelo. Observou-se a formação imediata de uma solução de cor magenta intensa e, após 10 – 30 minutos, a reação encontrava-se terminada. A solução foi filtrada utilizando fibra de vidro para reter e remover a prata e o sólido obtido, após concentração no evaporador rotativo a 40 °C, foi identificado como sendo o composto **6a**. Os rendimentos obtidos por este método foram muito baixos (8 e 18 %), o que se deve à elevada solubilidade do produto em acetonitrilo.

4.2. Azo-pirimidinas 6 a partir dos azo-imidazoles 4·HNO_3

Na secção **3.3**, concluiu-se que os azo-imidazoles **4** não são estáveis, dado que facilmente evoluem para o dímero **5** na forma sólida. Assim, de modo a evitar a contaminação dos produtos finais com este produto secundário, decidiu-se testar a síntese das azo-pirimidinas **6** partindo dos sais de azo-imidazole **4·HNO_3** por serem mais estáveis.

4.2.1. Síntese das azo-pirimidinas 6 a partir dos azo-imidazoles 4·HNO_3

Nesta secção explorou-se a síntese das azo-pirimidinas **6** a partir dos azo-imidazoles **4·HNO_3** em diferentes condições reacionais (**Esquema 22**). Foram testadas diferentes condições de solvente e temperatura, assim como a presença ou ausência de agentes oxidantes ($AgNO_3$, O_2 ou atmosfera de azoto).



4·HNO$_3$ **6**

a: R^1 = Me/ R^2 = $N(CH_3)_2$
b: R^1 = Me/ R^2 = NC_5H_{10}
c: R^1 = Ar(*p*)OMe/ R^2 = $N(CH_3)_2$
d: R^1 = Ar(*p*)OMe/ R^2 = NC_5H_{10}

Esquema 22: Síntese dos compostos **6**, a partir dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**.

Inicialmente, seguiu-se o método descrito anteriormente (secção **4.1.1**), mas utilizando o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** como reagente de partida (**Tabela 11**).

Tabela 11: Condições reacionais para a síntese do composto **6a** a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**.

Ref.	Et_3N (eq.)	Dimetilamina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
DD 70	–	4	ACN; Banho de gelo; 10min	**(a), (b)**
DD 108	–	2,4	ACN; Banho de gelo; 15min	**(a), (b)**
DD 109	–	4	ACN; Banho de gelo; 15min	**(a), (b)**
DD 115	–	8	ACN; Banho de gelo; 30min	35 **(a)**
DD 119	4	4	ACN; Banho de gelo; 15min	**(a), (b)**
DD 121	6	10	ACN; Banho de gelo; 30min	**(a), (b)**
DD 126	6	10	ACN; Banho de gelo; 30min	16 + 14 **(a)**

(a) Composto isolado na forma ácida
(b) Produto com impurezas

Quando se utilizou 2,4 e 4 equivalentes de dimetilamina, verificou-se que o produto foi obtido na forma ácida e veio acompanhado de muitas impurezas. Aumentando a quantidade da amina secundária para 8 equivalentes, foi possível obter o composto **6a** puro, mas na forma ácida e com um rendimento de 35 %. Em seguida, testou-se a neutralização *in situ*, de forma a obter o azo-imidazole **6a** na forma neutra. Para tal, adicionou-se trietilamina (4 e 6 equivalentes) no início da reação, mas os produtos obtidos foram igualmente isolados na forma ácida e continham impurezas. Face a estes resultados, surgiu a hipótese da trietilamina estar a ser eliminada durante o processo de evaporação, fazendo com que a neutralização não fosse eficaz. De modo a testar esta hipótese, decidiu-se adicionar Et_3N após a evaporação, o que permitiu obter o composto **6a** na forma neutra, e foi isolado puro com um rendimento

de 16 %. Foi recolhida uma segunda fração, que foi novamente evaporada até à secura. Dado que não se utilizou Et_3N adicional, obteve-se o composto **6a** na forma ácida, com um rendimento de 14 %.

Uma vez que o produto é muito solúvel em acetonitrilo, os baixos rendimentos obtidos foram atribuídos a estas limitações de solubilidade associadas, eventualmente, à presença de impurezas. Deste modo, no passo seguinte da otimização utilizou-se um solvente em que o produto final não é solúvel, a água (**Tabela 12**), e testou-se o hidróxido de sódio como base. Partiu-se de uma suspensão do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** em água destilada, adicionou-se 4 equivalentes de piperidina seguida de NaOH (2 – 3 equivalentes). Verificou-se a precipitação imediata de um sólido escuro e após 15 – 20 minutos, a reação estava terminada nos três ensaios realizados. O sólido foi filtrado, recolhido e analisado por espetroscopia de ^{1}H RMN. Essa análise revelou que o produto não se encontrava puro, evidenciando a possibilidade de ter ocorrido a co-precipitação de produtos secundários juntamente com o produto desejado. Adicionalmente, a utilização de água como solvente não permitiu realizar o passo de filtração para remoção da prata, pelo que os sólidos recolhidos também continham prata.

Tabela 12: Condições reacionais para a síntese do composto **6b** a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**.

Ref.	NaOH (eq.)	Piperidina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
DD 164	2	4	H_2O; Banho de gelo; 20min	**(a)**
DD 179	3	4	H_2O; Banho de gelo; 20min	**(a)**
DD 183	3	4	H_2O; Banho de gelo; 15min	**(a)**

(a) Produto com impurezas

De modo a permitir remover a prata e obter um composto final livre deste contaminante, nas reações seguintes decidiu-se utilizar um solvente em que o produto fosse solúvel, seguindo-se depois uma precipitação com água destilada e 2 equivalentes de NaOH para melhorar os rendimentos da reação. Na tentativa de tornar a reação mais seletiva e evitar a co-precipitação de produtos secundários, foram testados diferentes solventes e as condições testadas encontram-se resumidas na **Tabela 13**. A utilização de etanol e dimetilsulfóxido levou à obtenção de produtos com muitas impurezas. Na síntese do composto **6a**, por reação com a dimetilamina, verificou-se que a utilização de uma mistura de acetonitrilo e etanol na proporção de 80:20 permitiu obter o produto com um bom rendimento (entre 71 e 92 %) e com apenas uma quantidade residual de impurezas. No entanto, para a reação de síntese do composto **6b**, com a piperidina, todas as condições testadas resultaram em produtos com uma elevada quantidade de impurezas.

Tabela 13: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, testando diferentes solventes.

Comp.	Ref.	R^2	Amina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
6a	DD 317	$N(CH_3)_2$	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	92 **(a)**
	DD 318	$N(CH_3)_2$	8	EtOH; Banho de gelo;1h	**(b)**
	DD 321	$N(CH_3)_2$	4	ACN/EtOH; Banho de gelo; 20min	**(b)**
	DD 325	$N(CH_3)_2$	4	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	75 **(a)**
	DD 326	$N(CH_3)_2$	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	71 **(a)**
6b	DD 204	NC_5H_{10}	4	DMSO; Banho de gelo; 30min	**(b)**
	DD 207	NC_5H_{10}	4	DMSO; Banho de gelo; 25min	**(b)**
	DD 322	NC_5H_{10}	4	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	**(b)**
	DD 329	NC_5H_{10}	4	EtOH; Banho de gelo; 30min	**(b)**
	DD 332	NC_5H_{10}	4	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	**(b)**
	DD 334	NC_5H_{10}	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	**(b)**
	DD 342	NC_5H_{10}	8	EtOH; Banho de gelo; 30min	**(b)**

(a) Produto contém uma pequena quantidade de impurezas
(b) Produto com impurezas

Até este ponto, as reações foram sempre realizadas em banho de gelo. Para averiguar a influência da temperatura, a reação de síntese dos compostos **6a** e **6b** foi realizada à temperatura ambiente e sob aquecimento (60 °C). Como se pode ver pelos resultados apresentados na **Tabela 14**, os produtos obtidos encontravam-se bastante impuros, pelo que se concluiu que o aumento da temperatura não é favorável a estas reações.

Tabela 14: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, testando diferentes condições de temperatura.

Comp.	Ref.	R^2	Amina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
6a	DD 313	$N(CH_3)_2$	4	ACN; T.a. (20,0°C); 20min	**(a)**
6b	DD 314	NC_5H_{10}	4	ACN; T.a. (19,2°C); 15min	**(a)**
	DD 353	NC_5H_{10}	10	ACN; 60 °C; 5min	**(a)**

(a) Produto com impurezas

Em seguida, avaliou-se a influência da presença do nitrato de prata como agente oxidante, (**Tabela 15**). A utilização de 0,1 equivalentes de $AgNO_3$ na reação de síntese do composto **6a** permitiu obter o produto com um rendimento de 62 %, apresentando apenas uma quantidade residual de impurezas.

Para a síntese do composto **6b**, foi possível obter o produto puro e com um rendimento de 79 %. No entanto, verificou-se a deposição de um espelho de prata nas paredes do material de vidro.

Tabela 15: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) a partir do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, utilizando $AgNO_3$ como agente oxidante.

Comp.	Ref.	R^2	$AgNO_3$ (eq.)	Amina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
6a	DD 346	$N(CH_3)_2$	0,1	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 1h	62 **(a)**
6b	DD 339	NC_5H_{10}	0,1	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 30min	**(b)**
	DD 344	NC_5H_{10}	0,1	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 1h20min	79
	DD 349	NC_5H_{10}	0,2	8	ACN/EtOH; Banho de gelo; 1h	45 **(a)**

(a) Produto contém uma pequena quantidade de impurezas
(b) Produto com impurezas

Por fim, a reação foi ensaiada sob atmosfera de azoto (**Tabela 16**). Para tal, preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4·HNO$_3$** em acetonitrilo e adicionou-se 10 equivalentes de amina sob atmosfera de azoto.

Tabela 16: Condições reacionais para a síntese dos compostos **6** a partir dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**, variando as condições de atmosfera interna do balão da reação.

Comp.	Ref.	R^1	R^2	Amina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
6a	DD 403	Me	$N(CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	5
6b	DD 355	Me	NC_5H_{10}	10	ACN; N_2; Banho de gelo; 2h	**(a)**
	DD 356	Me	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(b)**
	DD 376	Me	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	18
	DD 387	Me	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	17
	DD 402	Me	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	7
6c	DD 359	Ar(*p*)OMe	$N(CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	54
	DD 380	Ar(*p*)OMe	$N(CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h30min ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h30min	58
	DD 394	Ar(*p*)OMe	$N(CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h30min ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h30min	77
6d	DD 360	Ar(*p*)OMe	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	74
	DD 394	Ar(*p*)OMe	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h30min ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h30min	86

(a) Não foi possível isolar; (b) Produto com impurezas

Verificou-se que, fazendo a reação sob atmosfera de azoto, não foi possível isolar o produto. Atendendo a estas evidências, concluiu-se que presença de um agente oxidante favorece a reação de formação do produto pretendido. Nesta base, as reações seguintes foram submetidas a dois tipos de atmosfera em duas etapas sucessivas. As reações foram iniciadas sob atmosfera de azoto e, após cerca de 1h – 1h30min, o balão da reação foi destapado, de modo a permitir a difusão do oxigénio atmosférico para o meio reacional, durante cerca de 1h – 1h30min. A solução foi filtrada inicialmente utilizando fibra de vidro para remover a maior parte da prata. Em seguida, submeteu-se a uma segunda filtração através de uma coluna contendo terra de diatomáceas, de modo a reter todos os vestígios residuais de prata. A evaporação da mistura reacional até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C, seguida da adição de água destilada e 2 equivalentes de NaOH fizeram precipitar um sólido escuro, que foi identificado por espetroscopia de ^{1}H RMN como sendo o composto de estrutura **6**. Nestas condições foi possível isolar os produtos puros, verificando-se que os compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me) tiveram rendimentos mais baixos, entre 5 e 18 %, enquanto que os compostos **6c** e **6d** (R^1 = 4-MeOPh) apresentaram rendimentos entre 54 e 86 %.

Em seguida, foram também testadas as reações a partir de outros azo-imidazoles (R^1 = Cp) e utilizando outras aminas secundárias, nomeadamente a morfolina e a dietilamina. As condições testadas encontram-se resumidas na **Tabela 17**. Foi seguido o mesmo procedimento descrito acima, no entanto, não foi possível obter nenhum dos produtos puro.

Tabela 17: Condições reacionais testadas para a síntese dos compostos **6** com outros substituintes.

Ref.	R^1	R^2	Amina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)
DD 361	Cp	$N(CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(a)**
DD 362	Cp	NC_5H_{10}	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(a)**
DD 363	Ar(*p*)OMe	NC_4H_8O	10	i i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(a)**
DD 364	Ar(*p*)OMe	$N(CH_2CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(a)**
DD 374	Ar(*p*)OMe	$N(CH_2CH_3)_2$	15	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(a)**
DD 379	Me	$N(CH_2CH_3)_2$	10	i) ACN; N_2; Banho de gelo; 1h ii) ACN; O_2; Banho de gelo; 1h	**(a)**

(a) Produto com impurezas

4.3. Azo-pirimidinas 6 a partir das amidrazonas 3

Em seguida, foi investigada a possibilidade de formar a azo-pirimidina **6** a partir da amidrazona **3** através de uma síntese em dois passos.

4.3.1. Síntese da azo-pirimidina 6a em duas etapas a partir da amidrazona 3a

A amidrazona **3a** foi tratada com nitrato de prata e adicionou-se dimetilamina à mistura reacional, de modo a gerar a azo-pirimidina **6a** através de uma reação *in situ*. Os resultados obtidos e as condições reacionais utilizadas encontram-se resumidas na **Tabela 18**.

Tabela 18: Condições reacionais para a síntese *in situ* do composto **6a** a partir da amidrazona **3a**.

Ref.	R^1	R^3	$AgNO_3$ (eq.)	Amina (eq.)	Condições Reacionais	η (%)*
DD 331	Me	$N(CH_3)_2$	3	8	i) ACN/EtOH; $AgNO_3$; Banho de gelo; 10min ii) Dimetilamina; 30min	18
DD 337	Me	$N(CH_3)_2$	3	8	i) ACN/EtOH; $AgNO_3$; Banho de gelo; 10min ii) Dimetilamina; 30min	16

***Rendimento global das duas etapas da reação

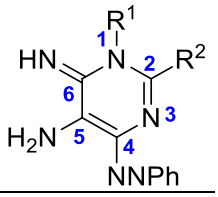
No primeiro passo, preparou-se uma suspensão da amidrazona **3a** numa mistura de acetonitrilo e etanol na proporção de 80:20 e adicionou-se 3 equivalentes de $AgNO_3$. Formou-se uma suspensão vermelha/bordô e, após cerca de 10 minutos, adicionou-se dimetilamina (8 equivalentes). Formou-se uma solução magenta e, após 30 minutos, a reação estava terminada. A solução foi filtrada para remover a prata, evaporada até à secura e o sólido foi precipitado com água destilada e 2 equivalentes de NaOH. O sólido recolhido mostrou-se puro por espetroscopia de ^{1}H RMN e foi identificado como sendo a azo-pirimidina **6a**. O rendimento global desta reação foi de 16 – 18 %. Apesar de ter sido possível obter o composto **6a** puro utilizando este método, verificou-se a formação de um espelho de prata no material de vidro utilizado para a reação (balão de fundo redondo, funil e adaptador de filtração), bem como no tubo de RMN, indicando a formação de partículas de prata demasiado pequenas para serem removidas por filtração.

4.4. Dados espetroscópicos das azo-pirimidinas 6

A estrutura proposta para as azo-pirimidinas **6** tem por base os resultados obtidos através das análises espetroscópicas de ^{1}H e ^{13}C RMN, que se encontram resumidos nas **Tabelas 19** e **20**. Verifica-se a presença de um singleto a integrar para dois protões, a δ 5,3 – 5,4 ppm, correspondente ao grupo amino da posição 5. Surge ainda um protão NH acídico como singleto largo centrado a δ 8,8 – 8,9 ppm. Além disso, todos os compostos apresentam uma unidade de fenilo, confirmada pela presença dos sinais dos protões da posição *orto* a aparecerem como dupletos e a integrar para dois protões a δ 7,6 ppm, para além dos protões da posição *meta* e dos protões da posição *para* que surgem como tripletos a δ 7,5 ppm e a δ 7,3 – 7,4 ppm, e integram para dois protões e um protão, respetivamente.

Os sinais de ^{13}C RMN foram atribuídos com base nas correlações H-C obtidas através das técnicas de HMQC e HMBC. Os sinais dos carbonos *orto* (δ 122 ppm), *meta* (δ 129 – 130 ppm) e *para* (δ 129 ppm) da unidade de fenilo foram atribuídos com base na correlação a uma ligação (HMQC) dos correspondentes protões no anel aromático. A atribuição dos sinais do carbono *ipso,* centrados a δ 153 ppm, tiveram por base as correlações a duas e três ligações (HMBC) com os protões *orto* e *meta* do anel aromático. Os carbonos quaternários da unidade de pirimidina foram atribuídos com base nas correlações a múltiplas ligações observadas no espetro de HMBC. Assim, o carbono 2-C foi identificado através da correlação a três ligações com os protões do substituinte R^2 (protões metílicos do grupo dimetilamino para os compostos **6a** e **6c**, e protões metilénicos da unidade de piperidina para os compostos **6b** e **6d**). Os carbonos 5-C e 6-C, centrados a δ 128 ppm e δ 163 - 164 ppm, foram atribuídos com base nas correlações a duas ligações com os protões dos grupos 5-NH_2 e 6-NH, respetivamente.

Tabela 19: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN (400 MHz/ DMSO-d_6) e IV (Nujol/ cm^{-1}) para os compostos **6**.



Comp.	R^1	R^2	5-NH_2	6-NH	Ph
6a	3,33 (3H; s)	3,20 (6H; s)	5,31 (2H; s)	8,82 (1H; sl)	7,34 (1H; t; *J*= 7,2 *Hz*) 7,49 (2H; t; *J*= 8,4 *Hz*) 7,62 (2H; d; *J*= 8,4 *Hz*)
6b	3,24 (3H; s)	1,64 (6H; s) 3,57 (4H; s)	5,36 (2H; s)	8,85 (1H; sl)	7,36 (1H; t; *J*= 7,2 *Hz*) 7,50 (2H; t; *J*= 8,0 *Hz*) 7,64 (2H; d; *J*= 8,4 *Hz*)
6c	3,79 (3H; s) 7,03 (2H; dd; J_o= 6,8 *Hz*; J_m= 2,4 *Hz*) 7,28 (2H; dd; J_o= 6,8 *Hz*; J_m= 2,4 *Hz*)	2,88 (6H; s)	5,38 (2H; s)	8,91 (1H; sl)	7,32 (1H; t; *J*= 7,2 *Hz*) 7,46 (2H; t; *J*= 8,0 *Hz*) 7,60 (2H; d; *J*= 7,6 *Hz*)
6d	3,79 (3H; s) 7,04 (2H; dd; J_o= 6,8 *Hz*; J_m= 2,0 *Hz*) 7,29 (2H; dd; J_o= 6,8 *Hz*; J_m= 2,4 *Hz*)	1,46 (10H; m)	5,41 (2H; s)	8,90 (1H; sl)	7,33 (1H; t; *J*= 7,2 *Hz*) 7,46 (2H; t; *J*= 8,0 *Hz*) 7,61 (2H; d; *J*= 7,2 *Hz*)

Tabela 20: Dados espetroscópicos de ^{13}C RMN para os compostos **6** (100 MHz/ DMSO-d_6).

Comp.	R^1	R^2	2-C	4-C	5-C	6-C	Ph
6a	30,42	39,49	162,06	146,14	128,55	163,36	152,87 (C*i*) 121,66 (C*o*) 129,44 (C*m*) 128,83 (C*p*)
6b	30,80	23,7 25,34 48,17	161,84	146,54	128,01	163,42	152,79 (C*i*) 121,80 (C*o*) 129,50 (C*m*) 129,16 (C*p*)
6c	55,39 129,21 (C*i*) 114,40 (C*o*) 129,82 (C*m*) 158,77 (C*p*)	39,37	159,95	146,15	127,9	163,97	152,89 (C*i*) 121,68 (C*o*) 129,43 (C*m*) 128,87 (C*p*)
6d	55,36 129,21 (C*i*) 114,46 (C*o*) 128,97 (C*m*) 158,61 (C*p*)	23,5 24,94 47,56	159,36	146,31	127,54	163,64	152,84 (C*i*) 121,72 (C*o*) 129,42 (C*m*) 129,38 (C*p*)

5. Estudo do mecanismo da síntese das azo-pirimidinas 6

De forma a elucidar o mecanismo reacional envolvido na síntese das azo-pirimidinas **6**, foram efetuados vários ensaios recorrendo à técnica de ressonância magnética nuclear. Num primeiro ensaio, dissolveu-se o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** em DMSO-d$_6$, adicionou-se piperidina e analisou-se a mistura reacional por espetroscopia de ^{1}H, ^{13}C, HMQC e HMBC.

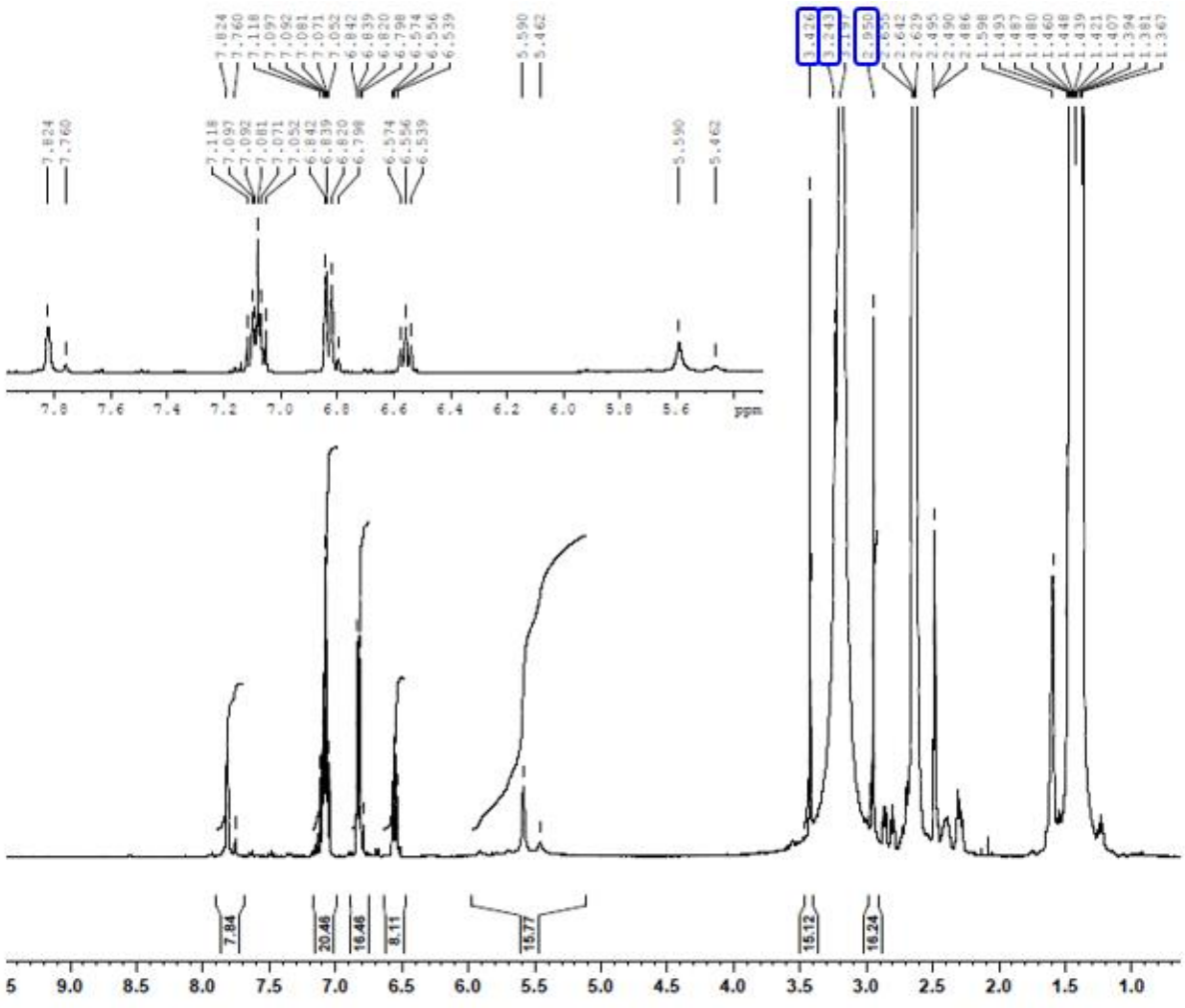


Figura 18: Espetro de ^{1}H RMN do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** com adição de piperidina (400 MHz; DMSO-d$_6$).

Uma primeira análise do espetro de ^{1}H RMN (**Figura 18**) permitiu a identificação de três sinais (singletos) a δ 2,94, 3,24 e 3,43 ppm atribuídos a três grupos metilo, o que sugeriu a presença de três espécies distintas em solução. De facto, o espetro de ^{13}C RMN (**Figura 19**) mostrou-se bastante complexo, apresentando 43 sinais diferentes.

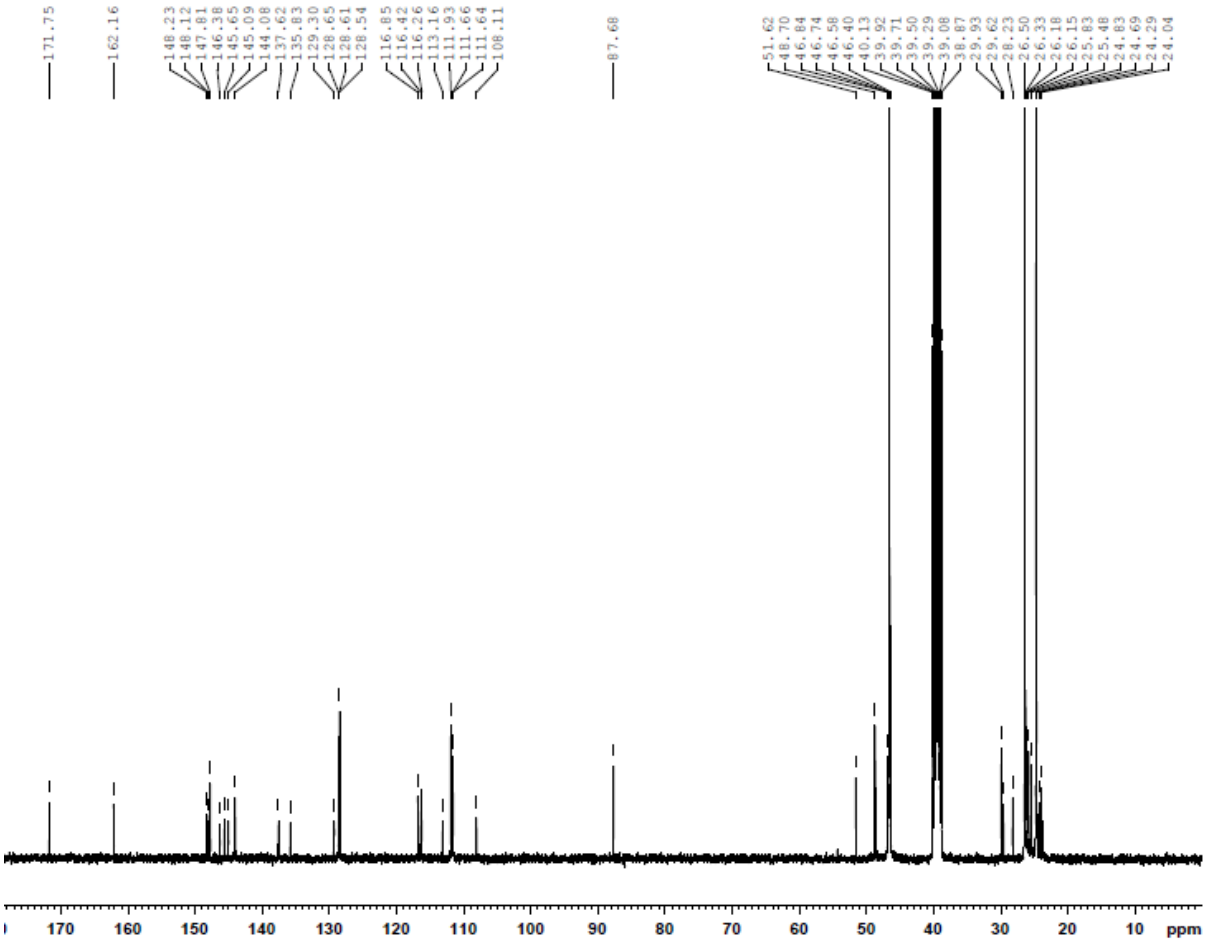


Figura 19: Espetro de ^{13}C RMN do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** com adição de piperidina (100 MHz; DMSO-d$_6$).

Devido à vasta quantidade de sinais, não foi possível fazer a atribuição de todos eles e elucidar a totalidade das estruturas presentes. No entanto, com base nas correlações do espetro de HMQC foi possível atribuir os sinais de carbono das espécies maioritários (**Tabela 21Erro! A origem da referência não foi encontrada.**).

Tabela 21: Dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}C RMN da mistura obtida por reação do composto **4a·HNO$_3$** com a piperidina em DMSO-d$_6$, no tempo inicial.

Grupo funcional	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)
CH$_3$	2,94 (s) **(A)** 3,24 (s) **(B)** 3,43 (s) **(C)**	29,89 28,21 29,59
2-H	7,08 (s)	129,26
Ph	6,56 (m) 6,83 (m) 7,08 (m)	116,21; 116,37; 116,80 111,61; 111,89; 113,15 128,51; 128,58; 128,62

Os sinais de ^{13}C correspondentes aos grupos metilo encontram-se a δ 28,21 – 29,59 ppm. Os sinais dos protões correspondentes ao grupo fenilo são todos muito próximos e surgem praticamente sobrepostos, centrados a δ 6,56, 6,83 e 7,08 ppm. É de referir que estes valores se assemelham aos valores de desvio químico observados nos compostos **3**, em que a unidade fenilo se encontra ligada a uma unidade de amidrazona, ou seja, os três compostos apresentam-se numa forma tautomérica do tipo hidrazo. Para cada um dos sinais de protão do grupo fenilo, verificou-se a existência de um conjunto de três sinais de carbono que correlacionam a uma ligação (espetro de HMQC), o que está de acordo com a hipótese de existirem três espécies distintas em solução. Adicionalmente, identificou-se um único singleto a δ 7,08 ppm a correlacionar a uma ligação com o sinal de ^{13}C a δ 129,26 ppm, sugerindo que apenas um dos compostos possui a unidade H-C da posição 2 do anel de imidazole. As três espécies desconhecidas foram designadas por **A** (δ_{Me} 2,94 ppm), **B** (δ_{Me} 3,24 ppm) e **C** (δ_{Me} 3,43 ppm).

A evolução deste ensaio foi monitorizada por espetroscopia de ^{1}H RMN e, para isso, foram adquiridos espetros de ^{1}H imediatamente após a amostra ter sido preparada, após 7 horas e após 24 horas (**Tabela 22**). Decorridas 7 horas, o espetro não mostrou alterações apreciáveis, mas após 24 horas verificou-se que o singleto a δ 7,08 ppm desapareceu e que surgiu um conjunto de sinais na zona aromática centrados a δ 7,35, 7,49 e 7,63 ppm, correspondentes aos sinais do grupo fenilo da azo-pirimidina **6a**. No entanto, os sinais do composto **6a** são vestigiais e os sinais dos compostos **A**, **B** e **C** continuam a ser maioritários, mesmo após terem decorrido vários dias.

Tabela 22: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN da evolução do composto **4a·HNO₃** na presença de piperidina (400 MHz/ DMSO-d_6).

Grupo funcional	t0	7h	24h
CH_3	2,94 (s) **(A)** 3,24 (s) **(B)** 3,43 (s) **(C)**	2,94 (s) **(A)** 3,24 (s) **(B)** 3,43 (s) **(C)**	2,94 (s) **(A)** 3,24 (s) **(B)** 3,43 (s) **(C)**
2-H	7,08 (s)	7,08 (s)	–
Ph	6,56 (m) (**A** + **B** + **C**) 6,83 (m) (**A** + **B** + **C**) 7,08 (m) (**A** + **B** + **C**)	6,56 (m) (**A** + **B** + **C**) 6,83 (m) (**A** + **B** + **C**) 7,08 (m) (**A** + **B** + **C**)	6,56 (m) (**A** + **B** + **C**) 6,83 (m) (**A** + **B** + **C**) 7,08 (m) (**A** + **B** + **C**) 7,35 (m) (**6a**) 7,49 (m) (**6a**) 7,63 (m) (**6a**)

Realizou-se uma repetição deste ensaio, utilizando as mesmas condições de reagentes e solventes. No entanto, após 24 horas, verificou-se a existência de uma única espécie em solução que apresentou o singleto do grupo metilo a δ 2,94 ppm (composto **A**). Esta espécie foi caracterizada por espetroscopia de ^{13}C RMN e os dados espetroscópicos encontram-se resumidos na **Tabela 23Erro! A origem da referência não foi encontrada.**.

Tabela 23: Dados espetroscópicos de ^{1}H e ^{13}C RMN da evolução do composto **4a·HNO$_3$** na presença de piperidina (400MHz/ DMSO-d_6), após 24 horas.

Grupo funcional	δ_H	δ_C
CH_3	2,94 (3H; s)	29,93
Ph	6,55 (1H; t; *J* = 7,2Hz) 6,83 (2H; d; *J* = 8,8Hz) 7,07 (2H; t; *J* = 7,6Hz)	111,93 116,85 128,54 147,81
Piperidina	2,30 3,17	24,29 24,04 24,68 24,73 25,83 26,31 46,56 46,84 48,70
NH	7,83 (1H; s)	–
Carbonos quaternários	–	87,68 144,08 147,81 162,16 171,75

O espetro de DEPT 135 permitiu identificar os sinais de carbono correspondentes à piperidina. Como a reação foi preparada dentro do tubo de RMN, existe excesso do reagente piperidina livre em solução. A piperidina livre deve apresentar apenas 3 sinais no espetro de ^{13}C RMN. Assumindo que uma unidade de piperidina entra na molécula principal do espetro, seria então de esperar que se observassem, no total, 6 sinais dos carbonos de piperidina. No entanto, verifica-se a existência de um total de 9 sinais de ^{13}C RMN que podem ser atribuídos a três unidade de piperidina. Isto leva-nos a propor que, para além da piperidina livre em excesso, existem duas unidades de piperidina ligadas à molécula.

Quanto à unidade central, verificou-se que os sinais dos carbonos quaternários a δ 162,16 e 171,75 ppm correlacionam no espetro de HMBC com os protões do grupo metilo. Adicionalmente, o sinal a δ

162,16 ppm correlaciona com o sinal de ^{1}H RMN a δ 3,17 ppm, que pertence a uma unidade de piperidina. Para além disso, verifica-se a presença de um sinal de carbono quaternário a δ 87,68 ppm, compatível com um sinal de um átomo de carbono sp^{3} e que correlaciona com o sinal de ^{1}H RMN a δ 2,30 ppm, pertencente à segunda unidade de piperidina.

Observou-se ainda que o protão NH centrado a δ 7,83 ppm correlacionou a 2 ou 3 ligações com os sinais de carbono observados a δ 111,93, 144,08 e 147,81 ppm. Uma vez que o carbono quaternário a δ 147,81 ppm correlacionou a 2 e 3 ligações com os sinais do anel aromático a δ 6,83 e 7,07 ppm, respetivamente, foi atribuído ao átomo de C*ipso* do anel de benzeno. Adicionalmente, foi possível observar uma pequena correlação (a 4 ligações) com o protão *para* do anel aromático a δ 6,55 ppm. Deste modo, este conjunto de sinais revela a presença de uma unidade de *N*-fenilcarboxamidrazona.

Tendo em conta todos estes dados, foi proposta a estrutura representada na **Figura 20** para o composto **A**. Na mesma figura são também propostas as estruturas para as espécies **B** e **C**.

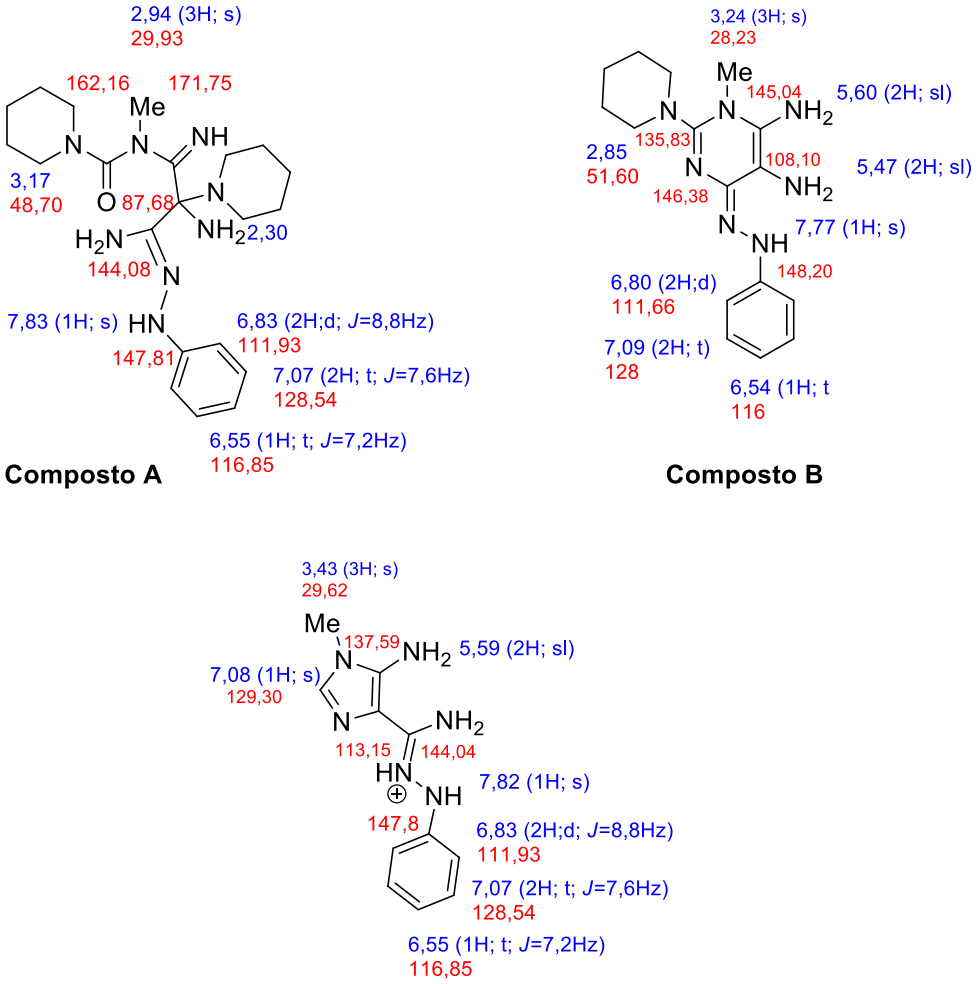
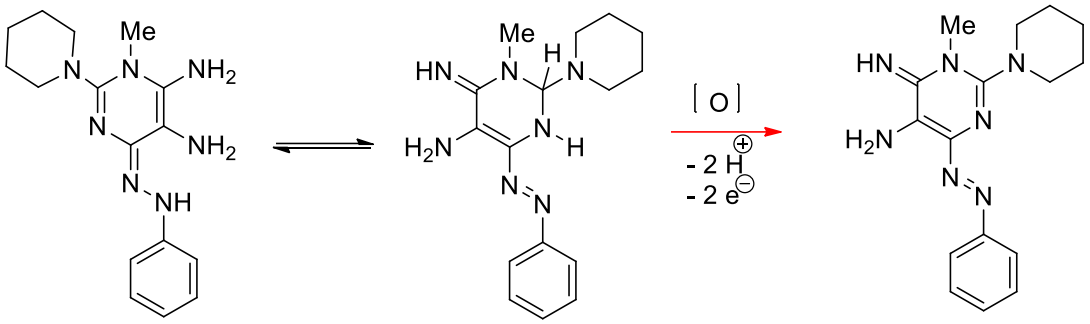


Figura 20: Dados espetroscópicos de ^{1}H RMN (400MHz/ DMSO-d$_6$) e ^{13}C RMN (100MHz/ DMSO-d$_6$) e proposta de estrutura para os compostos **A, B e C.**

Quanto à espécie C, verificou-se que os seus dados de RMN comparavam com os dados da amidrazona **3a** protonada, tal como representado na **Figura 20**, uma vez que esta estrutura já tinha sido isolada em trabalhos anteriores. A proposta da estrutura **B** resultou dos dados obtidos na experiência que a seguir se descreve.

Assim, realizou-se ainda um outro ensaio em que se dissolveu o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** em DMSO-d_6 e se adicionou piperidina, mantendo a solução sempre em contacto com uma atmosfera inerte de N_2 para eliminar a interferência do oxigénio. Nestas condições, verificou-se que a espécie **B** era a espécie maioritária do espetro, observando-se apenas alguns vestígios das espécies **A** e **C**.

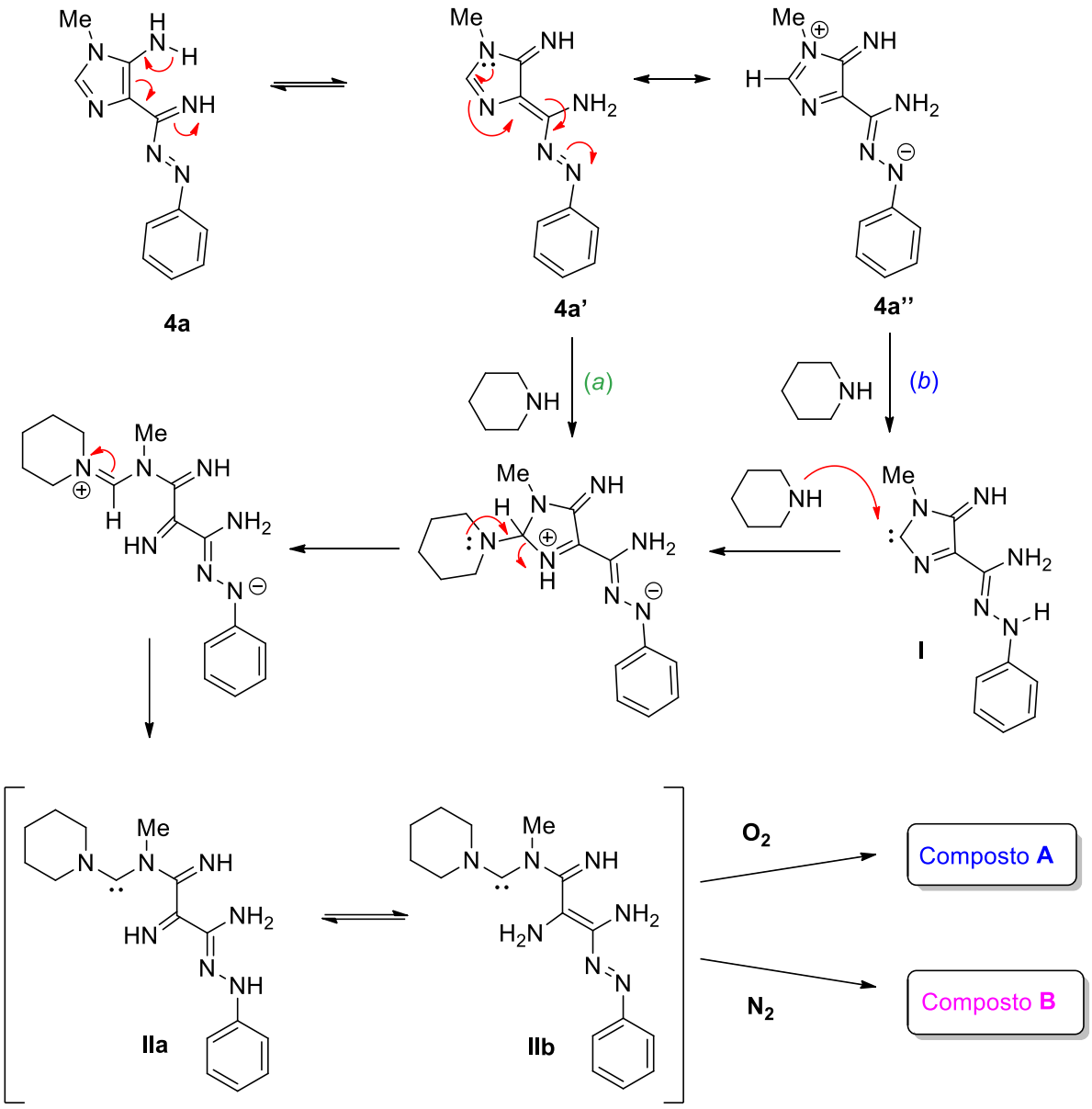
Com base neste resultado, foi possível identificar os sinais de RMN correspondentes a esta espécie. A análise de ^{1}H e ^{13}C RMN revelou que esta espécie se assemelhava a uma estrutura de pirimidina, dado que tinha perdido o protão 2-H e o grupo metilo observado a δ 3,24 ppm correlacionava a três ligações com dois sinais de carbono a δ 135,83 e 145,09 ppm. Por outro lado, este último carbono (δ 145,09 ppm) também correlacionava a três ligações com os protões metilénicos da unidade de piperidina observados a δ 2,85 ppm. Além disso, os sinais de protão e de carbono do grupo fenilo apresentavam desvios típicos de uma unidade de fenil-hidrazona, em vez de azobenzeno, tal como comprovado pela presença de um sinal NH a δ 7,76 ppm que correlaciona com os carbonos *ipso* e *orto* do anel de benzeno e com um carbono típico de uma unidade de amidina a δ 146,38 ppm. É de salientar ainda a presença de dois sinais largos a δ 5,5 – 5,6 ppm, que integram para mais de dois protões, sugerindo a presença de dois grupos NH_2. Combinando estes dados com o facto desta espécie ter sido detetada na ausência de oxigénio, suspeitou-se que esta espécie poderia ser um intermediário formado numa etapa anterior ao passo final da oxidação que dá origem à síntese da azo-pirimidina **6b**, tal como proposto no esquema seguinte (**Esquema 23**). Assim, foi-lhe atribuída a estrutura **B** (**Figura 20**), dado que este composto deve corresponder à forma maioritária do equilíbrio tautomérico em que deve estar envolvida.



Composto **B** Azo-pirimidina **6b**

Esquema 23: Tautomerismo do composto **B**.

Com base nas evidências dos estudos cinéticos, concluiu-se então que a espécie **B** era favorecida na ausência de oxigénio, enquanto que a formação da espécie **A** parece estar relacionada com a presença de oxigénio. Por outro lado, dado que a formação destas duas espécies foi muito rápida, estas reações devem envolver um intermediário extremamente reativo, muito sensível ao oxigénio do ar e capaz de evoluir por duas vias distintas, consoante está na presença ou ausência de oxigénio. Considerando ainda que tanto as espécies **A** e **B** como as azo-pirimidinas **6** perderam o protão 2-H presente no azo-imidazole percursor (**4a**), suspeitou-se que o intermediário reativo comum deveria corresponder a um carbeno, tal como proposto no **Esquema 24**.

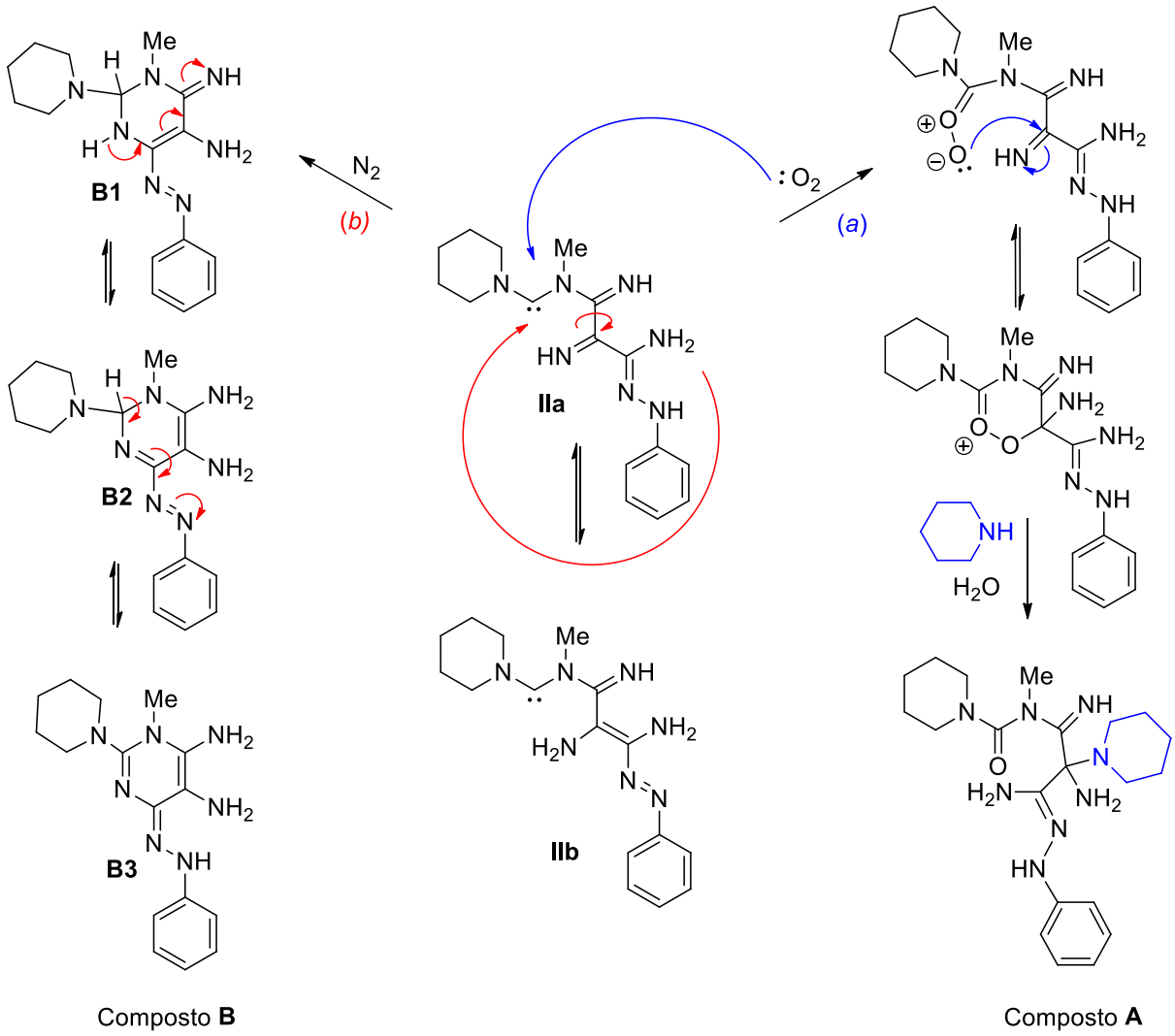


Esquema 24: Primeira parte do mecanismo reacional proposto para a reação entre o azo-imidazole **4a** e a piperidina.

Assim, por adição da amina secundária ao azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, forma-se o azo-imidazole neutro **4a**, o qual deve estar em equilíbrio com a sua forma tautomérica **4a'** devido à possibilidade de conjugação do anel de imidazole com a unidade do azobenzeno. Talvez devido à contribuição da espécie dipolar **4a''**, ou ao equilíbrio com a forma protonada, pode ocorrer ataque da amina secundária ao carbono da posição 2 do anel de imidazole para gerar um intermediário tetraédrico cíclico (caminho *a*). Por outro lado, uma vez que sais de imidazole também podem formar carbenos, atendendo à natureza dipolar do azo-imidazole de partida poderá também admitir-se um mecanismo alternativo (caminho *b*) em que o protão 2-H pode ser perdido em meio básico, originando um carbeno cíclico (**intermediário**

I). Seguidamente, este carbeno pode ser atacado pela amina secundária para dar o produto tetraédrico já referido, desta vez como resultado da reação de inserção desta unidade.

Na etapa seguinte, este intermediário tetraédrico deverá sofrer facilmente abertura de anel para gerar uma formamidina muito reativa. Por seu lado, a presença da carga positiva nesta formamidina torna o protão muito acídico, favorecendo a formação de um diaminocarbeno acíclico (**intermediário II**) que corresponde às características de reatividade observadas no estudo realizado. Uma vez que os aminocarbenos podem sofrer não só reações de inserção com aminas através de um mecanismo iónico, mas também reações de oxidação na presença de oxigénio [70], poderá admitir-se que o **intermediário II** reagirá assim por duas vias (caminho *a* e caminho *b*), de acordo com o mecanismo proposto no **Esquema 25**.



Esquema 25: Mecanismo reacional proposto para a formação das espécies **A** e **B**, na ausência e na presença de O_2, respetivamente.

No **Esquema 25** encontra-se descrito o mecanismo reacional proposto para a reação do diaminocarbeno na presença de oxigénio (caminho *a*). Este intermediário poderá reagir com a molécula de oxigénio para dar um óxido que pode ciclizar intramolecularmente com formação de um peróxido cíclico. De seguida, a molécula pode sofrer um ataque nucleofílico por parte da piperidina em excesso e/ou da água presente no meio, ocorrendo a abertura do anel e formação de um grupo carbonilo.

Durante o processo de otimização da síntese das azo-pirimidinas **6** verificou-se que alguns dos sólidos isolados nas reações efetuadas sob condições normais de atmosfera (ou seja, na presença de oxigénio) se encontravam contaminados com o composto posteriormente identificado como sendo o composto **A**, como se pode ver na **Figura 21**. Esta evidência suporta o mecanismo proposto.

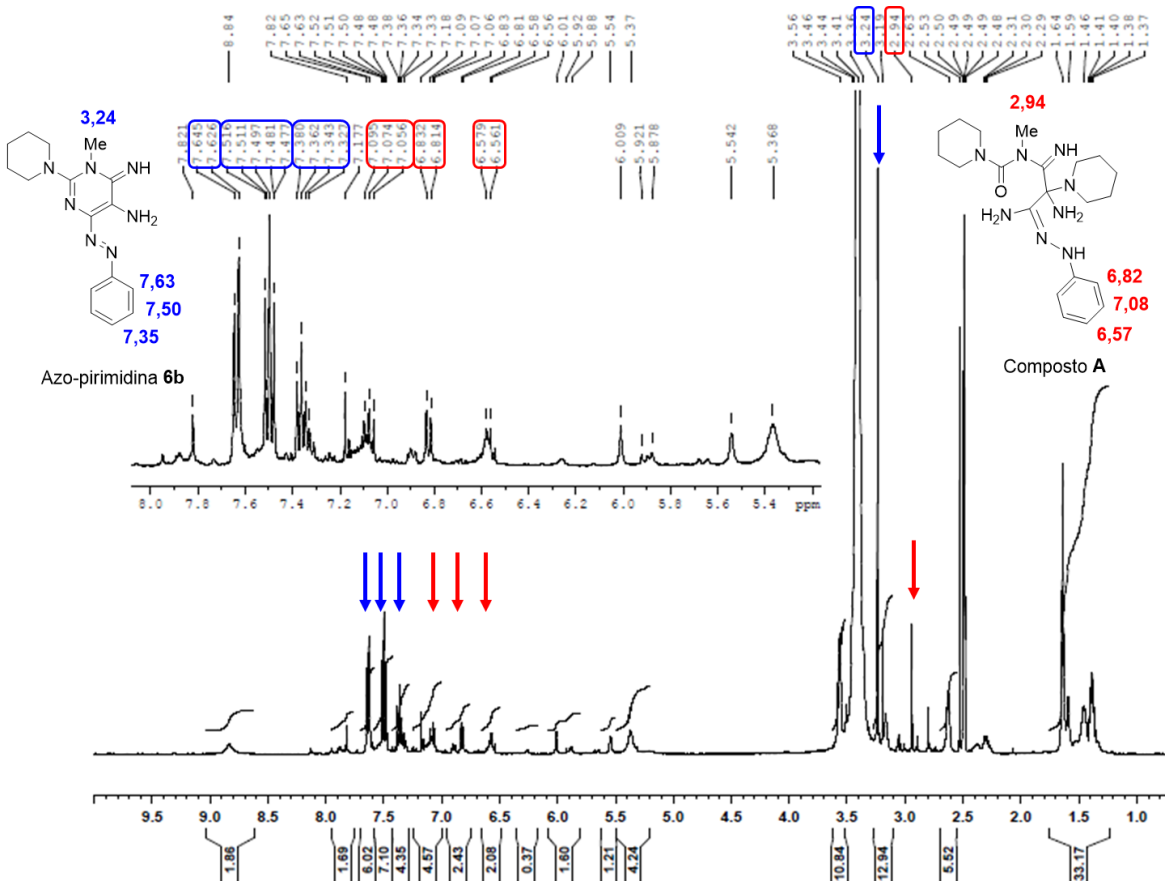
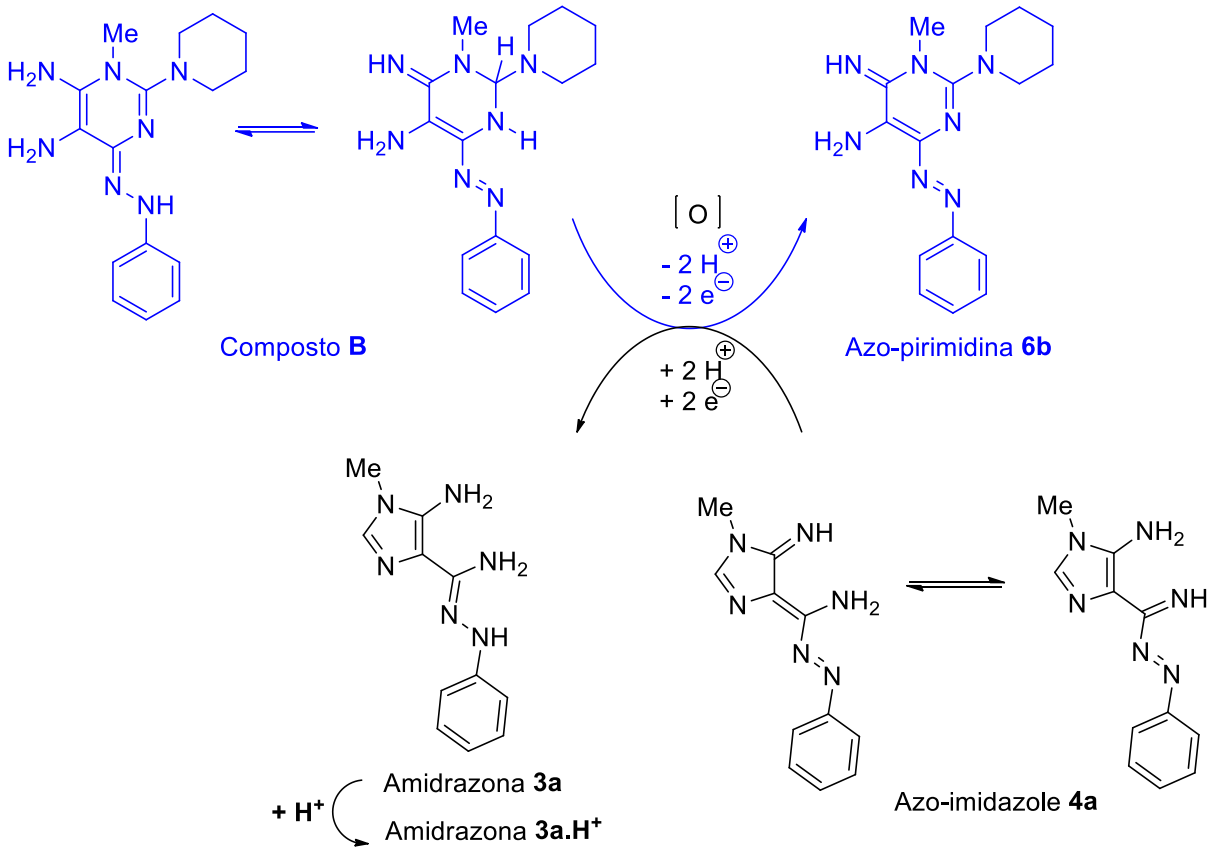


Figura 21: Espetro de ^{1}H RMN (400MHz/ DMSO-d_6) da azo-pirimidina **6b** (indicado a azul) contaminada com o composto **A** (indicado a vermelho).

No **Esquema 25** encontra-se ainda descrito o mecanismo reacional proposto para a reação do diaminocarbeno sob atmosfera inerte de N_2 (caminho *b*). Na ausência de oxigénio, o diaminocarbeno sofre um ataque nucleofílico intramolecular por parte do nitrogénio do grupo amino, dando origem a um

anel de pirimidina ligado a um grupo azo. Esta molécula encontra-se em equilíbrio tautomérico com a sua forma hidrazo, que corresponde à estrutura do composto **B**.

Como se verificou na secção **4.2.1**, a presença de oxigénio na mistura reacional deve favorecer o passo final da reação, já apresentado no **Esquema 24**, uma vez que promove a oxidação que dá origem à azo-pirimidina **6b**. Este passo pode contribuir para a formação da espécie **C**, tal como representado no **Esquema 26**.



Esquema 26: Mecanismo reacional proposto para a regeneração da amidrazona **3a** durante a reação de formação da azo-pirimidina **6b**.

Estes mecanismos permitem racionalizar porque é que quando a reação é realizada na presença de O_2 dá origem aos compostos **A** + **B** + **C**, enquanto que se realizada em atmosfera inerte de N_2 dá origem a apenas o composto **B**. Além disso, justificam ainda a formação do dímero **5**, uma vez que uma vez regenerada a amidrazona na mistura reacional esta molécula pode funcionar como base e como amina secundária originando a estrutura dimérica (**5**).

6. Espetroscopia de UV-Vis

Os compostos descritos nas secções anteriores são altamente corados, apresentando cores que variam entre o vermelho, azul e roxo. De forma a estudar as propriedades colorimétricas destas moléculas, recorreu-se à técnica de espetroscopia de UV-Vis. Foram determinados os comprimentos de onda de absorção máximos (λ_{max}) na região da luz visível (entre 350 e 700 nm) em diferentes solventes (água, etanol, acetonitrilo, tetra-hidrofurano e diclorometano) para estudar a influência do solvente/estrutura nos espetros de UV-Vis (**Tabela 24**). Como o objetivo deste trabalho é o estudo das propriedades colorimétricas, apenas se teve em conta as bandas de absorção entre os 350 e 700 nm para a determinação dos coeficientes de absortividade molar (ε), uma vez que são as alterações verificadas nesta região que são responsáveis pelas cores observadas para as diferentes moléculas em diferentes condições.

Foi também realizado o estudo da influência do pH nas cores observadas para estes compostos, seguindo o método de Ossowski *et al.* [71]. Foram preparadas soluções dos compostos em H_2O ou H_2O/EtOH (80:20) e o pH foi modificado por adições sucessivas de 50 µL de HCl 0,1 M (para ver o efeito do meio ácido) ou de NaOH 0,1 M (para ver o efeito do meio básico). Após cada adição, o pH foi medido com um elétrodo de pH e o respetivo espetro de absorvância de UV-Vis foi imediatamente adquirido.

Tabela 24: Dados espetroscópicos de UV-Vis para os compostos estudados (λ_{max}, em nm e ε, em $M^{-1}.cm^{-1}$).

Comp.	Solventes									
	H_2O		EtOH		ACN		THF		DCM	
	$\lambda_{máx}$	ε	$\lambda_{máx}$	ε	$\lambda_{máx}$	ε	$\lambda_{máx}$	ε	$\lambda_{máx}$	ε
4a·HNO$_3$	491	(5,8 ± 0,2) x10^3	508	(6,8 ± 0,6) x10^3	504	(6,4 ± 0,1) x10^3	–	---	---	---
4b·HNO$_3$	493	(7,8 ± 0,4) x10^3	504	(7,7 ± 0,1) x10^3	502	(9,07 ± 0,06) x10^3	–	---	509	(10,7 ± 0,5) x10^3
4c·HNO$_3$	500	(6,8 ± 0,3) x10^3	514	(7,20 ± 0,05) x10^3	506	(7,42 ± 0,05) x10^3	–	---	528	(9,9 ± 0,2) x10^3
5	–	---	584	(10,8 ± 0,3) x10^3	581	(14,30 ± 0,04) x10^3	591	(14,6 ± 0,2) x10^3	581	(11,2 ± 0,7) x10^3
6a	–	---	552	(16,4 ± 0,4) x10^3	558	(22,0 ± 0,8) x10^3	560	(2,17 ± 0,06) x10^3	556	(24,1 ± 0,9) x10^3
6b	–	---	552	(9,5 ± 0,2) x10^3	558	(16,2 ± 0,5) x10^3	563	(15,1 ± 0,2) x10^3	557	(22 ± 1) x10^3
6c	–	---	551	(17,3 ± 0,6) x10^3	555	(26,4 ± 0,3) x10^3	560	(7,9 ± 0,4) x10^3	554	(33 ± 1) x10^3
6d	–	–	553	(16,9 ± 0,2) x10^3	557	(25,2 ± 0,3) x10^3	562	(25 ± 1) x10^3	556	(26,9 ± 0,8) x10^3

6.1. Azo-imidazoles 4·HNO_3

Foram traçados os espetros de UV-Vis dos azo-imidazoles **4·HNO_3** em solventes de diferente polaridade para averiguar se estes compostos apresentam propriedades solvatocrómicas. Investigou-se ainda o efeito da influência do pH nas suas propriedades colorimétricas.

6.1.1. Efeito do solvente no espetro de UV-Vis dos azo-imidazoles 4·HNO_3

O efeito do solvente nos espetros de UV-Vis dos azo-imidazoles **4·HNO_3** foi estudado para a água, o etanol, o acetonitrilo e o diclorometano. Estas moléculas são pouco solúveis em THF e, por isso, não se estudou o efeito deste solvente. O composto **4a·HNO_3** também é pouco solúvel em diclorometano, pelo que apenas se estudou o efeito da água, do etanol e do acetonitrilo.

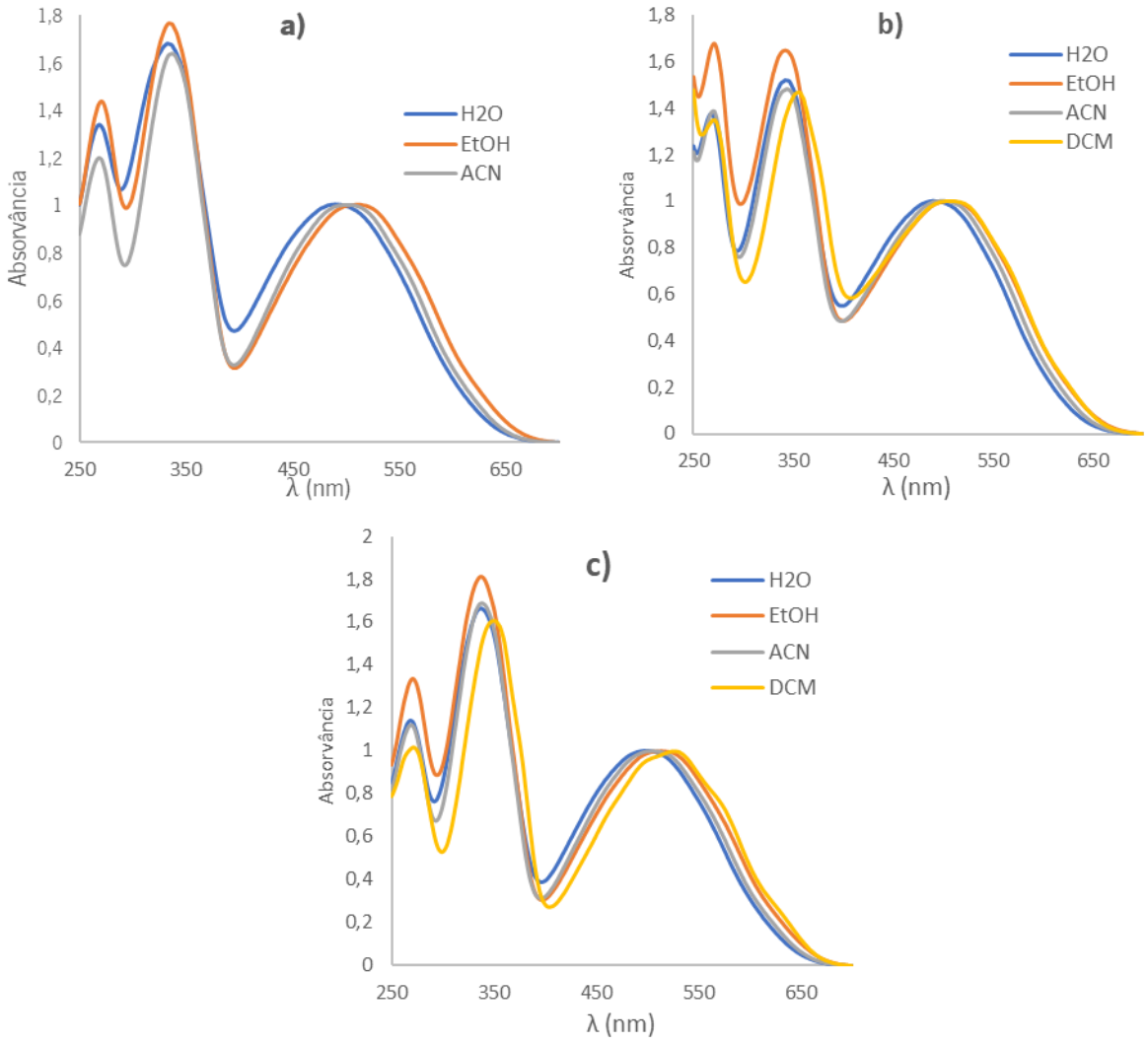


Figura 22: Espetros de UV-Vis: efeito do solvente na absorvância dos azo-imidazoles **4a·HNO_3** (a); **4b·HNO_3** (b); **4c·HNO_3** (c) (dados de absorvância normalizados pelo valor de absorvância no λ_{max}).

Estes compostos dão origem a soluções de tons vermelhos e apresentam bandas de absorção na região de radiação visível, entre 491 e 528 nm. Como se pode ver pela **Figura 22**, o efeito do solvente no valor do λ_{max} é pouco evidente. De uma forma geral, observa-se um pequeno desvio batocrómico quando se diminui a polaridade do solvente utilizado. Assim, os menores valores de λ_{max} foram registados para o solvente mais polar, a água (491, 493 e 500 nm), em todos os compostos. Em contrapartida, os compostos **4b·HNO$_3$** e **4c·HNO$_3$** apresentaram os valores de λ_{max} mais elevados quando analisados em diclorometano (509 e 528 nm, respetivamente), o solvente de menor polaridade. Os valores de λ_{max} registados em etanol e acetonitrilo foram intermédios, verificando-se resultados muito semelhantes para os compostos **4a·HNO$_3$** e **4b·HNO$_3$** (respetivamente, 508 e 504 nm em etanol, 504 e 502 nm em acetonitrilo).

Em termos do coeficiente de absortividade molar (ε), verificou-se um efeito hipercrómico com a diminuição da polaridade do solvente, uma vez que os valores de ε observados são, de uma forma geral, superiores para os solventes de menor polaridade. Assim, para os solventes estudados, o menor valor de ε foi registado em água para o composto **4a·HNO$_3$** ($5{,}8\times10^{3}$ $M^{-1}\cdot cm^{-1}$), enquanto que o maior valor ($10{,}7\times10^{3}$ $M^{-1}\cdot cm^{-1}$) foi registado para o composto **4b·HNO$_3$** em diclorometano.

Com base nos resultados obtidos, pode concluir-se que estes compostos apresentam apenas um ligeiro solvatocromismo, diminuindo a intensidade da cor com o aumento da polaridade do solvente.

6.1.2. Efeito do substituinte R^1 no espetro de UV-Vis dos azo-imidazoles 4·HNO$_3$

Para os três compostos estudados, verifica-se que os comprimentos de onda de absorção máximos são superiores, em todos os solventes, para o composto **4c·HNO$_3$**, com R^1 = Cp. Para os compostos **4a·HNO$_3$** e **4b·HNO$_3$**, verifica-se que os valores de λ_{max} são muito semelhantes.

Em contrapartida, os maiores coeficientes de absortividade molar (ε) são observados para o composto **4b·HNO$_3$**, que apresenta um substituinte em R^1 aromático (R^1 = Ar(*p*)OMe), enquanto que os compostos alifáticos, **4a·HNO$_3$** e **4c·HNO$_3$** apresentam os menores valores. No entanto, é de referir que os valores para R^1 = Me são sempre inferiores aos valores obtidos para R^1 = Cp. Deste modo, pode concluir-se que a presença de um substituinte arílico em N1, produz um ligeiro efeito de intensificação da cor vermelha destes compostos.

6.1.3. Efeito do pH no espetro de UV-Vis dos azo-imidazoles 4·HNO_3

Para cada um dos azo-imidazoles **4·HNO_3** foi preparada uma solução em H_2O, o pH inicial foi registado e adquiriu-se o espetro de UV-Vis. Em seguida, fizeram-se adições sucessivas de 50 µL de NaOH 0,1 M, sendo que o pH e espetros de UV-Vis foram registados após cada uma destas adições.

Como podemos verificar pela **Figura 23**, o aumento da basicidade do meio leva a uma diminuição sucessiva dos valores de absorvância nas bandas de absorção de λ_{max} a 491, 493 e 500 nm, para os compostos **4a·HNO_3**, **4b·HNO_3** e **4c·HNO_3**, respetivamente. Este efeito hipocrómico resultante do aumento do pH traduz-se na diminuição da intensidade da cor das soluções, como se pode ver pela **Figura 24**. O vermelho intenso verificado para os valores de pH iniciais (5,59; 6,10 e 5,31) diminui gradualmente com a adição de NaOH, até se observarem soluções praticamente incolores para valores de pH superiores a 9,00.

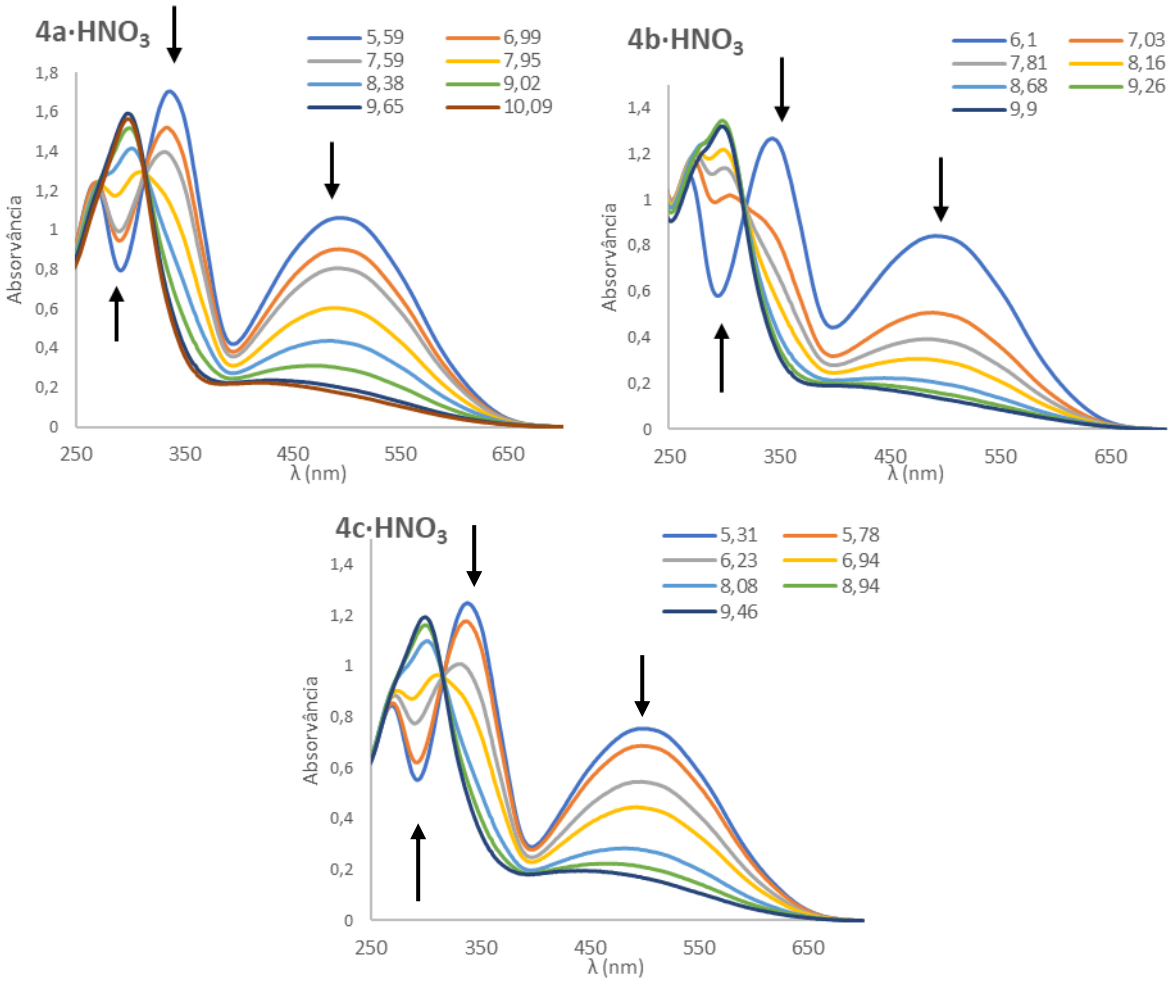


Figura 23: Efeito da variação do pH nos espetros de UV-Vis dos compostos **4·HNO_3**.

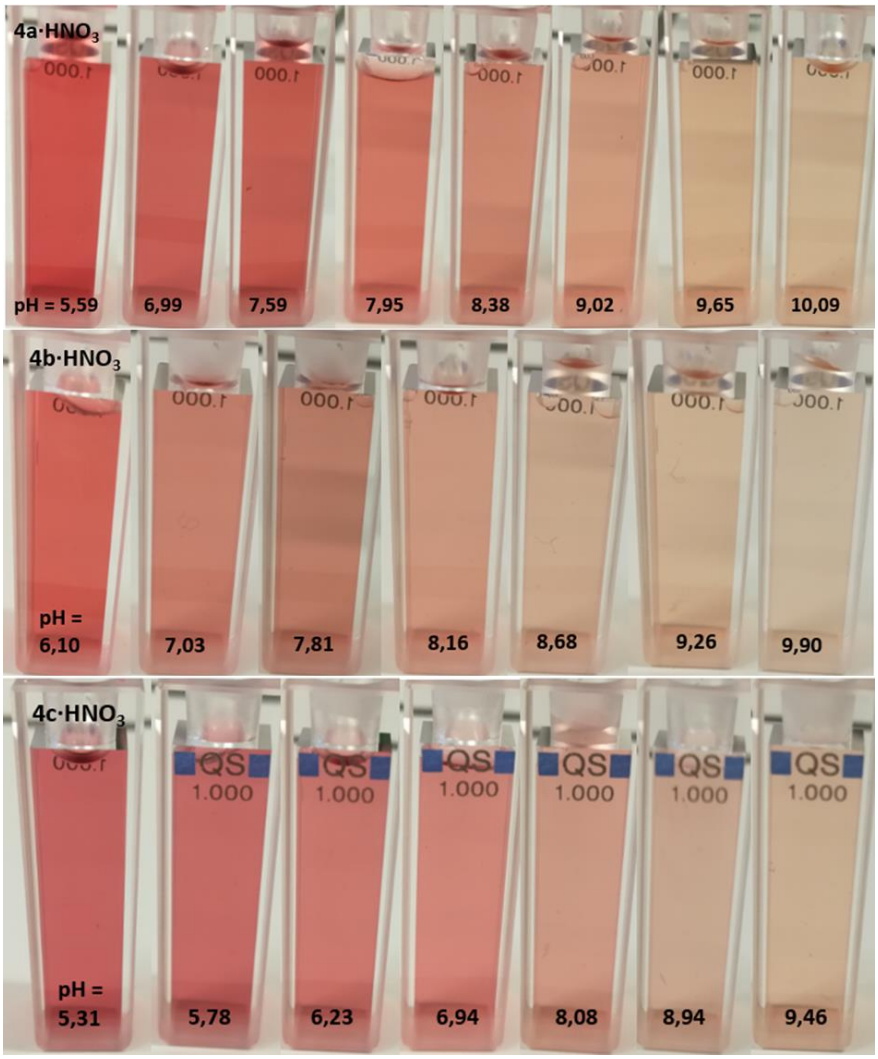


Figura 24: Efeito da variação do pH na cor da solução aquosa dos compostos **4·HNO$_3$n.**

Estes resultados demonstram que estes compostos apresentam propriedades halocrómicas, uma vez que apresentam cor vermelha em meio ácido e ficam incolores à medida que o pH do meio aumenta.

6.2. Dímero 5

Foram traçados os espetros de UV-Vis do dímero **5** em solventes orgânicos de diferente polaridade e em misturas hidro-alcoólicas com pH variável, de modo a averiguar efeitos de solvatocromismo e/ou halocromismo nas propriedades colorimétricas destes compostos.

6.2.1. Efeito do solvente no espetro de UV-Vis do dímero 5

Os solventes utilizados para o estudo das propriedades colorimétricas do composto **5** foram o etanol, o acetonitrilo, o THF e o diclorometano. Este composto dá origem a soluções de tons azuis e o seu espetro de absorção no UV-Vis apresenta bandas de absorção entre os 581 e 591 nm. Como se pode verificar pela **Figura 25**, os valores de λ_{max} são muito semelhantes para os diferentes solventes, uma vez que se registaram valores de 581 nm para o acetonitrilo e para o diclorometano, e de 584 nm para o etanol. Quando se utilizou THF, verificou-se um ligeiro desvio batocrómico, dado que o λ_{max} deslocou-se para os 591 nm.

Os coeficientes de absortividade molar são inferiores para o etanol e o diclorometano, ($10{,}8 \times 10^3$ $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ e $11{,}2 \times 10^3$ $M^{-1} \cdot cm^{-1}$, respetivamente), e superiores para o acetonitrilo e THF, ($14{,}30 \times 10^3$ $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ e $14{,}6 \times 10^3$ $M^{-1} \cdot cm^{-1}$, respetivamente).

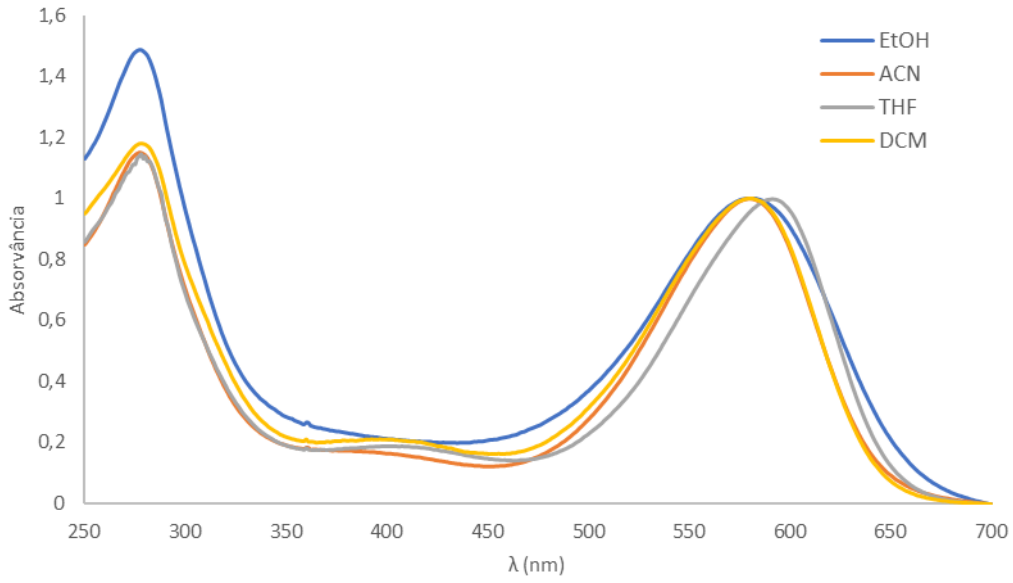


Figura 25: Efeito do solvente no espetro de UV-Vis do composto **5** (dados de absorvância normalizados pelo valor de absorvância no λ_{max}).

6.2.2. Efeito do pH no espetro de UV-Vis do dímero 5

Uma vez que o composto **5** não é solúvel em água, para analisar o efeito da adição de ácido e de base, prepararam-se duas soluções numa mistura de H_2O/EtOH (80:20). Em seguida, uma das soluções foi acidificada através de adições sucessivas (50 µL) de HCl 0,1 M, enquanto que a outra solução sofreu adições sucessivas de NaOH 0,1 M pelo mesmo procedimento. Na **Figura 26** encontram-se os espetros

de UV-Vis adquiridos para estas soluções após cada variação de pH, e na **Tabela 25** encontram-se resumidos os valores de λ_{max} e respetiva absorvância para cada um dos valores de pH.

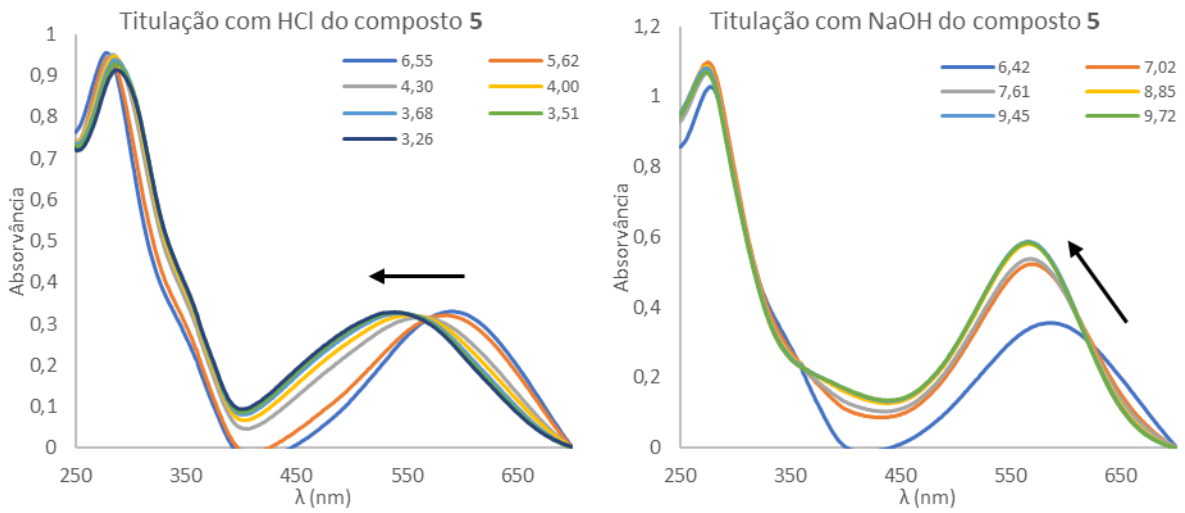


Figura 26: Efeito da variação do pH no espetro de UV-Vis do composto **5**.

Tabela 25: Dados de comprimento de onda máximo de absorção (λ_{max}, em nm) e respetivo valor de absorvância (Abs.) para soluções do composto **5** em EtOH/H_2O (80:20) a diferentes valores de pH.

Titulação com HCl			Titulação com NaOH		
pH	**λmax**	**Abs.**	**pH**	**λmax**	**Abs.**
6,55	591	0,329	6,52	591	0,335
5,62	586	0,322	7,02	569	0,525
4,30	564	0,317	7,61	567	0,537
4,00	553	0,320	8,85	567	0,582
3,68	544	0,326	9,45	566	0,588
3,51	539	0,329	9,72	566	0,585
3,26	539	0,328			

Na titulação com HCl, verificou-se que a diminuição do pH do meio provoca um desvio ipsocrómico, uma vez que o comprimento de onda de absorção máximo se desloca de 591 nm (a pH = 6,55) para 539 nm (a pH = 3,26), o que se traduz numa variação de cor do azul para violeta (**Figura 27**). O aumento da acidez do meio não teve qualquer efeito na intensidade da cor, dado que os valores de absorvância se mantiveram constantes (entre 0,317 – 0,329).

A titulação com NaOH também provocou um ligeiro desvio ipsocrómico, dado que os valores de λ_{max} se deslocaram de 591 nm (a pH = 6,52) para 566 nm (a pH = 9,72). Adicionalmente, verificou-se um efeito hipercrómico com o aumento do pH do meio, uma vez que os valores de absorvância aumentaram de 0,335 (a pH = 6,52) para 0,585 (a pH = 9,72), ou seja, verificou-se um aumento da intensidade da cor (**Figura 27**).

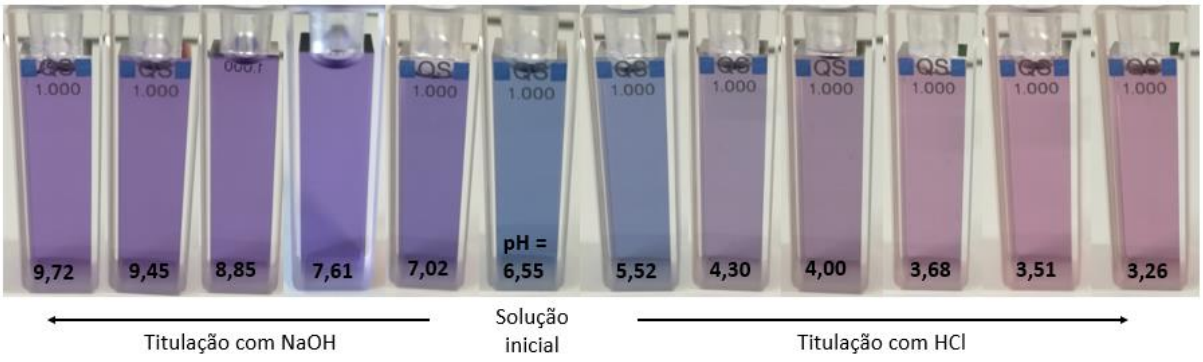


Figura 27: Efeito do pH na cor da solução do composto **5** em EtOH/H_2O (80:20).

Estes resultados mostram que este composto não apresenta solvatocromismo. Verifica-se, no entanto, um halocromismo apreciável, dado que exibe cor azul em meio moderadamente ácido, mas ocorre uma mudança para violeta acompanhada de um aumento da intensidade da cor em meio alcalino. Contudo, em meio fortemente ácido, verifica-se aparecimento de cor uma mais rosada que vai diminuindo de intensidade à medida que o pH aumenta. Este comportamento irregular em meio muito ácido sugere que a molécula deve ser instável a este pH, sofrendo transformações químicas que afetam drasticamente as suas propriedades colorimétricas. No entanto, não foi ainda possível obter dados que comprovem quais as transformações químicas que estão a acontecer.

6.3. Azo-pirimidinas 6

Foram avaliadas as propriedades colorimétricas das azo-pirimidinas **6** na região do UV-Vis em solventes de diferente polaridade. Os solventes utilizados neste estudo foram o etanol, o acetonitrilo, o THF e o diclorometano e verificou-se que estes compostos dão origem a soluções altamente coradas de tons violeta. Com base nas evidências experimentais que foram surgindo ao longo do trabalho, estes compostos sofrem alterações de cor em meio ácido e básico e, por isso, investigou-se ainda a influência do pH nas propriedades colorimétricas.

6.3.1. Efeito do solvente no espetro de UV-Vis das azo-pirimidinas 6

Como se pode verificar pelos dados apresentados na **Tabela 24**, os valores de λ_{max} nos diferentes solventes são muito semelhantes para os compostos estudados, variando entre 551 nm, para o composto **6c** em etanol, e 563 nm para o composto **6b** em THF. Apesar de ser uma diferença quase impercetível, as quatro moléculas apresentam uma tendência para um desvio batocrómico de acordo com a seguinte ordem de solventes: etanol < diclorometano < acetonitrilo < THF.

Verificou-se ainda um efeito hipercrómico do diclorometano para todos os compostos, dado que os maiores valores de ε para todos os compostos foram registados com este solvente. Para os compostos **6a** e **6c**, o THF produziu um efeito hipocrómico, uma vez que os valores de absortividade molar para estes compostos neste solvente são 10x inferiores aos valores determinados para os restantes solventes.

6.3.2. Efeito dos substituintes R^1 e R^2 no espetro de UV-Vis das azo-pirimidinas 6

A variação dos substituintes em R^1 e R^2 não produz alterações ao nível do comprimento de onda de absorção máxima, uma vez que, para o mesmo solvente, a variação de λ_{max} entre as diferentes azo-pirimidinas **6** é de apenas 2 – 3 nm.

No entanto, verifica-se a existência de uma influência dos substituintes em termos de absortividade molar. Para o etanol, acetonitrilo e diclorometano, os valores de ε aumentam de acordo com a seguinte ordem de compostos: **6b** < **6a** < **6d** < **6c**. Assim, quando o substituinte em R^1 = Ar(*p*)OMe (azo-pirimidinas **6c** e **6d**), verifica-se um efeito hipercrómico em relação aos compostos com R^1 = Me (azo-pirimidinas **6a** e **6b**). O substituinte em R^2 também provoca alterações em ε, dado que para $R^2 = N(CH_3)_2$ os valores aumentam em comparação com os compostos com $R^2 = NC_5H_{10}$. Para esta pequena amostra de quatro compostos **6**, e para os substituintes estudados, é possível afirmar que a influência de R^1 é superior à influência de R^2, nestes três solventes. Curiosamente, não foi observado este padrão quando se utilizou THF como solvente. Neste caso, os valores de ε aumentam de acordo com a seguinte ordem de compostos: **6a** < **6c** < **6b** < **6d**. Apesar de se verificar a mesma tendência de aumento dos valores de absortividade molar quando R^1 = Ar(*p*)OMe, a influência do substituinte em R^2 é superior, e inversa ao observado nos outros solventes: quando $R^2 = N(CH_3)_2$ verifica-se um efeito hipocrómico em comparação com os compostos com $R^2 = NC_5H_{10}$.

6.3.3. Efeito do pH no espetro de UV-Vis das azo-pirimidinas 6

As azo-pirimidinas **6** não são solúveis em água e, por isso, foram preparadas duas soluções para cada um dos compostos utilizando uma mistura de H_2O/EtOH na proporção de 80:20 como solvente. Foi seguido o mesmo procedimento descrito para o composto **5**, em que se realizou uma titulação com HCl e uma titulação com NaOH para cada um dos compostos. Na **Figura 28** encontram-se os espetros de UV-Vis adquiridos para cada um dos compostos, para cada valor diferente de pH registado. Na **Tabela 26** encontram-se resumidos os valores de λ_{max} e respetiva absorvância para cada um dos valores de pH.

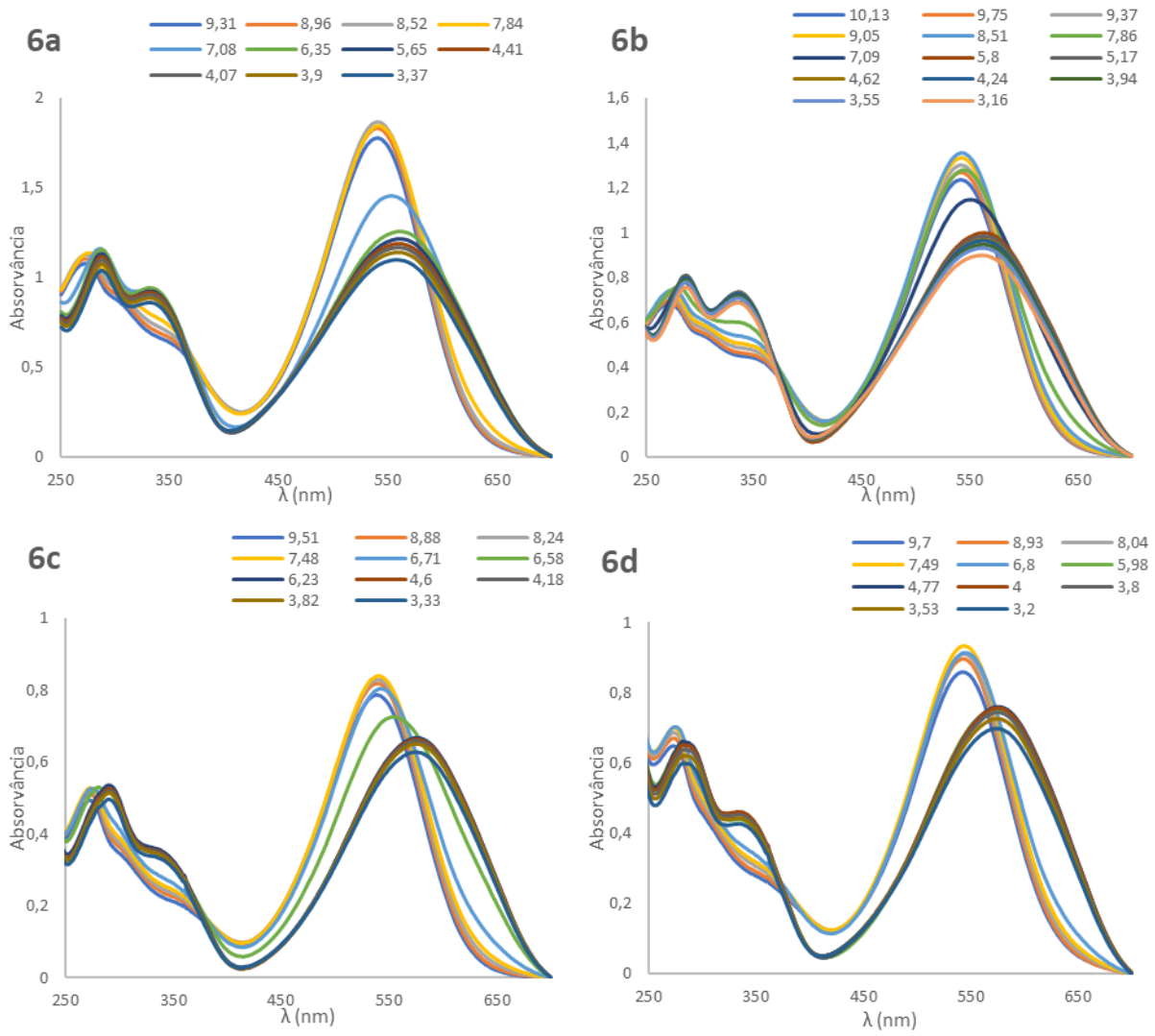


Figura 28: Efeito da variação do pH nos espetros de UV-Vis das azo-pirimidinas **6**.

Tabela 26: Dados de comprimento de onda máximo de absorção (λ_{max}, em nm) e respetivo valor de absorvância (Abs.), para diferentes valores de pH, das soluções de EtOH/H_2O (80:20) das azo-pirimidinas **6**.

	6a			**6b**			**6c**			**6d**		
	pH	**λmax**	**Abs.**	**pH**	**λmax**	**Abs.**	**pH**	**λmax**	**Abs.**	**pH**	**λmax**	**Abs.**
	9,31	540	1,778	10,13	541	1,232	9,51	538	0,788	9,70	542	0,857
	8,96	540	1,829	9,75	541	1,268	8,88	539	0,819	8,93	542	0,896
	8,52	541	1,864	9,37	541	1,299	8,24	539	0,831	8,04	543	0,911
	7,84	541	1,845	9,05	542	1,333	7,48	540	0,840	7,49	543	0,934
				8,51	542	1,357	6,71	541	0,805	6,80	544	0,915
				7,86	543	1,278						
Solução inicial	7,08	553	1,454	7,09	550	1,148	6,58	554	0,726	5,98	571	0,752
	6,35	561	1,252	5,80	562	0,996						
	5,65	561	1,217	5,17	562	0,981	6,23	574	0,669	4,77	575	0,760
	4,41	560	1,187	4,62	562	0,969	4,60	575	0,664	4,00	575	0,755
	4,07	559	1,163	4,24	562	0,962	4,18	575	0,658	3,8	574	0,745
	3,90	559	1,140	3,94	562	0,947	3,82	575	0,651	3,53	574	0,726
	3,37	559	1,094	3,55	561	0,930	3,33	575	0,628	3,20	573	0,699
				3,16	561	0,897						

De uma forma geral, verifica-se que a titulação com HCl provocou um desvio batocrómico e hipocrómico. O desvio batocrómico é pouco evidente para os compostos **6a**, **6b** e **6d**, dado que o λ_{max} varia entre 553 – 561 nm, 550 – 562 nm e 571 – 575 nm, respetivamente. No entanto, para o composto **6c** verifica-se um desvio do comprimento de onde de absorção máximo de 554 nm para 575 nm. Este efeito traduz-se numa alteração da cor das soluções do violeta para o azul (**Figura 29**). O efeito hipocrómico é mais pronunciado para os compostos **6a** e **6b** (R^1 = Me), uma vez que os valores de absorvância variam entre 1,454 – 1,094 e 1,148 – 0,897. Para os compostos **6c** e **6d** (R^1 = Ar(*p*)OMe) a absorvância varia entre 0,726 – 0,628 e 0,752 – 0,699, respetivamente.

Na titulação com NaOH, verificou-se uma tendência geral para a existência de um desvio ipsocrómico e hipercrómico. O desvio batocrómico é pouco evidente para os compostos **6a**, **6b** e **6c**, dado que o λ_{max} varia entre 553 – 540 nm, 550 – 541 nm e 554 – 538 nm, respetivamente. No entanto, para o composto **6d** verifica-se um desvio do comprimento de onde de absorção máximo de 571 nm para 542 nm. Este efeito traduz-se numa alteração da cor das soluções do violeta para um tom magenta/púrpura (**Figura 29**).

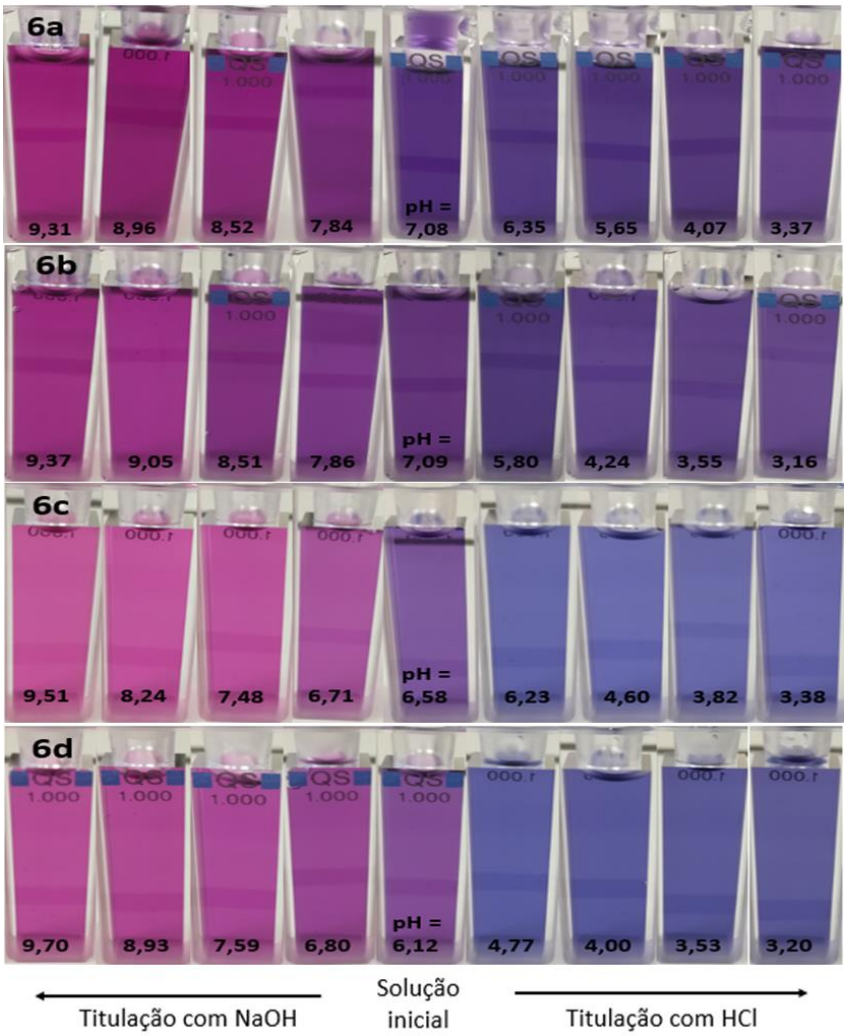
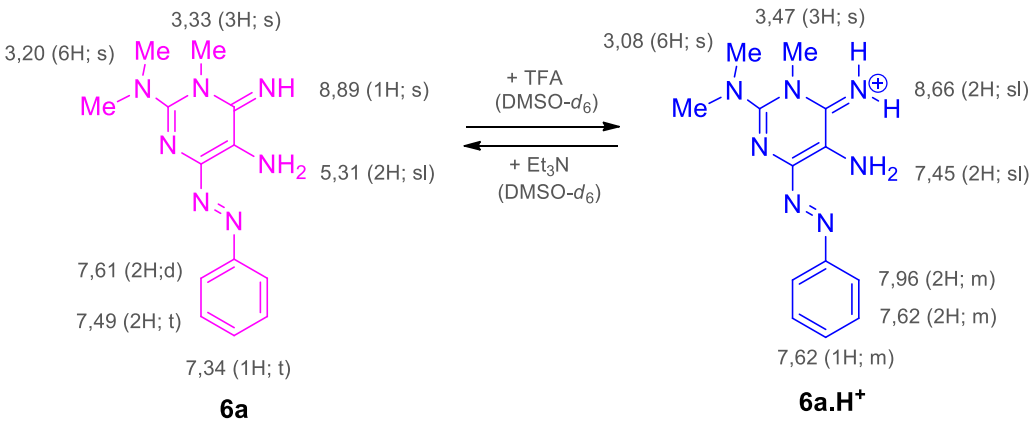


Figura 29: Efeito do pH na cor das soluções das azo-pirimidinas **6** em EtOH/H_2O (80:20).

Com base nestes resultados pode concluir-se que, apesar de não apresentarem solvatocromismo apreciável, estes compostos representam uma família de azo-pirimidinas com propriedades colorimétricas muito invulgares. Absorvem luz de comprimentos de onda bem mais elevados do que os as azo-pirimidinas encontradas na literatura, exibindo cores muito intensas que variam entre púrpura e azul. Para além disso, verifica-se um halocromismo muito pronunciado, que parece ser favorecido pela presença de substituintes arílicos em N1 do anel de pirimidina.

Na tentativa de entender a base estrutural para este halocromismo, avaliou-se por espetroscopia de ^{1}H RMN o efeito da adição de ácido trifluoroacético (TFA) e de trietilamina à azo-pirimidina **6a** dissolvida em DMSO-d_6. Os dados obtidos encontram-se resumidos no esquema seguinte (Esquema 27).



Esquema 27: Avaliação do efeito pH na estrutura da azo-pirimidina **6a** por espetroscopia de ^{1}H RMN: desvios químicos obtidos após adição de ácido trifluoroacético (TFA) e de trietilamina (Et_3N) em DMSO-d_6; proposta das estruturas responsáveis pela variação de cor de púpura para azul quando há diminuição do pH.

Os dados de espetroscopia de ^{1}H RMN mostram que os sinais dos protões do azobenzeno ficaram desprotegidos, indicando que este grupo permanece na forma azo. Pode ainda verificar-se que o desvio químico do grupo metilo aumenta de δ 3,33 para 3,47 ppm, enquanto que o grupo dimetilamino diminui de δ 3,20 para 3,08 ppm. Particularmente relevante é o desvio do grupo 5-amino, que aumenta de δ 5,31 para 7,45 ppm, enquanto que o protão imínico observado a δ 8,89 ppm na forma neutra dá lugar a uma banda larga que integra para cerca de dois protões δ 8,66 ppm. Com base nestes resultados propõe-se que a protonação ocorre no nitrogénio imínico, aumentando o efeito retirador da unidade de pirimidina, que se traduz num desvio da absorção para comprimentos de onda mais longos (desvio para o vermelho).

7. Resultados dos Testes Biológicos como Antimicrobianos

Em trabalhos anteriores verificou-se que as amidrazonas **3** possuem uma potente atividade antimicrobiana [65], [66]. No sentido de elucidar o seu mecanismo de ação, foram preparadas mais amostras dos compostos **3** para os ensaios biológicos realizados no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia do Porto pelo grupo da Professora Eugénia Pinto. Os resultados obtidos demonstraram que a atividade antifúngica destas amidrazonas deve-se sobretudo à produção de espécies reativas de oxigénio [72].

Uma vez que ao longo deste trabalho foi estudada a oxidação destas amidrazonas (**3**) e foram isolados produtos resultantes dessa oxidação, o azo-imidazole **4a**, o dímero **5** e a azo-pirimidina **6a** foram também submetidos para avaliação da sua atividade antimicrobiana. Os resultados obtidos são apresentados na **Tabela 27** em conjunto com os dados da amidrazona correspondente **3a**.

Tabela 27: Resultados dos testes preliminares quantitativos antibacterianos e antifúngicos dos compostos **3a-6a**.

	Amidrazona **3a**		Azo-imidazole **4a**		Azo pirimidina **6a**	
	MIC (µg/mL)	**MLC (µg/mL)**	**MIC (µg/mL)**	**MLC (µg/mL)**	**MIC (µg/mL)**	**MLC (µg/mL)**
C. albicans ATCC	32-64	64-128	64	>256	32	64
C. krusei ATCC	4-8	4-8	16	64	4	4
S. aureus ATCC	256	>256	>256	>256	128	>256

(MIC - concentração inibitória mínima; MLC - concentração letal mínima).

Estes resultados mostram que o azo-imidazole **4a** e a azo-pirimidina **6a** são muito ativos em *C. albicans* e *C. krusei*, embora menos ativos em *S. aureus*.

Com base nestes dados, pode concluir-se que estas duas classes de compostos azo são bons candidatos para serem estudados como novos agentes antimicrobianos, evidenciando a sua potencialidade para o desenvolvimento de aplicações têxteis em pensos antimicrobianos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

1. Equipamentos e Reagentes

Os espetros de ressonância magnética nuclear foram registados no aparelho Bruker Avance III 400 e foi utilizada uma frequência de 400 MHz para ^{1}H e de 100,6 MHz para ^{13}C, utilizando o pico do solvente como referência interna a 25°C. Os desvios químicos estão representados em ppm, usando δ_H Me_4Si = 0 ppm como valor de referência e as constantes de acoplamento (*J*) são apresentadas em Hz. A atribuição dos sinais para ^{1}H e ^{13}C foi realizada com base nos desvios químicos, multiplicidade dos sinais e valores de *J* dos sinais observados, incluindo os espetros de correlação ^{1}H – ^{13}C (HMQC e HMBC). Foi utilizado o DMSO deuterado como solvente.

As reações foram monitorizadas por TLC (*Thin Layer Chromatography)* em placas de gel de sílica 60 com indicador de fluorescência UV254 (Macherey-Nagel).

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Stuart cat.SMP3.

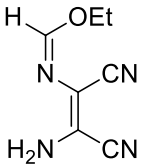
As massas dos sólidos utilizados para preparar as soluções padrão foram medidas numa micro-balança Sartorius Micro (± 0,001 mg). As soluções foram preparadas em balões volumétricos de (10 ± 0,025) mL, e os volumes iniciais (*Vi*) foram medidos com uma micro-pipeta de 1000 µL.

Os espetros de UV-Vis foram registados no aparelho SHIMADZU UV-2501PC, utilizando células de quartzo com 1 cm de largura.

Os reagentes e solventes utilizados foram fornecidos pela Sigma-Aldrich, Merck, Aldrich, Acros Organics e Fisher Scientific.

2. Síntese dos reagentes de partida

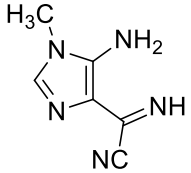
2.1. Síntese de *N*-[(*Z*)-2-amino-1,2-dicianovinil]formimidato de etilo (1) (DD 140)



Para um balão de 250 mL pesou-se o diaminomaleonitrilo (DAMN, 108,10 g/mol; 10,06 g; 93,06 mmol), dissolveu-se com dioxano (150 mL) e adicionou-se ortoformiato de etilo (TEOF; 98%; 148,20 g/mol; d = 0,890; 17,50 mL; 105,09 mmol). A mistura reacional foi aquecida até à ebulição num sistema de destilação até se recolher aproximadamente 80 mL de destilado a 123°C (1 hora). Deixou-se arrefecer ligeiramente a mistura reacional de cor castanha e efetuou-se uma cromatografia "*flash*" para a eliminação de impurezas. Para este efeito, a solução castanha foi filtrada sob vácuo, através de uma coluna com uma pequena camada de sílica gel 60 (< 0,063 mm) e terra de diatomáceas, e lavou-se a coluna com éter etílico (100 mL). A solução de cor amarela recolhida foi colocada em banho de gelo (15 min) e adicionou-se *n*-hexano (80 mL), que fez precipitar um sólido de cor bege claro. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com uma mistura fria de *n*-hexano/éter etílico (75:25). Recolheu-se um sólido bege que foi identificado como sendo o imidato **1** (15,02 g; 91,49 mmol; 98%). Fórmula molecular: $C_7H_8N_4O$. Massa molecular: 164,16 g/mol.

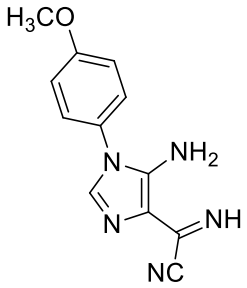
2.2. Síntese dos 5-amino-4-cianoformimidoilimidazoles (2.2)

2.2.1. Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-metil imidazole (2.2a) (DD 185)



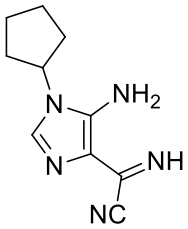
Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão de imidato **1** (3,15 g; 19,18 mmol), etanol (6 mL) e alguns cristais de cloreto de anilíneo. A mistura foi colocada em banho de gelo, sob agitação magnética. Adicionou-se metilamina (40%; 31,06 g/mol; d = 0,902; 2,00 mL; 23,23 mmol) e formou-se uma suspensão amarela. Após 15 minutos, a reação estava completa. Adicionou-se DBU (10 gotas) e, ao fim de 3 horas e 30 minutos, a reação estava completa. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e éter etílico frios. Recolheu-se um sólido amarelo claro, que foi identificado como sendo o imidazole **2.2a** (2,19 g; 14,70 mmol; 77%). Fórmula molecular: $C_6H_7N_5$. Massa molecular: 149,15 g/mol.

2.2.2. Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-(4-metoxifenil) imidazole (2.2b) (DD 383)



Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão de imidato **1** (3,04 g; 18,54 mmol), etanol (10 mL) e alguns cristais de cloreto de anilíneo. A mistura foi colocada sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Adicionou-se *p*-anisidina (123,15 g/mol; 2,74 g; 22,25 mmol) e formou-se uma suspensão amarela. Ao fim de 4 horas e 30 minutos, a reação estava completa. Adicionou-se etanol (10 mL) e DBU (10 gotas). Após 1 hora e 30 minutos, a reação estava completa, o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e éter etílico frios. O sólido amarelo claro foi recolhido e identificado como sendo o imidazole **2.2b**. (4,18 g; 17,31 mmol; 93%). Fórmula molecular: $C_{12}H_{11}N_5O$. Massa molecular: 241,25 g/mol.

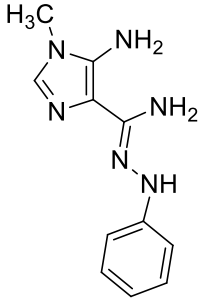
2.2.3. Síntese de 5-amino-4-cianoformimidoil-1-ciclopentil imidazole (2.2c) (DD 202)



Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão de imidato **1** (3,24 g; 19,75 mmol), ciclopentilamina (85,15 g/mol; d = 0,863; 2,30 mL; 23,70 mmol) e alguns cristais de cloreto de anilíneo. A mistura foi colocada sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Formou-se uma suspensão laranja e, após 40 minutos, a reação estava completa. Adicionou-se etanol (3 mL), éter de petróleo (3 mL) e DBU (12 gotas). Ao fim de 5 horas e 30 minutos, a reação estava completa, o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e éter etílico frios. O sólido amarelo claro foi recolhido e identificado como sendo o imidazole **2.2c** (2,54 g; 12,49 mmol; 63%). Fórmula molecular: $C_{10}H_{13}N_5$. Massa molecular: 203,24 g/mol.

2.3. Síntese das 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazonas (3)

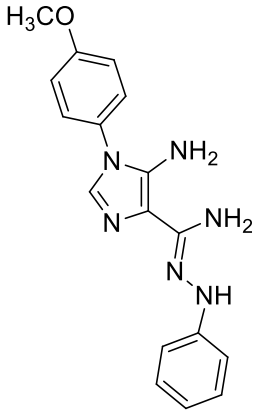
2.3.1. Síntese de (*Z*)-5-amino-1-metil-*N'*-fenil-1*H*-imidazole-4-carboxamidrazona (3a) (DD 133)



Num balão de 25 mL preparou-se uma suspensão de imidazole **2.2a** (1,05 g; 7,02 mmol) em etanol (3 mL). A mistura foi colocada em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Adicionou-se fenil-hidrazina (108,14 g/mol; d = 1,099; 1,00 mL; 10,53 mmol) e ácido acético (2 gotas). Colocou-se sob agitação magnética, em banho de gelo, mantendo-se em atmosfera de azoto. Após 3 horas e

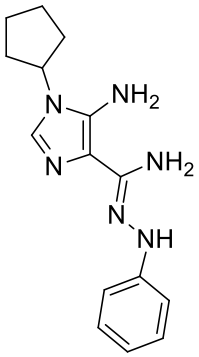
15 min, a reação estava concluída, o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e éter etílico frios. O sólido foi identificado por comparação com os dados espetroscópicos de ^{1}H RMN de amostras padrão. (1,56 g; 6,76 mmol; 96%). Fórmula molecular: $C_{11}H_{14}N_6$. Massa molecular: 230,27 g/mol.

2.3.2. Síntese de (*Z*)-5-amino-1-(4-metoxifenil)-*N*^{1}-fenil-1*H*-imidazole-4-carboxamidrazona (2d) (DD 221)



Num balão de 25 mL preparou-se uma suspensão de imidazole **2.2b** (2,01 g; 8,32 mmol) em etanol (8 mL). A mistura foi colocada em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Adicionou-se fenil-hidrazina (108,14 g/mol; d = 1,099; 1,25 mL; 12,48 mmol) e ácido acético (3 gotas). Colocou-se sob agitação magnética, à temperatura de 8°C, mantendo-se em atmosfera de azoto. Após 17 horas, a reação estava concluída, o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e éter etílico frios O sólido foi identificado por comparação com os dados espetroscópicos de ^{1}H RMN de amostras padrão. (2,52 g; 7,82 mmol; 94%). Fórmula molecular: $C_{17}H_{18}N_6O$. Massa molecular: 322,36 g/mol.

2.3.3. Síntese de (*Z*)-5-amino-1-ciclopentil-*N*^{1}-fenil-1*H*-imidazole-4-carboxamidrazona (3c) (DD 327)

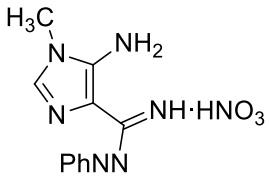


Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão de imidazole **2.2c** (2,04 g; 10,05 mmol) em etanol (6 mL). A mistura foi colocada em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Adicionou-se fenil-hidrazina (108,14 g/mol; d = 1,099; 1,50 mL; 15,08 mmol) e ácido acético (3 gotas). Colocou-se sob agitação magnética, à temperatura de 8°C, mantendo-se em atmosfera de azoto. Após 17 horas, a reação estava concluída, o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol e éter etílico frios. O sólido foi identificado por comparação com os dados espetroscópicos de ^{1}H RMN de amostras padrão. (2,30 g; 8,08 mmol; 80%). Fórmula molecular: $C_{15}H_{20}N_6$. Massa molecular: 284,36 g/mol.

3. Síntese dos azo-imidazoles (4)

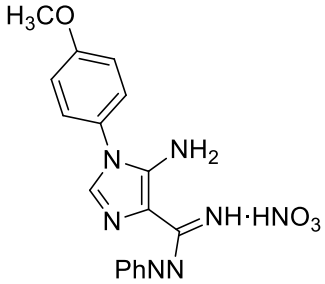
3.1. Síntese dos azo-imidazoles na forma de nitrato de imidazólio (4·HNO_3)

3.1.1. Nitrato de 4-(imino(fenildiazenil)metil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-amónio (4a·HNO_3) (DD 351)



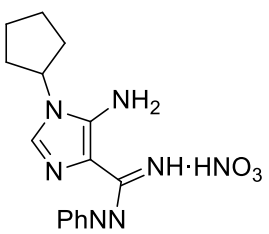
Num balão de 50 mL dissolveu-se o nitrato de prata (169,87 g/mol; 1,12 g; 6,55 mmol) em acetonitrilo (2,5 mL). Colocou-se sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Preparou-se uma suspensão da amidrazona **3a** (0,51 g; 2,18 mmol) em acetonitrilo (10 mL) e etanol (2,5 mL). A suspensão foi adicionada, gota a gota, ao balão da reação. Formou-se uma suspensão vermelha/bordô e, após 15 minutos, a reação estava terminada. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O sólido bordô foi recolhido e identificado como sendo o azo-imidazole **4a·HNO_3·Ag** (0,86 g; 2,16 mmol; 99%). Fórmula molecular: $C_{11}H_{13}N_7O_3$. Massa molecular: 398,99 g/mol.

3.1.2. Nitrato de 4-(imino(fenildiazenil)metil)-1–(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-5-amónio (4b·HNO_3) (DD 366)



Num balão de 50 mL pesou-se o nitrato de prata (169,87 g/mol; 0,95 g; 5,60 mmol), dissolveu-se com acetonitrilo (3 mL) e colocou-se sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Preparou-se uma suspensão da amidrazona **3b** (0,60 g; 1,87 mmol) em acetonitrilo (12 mL) e etanol (1,5 mL). A suspensão foi adicionada, gota a gota, ao balão da reação. Formou-se uma suspensão vermelha/bordô e, após 15 minutos, a reação estava terminada. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O sólido castanho-escuro foi recolhido e identificado como sendo o azo-imidazole **4b·HNO_3·Ag** (0,76 g; 1,54 mmol; 82%). Fórmula molecular: $C_{17}H_{17}N_7O_4$. Massa molecular: 491,23 g/mol.

3.1.3. Nitrato de 1-ciclopentil-4-(imino(fenildiazenil)metil)-1*H*-imidazol-5-amónio (4c·HNO_3) (DD 348)

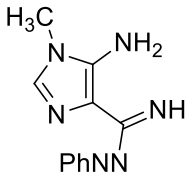


Num balão de 50 mL dissolveu-se o nitrato de prata (169,87 g/mol; 0,94 g; 5,50 mmol) em acetonitrilo (2,5 mL). Colocou-se sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Preparou-se uma suspensão da amidrazona **3c** (0,52 g; 1,83 mmol) em acetonitrilo (10 mL) e etanol (2,5 mL). A suspensão foi

adicionada, gota a gota, ao balão da reação. Formou-se uma suspensão vermelha/bordô e, após 15 minutos, a reação estava terminada. O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com acetonitrilo e éter etílico frios. O sólido preto foi recolhido e identificado como sendo o azo-imidazole **4c·HNO$_3$·Ag** (0,77 g; 1,70 mmol; 93%). Fórmula molecular: $C_{15}H_{19}N_7O_3$. Massa molecular: 453,22 g/mol.

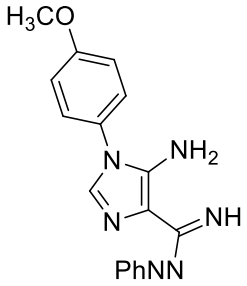
3.2. Neutralização dos azo-imidazoles 4·HNO$_3$

3.2.1. 4-(Imino(fenildiazenil)metil)-1-metil-1*H*-imidazol-5-amina (4a) (DD 88)



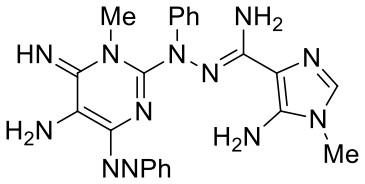
Num balão de 25 mL pesou-se o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** (0,10 g; 0,25 mmol), adicionou-se água destilada (4 mL) e colocou-se sob agitação magnética, em banho de gelo. Adicionou-se NaOH (4,0 M; 0,19 mL; 0,75 mmol) e verificou-se a precipitação imediata de um sólido cinzento escuro. Após 3 minutos o sólido foi filtrado sob vácuo e recolhido. O sólido foi identificado por espetroscopia de ^{1}H RMN como sendo o azo-imidazole **4a·Ag** (0,08 g; 0,24 mmol; 99%). Fórmula molecular: $C_{11}H_{12}N_6$. Massa molecular: 336,12 g/mol.

3.2.2. 4-(imino(fenildiazenil)metil)-1-(4-metoxifenil)-1*H*-imidazol-5-amina (4b) (DD 243)



Num balão de 25 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4b·HNO$_3$** (0,51 g; 1,03 mmol) em água destilada (10 mL) e colocou-se sob agitação magnética, em banho de gelo. Adicionou-se $NaHCO_3$ (84,01 g/mol; 0,26 g; 3,09 mmol) e verificou-se a precipitação imediata de um sólido castanho. Após 3 minutos o sólido foi filtrado sob vácuo e recolhido. O sólido foi identificado por espetroscopia de ^{1}H RMN como sendo o azo-imidazole **4b·Ag** (0,43 g; 1,00 mmol; 99%). Fórmula molecular: $C_{17}H_{16}N_6O$. Massa molecular: 428,22 g/mol.

4. Síntese de (4*Z*)-5-amino-*N*-(5-amino-6-imino-1-metil-4-(fenildiazenil)-1,6-di-hidropirimidin-2-il)-1-metil-*N*'-fenil-1*H*-imidazole-4-carbo-hidrazonamida (5)



Foram utilizados dois métodos diferentes para a síntese do dímero **5**: um método em que se parte do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** e um método em que se utiliza a amidrazona **3** como reagente de partida.

4.1. Síntese de 5 a partir do azo-imidazole 4·HNO$_3$ (DD 190)

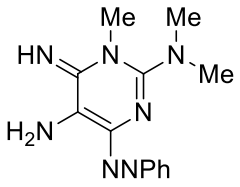
Num balão de 25 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** (0,25 g; 0,63 mmol) em acetonitrilo (2 mL). A mistura foi colocada sob agitação magnética, em banho de gelo. Adicionou-se a amidrazona **3a** (0,02 g; 0,06 mmol) e NaOH (4,0 M; 0,16 µL; 0,63 mmol). Formou-se uma solução de cor azul e, após 15 minutos, a reação estava completa. A solução foi filtrada sob vácuo utilizando fibra de vidro para reter e remover a prata sólida, e evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. O sólido obtido por precipitação com acetonitrilo frio foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H RMN como sendo o composto **5** (0,05 g; 0,10 mmol; 16%). Fórmula molecular: $C_{22}H_{24}N_{12}$. Massa molecular: 456,51 g/mol.

4.2. Síntese de 5 a partir da amidrazona 3a (DD 335)

Num balão de 25 mL preparou-se uma suspensão da amidrazona **3a** (0,10 g; 0,44 mmol) em acetonitrilo (0,5 mL) e água destilada (0,5 mL). A mistura foi colocada sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Adicionou-se NaOH (4,0 M; 0,22 mL; 0,88 mmol) e nitrato de prata (169,87 g/mol; 0,01 g; 0,04 mmol). Formou-se uma solução de cor azul e, após 20 minutos, a reação estava terminada. Adicionou-se água destilada fria e precipitou um sólido azul escuro, que foi filtrado sob vácuo e recolhido. O sólido foi identificado por espetroscopia de ^{1}H RMN como sendo o composto **5** (0,06 g; 0,13 mmol; 60%). Fórmula molecular: $C_{22}H_{24}N_{12}$. Massa molecular: 456,51 g/mol.

5. Síntese das azo-pirimidinas (6)

5.1. Síntese de 6-imino-N^2,N^2,1-trimetill-4-(fenildiazenil)-1,6-di-hidropirimidin-2,5-diamina (6a)



Foram utilizados três métodos diferentes para a síntese da azo-pirimidina **6a**: um método em que se parte do azo-imidazole **4a**, um método em que se utiliza o azo-imidazole **4a·HNO₃** como reagente de partida, e um método em dois passos partindo da amidrazona **3**.

5.1.1. Método A: a partir do azo-imidazole 4a (DD 87)

Num balão de 25 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4a** (0,10 g; 0,30 mmol) em acetonitrilo (0,5 mL) e colocou-se sob agitação magnética, em banho de gelo. Adicionou-se dimetilamina (solução aquosa 7,89 M; 0,15 mL; 0,97 mmol). Formou-se uma solução de cor magenta e, após 30 minutos, a reação estava terminada. A solução foi filtrada sob vácuo utilizando fibra de vidro para reter e remover a prata sólida, e evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. O sólido obtido por precipitação com acetonitrilo frio foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H e ^{13}C RMN como sendo o composto **6a** (0,02 g; 0,06 mmol; 18%). Fórmula molecular: $C_{13}H_{17}N_7$. Massa molecular: 271,32 g/mol. Ponto de fusão: >78 °C.

5.1.2. Método B: a partir do azo-imidazole 4a·HNO₃ (DD 403)

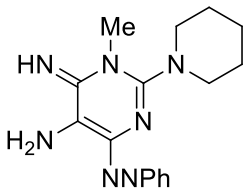
Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4a·HNO₃** (0,30 g; 0,75 mmol) em acetonitrilo (6 mL). A mistura foi colocada em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Colocou-se sob agitação magnética e adicionou-se dimetilamina (solução aquosa 7,89 M; 0,95 mL; 7,50 mmol). Formou-se uma solução de cor magenta e, após 1 hora, o balão da reação foi destapado de modo a permitir o contacto com o oxigénio atmosférico. Após 1 hora adicional, a reação estava completa. A solução foi filtrada sob vácuo utilizando fibra de vidro para remover a maior parte da prata. Em seguida, a solução foi filtrada através de uma coluna contendo terra de diatomáceas, de modo a reter todos os vestígios residuais de prata. A solução foi evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. Adicionou-se água destilada e NaOH (4,0 M; 0,38 mL; 1,50 mmol), o que fez precipitar um sólido escuro, que foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H e ^{13}C RMN como sendo o composto **6a** (0,01 g; 0,04 mmol; 5%). Fórmula molecular: $C_{13}H_{17}N_7$. Massa molecular: 271,32 g/mol. Ponto de fusão: >78 °C.

5.1.3. Método C: a partir da amidrazona 3a (DD 331)

Num balão de 25 mL dissolveu-se o nitrato de prata (169,87 g/mol; 0,48 g; 2,78 mmol) em acetonitrilo (1 mL). Colocou-se sob agitação magnética, à temperatura ambiente. Preparou-se uma suspensão da amidrazona **3a** (0,21 g; 0,93 mmol) em acetonitrilo (5 mL) e etanol (1 mL). A suspensão foi adicionada, gota a gota, ao balão da reação. Formou-se uma suspensão vermelha/bordô e, após 10 minutos, a reação estava terminada.

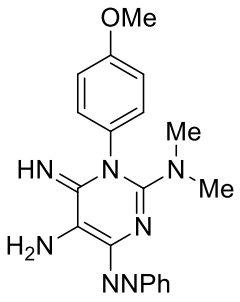
A reação foi colocada em banho de gelo e adicionou-se dimetilamina (solução aquosa 7,89 M; 0,94 mL; 7,40 mmol). Formou-se uma solução de cor magenta e, após 30 minutos, a reação estava terminada. A solução foi filtrada sob vácuo, utilizando fibra de vidro para reter e remover a prata sólida, e evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. Adicionou-se água destilada e NaOH (4,0 M; 0,47 mL; 1,85 mmol), o que fez precipitar um sólido escuro, que foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H e ^{13}C RMN como sendo o composto **6a** (0,05 g; 0,17 mmol; 18%). Fórmula molecular: $C_{13}H_{17}N_7$. Massa molecular: 271,32 g/mol. Ponto de fusão: >78 °C (degradação).

5.2. Síntese de 6-imino-1-metil-4-(fenildiazenil)-2-(piperidin-1-il)-1,6-di-hidropirimidin-5-amina (6b) (DD 376)



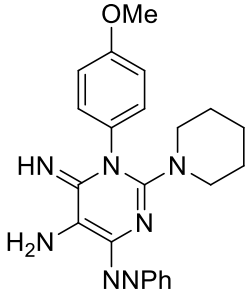
Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4a·HNO$_3$** (0,52 g; 1,30 mmol) em acetonitrilo (10 mL). A mistura foi colocada em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Colocou-se sob agitação magnética e adicionou-se piperidina (85,15 g/mol; d = 0,86; 1,30 mL; 13,00 mmol). Formou-se uma solução de cor magenta e, após 1 hora, o balão da reação foi destapado de modo a permitir o contacto com o oxigénio atmosférico. Após 1 hora adicional, a reação estava completa. A solução foi filtrada sob vácuo utilizando fibra de vidro para remover a maior parte da prata. Em seguida, a solução foi filtrada através de uma coluna contendo terra de diatomáceas, de modo a reter todos os vestígios residuais de prata. A solução foi evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. Adicionou-se água destilada e NaOH (4,0 M; 0,65 mL; 2,60 mmol), o que fez precipitar um sólido escuro, que foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H e ^{13}C RMN como sendo o composto **6b** (0,07 g; 0,23 mmol; 18%). Fórmula molecular: $C_{16}H_{21}N_7$. Massa molecular: 311,38 g/mol. Ponto de fusão: 165–170 °C.

5.3. Síntese de 6-imino-1-(4-metoxifenil)-*N*²,*N*²-dimetil-4-(fenildiazenil)-1,6-di-hidropirimidin-2,5-diamina (6c) (DD 394)



Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4b·HNO₃** (0,51 g; 1,04 mmol) em acetonitrilo (10 mL), e colocou-se em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Colocou-se sob agitação magnética, adicionou-se dimetilamina (solução aquosa 7,89 M; 1,30 mL; 10,39 mmol) e formou-se uma solução de cor magenta. Após 1 hora e 30 minutos, o balão da reação foi destapado de modo a permitir o contacto com o oxigénio atmosférico e, ao fim de 1 hora e 30 minutos, a reação estava completa. A solução foi filtrada sob vácuo utilizando fibra de vidro para remover a maior parte da prata. Em seguida, a solução foi filtrada através de uma coluna contendo terra de diatomáceas, de modo a reter todos os vestígios residuais de prata. A solução foi evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. Adicionou-se água destilada e NaOH (4,0 M; 0,50 mL; 2,08 mmol), o que fez precipitar um sólido escuro, que foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H e ^{13}C RMN como sendo o composto **6c** (0,29 g; 0,80 mmol; 77%). Fórmula molecular: $C_{19}H_{21}N_7O$. Massa molecular: 363,42 g/mol. Ponto de fusão: 163—173 °C.

5.4. Síntese de 6-imino-1-(4-metoxifenil)-4-(fenildiazenil)-2-(piperidin-1-il)-1,6-di-hidropirimidin-5-amina (6d) (DD 395)



Num balão de 50 mL preparou-se uma suspensão do azo-imidazole **4b·HNO₃** (0,60 g; 1,22 mmol) em acetonitrilo (12 mL). A mistura foi colocada em banho de gelo durante cerca de 5 minutos, sob azoto. Colocou-se sob agitação magnética e adicionou-se piperidina (85,15 g/mol; d = 0,86; 1,20 mL; 12,24 mmol). Formou-se uma solução de cor magenta e, após 1 hora e 30 minutos, o balão da reação foi destapado de modo a permitir o contacto com o oxigénio atmosférico. Ao fim de 1 hora e 30 minutos, a reação estava completa. A solução foi filtrada sob vácuo utilizando fibra de vidro para remover a maior parte da prata. Em seguida, a solução foi filtrada através de uma coluna contendo terra de diatomáceas, de modo a reter todos os vestígios residuais de prata. A solução foi evaporada até à secura num evaporador rotativo, a 40 °C. Adicionou-se água destilada e NaOH (4,0 M; 0,61 mL; 2,44 mmol), o que fez precipitar um sólido escuro, que foi recolhido e identificado por espetroscopia de ^{1}H e ^{13}C RMN como sendo o composto **6d** (0,42 g; 1,05 mmol; 86%). Fórmula molecular: $C_{22}H_{25}N_7O$. Massa molecular: 403,48 g/mol. Ponto de fusão: 97—103 °C.

6. Espetroscopia de Absorção Atómica de Chama

Os compostos **4·HNO$_3$** contêm prata sólida, uma vez que não é possível removê-la durante o processo de síntese. De modo a determinar os coeficientes de absortividade molar destes compostos, é necessário conhecer o grau de pureza das amostras. Para esse fim, foram realizadas análises de espetroscopia de absorção atómica de chama, de modo a determinar a quantidade de prata em cada uma das amostras dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**. Adicionalmente, para verificar se o processo utilizado para remover a prata durante as sínteses dos compostos **5** e **6** foi eficaz, estes compostos foram também submetidos a análise por espetroscopia de absorção atómica de chama.

6.1. Preparação das amostras

Para determinar a quantidade de prata em cada uma das amostras, é necessário realizar um processo de digestão, que transforma toda a prata presente na amostra no ião Ag^+. Por cada 0,01 g de composto, adicionou-se 1 mL de HNO_3 70%. Colocou-se sob agitação magnética, a 98 °C, durante 1 hora. Por fim, a solução foi diluída para um volume final de 10 mL e analisada por espetroscopia de absorção atómica de chama.

6.2. Resultados

Os resultados foram obtidos por cortesia da Técnica Leonor Carneiro, do Departamento de Engenharia Mecânica, da Universidade do Minho.

Na **Tabela 28** encontram-se as percentagens de prata determinadas para cada uma das amostras, e os graus de pureza calculados para cada um dos sólidos que foram posteriormente utilizados para preparar as soluções padrão para análise por espetroscopia de UV-Vis.

Tabela 28: Percentagem de prata e grau de pureza.

Composto	Ag (%)	Pureza (%)
4a·HNO$_3$	47,7	52,3
4b·HNO$_3$	40,9	59,1
4c·HNO$_3$	39,8	60,2
5	< 0,1	> 99,9
6a	0,1	99,9
6b	0,1	99,9
6c	< 0,1	> 99,9
6d	< 0,1	> 99,9

Como era de esperar, os azo-imidazoles **4·HNO$_3$** contêm uma grande quantidade de prata, entre os 39,8 e 47,7 %. Por outro lado, o dímero **5** e as azo-pirimidinas **6** apresentam quantidades vestigiais de prata, sendo que a pureza calculada para estas amostras é igual ou superior a 99,9 %. Assim, podemos concluir que a filtração das soluções com fibra de vidro e terra de diatomáceas é eficaz na remoção da prata sólida.

7. Espetroscopia de UV-Vis

Foram traçados os espetros de UV-Vis para os azo-imidazoles **4·HNO$_3$**, o dímero **5** e as azo-pirimidinas **6**. Para cada um dos compostos foi determinado o comprimento de onda de absorção máximo (λ_{max}) e a absortividade molar (ε), em diferentes solventes. Foram também traçados os espetros de UV-Vis a diferentes valores de pH para estes compostos.

7.1. Absortividade molar e efeito do solvente

A absortividade molar foi determinada pela Lei de Beer-Lambert **Equação 1**, em que A é a absorvância, ε é o coeficiente de absortividade molar (em $M^{-1} \cdot cm^{-1}$), l é a largura da célula (em cm) e c é a concentração da solução (em mol/L).

$$A = \varepsilon l c \qquad \textbf{Equação 1}$$

Partindo da equação acima apresentada, a absortividade molar foi determinada em termos práticos da seguinte forma: a absorvância de soluções padrão de diferentes concentrações foi analisada no comprimento de onda máximo; em seguida, foi traçado o gráfico da absorvância em função da concentração; determinou-se a reta de calibração e o valor de ε obtido pelo declive desta reta (para l = 1 cm).

7.1.1. Preparação das soluções padrão

Nesta secção apresenta-se o procedimento utilizado para preparar as soluções padrão utilizadas para construir a reta de calibração para cada um dos compostos, em diferentes solventes, sendo as soluções do composto **4a·HNO$_3$**, em água utilizadas como exemplo. São também apresentados, como exemplo, os cálculos realizados para a determinação das incertezas associadas aos valores de concentração das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, em água.

Utilizando uma micro-balança, pesou-se o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** (m = 3,929 ± 0,001 mg). Transferiu-se para um balão volumétrico de (10,000 ± 0,025) mL e o volume foi preenchido até ao menisco utilizando água destilada [C = (7,05 ± 0,02) x10^{-4} mol/L]. A concentração da solução mãe foi calculada utilizando a **Equação 2**, em que C é a concentração da solução (em mol/L), m é a massa de composto pesada (em g), P é a pureza do composto, M é a massa molar (em g/mol) e V é o volume da solução (em L).

$$C = \frac{(m \times P)/M}{V}$$ **Equação 2**

Em seguida, a solução mãe foi filtrada utilizando fibra de vidro, para remover as interferências causadas pela prata. A partir desta solução mãe foram preparadas 8 soluções padrão, medindo um volume inicial (Vi) e diluindo para um volume final de 10 mL, com água destilada, como está indicado na **Tabela 29**.

Tabela 29: Volume inicial (Vi, em mL) utilizado para preparar cada uma das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO$_3$**, em água; concentração final (Cf, em mol/L) de cada uma das soluções padrão.

Vi (mL)	Cf (mol/L)
1,750 ± 0,008	0,0001235 ± 0,0000007
1,500 ± 0,008	0,0001058 ± 0,0000007
1,000 ± 0,006	0,0000705 ± 0,0000005
0,750 ± 0,005	0,0000529 ± 0,0000004
0,500 ± 0,005	0,0000353 ± 0,0000004
0,250 ± 0,003	0,0000176 ± 0,0000002
0,170 ± 0,003	0,0000120 ± 0,0000002
0,100 ± 0,003	0,0000071 ± 0,0000002

A concentração final (Cf) das soluções padrão foi calculada utilizando a **Equação 3**, em que Cf é a concentração final da solução (em mol/L), Ci é a concentração inicial (em mol/L), Vi é o volume inicial (em mL) e Vf é o volume final da solução (em mL).

$$Cf = \frac{Ci \times Vi}{Vf}$$ **Equação 3**

As incertezas associadas aos valores de concentração de cada uma das soluções padrão foram calculadas utilizando a **Equação 4**, em que δCf é a incerteza associada à concentração final (em mol/L), Cf é a concentração final da solução (em mol/L), δCi é a incerteza associada à concentração inicial (em mol/L), Ci é a concentração inicial (em mol/L), δVi é a incerteza associada ao volume inicial (em mL), Vi é o volume inicial (em mL), δVf é a incerteza associada ao volume final (em mL) e Vf é o volume final da solução (em mL).

$$\delta Cf = Cf \times \sqrt{\left(\frac{\delta Ci}{Ci}\right)^2 + \left(\frac{\delta Vi}{Vi}\right)^2 + \left(\frac{\delta Vf}{Vf}\right)^2} \qquad \textbf{Equação 4}$$

Por exemplo, para a solução padrão de menor concentração do azo-imidazole **4a·HNO₃**, em água, o cálculo da concentração final e incerteza foi realizado da seguinte forma:

$$Cf = \frac{7{,}05 \times 0{,}100}{10} = 7{,}1 \times 10^{-6} mol/L$$

$$\delta Cf = (7{,}1 \times 10^{-6}) \times \sqrt{\left(\frac{0{,}02 \times 10^{-4}}{7{,}05 \times^{-4}}\right)^2 + \left(\frac{0{,}003}{0{,}100}\right)^2 + \left(\frac{0{,}025}{10}\right)^2} = 0{,}2 \times 10^{-6} mol/L$$

7.1.2. Curvas de calibração

Cada uma destas soluções padrão foi analisada por espetroscopia de UV-Vis, entre 350 e 700 nm, como se pode ver na **Figura 30**. O comprimento de onda de absorção máximo (λ_{max}) foi determinado e os valores de absorvância nesse mesmo comprimento de onda foram registados (**Tabela 30**).

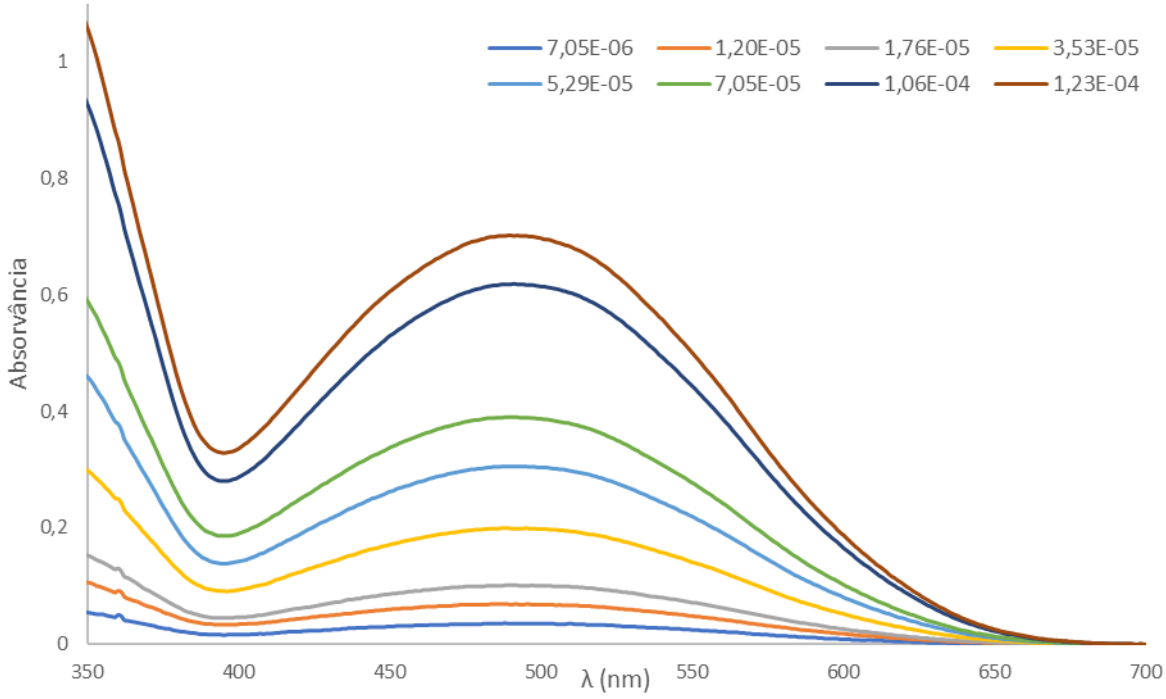


Figura 30: Espetros de UV-Vis das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO₃**, em água.

Tabela 30: Valores de absorvância registados para as soluções padrão, em água, do azo-imidazole **4a·HNO₃**, a 491 nm.

Cf (mol/L)	Absorvância
1,23E-04	0,702
1,06E-04	0,620
7,05E-05	0,391
5,29E-05	0,306
3,53E-05	0,199
1,76E-05	0,102
1,20E-05	0,069
7,05E-06	0,036

Utilizando os valores da **Tabela 30**, foi traçado o gráfico da absorvância em função da concentração das soluções padrão (**Figura 31**).

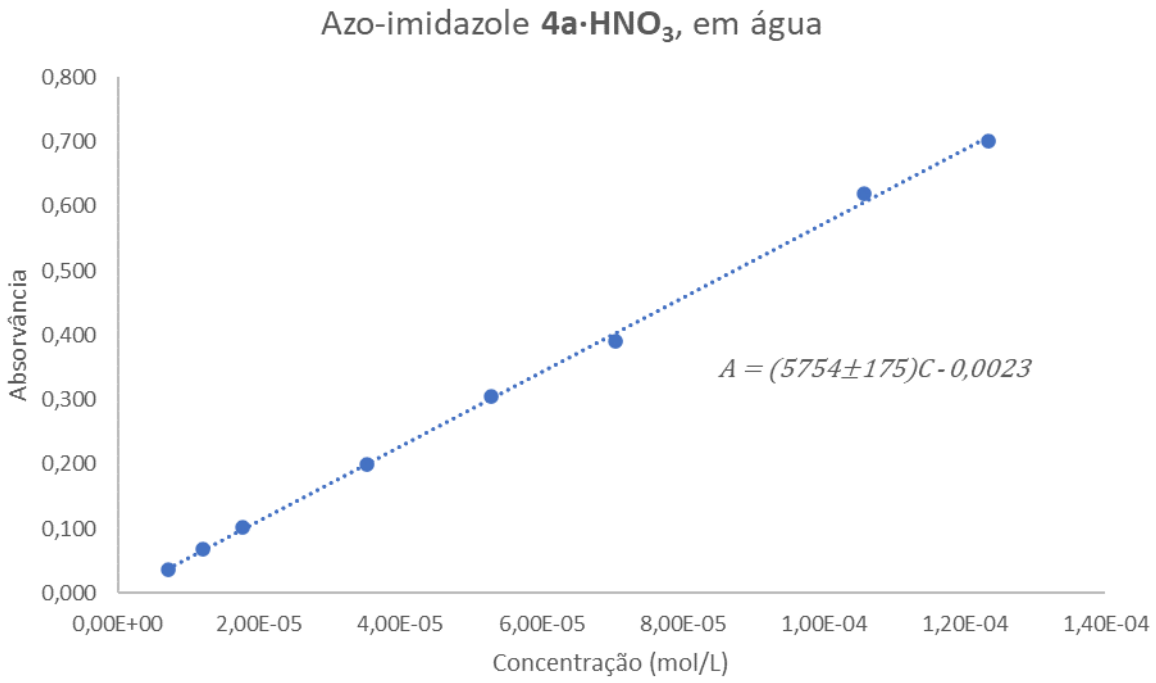


Figura 31: Curva de calibração da absorvância das soluções padrão do azo-imidazole **4a·HNO₃**, em água.

A curva de calibração obtida para o composto **4a·HNO₃**, em água, é dada pela seguinte equação:

$$A = (5754 \pm 175)C - 0{,}0023 \; (R = 0{,}9995)$$

O valor da incerteza associada ao declive da reta (δb) foi calculado utilizando a **Equação 5**, em que S_b é o desvio padrão do declive e t é o valor tabelado da variável de *Student* (*two-tailed*) para o nível de confiança desejado (95 %) e ($n - 2$) graus de liberdade.

$$\delta b = S_b \times t \qquad \textbf{Equação 5}$$

O desvio padrão do declive (S_b) foi calculado utilizando a **Equação 6**, em que $S_{y/x}$ corresponde ao desvio padrão residual da reta de calibração, x_i é o valor determinado da variável abcissa (valores de concentração das soluções padrão, neste caso), e $\bar{x}$ corresponde à média dos valores de x_i.

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x}_i)^2}} \qquad \textbf{Equação 6}$$

O desvio padrão residual da reta de calibração ($S_{y/x}$) foi calculado utilizando a **Equação 7**, em que y_i é o valor instrumental da variável ordenada (valores de absorvância, neste caso), $\hat{y}_i$ é o valor calculado para y_i a partir da reta de calibração, e n corresponde ao número de réplicas.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \qquad \textbf{Equação 7}$$

Para cada um dos compostos estudados (azo-imidazoles **4·HNO₃**, dímero **5** e azo-pirimidinas **6**) foi determinada uma curva de calibração, em vários solventes. Os valores do declive, ordenada na origem e coeficiente de correlação (R), bem como o comprimento de onda máximo, para cada uma das curvas de calibração determinadas encontram-se resumidos na **Tabela 31**.

Tabela 31: Valores de comprimento de onda máximo, declive, ordenada na origem e coeficiente de correlação para cada curva de calibração

Composto	Solvente	λ_{max}	Declive (ε)	Ordenada na origem	R
4a·HNO3	H_2O	491	(5,8 ± 0,2) x10^3	-0,002	0,9995
	EtOH	508	(6,8 ± 0,6) x10^3	-0,008	0,996
	ACN	504	(6,4 ± 0,1) x10^3	-0,005	0,99985
4b·HNO3	H2O	493	(7,8 ± 0,4) x10^3	-0,008	0,9989
	EtOH	504	(7,7 ± 0,1) x10^3	-0,01	0,99989
	ACN	502	(9,07 ± 0,06) x10^3	-0,005	0,99998
	DCM	509	(10,7 ± 0,5) x10^3	-0,05	0,9988
4c·HNO3	H_2O	500	(6,8 ± 0,3) x10^3	-0,02	0,9991
	EtOH	514	(7,20 ± 0,05) x10^3	-0,005	0,99998
	ACN	506	(7,42 ± 0,05) x10^3	-0,006	0,99998
	DCM	528	(9,9 ± 0,2) x10^3	-0,04	0,9998
5	EtOH	584	(10,8 ± 0,3) x10^3	-0,05	0,9995
	ACN	581	(14,30 ± 0,04) x10^3	-0,01	0,999995
	THF	591	(14,6 ± 0,2) x10^3	0,01	0,998
	DCM	581	(11,2 ± 0,7) x10^3	-0,01	0,9998
6a	EtOH	552	(16,4 ± 0,4) x10^3	-0,02	0,9997
	ACN	558	(22,0 ± 0,8) x10^3	-0,04	0,9994
	THF	560	(2,17 ± 0,06) x10^3	-0,1	0,9991
	DCM	556	(24,1 ± 0,9) x10^3	-0,005	0,9997
6b	EtOH	552	(9,5 ± 0,2) x10^3	-0,02	0,9997
	ACN	558	(16,2 ± 0,5) x10^3	-0,04	0,9995
	THF	563	(15,1 ± 0,2) x10^3	-0,1	0,9987
	DCM	557	(22 ± 1) x10^3	0,008	0,99993
6c	EtOH	551	(17,3 ± 0,6) x10^3	0,007	0,9994
	ACN	555	(26,4 ± 0,3) x10^3	-0,02	0,99991
	THF	560	(7,9 ± 0,4) x10^3	-0,1	0,9989
	DCM	554	(33 ± 1) x10^3	0,002	0,9990
6d	EtOH	553	(16,9 ± 0,2) x10^3	-0,03	0,99992
	ACN	557	(25,2 ± 0,3) x10^3	-0,01	0,99993
	THF	562	(25 ± 1) x10^3	-0,07	0,9996
	DCM	556	(26,9 ± 0,8) x10^3	-0,05	0,9989

Conclusões

Neste projeto foram desenvolvidos novos métodos para a síntese de compostos originais com base nos núcleos de azo-imidazole (**4**) e de azo-pirimidina (**6**), a partir de 5-aminoimidazol-4-carboxamidrazonas **3**. O método de síntese dos azo-imidazoles **4** envolve uma reação de oxidação muito rápida, à temperatura ambiente, seguida de neutralização. O agente oxidante utilizado foi o nitrato de prata, uma vez que os testes com cloreto de cobre(II) dão origem a produtos secundários que ainda não foi possível identificar. Futuramente, deverá ser estudado o mecanismo da oxidação de modo a otimizar as condições de oxidação explorando, particularmente, agentes oxidantes alternativos que sejam mais acessíveis e amigos do ambiente.

Uma vez que na oxidação com nitrato de prata são obtidos azo-imidazoles **4** na forma de sais de nitrato, é necessário um passo adicional de neutralização que se revelou desafiante, visto que as formas neutras são muito mais reativas e facilmente dão origem a produtos laterais. Assim, as condições de solvente e basicidade necessárias para a neutralização são críticas e variam de acordo com o substituinte em R^1. O principal problema desta reação de neutralização é a formação do dímero **5** que resulta da redução de parte do azo-imidazole **4** a ocorrer ao mesmo tempo que acontece a evolução do azo-imidazole para uma azo-pirimidina. Com base nestas evidências, foram desenvolvidos dois métodos para a síntese do dímero **5**: um dos métodos utiliza o azo-imidazole **4·HNO$_3$** como reagente de partida na presença de base e de uma quantidade catalítica de amidrazona **3**, enquanto que o segundo método parte da amidrazona **3** como reagente de partida na presença de uma base e de uma quantidade catalítica de nitrato de prata.

Na presença dos azo-imidazoles **4** as aminas primárias reagem apenas como bases originando o dímero **5**, enquanto que as reações com aminas secundárias, nomeadamente a dimetilamina e a piperidina, envolvem a incorporação da amina originando produtos altamente corados, identificados como azo-pirimidinas de estrutura **6**. A otimização da síntese das azo-pirimidinas **6** foi o maior obstáculo deste projeto, uma vez que se formaram muitos produtos laterias e os rendimentos foram usualmente baixos. No entanto, foi possível desenvolver três métodos para a síntese destes compostos: um método em que se parte dos azo-imidazoles **4**, um método que utiliza os azo-imidazoles **4·HNO$_3$** como reagentes de partida, e um método em dois passos que parte das amidrazonas **3**. As melhores condições de síntese encontradas envolvem a reação dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$** com 10 equivalentes de amina (dimetilamina ou piperidina) em atmosfera de azoto durante 1h – 1h30min, seguida de uma oxidação em presença do oxigénio atmosférico durante 1h – 1h30min.

O mecanismo reacional da síntese das azo-pirimidinas **6** foi elucidado recorrendo à técnica de ressonância magnética nuclear e revelou que a reação entre o azo-imidazole **4a·HNO$_3$** e a piperidina na presença de oxigénio dá origem à formação de três compostos: a amidrazona **3a** na forma protonada (composto **C**), uma carboxamidrazona acíclica resultante da reação com o oxigénio e duas unidades de piperidina (composto **A**) e uma hidrazona derivada de 5,6-diaminopirimidina (composto **B**) que evolui para a 5-aminoazopirimidina **6**. Quando o ensaio é realizado sob atmosfera inerte de azoto, o composto **B** é a forma maioritária. Propõe-se que a formação das espécies **A** e **B**, assim como das azo-pirimidinas **6**, envolva um intermediário comum extremamente reativo, que se suspeita corresponder a um carbeno.

As propriedades colorimétricas dos azo-imidazoles **4·HNO$_3$**, do dímero **5** e das azo-pirimidinas **6** foram estudadas por espetroscopia de UV-Vis. Os compostos **4·HNO$_3$** dão origem a soluções de tons avermelhados, com valores de λ_{max} entre 491 e 528 nm, a diminuição da polaridade do solvente provoca um efeito hipercrómico, e o aumento da basicidade do meio provoca um efeito hipocrómico. O dímero **5** dá origem a soluções de tons azuis, com valores de λ_{max} entre 581 e 591 nm, e apresenta um halocromismo considerável, dado que se observam efeitos ipsocrómicos e hipercrómicos com o aumento do pH do meio. As azo-pirimidinas **6** dão origem a soluções de tons violeta, com valores de λ_{max} entre 551 e 563 nm, e apresentam um halocromismo muito pronunciado, que aparenta ser favorecido pela presença de substituintes arílicos em N1 do anel de pirimidina. Em trabalho posterior será importante realizar modificações estruturais nestes compostos, estudando a influência nas propriedades colorimétricas de uma maior variedade de substituintes em R^1 e R^2. Adicionalmente, poderão ser introduzidas modificações no grupo fenilo ligado ao grupo azo, de modo a gerar propriedades colorimétricas mais diversificadas. Para além disso, devido ao facto destes compostos serem aminopirimidinas, poderão ser utilizados como precursores na obtenção de azo-purinas.

O azo-imidazole **4a** e a azo-pirimidina **6a** foram submetidos para testes biológicos e os resultados demonstram que estes compostos são bons candidatos para serem estudados como novos agentes antimicrobianos. A combinação da atividade antimicrobiana com as propriedades colorimétricas invulgares confere a estes compostos um elevado potencial para o desenvolvimento de têxteis inteligentes.

Bibliografia

[1] Y. Kamei, H. Shibata, and J. Mizuguchi, "Azo or hydrazone structure in some hydrogen-bonded azo pigments," *J. Imaging Sci. Technol.*, vol. 55, no. 3, pp. 1–5, 2011.

[2] S. Crespi, N. A. Simeth, and B. König, "Heteroaryl azo dyes as molecular photoswitches," *Nat. Rev. Chem.*, vol. 3, no. 3, pp. 133–146, 2019.

[3] K. M. Rathod and N. S. Thakre, "Synthesis and Antimicrobial Activity of Azo Compounds Containing m-Cresol Moiety," *Chem. Sci. Trans.*, vol. 2, no. 1, pp. 25–28, 2013.

[4] W. Kofie, C. Dzidzoramengor, and R. K. Adosraku, "Synthesis and evaluation of antimicrobial properties of azo dyes," *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol. 7, no. 4, pp. 398–401, 2014.

[5] M. Wegener, M. J. Hansen, A. J. M. Driessen, W. Szymanski, and B. L. Feringa, "Photocontrol of Antibacterial Activity: Shifting from UV to Red Light Activation," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 139, no. 49, pp. 17979–17986, 2017.

[6] D. Akram, I. A. Elhaty, and S. S. AlNeyadi, "Synthesis and antibacterial activity of rhodanine-based azo dyes and their use as spectrophotometric chemosensor for Fe3+ Ions," *Chemosensors*, vol. 8, no. 16, pp. 1–13, 2020.

[7] A. Pramanik, A. Basu, and G. Das, "Coordination assembly of p-substituted aryl azo imidazole complexes: Influences of electron donating substitution and counter ions," *Polyhedron*, vol. 29, no. 8, pp. 1980–1989, 2010.

[8] T. K. Misra, D. Das, C. Sinha, P. Ghosh, and C. K. Pal, "Chemistry of Azoimidazoles: Synthesis, Spectral Characterization, Electrochemical Studies, and X-ray Crystal Structures of Isomeric Dichloro Bis[1-alkyl-2-(arylazo)imidazole] Complexes of Ruthenium(II)," *Inorg. Chem.*, vol. 37, no. 8, pp. 1672–1678, 1998.

[9] I. N. Witwit, H. M. Mubark, H. M. Y. Al-Labban, and A. A. J. J. Aljanaby, "Synthesis and characterization of new imidazole azo ligand with some of transition metal ions, and their biological effect on two pathogenic bacteria of burn patients.," *Int. J. Res. Pharm. Sci.*, vol. 10, no. 3, pp. 1847–1856, 2019.

[10] A. D. W. Kennedy, I. Sandler, J. Andréasson, J. Ho, and F. E. Beves, "Visible-Light Photoswitching by Azobenzazoles," *Chem. A Eur. J.*, vol. 26, pp. 1103–1110, 2020.

[11] Y. Xu, C. Gao, J. Andréasson, and M. Grøtli, "Synthesis and Photophysical Characterization of Azoheteroarenes," *Org. Lett.*, vol. 20, no. 16, pp. 4875–4879, 2018.

[12] M. Endo, K. Nakayama, Y. Kaida, and T. Majima, "Photoisomerization of 2′-deoxyribofuranosyl and ribofuranosyl 2-phenylazoimidazole," *Tetrahedron Letters*, vol. 44, no. 36. pp. 6903–6906, 2003.

[13] S. Samanta, A. A. Beharry, O. Sadovski, T. M. McCormick, A. Babalhavaeji, V. Tropepe, and G. A. Woolley, "Photoswitching Azo compounds in vivo with red light," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 135, no. 26, pp. 9777–9784, 2013.

[14] S. Vela, C. Krüger, and C. Corminboeuf, "Exploring chemical space in the search for improved azoheteroarene-based photoswitches," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 21, no. 37, pp. 20782–20790, 2019.

[15] N. A. Simeth, S. Crespi, M. Fagnoni, and B. König, “Tuning the Thermal Isomerization of Phenylazoindole Photoswitches from Days to Nanoseconds,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 140, no. 8, pp. 2940–2946, 2018.

[16] N. Tamai and H. Miyasaka, “Ultrafast Dynamics of Photochromic Systems,” *Chem. Rev.*, vol. 100, no. 5, pp. 1875–1890, 2000.

[17] J. Calbo, C. E. Weston, A. J. P. White, H. S. Rzepa, J. Contreras-García, and M. J. Fuchter, “Tuning azoheteroarene photoswitch performance through heteroaryl design,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 139, no. 3, pp. 1261–1274, 2017.

[18] C. E. Weston, R. D. Richardson, P. R. Haycock, A. J. P. White, and M. J. Fuchter, “Arylazopyrazoles: Azoheteroarene photoswitches offering quantitative isomerization and long thermal half-lives,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 136, no. 34, pp. 11878–11881, 2014.

[19] J. Otsuki, K. Suwa, K. K. Sarker, and C. Sinha, “Photoisomerization and thermal isomerization of arylazoimidazoles,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 111, no. 8, pp. 1403–1409, 2007.

[20] A. Bafana, S. S. Devi, and T. Chakrabarti, “Azo dyes: Past, present and the future,” *Environ. Rev.*, vol. 19, no. 1, pp. 350–370, 2011.

[21] M. R. Almeida, R. Stephani, H. F. Dos Santos, and L. F. C. De Oliveira, “Spectroscopic and theoretical study of the ‘Azo’-Dye e124 in condensate phase: evidence of a dominant hydrazo form,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 114, no. 1, pp. 526–534, 2010.

[22] F. Bureš, “Fundamental aspects of property tuning in push-pull molecules,” *RSC Adv.*, vol. 4, no. 102, pp. 58826–58851, 2014.

[23] E. Merino, “Synthesis of azobenzenes: The coloured pieces of molecular materials,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 40, no. 7, pp. 3835–3853, 2011.

[24] P. Bamfield, *Chromic Phenomena: The Technological Applications of Colour Chemistry*. 2001.

[25] J. Otsuki, K. Suwa, K. Narutaki, C. Sinha, I. Yoshikawa, and K. Araki, “Photochromism of 2-(phenylazo)imidazoles,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 109, no. 35, pp. 8064–8069, 2005.

[26] D. Kolarski, W. Szymanski, and B. L. Feringa, “Two-step, one-pot synthesis of visible-light-responsive 6-azopurines,” *Org. Lett.*, vol. 19, no. 19, pp. 5090–5093, 2017.

[27] A. D. Brooks, K. Yeung, G. G. Lewis, and S. T. Phillips, “A strategy for minimizing background signal in autoinductive signal amplification reactions for point-of-need assays,” *Anal. Methods*, vol. 7, no. 17, pp. 7186–7192, 2015.

[28] H. Zhang, A. Hou, K. Xie, and A. Gao, “Smart color-changing paper packaging sensors with pH sensitive chromophores based on azo-anthraquinone reactive dyes,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 286, no. January, pp. 362–369, 2019.

[29] L. Van Der Schueren and K. de Clerck, “The Use of pH-indicator Dyes for pH-sensitive Textile Materials,” *Text. Res. J.*, vol. 80, no. 7, pp. 590–603, 2010.

[30] Y. Ding, Y. Tang, W. Zhu, and Y. Xie, “Fluorescent and colorimetric ion probes based on conjugated oligopyrroles,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 44, no. 5, pp. 1101–1112, 2015.

[31] F. L. Coelho, C. de Á. Braga, G. M. Zanotto, E. S. Gil, L. F. Campo, P. F. B. Gonçalves, F. S. Rodembusch, and F. da S. Santos, “Low pH optical sensor based on benzothiazole azo dyes,”

Sensors Actuators, B Chem., vol. 259, pp. 514–525, 2018.

[32] Ö. Arslan, B. Aydıner, E. Yalçın, B. Babür, N. Seferoğlu, and Z. Seferoğlu, "8-Hydroxyquinoline based push-pull azo dye: Novel colorimetric chemosensor for anion detection," *J. Mol. Struct.*, vol. 1149, pp. 499–509, 2017.

[33] G. J. Mohr, T. Werner, O. S. Wolfbeis, and R. Janoschek, "Synthesis of reactive vinylsulphonyl azo dyes for application in optical pH sensing," *Dye. Pigment.*, vol. 24, no. 3, pp. 223–240, 1994.

[34] S. S. Razi, R. Ali, P. Srivastava, M. Shahid, and A. Misra, "An azo based colorimetric probe for the detection of cysteine and lysine amino acids and its real application in human blood plasma," *RSC Adv.*, vol. 4, no. 33, pp. 16999–17007, 2014.

[35] A. Bradford, P. L. Drake, O. Worsfold, I. R. Peterson, D. J. Walton, and G. J. Price, "An improved azo chromophore for optical NO2 sensing," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 3, no. 9, pp. 1750–1754, 2001.

[36] E. J. Cho, Y. Lee, H. J. Bae, and Y. J. Lee, "Novel azo dye-based color chemosensors for fluoride ions," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 151, pp. 655–661, 2015.

[37] W. Radchatawedchakoon, W. Sangsuwan, S. Kruanetr, and U. Sakee, "Synthesis and evaluation of simple naked-eye colorimetric chemosensors for anions based on azo dye-thiosemicarbazones," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 121, pp. 306–312, 2014.

[38] M. Hosseini, R. Heydari, and M. Alimoradi, "A novel pH optical sensor using methyl orange based on triacetylcellulose membranes as support," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 128, pp. 864–867, 2014.

[39] G. J. Mohr and O. S. Wolfbeis, "Optical sensors for a wide pH range based on azo dyes immobilized on a novel support," *Anal. Chim. Acta*, vol. 292, no. 1–2, pp. 41–48, 1994.

[40] T. Carofiglio, C. Fregonese, G. J. Mohr, F. Rastrelli, and U. Tonellato, "Optical sensor arrays: One-pot, multiparallel synthesis and cellulose immobilization of pH and metal ion sensitive azo-dyes," *Tetrahedron*, vol. 62, no. 7, pp. 1502–1507, 2006.

[41] Y. Wang, B. Tang, and S. Zhang, "A visible colorimetric pH sensitive chemosensor based on azo dye of benzophenone," *Dye. Pigment.*, vol. 91, no. 3, pp. 294–297, 2011.

[42] K. Xie, A. Gao, C. Li, and M. Li, "Highly water-soluble and pH-sensitive colorimetric sensors based on a D-π-A heterocyclic azo chromosphere," *Sensors and Actuators, B: Chemical*, vol. 204. pp. 167–174, 2014.

[43] H. Hamidian, N. Zahedian, D. Ghazanfari, and S. Fozooni, "Synthesis and evaluation of changes induced by solvent and substituent in electronic absorption spectra of new azo disperse dyes containig barbiturate ring," *J. Spectrosc.*, vol. 1, no. 1, 2013.

[44] Y. Gawale, A. Jadhav, and N. Sekar, "Azo Acid Dyes Based on 2H-Pyrido[1,2-a]Pyrimidine-2,4(3H)-Dione with Good Tinctorial Power and Wetfastness - Synthesis, Photophysical Properties, and Dyeing Studies," *Fibers Polym.*, vol. 19, no. 8, pp. 1678–1686, 2018.

[45] G. Dunkelmann and J. Dehnert, "Azo Dyes of the Diamino Pyrimidine Series US 3856772," 1974.

[46] J. Dehnert and G. Dunkelmann, "US 4113720 Disperse Azo Dye with Diaminopyrimidine Coupling Component," 1978.

[47] J. Dehnert and G. Dunkelmann, "US4145341 Water-soluble Azo Dyes Containing Diaminopyrimidine Coupler Components," 1979.

[48] W. O. Foye and J. G. Jeffrey, "The preparation of azopyrimidines and their metallized derivatives," *J. Am. Pharm. Assoc.*, vol. 46, no. 4, pp. 224–227, 1957.

[49] M. Gulcan, S. Özdemir, A. Dündar, E. Ispir, and M. Kurtoğlu, "Mononuclear complexes based on pyrimidine ring azo schiff-base ligand: Synthesis, characterization, antioxidant, antibacterial, and thermal investigations," *Zeitschrift fur Anorg. und Allg. Chemie*, vol. 640, no. 8–9, pp. 1754–1762, 2014.

[50] R. Gup, E. Giziroglu, and B. Kirkan, "Synthesis and spectroscopic properties of new azo-dyes and azo-metal complexes derived from barbituric acid and aminoquinoline," *Dye. Pigment.*, vol. 73, no. 1, pp. 40–46, 2007.

[51] M. S. Masoud, A. A. Soayed, A. E. Ali, and O. K. Sharsherh, "Synthesis and characterization of new azopyrimidine complexes," *J. Coord. Chem.*, vol. 56, no. 8, pp. 725–742, 2003.

[52] M. R. Yazdanbakhsh, H. Yousefi, M. Mamaghani, E. O. Moradi, M. Rassa, H. Pouramir, and M. Bagheri, "Synthesis, spectral characterization and antimicrobial activity of some new azo dyes derived from 4,6-dihydroxypyrimidine," *J. Mol. Liq.*, vol. 169, pp. 21–26, 2012.

[53] V. Sharma, N. Chitranshi, and A. K. Agarwal, "Significance and Biological Importance of Pyrimidine in the Microbial World," *Int. J. Med. Chem.*, vol. 2014, pp. 1–31, 2014.

[54] M. A. Abdelgawad, "Synthesis and antibacterial evaluation of new azo-pyrimidine derivatives," *J. Appl. Pharm. Sci.*, vol. 9, pp. 9–16, 2019.

[55] B. Andrews, K. Komathi, and S. Mohan, "Synthesis and comparing the antibacterial activities of pyrimidine derivatives," *J. Chem. Sci.*, vol. 129, no. 3, pp. 335–341, 2017.

[56] M. R. Yazdanbakhsh, M. Abbasnia, M. Sheykhan, and L. Ma'Mani, "Synthesis, characterization and application of new azo dyes derived from uracil for polyester fibre dyeing," *J. Mol. Struct.*, vol. 977, no. 1–3, pp. 266–273, 2010.

[57] E. Procházková, L. Čechová, J. Kind, Z. Janeba, C. M. Thiele, and M. Dračínský, "Photoswitchable Intramolecular Hydrogen Bonds in 5-Phenylazopyrimidines Revealed By In Situ Irradiation NMR Spectroscopy," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 24, no. 2, pp. 492–498, 2018.

[58] M. R. Yazdanbakhsh and E. Moradi-E-Rufchahi, "Synthesis , characterization and spectroscopic properties of some new azo dyes derived from 6-aminopyrimidine-2,4(1H,3H)-dione," *Orient. J. Chem.*, vol. 25, no. 1, pp. 41–48, 2009.

[59] J. Garcia-Amorós, M. Díaz-Lobo, S. Nonell, and D. Velasco, "Fastest thermal isomerization of an azobenzene for nanosecond photoswitching applications under physiological conditions," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 51, no. 51, pp. 12820–12823, 2012.

[60] M. S. Masoud, E. A. Khalil, A. M. Ramadan, Y. M. Gohar, and A. Sweyllam, "Spectral, electrical conductivity and biological activity properties of some new azopyrimidine derivatives and their complexes," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 67, no. 3–4, pp. 669–677, 2007.

[61] M. Gaber, T. A. Fayed, S. El-Daly, and Y. S. Y. El-Sayed, "Spectroscopic studies of 4-(4,6-dimethylpyrimidin-2-ylazo) benzene-1,3-diol and its Cu(II) complexes," *Spectrochim. Acta - Part A*

Mol. Biomol. Spectrosc., vol. 68, no. 1, pp. 169–175, 2007.

[62] Z. Seferoğlu and N. Ertan, "Synthesis, characterization and spectroscopic properties of some new phenylazo-6-aminouracil," *Cent. Eur. J. Chem.*, vol. 6, no. 1, pp. 81–88, 2008.

[63] D. W. Woodward, "4,5-Imidazoledicarbonitrile and Method of Preparation," US 2534331, 1950.

[64] M. J. Alves, B. L. Booth, and M. F. J. R. Proença, "Synthesis of 5-Amino-4-(cyanoformimidoyl)-1H-imidazole: a Reactive Intermediate for the Synthesis of 6-Carbamoyl-1,2-dihydropurines and 6-Carbamoylpurines," *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, pp. 1705–1712, 1990.

[65] A. I. F. Ribeiro, "Síntese e 'design' de novos imidazoles com potencial atividade antifúngica," Universidade do Minho, 2013.

[66] A. I. Ribeiro, C. Gabriel, F. Cerqueira, M. Maia, E. Pinto, J. C. Sousa, R. Medeiros, M. F. Proença, and A. M. Dias, "Synthesis and antimicrobial activity of novel 5-aminoimidazole-4-carboxamidrazones," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 24, no. 19, pp. 4699–4702, 2014.

[67] A. M. Dias, A. S. Vila-Chã, A. L. Costa, D. P. Cunha, N. Senhorães, and M. F. Proença, "Versatile synthesis of 5-aminoimidazole-4-carboxylic acid derivatives," *Synlett*, no. 18, pp. 2675–2680, 2011.

[68] F. Krauth, R. Friedemann, H.-H. Rüttinger, and P. Frohberg, "Open-chain and cyclic amidrazones forming persistent radicals. An electrochemical and quantum chemical study," *Arkivoc*, no. 7, pp. 150–164, 2009.

[69] D. F. C. Dantas, "Síntese e mecanismo de ação de novos agentes antimicrobianos," Universidade do Minho, 2018.

[70] D. Bourissou, O. Guerret, F. P. Gabbaï, and G. Bertrand, "Stable Carbenes," *Chem. Rev.*, vol. 100, no. 1, pp. 39–91, 2000.

[71] T. Ossowski, M. O. F. Goulart, F. C. De Abreu, A. E. G. Sant'Ana, P. R. B. Miranda, C. D. O. Costa, A. Liwo, P. Falkowski, and D. Zarzeczanska, "Determination of the pKa values of some biologically active and inactive hydroxyquinones," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 19, no. 1, pp. 175–183, 2008.

[72] F. Cerqueira, M. Maia, C. Gabriel, R. Medeiros, S. Cravo, A. I. Ribeiro, D. Dantas, A. M. Dias, L. Saraiva, L. Raimundo, and E. Pinto, "Mechanism of Antifungal Activity by 5-Aminoimidazole-4-Carbohydrazonamide Derivatives against Candida albicans and Candida krusei," *Antibiotics*, vol. 10, no. 2, p. 183, 2021.