

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo
20864

Universidade de São Paulo
Instituto de Química

**Estudo da Etapa de Quimiexcitação
do Sistema Peroxioxalato**

(Tese de Doutorado)

Sandra Maria da Silva

Orientador: Josef Wilhelm Baader

São Paulo

04 de junho de 2004

DEDALUS - Acervo - CQ



30100006154

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Silva, Sandra Maria da
S586e Estudo da etapa de quimiexcitação do sistema
peroxioxalato Sandra Maria da Silva. -- São Paulo,
2004.
170p.

Tese (doutorado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.

Orientador : Baader, Josef Wilhelm

1. Quimiluminescência : Físico-química : Orgânica
 2. Mecanismo de reação : Físico-química : Orgânica
 3. Cinética de reação : Físico-química : Orgânica I. T.
- II. Baader, Josef Wilhelm, orientador.

547.135 CDD

*Estudo da etapa de quimiexcitação do
sistema peroxioxalato”*

SANDRA MARIA DA SILVA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química - Área: Química Orgânica.

Aprovado(a) por:

Prof. Dr. JOSEF WILHELM BAADER
IQ – USP
(Orientador e Presidente)

Profa. Dra. ANTONIA TAVARES DO AMARAL
IQ – USP

Prof. Dr. MAURÍCIO DA SILVA BAPTISTA
IQ – USP

Profa. Dra. ELIZABETE FROLLINI
IQ - SC - USP

Profa. Dra. JOANA D'ARC FELÍCIO
Instituto Biológico – SP

SÃO PAULO
30 de JULHO 2004

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Maria Izabel e Elias Martins por disseminar o carinho, respeito e amizade entre nossa família e pela simplicidade com a qual conduzem a vida,

Aos meus queridos irmãos Vera Lúcia (*sempre estressada*), Antônio Sergio (*sempre bem humorado*) e Elizabeth (*nossa "irmãzinha"*),

A minha queridíssima sobrinha Yanka que, com seu sorriso, ilumina a nossa vida e ao meu cunhado Roberto pela amizade e simpatia.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Dr. Josef W. Baader (Willi), por ter me recebido em seu laboratório e me ensinado tudo o que sei sobre química orgânica, pela amizade, simpatia e paciência. Obrigada!

Ao Cassius (agora, Professor Cassius) por ter me orientado na iniciação científica, ajudando-me a dar os primeiros passos dentro de um laboratório.

Aos meus amigos de laboratório: Erick, Luiz Francisco (“Lolo”), Camila, e ao Marcelo pela constante companhia e pelos divertidos comentários. Aos alunos que me deram a oportunidade de orientá-los na iniciação científica: Fabiana, Juliano, Viviane e Lolo. À Professora Paulete pela amizade e pelas agradáveis reuniões em sua casa. O meu trabalho foi bastante agradável na companhia de vocês.

À Silvia (*sempre simpática e sorridente*) e ao Luiz (... *onde está o Luiz?*) pela disponibilidade com que sempre me ajudaram.

Agradeço a todos que colaboraram com o desenvolvimento do meu trabalho, à Professora Regina (Bloco 4) pelas medidas de viscosidade, ao Greg pelas medidas do potencial de oxidação e a todos que em algum momento me cederam um reagente, uma vidraria, etc...

Agradeço também à Central Analítica, principalmente ao Fernando, Alessandra, Mirian, Alfred e Márcio. Ao pessoal da seção de pós-graduação e da Biblioteca pela prestação de serviço, disponibilidade e paciência com que sempre me auxiliaram.

Agradeço a Professora Daisy pela ajuda na correção de alguns artigos e pelas conversas agradáveis.

Especialmente agradeço a Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo), ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) e ao DAAD (Intercâmbio Acadêmico Brasil-Alemanha) por financiarem o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus queridos amigos do IQ: Roberto, Pablo, Andréa “Carioca”, Celize, João Lago, Chang, Andréa Aguilar, Elaine, Geise, Fátima, Alessandra, Lilian, Perpétua, Teresa, Marquinhos por me ajudar na correção do texto, etc...(Graças a Deus a lista é grande!).

Especialmente, à Sarah, minha irmã espiritual e à Alba por estarem sempre por perto e, também, à Ritinha, Abadia, Regina e Lurdinha.

Ao Sr. Antônio, D.Regina, Priscila e a Daiana pela agradável convivência e amizade. Enfim, agradeço a todos que torceram por mim,

Obrigada.

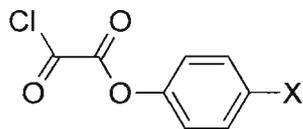
1 - Introdução	1
1.1 - Quimiluminescência	1
1.2 - Luminescência Induzida Quimicamente pela Troca de Elétron (CIEEL)	9
1.3 - O Sistema Peroxioxalato	12
1.4 - Aplicações Analíticas	21
1.5 - Referências	25
2 - Parte Experimental	30
2.1 - Aparelhagem	30
2.2 - Reagentes	31
2.3 - Solventes	32
2.4 - Determinação da concentração dos perácidos 5-7 e das soluções anidras de H ₂ O ₂	33
2.5 - Estudo cinético dos derivados de O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de arila (5-7)	33
2.6 - Estudo do sistema peroxioxalato variando a viscosidade	34
2.7 - Estudo do sistema peroxioxalato utilizando os ativadores 9-13	35
2.8 - Estudo do sistema peroxioxalato na ausência de H ₂ O ₂	35
2.9 - Calibração da fotomultiplicadora	36
2.10 - Medida da viscosidade da mistura de tolueno com difenilmetano (C ₁₃ H ₁₂)	38
2.11 - Preparação dos cloretos de feniloxalila substituídos	38
2.11.1 - Tentativa de preparação do cloreto de <i>p</i> -nitrofeniloxalila (4)	41
2.11.2 - Preparação do bis(4-nitrofenil) oxalato (23)	42
2.12 - Síntese dos derivados de O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de arila (5-8)	43
2.12.1 - Tentativa de síntese do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de <i>p</i> -nitrofenila (8) a partir do composto 4	45
2.12.2 - Segunda tentativa de síntese do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de <i>p</i> -nitrofenila (8) a partir do composto 23	45
2.13 - Síntese do ácido <i>p</i> -metoxifeniloxálico (28)	46
2.14 - Síntese de derivados de oxazolonas	47
2.14.1 - Preparação do MnO ₂ em carvão ativo ¹	47
2.14.2 - 2[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (14)	47
2.14.3 - 2-[4-benzilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15)	49
2.14.4 - 2-[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-tiona (16) ¹	51
2.14.5 - Androsta-1,4-dieno-3-tiona-17-ona (18)	52
2.14.6 - Androsta-1,4-dieno-3 hidrazona-17-ona (19)	53
2.14.7 - Androsta-1,4-dieno-3 diazo 17-ona (20) ¹	54
2.14.8 - 3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]-androsta-1,4-dien-17-ona (21) ¹ ..	55
2.15 - Referências	57

3 - Resultados	58
3.1 - Síntese e estudo dos derivados de O,O-hidrogênio monoperioxalato de arila (5-7) ..	58
3.1.1 - Síntese e caracterização	58
3.2 - Estudo das propriedades de quimiluminescência dos intermediários 5-7	69
3.3 - Estudo da eficiência de transferência de elétron na etapa de quimiexcitação.....	74
3.3.1 - Determinação do rendimento quântico singlete.....	74
3.3.2 - Rendimento quântico singlete na concentração infinita (Φ_S^∞).....	78
3.4 - Influência da viscosidade no rendimento quântico singlete (Φ_S)	81
3.5 - Estudo do Sistema Peroxioxalato na ausência de H ₂ O ₂	85
3.6 - Síntese de derivados de Oxazolonas (14-21)	89
3.6.1 - 2-[4-fenilacetileno]-5-dimetiloxazol-4-ona (15)	89
3.6.2 - 3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (21).....	90
3.7 - Referências	93
4 - Discussão	95
4.1 - Síntese dos derivados do O,O-hidrogênio monoperioxalato (5-7).....	95
4.2 - Estudo cinético dos perácidos 5 a 7	99
4.3 - Correlação de estrutura e reatividade	112
4.4 - Estudo da Eficiência de transferência de elétron na etapa de quimiexcitação	118
4.5 - Influência da viscosidade no rendimento quântico singlete	127
4.6 - Estudo do Sistema Peroxioxalato na ausência de H ₂ O ₂	133
4.7 - Síntese de derivados de Oxazolonas (14-21)	135
4.7.1 - 2-[4-benzilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15).....	136
4.7.2 - 3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]-androsta-1,4-dien-17-ona (21)....	137
4.8 - Referências.....	142
5 - Conclusão.....	147
6 - Anexos.....	148
7 - Curriculum Vitae.....	166

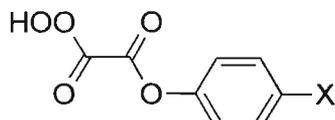
I - Lista de estruturas

- Cloreto de feniloxalila (1)
Cloreto de *p*-metilfeniloxalila (2)
Cloreto de *p*-metoxifeniloxalila (3)
Cloreto de *p*-nitrofeniloxalila (4)
O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-metoxifeniloxalila (5)
O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-metilfeniloxalila (6)
O,O-hidrogênio monoperioxalato de fenila (7)
O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-nitrofenila (8)
O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-clorofenila (8A)
3-[2-(4-metoxifenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (9)
3-[2-(3-metoxifenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (10)
3-[2-(4-clorofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (11)
3-[2-(4-fluorofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (12)
3-[2-(4-nitrofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (13)
2-[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (14)
2-[4-fenilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15)
2-[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-tiona (16)
Androsta-1,4-dieno-3,17-diona (ADD) (17)
Androsta-1,4-dieno-3-tiona-17-ona (18)
Androsta-1,4-dieno-3-hidrazona-17-ona (19)
Androsta-1,4-dieno-3-diazo-17-ona (20)
3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]-androsta-1,4-dien-17-ona (21)
Ácido peroxálico (22)
Bis(4-nitrofenil) oxalato (23)
1,2-dioxetanodiona (24)
1,2-dioxetanona (25)
Reagente de Lawesson (26)
Cloreto de bis(trifenilfosfina) paládio II [(Ph₃P)₂PdCl₂] (27)
ácido *p*-metoxifeniloxálico (28)
ácido *p*-metilfeniloxálico (29)
ácido feniloxálico (30)
anidrido do O,O-hidrogênio monoperioxalato de fenila (31)

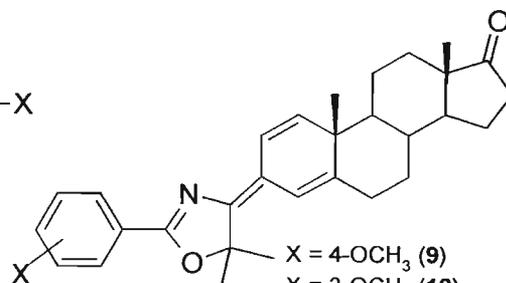
BIBLIOTECA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo



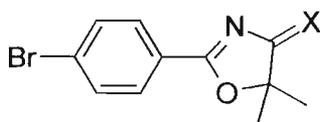
X = H (1)
X = CH₃ (2)
X = OCH₃ (3)
X = NO₂ (4)



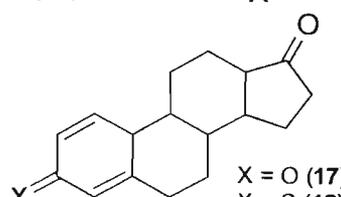
X = OCH₃ (5)
X = CH₃ (6)
X = H (7)
X = NO₂ (8)
X = Cl (8A)



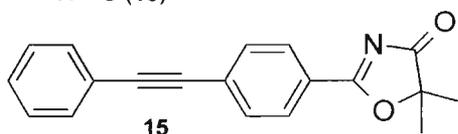
X = 4-OCH₃ (9)
X = 3-OCH₃ (10)
X = 4-Cl (11)
X = 4-F (12)
X = 4-NO₂ (13)
X = 4-Br (21)



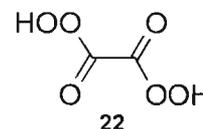
X = O (14)
X = S (16)



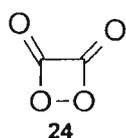
X = O (17)
X = S (18)
X = N₂H₂ (19)
X = N₂ (20)



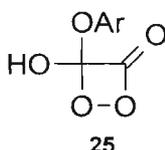
15



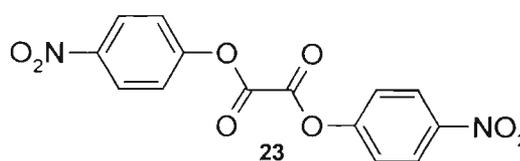
22



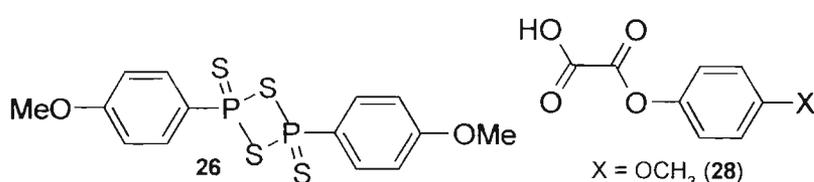
24



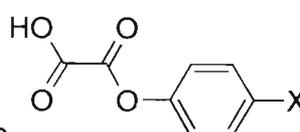
25



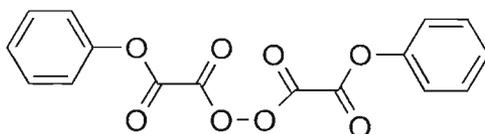
23



26



X = OCH₃ (28)
X = CH₃ (29)
X = H (30)



31

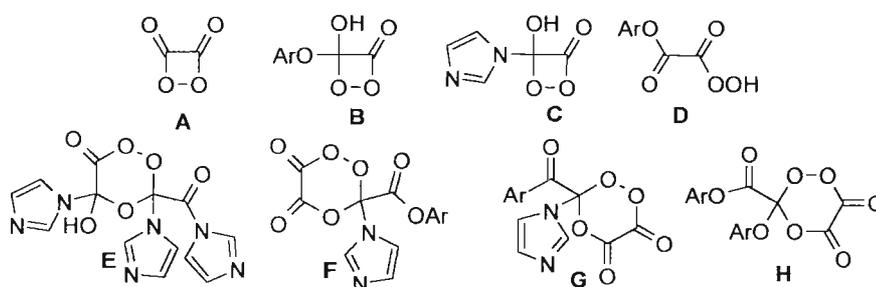
II - Lista de siglas

- **DPA** - 9,10-difenilantraceno
- **DBA** - 9,10-dibromoantraceno
- **CIEEL** - Chemically Initiated electron exchange luminescence (Luminescência induzida quimicamente pela troca de elétron)
- **ACT** - ativador
- **IAE** - intermediário de alta energia
- **TCPO** - bis(2,4,6-triclorofenil)antraceno
- **TCP** - 2,4,6-triclorofenol
- **ODI** - 1,1'-oxalyldiimidazole (di-imidazolida)
- **IMI-H** - imidazol
- **3-AFA** - 3-aminofluoranteno
- **DNPO** - bis(3,5-dinitrofenil) oxalato
- **PCPO** - bis(pentaclorofenil) oxalato
- **DMOA** - 9,10-dimetoxiantraceno
- **DCNA** - 9,10-dicianoantraceno
- **THF** - tetrahidrofurano
- **DFM** - difenilmetano
- **ACN** - acetonitrila
- **CCD** - cromatografia em camada delgada

III - Resumo

O fenômeno de quimiluminescência é uma das mais fascinantes demonstrações de conversão de energia química em energia de excitação. O representante de maior eficiência dentro desta classe é a reação peroxioxalato, pois possui rendimento de emissão de aproximadamente 30%, comparado apenas a sistemas bioluminescentes, cujo rendimento é da ordem de 100%. O sistema peroxioxalato consiste na reação de derivados fenólicos com substituintes atraentes de elétrons do éster oxálico com peróxido de hidrogênio catalisada por base na presença de um hidrocarboneto aromático policondensado com baixo potencial de oxidação (E_{ox}) e altos rendimentos de fluorescência, denominado ativador. O mecanismo desta reação é bastante complexo com várias etapas consecutivas e paralelas que antecedem a emissão de luz.

O ponto chave do mecanismo é a etapa de quimiexcitação, onde um intermediário de alta energia (IAE), formado em etapas anteriores, interage com o ativador (ACT), resultando na formação de estados eletronicamente excitados e subsequente emissão de luz. Para explicar esta interação, é utilizado o mecanismo de Luminescência Induzida Quimicamente pela Transferência de Elétron ("Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence" - CIEEL), o qual envolve transferência e retro-transferência de elétron. O ponto de controvérsia entre vários pesquisadores que estudam a reação peroxioxalato está relacionado com a estrutura do intermediário de alta energia (IAE), pois, de acordo, com os resultados destes trabalhos, diferentes intermediários foram postulados (A-H).



O enfoque geral deste trabalho foi estudar a natureza do IAE e a etapa de quimiexcitação com o intuito de obter evidências sobre o mecanismo de geração de estados excitados no sistema peroxioxalato. Para que isto fosse possível, o trabalho foi abordado da seguinte maneira:

1- Síntese e caracterização de intermediários perácidos do tipo **D** contendo OCH₃, CH₃, H e NO₂ substituídos no anel aromático. Do estudo cinético da reação destes compostos, catalisada por imidazol, na presença de 9,10-difenilantraceno, foi possível propor um mecanismo completo e obter informações a respeito da estrutura do IAE; através da correlação de Hammett foram obtidas evidências para a ocorrência da 1,2-dioxetanodiona (**A**), como IAE na reação peroxioxalato.

2- Estudo da eficiência de transferência de elétron na etapa de quimiexcitação (mecanismo CIEEL) utilizando a reação do bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato (TCPO) com H₂O₂ catalisado por imidazol na presença de 3-(2-aryl-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno)androsta-1,4-dien-17-onas como ativadores. As constantes de velocidade relativas da interação do ACT com o IAE mostram correlação linear com o E_{ox} do ACT e os rendimentos quânticos singlete em concentrações infinitas do ACT (Φ_S^{∞}) correlacionam com as energias livres para a formação do ativador no estado excitado (ΔG^*_{BET}) através do processo de retro-transferência de elétron. Desde modo, os resultados obtidos apresentam evidências para a validade do mecanismo CIEEL utilizado para explicar a formação de estados excitados na etapa de quimiexcitação da reação peroxioxalato.

3- Com o objetivo de obter informações sobre a influência da viscosidade no rendimento quântico singlete (Φ_S) foram feitos estudos da reação do TCPO catalisada por imidazol com H₂O₂ na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) como ativador, utilizando-se misturas variadas de tolueno e difenilmetano. Foi observado aumento de até 10 vezes no rendimento quântico singlete com o aumento da viscosidade de 0,5 para 2,5 cP. Este comportamento é compatível

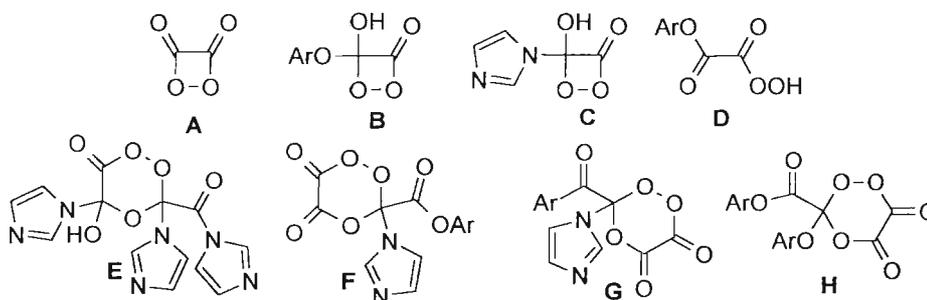
com o mecanismo CIEEL, indicando que a etapa de quimiexcitação ocorre em uma seqüência de eventos, envolvendo intermediários íons radicais.

4- Síntese de derivados de oxazolonas esteroidais substituídos, com o objetivo de obter compostos com novas propriedades foto-físicas e físico-químicas para aplicar no estudo da reação peroxioxalato, especificamente para obter informações adicionais sobre a etapa de quimiexcitação. O outro interesse nestes compostos era o de transformá-los em reagentes de derivatização para futuramente empregá-los em trabalhos de química analítica que utilizam a reação peroxioxalato. Foram preparados dois novos compostos fluorescentes, além de vários intermediários sintéticos e estes derivados possuem potencial para o uso como ACT em futuras aplicações analíticas.

IV - Abstract

The phenomenon of chemiluminescence (CL) is one of the most fascinating demonstrations of chemical energy conversion into excitation energy. The most prominent example of this class of reaction is the peroxyoxalate system showing emission quantum yields of around 30 %, comparable only to the 100 % efficiency bioluminescence systems. The peroxyoxalate system consists in the base catalyzed reaction of activated oxalate esters with hydrogen peroxide in the presence of polycondensed aromatic hydrocarbons with low oxidation potentials (E_{ox}) and high fluorescence quantum yields, denominated activators (ACT). The mechanism of this reaction is quite complex with various subsequent and parallel reaction steps prior to light emission.

The crucial mechanistic step is the chemiexcitation step, where a high-energy intermediate (HEI), formed in former reaction steps, interacts with the ACT resulting in excited state formation and subsequent light emission. This interaction can be understood on the basis of the Chemically Initiated Electron Exchange (CIEEL) mechanism, which involves electron and back-electron transfer steps. A controversial point between various authors who study mechanistic aspects of the peroxyoxalate reaction is related to the nature of the high-energy intermediate (HEI) and different proposal for its structure (**A – I**) have been made.



The main object of this work was to study the nature of the HEI and the chemiexcitation step in order to obtain evidence with respect to the

chemiexcitation mechanism in peroxyoxalate CL. For this purpose, the following approach was used:

1 – Synthesis and characterization of peracid intermediates of type **E**, containing different substituents (OCH₃, CH₃, H, NO₂). A kinetic study on the imidazole catalyzed reaction of these compounds in the presence of 9,10-diphenylanthracene (DPA) allowed to propose a reaction mechanism and obtain information with respect to the structure of the HEI; Hammett correlations clearly indicate the occurrence of 1,2-dioxetanedione (**A**) as the HEI in the peroxyoxalate reaction.

2 – The efficiency of electron transfer in the chemiexcitation step (CIEEL mechanism) of the imidazole catalyzed reaction of bis(trichlorophenyl) oxalate (TCPO) with H₂O₂ in the presence of 3-(2-aryl-5,5-dimethyloxazol-4-ylidene)androsta-1,4-dien-17-ones as activators was studied by measuring the singlet quantum yields. The relative rate constants for the interaction of the ACT with the HEI show linear correlation with the activators oxidation potentials (E_{ox}) and the singlet quantum yields at infinite activator concentrations (Φ_S^∞) can be correlated with the free energy change for the formation of the activators excited singlet state (ΔG^*_{BET}) in the back-electron transfer process. Therefore, the obtained results add additional evidence for the validity of the CIEEL scheme to rationalize excited state formation in the peroxyoxalate CL.

3 – The imidazole catalyzed reaction of TCPO with H₂O₂ in the presence of DPA as ACT was studied in mixtures of toluene and diphenylmethane in order to get information about the solvent viscosity influence on the singlet quantum yields (Φ_S). A change of the solvent viscosity from 0,5 to 2,5 cP results in an up to ten fold increase in Φ_S , and this behavior is in agreement with the CIEEL mechanism, indicating that the chemiexcitation step occurs in a sequence of events involving discreet radical ion intermediates.

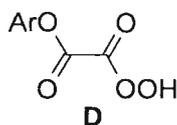
4 – Synthesis of steroid-substituted oxazolone derivatives with the aim to obtain compounds with new photo physical and physical chemical properties for applications in studies on the peroxyoxalate CL, specifically to obtain insights to

the chemiexcitation step. An additional interest in these compounds is their use as derivatization reagents for future utilization in analytical applications of the peroxyoxalate system. In this context, two new fluorescent derivatives have been prepared, apart from several synthetic intermediates and these compounds may have future utility as activators on peroxyoxalate system and analytical applications.

V - Objetivo

O objetivo deste trabalho foi estudar a etapa de *quimiexcitação* da reação peroxioxalato, através das seguintes abordagens:

(i)- Síntese de derivados do intermediário **D** com diferentes substituintes no anel aromático, visando um estudo da correlação da *estrutura e reatividade* com o intuito de obter informações sobre a estrutura do intermediário de alta energia (IAE) que interage com o ativador (ACT) na etapa de quimiexcitação.



(ii)- Estudo da etapa de transferência e retro-transferência de elétron que ocorre na etapa de quimiexcitação através da reação do bis(2,4,6-triclorfenil) oxalato (TCPO) com H_2O_2 catalisado por imidazol na presença de 3-(2-aril-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno)androsta-1,4-dien-17-onas.

(iii)- Estudo da influência da viscosidade do solvente utilizando-se misturas de tolueno e difenilmetano, sobre o rendimento quântico singlete (Φ_S) da reação de TCPO com H_2O_2 catalisada por imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) para obter evidências sobre a importância da gaiola de solvente no processo de transferência e retro-transferência de elétron (etapa de quimiexcitação).

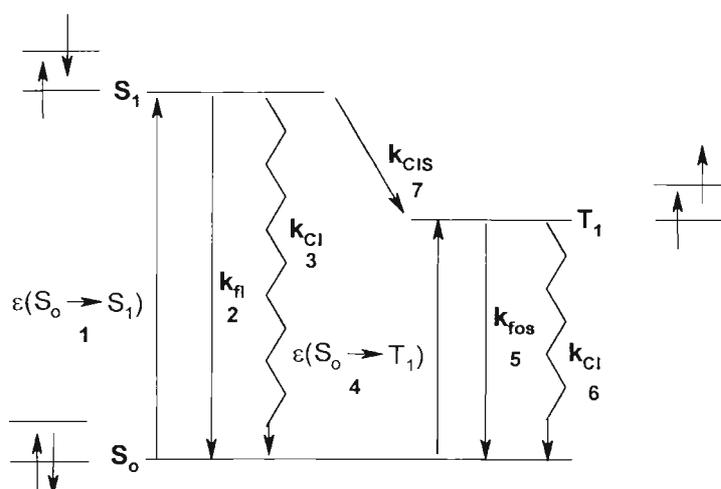
(iv)- Síntese de derivados de oxazolonas esteroidais substituídos, com objetivo de obter compostos com novas propriedades foto-físicas e físico-químicas para aplicar no sistema peroxioxalato e em sistemas analíticos.

1 - Introdução

1.1 Quimiluminescência

A emissão de luz pode ser resultado da incandescência ou luminescência. No primeiro caso, a energia vibracional é convertida em energia radiante e ocorre para todos os objetos na temperatura acima do zero absoluto (-273,15 °C). No segundo caso, a emissão de luz é proveniente de um estado eletrônico excitado. Deste modo, em fluorescência, a luz absorvida na banda de absorção de comprimento de onda mais longo de uma molécula orgânica produz o primeiro estado singlete excitado pela promoção de um elétron do orbital ligante de mais alta energia para o orbital antiligante de mais baixa energia. O processo reverso após aproximadamente 10^{-9} a 10^{-8} segundos gera um fóton e a molécula volta para o estado fundamental. Naturalmente, quando uma molécula orgânica absorve energia, outros processos podem ocorrer e não apenas o de fluorescência. Uma molécula quando absorve energia pode sofrer as seguintes transformações energéticas (Esquema 1):

Esquema 1



1- promoção do elétron do estado singlete fundamental para o primeiro estado singlete excitado, 2- retorno do elétron do estado singlete excitado para o estado singlete fundamental, resultando em fluorescência, 3- conversão interna,

resultando no estado fundamental da molécula inicial ou um produto de reação proveniente do estado singlete excitado, 4- conversão intersistemas (7): promoção do elétron do estado singlete fundamental para o primeiro estado triplete excitado. 5- fosforescência: emissão gerada pela transição entre estados com multiplicidade de spins diferentes (neste caso singlete para triplete) e 6 - conversão interna, resultando no estado fundamental da molécula inicial ou um produto de reação proveniente do estado triplete excitado em um produto de reação.

Na quimiluminescência o processo de emissão de luz é idêntico ao de uma molécula foto-excitada, entretanto a fonte geradora da energia de excitação é uma reação química. Para que ocorra uma reação que resulte em emissão de luz são necessários alguns pré-requisitos fundamentais, os quais envolvem a presença de um composto com capacidade de ser formado no estado eletronicamente excitado, um emissor capaz de liberar esta energia de excitação e um sistema de coordenada de reação que favoreça a formação de um produto no estado excitado ao invés de formar o produto no estado fundamental¹.



A pergunta que sempre surge diante desta definição é: Por que uma reação química pode liberar sua energia em forma de luz e não em forma de calor conforme ocorre na maioria das reações químicas?

Resumidamente, fatores energéticos e geométricos estão envolvidos na formação de um estado excitado. Energeticamente, uma reação química na qual a entalpia de ativação para a formação do produto no estado excitado é menor que a entalpia para a formação do produto no estado fundamental, formará principalmente o produto no estado excitado (Figura 1). Por outro lado, de acordo com o "Princípio de Frank Condon"², uma transição eletrônica é tão rápida que a geometria da molécula permanece inalterada (congelada) durante a transição. Portanto, a formação do produto no estado excitado será favorecida

se ocorrer um menor rearranjo geométrico. Este produto se formará mais facilmente no estado excitado do que no estado fundamental³.

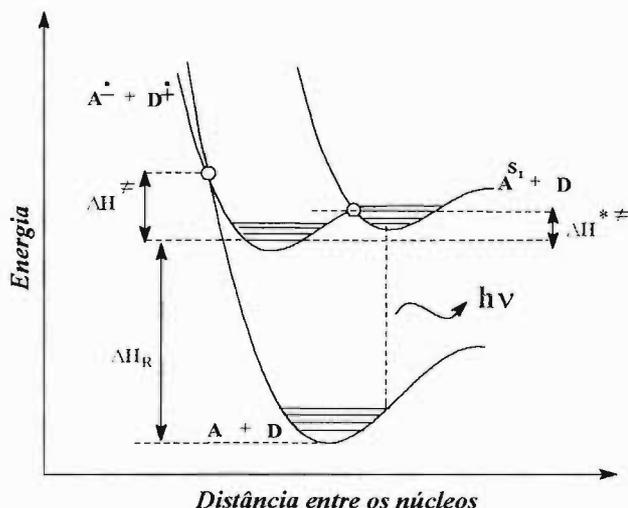


Figura 1: Representação simplificada da entalpia em função da coordenada de uma reação quimiluminescente, onde: ΔH^\ddagger - entalpia de ativação para formar o produto no estado fundamental, ΔH_R - entalpia de reação, $\Delta H^{*\ddagger}$ - entalpia de ativação para formar o produto no estado excitado.

Portanto, para que ocorra uma reação com propriedades de quimiluminescência, os seguintes critérios devem ser obedecidos.

- A reação deve ser exergônica, isto é, deve produzir energia suficiente para gerar um estado eletronicamente excitado.
- A reação deve ter um caminho preferencial que favoreça a formação do estado eletronicamente excitado, de modo que a perda de energia por calor (via energia vibracional e rotacional) seja insignificante.
- O produto eletronicamente excitado deve ser capaz de perder a energia em forma de fóton ou transferi-la para outro emissor, pois caso ocorra perda de energia por processo não-radiativo (conversão interna e formação de produtos), não haverá emissão de luz.

Em uma reação, com formação de estados eletronicamente excitados, a entalpia (ΔH) é o termo mais importante, pois em muitas reações químicas com

propriedades de quimiluminescência a mudança na entropia é pequena. Sendo assim ΔG e ΔH são similares em magnitude. Porém esta afirmação é mais adequada para reações de decomposição unimolecular, como por exemplo, dioxetano ou reação de luminol, nos quais o fator entrópico não influencia.

Para que uma reação produza um estado excitado o somatório da entalpia de reação mais a entalpia de ativação que leva os produtos para o estado fundamental deve ser maior que a energia para formar o produto no estado excitado ($\Delta H_R + \Delta H^\# \geq \Delta E_{ex}$).

O fenômeno da emissão de luz através de reações químicas, quimiluminescência, e seres vivos, bioluminescência, tem atraído o interesse de inúmeros pesquisadores durante várias décadas. Embora a bioluminescência seja descrita desde a Grécia antiga, a primeira reação quimiluminescente bem caracterizada quimicamente, a oxidação do luminol (Esquema 2), só veio a ser descrita por Albrecht em 1928⁴. Um grande avanço no estudo mecanístico da quimiluminescência foi alcançado com a primeira síntese de 1,2-dioxetano, um peróxido cíclico de quatro átomos, por Kopecky em 1969^{5,6}. Contudo, o mecanismo da maioria das reações orgânicas com propriedades de quimiluminescência ainda não está completamente esclarecido, especificamente no que diz respeito ao passo de excitação, ou seja, ao passo elementar no qual a energia “química” da reação é transformada em energia de excitação eletrônica.

Uma abordagem mecanística quantitativa considera que a eficiência de uma reação quimiluminescente (Φ_{CL}), pode ser determinada pela quantidade de moléculas formadas no estado excitado singlete excitado (Φ_S) multiplicado pelo rendimento quântico de fluorescência do ativador (Φ_{FI}), para o caso do produto ser o próprio emissor.

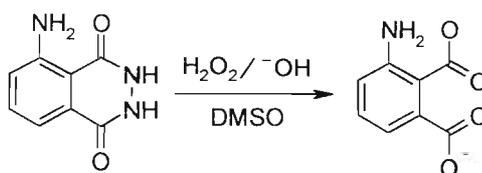
$$\Phi_{CL} = \Phi_S \times \Phi_{FI} \quad \text{Equação 1}$$

Se o produto formado transfere a sua energia para um outro emissor, deve-se considerar o rendimento da eficiência de transferência de energia (Φ_{te})¹.

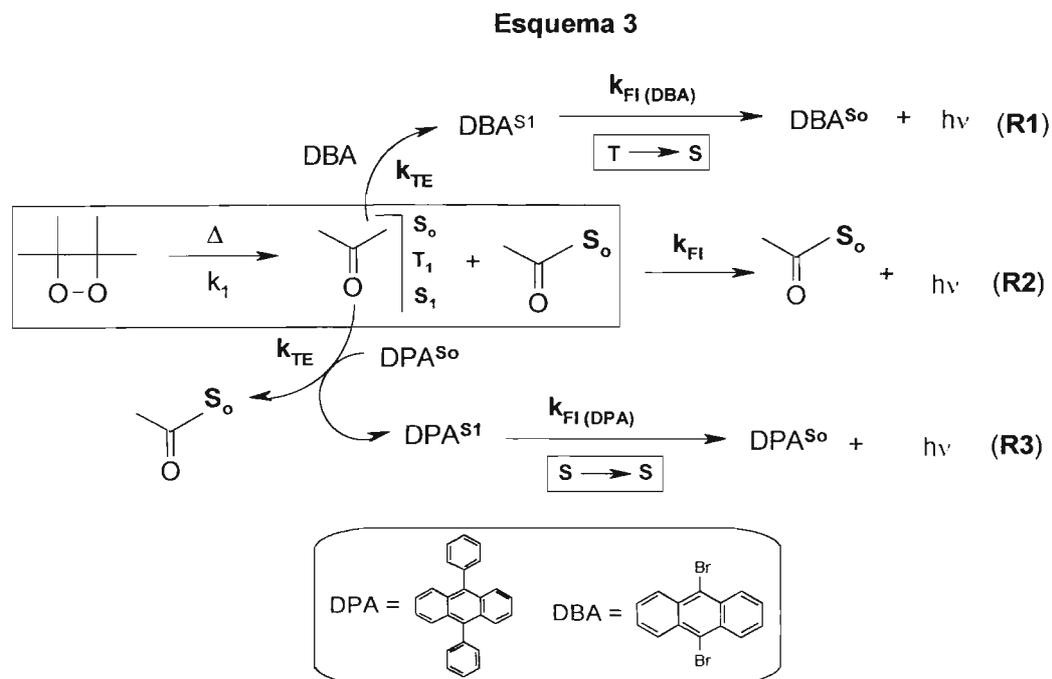
$$\Phi_{CL} = \Phi_S \times \Phi_{FI} \times \Phi_{te} \quad \text{Equação 2}$$

Uma reação, cujo produto gerado no estado excitado é o próprio emissor, é denominada de *Quimiluminescência direta*. Um exemplo clássico que caracteriza este tipo de quimiluminescência é a reação de luminol, no qual o produto da reação, 3-aminofalato, é o responsável pela emissão de luz¹ (Esquema 2).

Esquema 2



Em reações classificadas como *Quimiluminescência indireta*, o emissor é excitado através de uma transferência de energia de um produto formado no estado excitado. A decomposição unimolecular de dioxetanos sintetizados por Kopecky-Munford^{5,6} é um exemplo deste processo conforme mostrado no esquema 3.

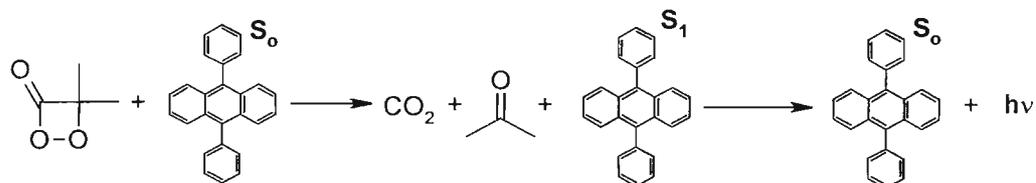


Nesta decomposição pode ocorrer a formação de uma espécie no estado fundamental, no estado triplete e no estado singlete (R2). A espécie formada no estado singlete excitado pode decair diretamente para o estado singlete fundamental (R2) ou ter a sua energia transferida para um aceptor de energia, que neste exemplo é o DPA (R3). A emissão observada, neste caso, é proveniente da excitação eletrônica do DPA.

Sabe-se que a emissão de fosforescência de espécies tripletes não é observada normalmente em meio líquido, devido à presença de impurezas ou de oxigênio, portanto para que isto seja possível geralmente é adicionado ao meio um aceptor de energia triplete, como por exemplo, o 9,10-dibromoantraceno (R1). A transferência de energia triplete-singlete ocorre através de um acoplamento spin-orbital causado pelo efeito de átomo pesado.

No caso da *Quimiluminescência ativada*, ocorre a reação bimolecular entre um peróxido cíclico com anel tensionado, portanto, rico em energia e um fluoróforo, resultando na formação de estados excitados do aceptor. Neste caso, o aceptor passa a ser chamado de ativador, pois o aumento da concentração do aceptor acelera a decomposição do peróxido (Esquema 4).

Esquema 4

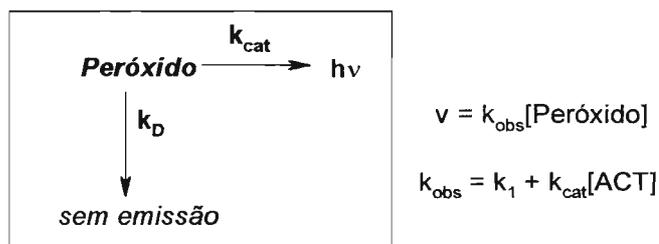


Para explicar a geração de estados excitados em reações com propriedades de quimiluminescência, Rauhut *et al.*^{7,13} foram os primeiros a propor um complexo de transferência de carga entre o peróxido rico em energia, formado na reação, e o acceptor de energia. Além disso, baseado nos resultados de rendimento quântico de quimiluminescência, foi observado que quanto menor o potencial de oxidação, maior é a constante de velocidade de formação de estados excitados. Da mesma forma, quanto menor a energia singlete do ativador maior o rendimento quântico de quimiluminescência.

Posteriormente, Schuster⁸, estudando uma série de peróxidos cíclicos e lineares isoláveis, constatou que tanto a velocidade de decomposição do peróxido quanto a intensidade de emissão aumentavam na presença do acceptor, sendo que a emissão observada era a fluorescência do mesmo e o acceptor não sofria decomposição. Além disso, a velocidade dependia da concentração do acceptor (ativador) e a constante de velocidade catalisada dependia do potencial de oxidação do ativador e quanto menor o potencial de oxidação maior era a formação de estados excitados do ativador.

Schuster⁸ também observou que, para todos os peróxidos cíclicos estudados, o valor da constante de velocidade catalisada (k_{cat}) correlacionava linearmente com o potencial de oxidação do ativador, indicando que na etapa limitante ocorria uma transferência de elétron (Esquema 5). Além disso, o aumento da viscosidade de solventes com mesma constante dielétrica no estudo do sistema difenoil-peróxido resultou no aumento do rendimento quântico de quimiluminescência⁹.

Esquema 5

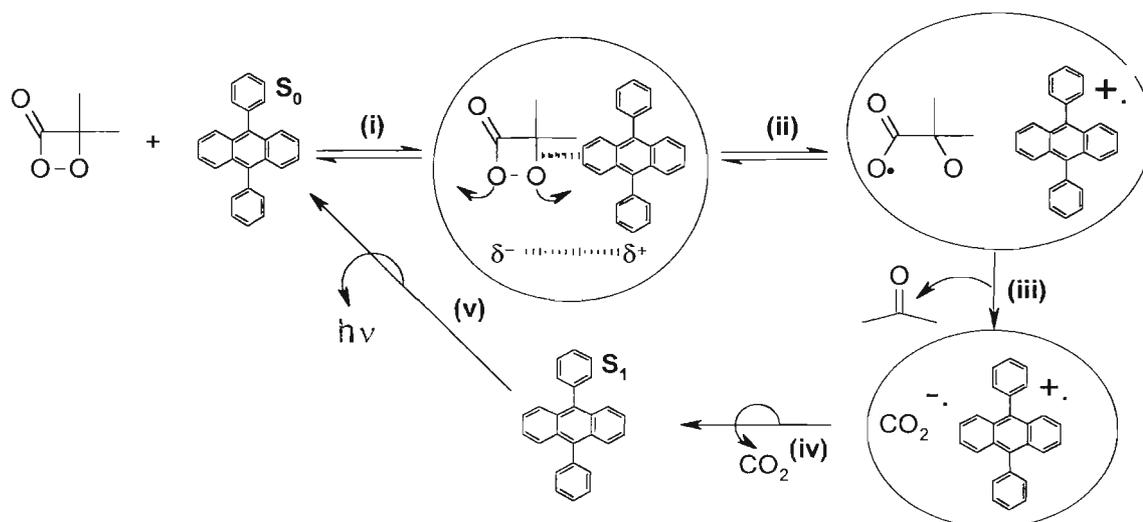


$$k_{\text{cat}} = A \cdot \exp \left[\frac{\alpha}{RT} \left(E_{\text{ox}} - E_{\text{Red}} - \frac{-e^2}{\epsilon R_o} \right) \right] \quad \text{Equação 3}$$

Através destas observações Schuster e Koo⁹ postularam um mecanismo que pudesse explicar a interação do peróxido rico em energia com o ativador, o qual foi por eles denominado de mecanismo CIEEL (*“Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence”*), ou seja, Luminescência Induzida Quimicamente pela Troca de Elétron^{8,9}. Resumidamente, o valor de α presente na equação de velocidade catalisada (Equação 3) está relacionado com a extensão da ligação O-O no momento que ocorre a transferência de elétron do ativador para o intermediário de alta energia (IAE). Este valor é semelhante ao valor de α de *Bronsted* utilizado em catálise ácida geral, o qual mede a transferência do próton no estado de transição. De acordo com a equação 3, o valor de α é obtido da relação $\ln k_{\text{cat}}$ vs. E_{ox} .

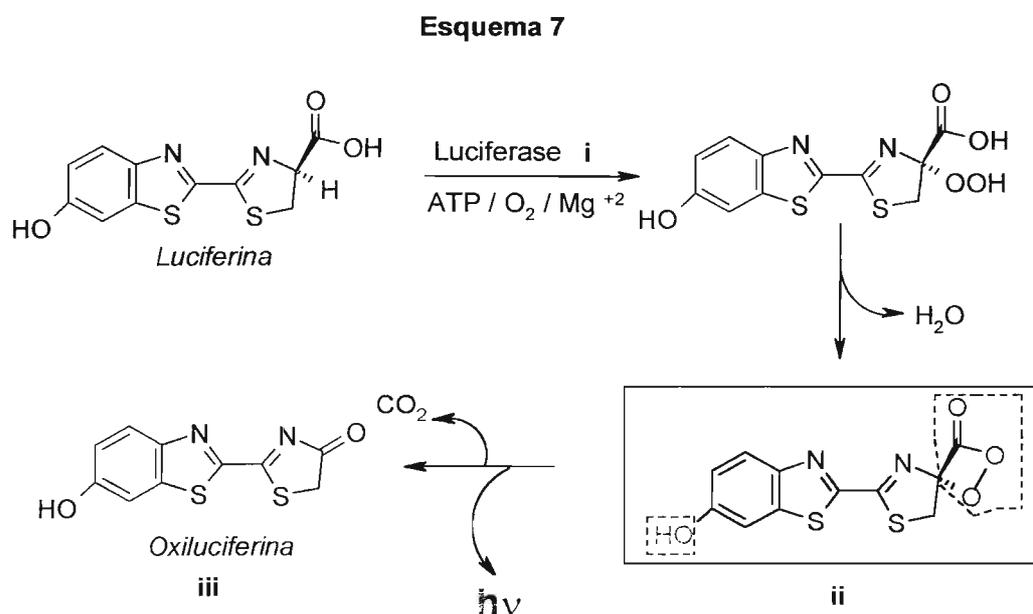
1.2 Luminescência Induzida Quimicamente pela Troca de Elétron (CIEEL)

Esquema 6



A luminescência induzida quimicamente pela troca de elétron supõe as seguintes etapas: (i)- o peróxido formaria um complexo de encontro com o ativador dentro da gaiola de solvente, (ii)- o alongamento da ligação oxigênio-oxigênio diminuiria a energia do orbital anti-ligante permitindo a transferência de elétron do ativador para o peróxido, formando um par de íons radicais dentro da gaiola de solvente, (iii)- a clivagem do ânion radical da dioxetanona levaria à formação do ânion radical do dióxido de carbono, uma espécie altamente redutora, que (iv)- por uma retro-transferência de elétron levaria à formação do ativador no estado eletronicamente excitado que (v)- pelo decaimento para o estado fundamental emitiria luz (Esquema 6). Esta proposta foi recebida com bastante entusiasmo pela comunidade acadêmica, pois podia ser utilizada para explicar a geração de estados excitados na reação bioluminescente do vaga-lume¹⁰. A proposta mecanística feita por McElroy *et al.*¹¹, para a reação de emissão de luz do vaga-lume envolvia a formação de uma dioxetanona, gerada

através da reação de oxidação da luciferina, catalisada enzimaticamente pela luciferase (Esquema 7).



É importante observar que a molécula de “luciferina-dioxetanona” (ii) possui as características necessárias para que ocorra a geração de estados excitados, resultando em emissão de luz. O grupo OH fenólico funciona como um “gatilho” que ao ser desprotonado desencadeia uma série de eventos através do sistema conjugado da molécula. A dioxetanona é a fonte de energia responsável pela excitação do sistema conjugado e este por sua vez, via transferência de elétron intramolecular, resulta em emissão de luz. Portanto, a bioluminescência do vaga-lume pode ser explicada por um *Mecanismo CIEEL intramolecular*.

Outro ponto importante, para a proposta do mecanismo CIEEL foi o conhecimento da eletroquimiluminescência. Neste processo, íons radicais gerados eletroquimicamente, no anodo e no catodo estariam envolvidos, e o aniquilamento deste par de íons radicais resultaria em emissão de luz (Figura 2).

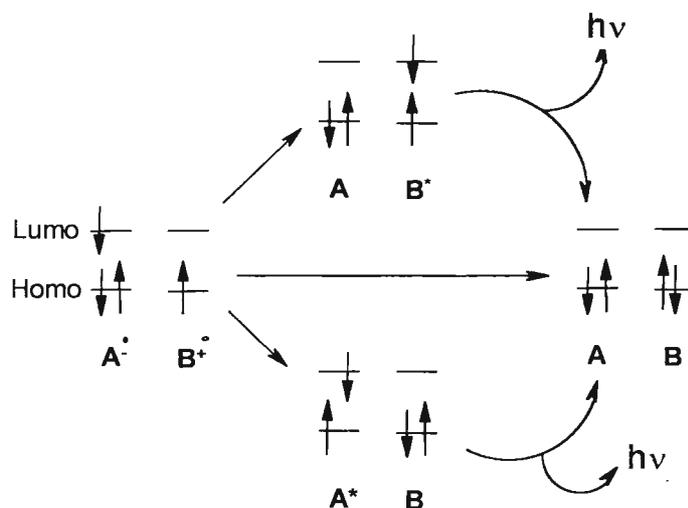


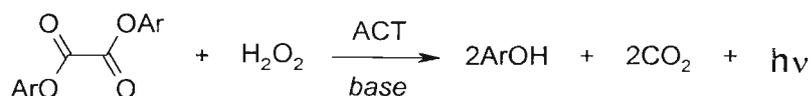
Figura 2: Representação do aniquilamento de íons radicais gerados eletroquimicamente resultando em emissão de luz

Deste modo o mecanismo CIEEL é utilizado para explicar uma série de reações com transferência de elétron que resultam em emissão de luz. Entretanto, em relação à eficiência do sistema que gerou a proposta para a luminescência induzida quimicamente pela troca de elétron (mecanismo CIEEL) há uma certa controvérsia na literatura. Pois de acordo, com Catalani & Wilson¹², os rendimentos quânticos de quimiluminescência calculados para o sistema difenilperóxido/perileno observados por Schuster⁸ foram superestimados em 1000 vezes. Catalani & Wilson¹² determinaram um rendimento quântico de quimiluminescência de $10^{-4} \text{ E mol}^{-1}$ contra $0,1 \text{ E mol}^{-1}$ observado por Schuster⁹. Em primeira análise, o que se pode concluir destes trabalhos é que o sistema responsável pela formulação do Mecanismo CIEEL possui uma eficiência extremamente baixa.

1.3 O Sistema Peroxioxalato

O fenômeno de quimiluminescência é uma das mais fascinantes demonstrações de conversão de energia química em excitação eletrônica. Contudo, sistemas com propriedades de quimiluminescência geralmente apresentam eficiência insatisfatória, tipicamente com valores próximos a 1%. Entretanto, o sistema peroxioxalato é um excelente exemplo deste fenômeno, pois sua eficiência é de aproximadamente 30%¹³. O sistema surgiu na década de 60 quando Chandross¹⁴ misturou cloreto de oxalila com peróxido de hidrogênio na presença de rubreno e observou emissão de luz. Atualmente o sistema mais eficiente é formado pela reação de derivados de ésteres fenólicos do ácido oxálico, com grupos aceptores de elétrons, com peróxido de hidrogênio catalisado por uma base, na presença de hidrocarbonetos aromáticos policondensados com baixo potencial de oxidação, denominado ativador (ACT) (Esquema 8).

Esquema 8

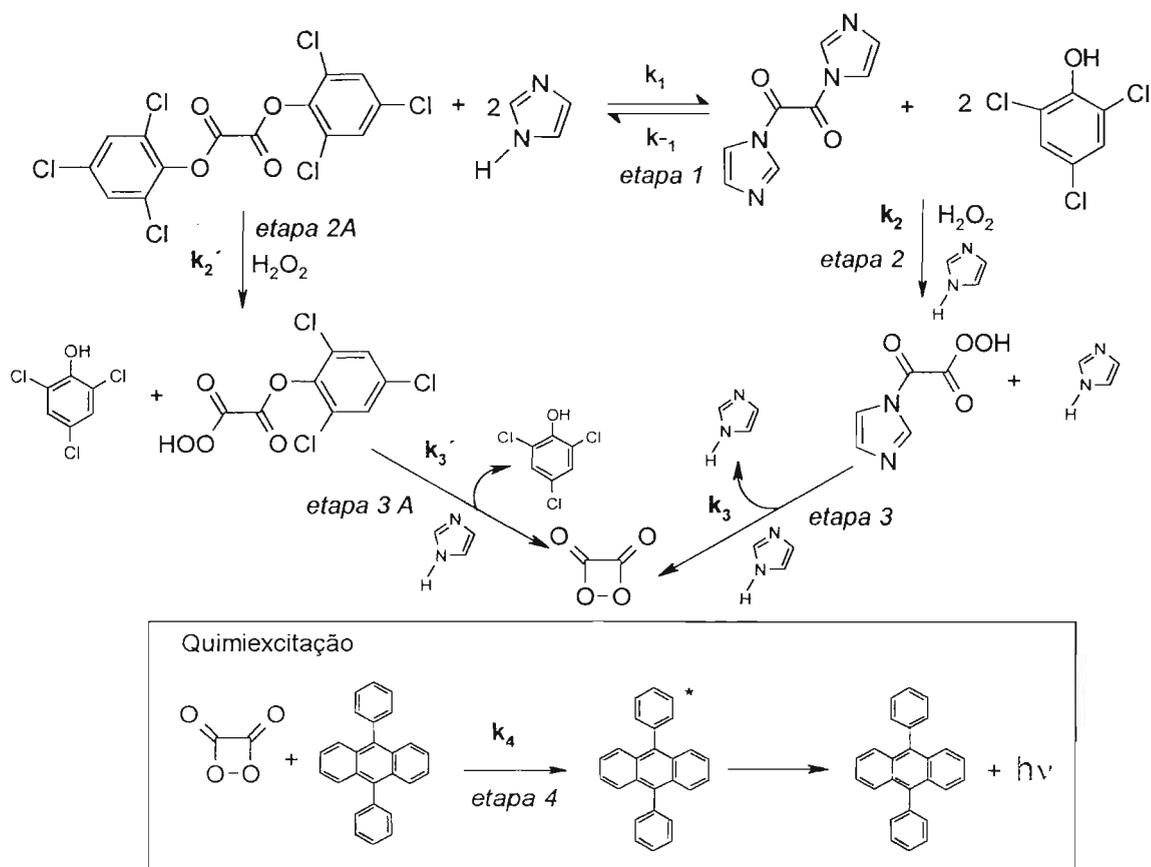


Rauhut *et al.*¹³, foram os primeiros a formular o mecanismo da reação peroxioxalato e a propor a formação de um intermediário de alta energia (IAE) que em um único passo deve liberar energia suficiente para provocar a excitação do ativador. Experimentalmente, o desenvolvimento da reação peroxioxalato pode ser estudado pela emissão de luz, utilizando um fluorímetro adequado ou pela liberação do fenol substituído através da sua absorção no ultravioleta. As etapas nas quais estão envolvidas a formação e interação do IAE com o ativador fazem parte da etapa rápida do processo, e portanto, não podem ser observadas por cinética.

O mecanismo desta reação é complexo, com várias etapas consecutivas e paralelas que antecedem a etapa de quimiexcitação. Do estudo cinético

realizado em trabalhos anteriores, no mesmo grupo em que o projeto foi desenvolvido, foi proposto um mecanismo simplificado para a reação principal que leva à formação de estados excitados e atribuídas constantes de velocidade para estas etapas (Esquema 9)^{15,16}.

Esquema 9



Estas informações são referentes às etapas lentas da reação que ocorrem antes da etapa de quimiexcitação e podem ser resumidas da seguinte maneira:

- ❖ A curva de formação do 2,4,6-triclorofenol foi monitorada por espectrofotometria e analisada com a função $f(t) = A [1 - \exp(-k_{\text{obs}1} t)]$.
- ❖ A curva de emissão de luz da reação peroxioxalato foi ajustada com uma função do tipo: $f(t) = A_1 \exp(-k_{\text{obs}1} t) - A_2 \exp(-k_{\text{obs}2} t)$, onde: $k_{\text{obs}1}$ é

a constante observada para o decaimento da emissão de luz da reação e k_{obs2} é a constante de velocidade observada para o aumento da intensidade de luz, também chamada de constante de subida.

- ❖ k_{obs1} depende da concentração de imidazol. Experimentos de absorção (liberação do fenol) e emissão mostraram que esta é a etapa mais lenta da reação. Em ambos os casos, a dependência com a concentração de imidazol é complexa, sendo ajustada com uma função binomial: $k_{obs1} = k_{1(Bim)}[IMI-H] + k_{1(Trim)}[IMI-H]^2$. Ademais, esta etapa não depende da concentração de H_2O_2 em baixas concentrações (Esquema 9 - etapa 1).
- ❖ Porém, k_{obs1} depende da $[H_2O_2]$ para concentrações acima de 10 mM, pois nestas condições o TCPO sofre ataque nucleofílico direto do H_2O_2 , catalisado por imidazol (etapa 2A).
- ❖ A adição de 2,4,6-triclorofenol (TCP) nos experimentos de emissão e absorção demonstrou que a reação inversa (k_{-1}) não é importante para as condições de reação empregadas (etapa 1), pois não ocorreu variação no valor de k_{obs1} com o aumento da concentração do 2,4,6-triclorofenol (TCP).
- ❖ k_{obs2} apresenta dependência linear com a concentração H_2O_2 e a constante bimolecular obtida é atribuída ao ataque nucleofílico do H_2O_2 ao ODI. Esta etapa é catalisada por imidazol e apresenta dependência de segunda ordem na concentração de imidazol.
- ❖ Em altas concentrações de H_2O_2 ocorre uma mudança do passo limitante e esta etapa não depende mais da $[H_2O_2]$. Nestas condições, o ataque do H_2O_2 ao ODI (di-imidazolida) não é mais a etapa limitante, e sim a ciclização do perácido intermediário (etapa 3). Entretanto, esta etapa é catalisada por imidazol, no qual este atua como catalisador básico.

Os valores para as constantes de velocidade obtidas para cada etapa da reação foram:

Tabela 1: Valores da constante de velocidade para cada etapa da reação do TCPO com H₂O₂, catalisada por imidazol na presença de DPA¹⁶.

etapa	Equação de velocidade	Constante
1	$k_{obs1} = k_{1(Bim)}[IMI-H] + k_{1(Trim)}[IMI-H]^2$	$k_{1(Bim)} = 2,5 \text{ molL}^{-1}\text{s}^{-1}$ $k_{1(Trim)} = 900 \text{ molL}^{-2}\text{s}^{-1}$
2, 2A	$k_{obs2} = k_{2(Tetr)}[H_2O_2][IMI-H]^2$	$k_{2(Tetr)} = 1,5 \times 10^7 \text{ molL}^{-3}\text{s}^{-1}$
3	$k_{m\acute{a}x} = k_{3(Bim)}[IMI-H]$	$k_{3(Bim)} = 320 \text{ molL}^{-1}\text{s}^{-1}$

O ponto culminante dessa reação é a etapa de quimiexcitação, na qual ocorre a interação do intermediário de alta energia com o ativador (ACT), dentro da gaiola de solvente, levando a emissão de luz.

Vários autores vêm contribuindo para que o sistema peroxioxalato possa ser esclarecido. Cabe ressaltar que a maioria dos trabalhos apresentados na literatura, com enfoque no estudo mecanístico, busca estabelecer qual é o intermediário de alta energia que se forma na etapa de quimiexcitação. Entretanto, há controvérsias entre estes grupos que, de acordo com a interpretação dada aos resultados observados, propuseram diferentes intermediários (A a H). (Figura 3).

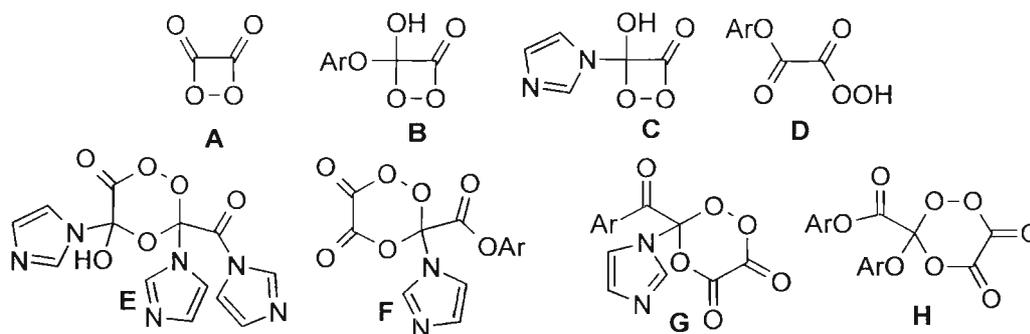
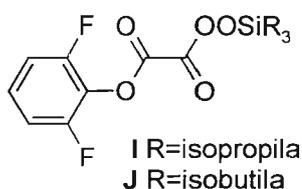


Figura 3: Intermediários de alta energia (IAE) propostos na reação peroxioxalato.

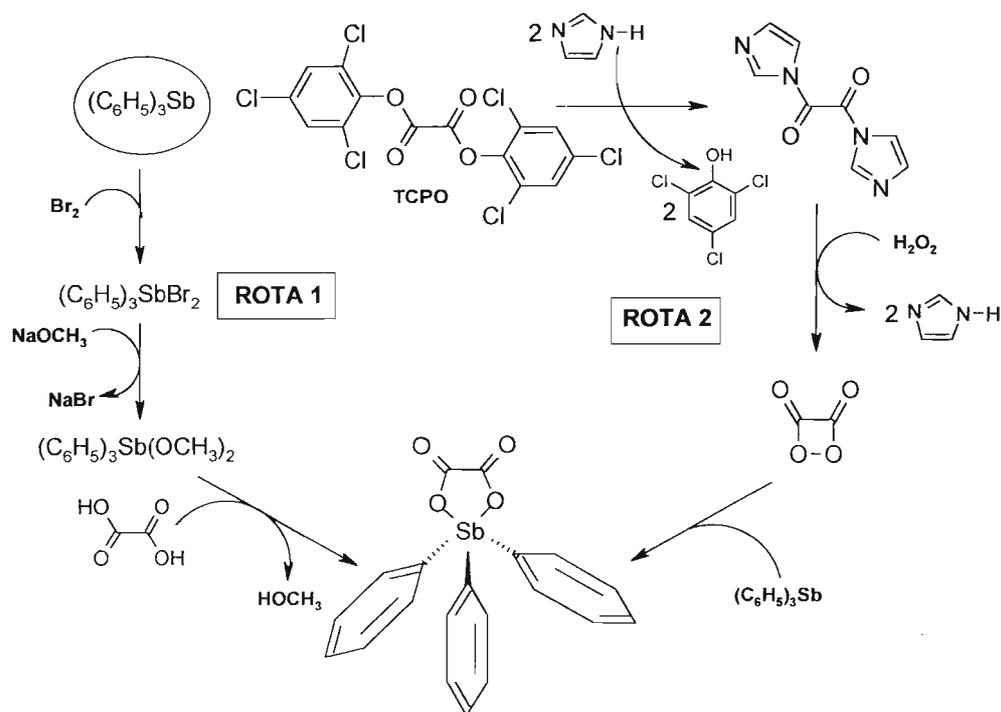
Hohman *et al.*¹⁷, propuseram a estrutura **D** como intermediário de alta energia (IAE), partindo da desprotonação do tri-isopropilsililperoxi-2,6-difluorofenil oxalato (**I**) e tri-isobutilperoxi-2,6-difluorofenil oxalato (**J**) com fluoreto de tetrabutilamônio em ftalato de dimetila e em acetonitrila. Entretanto, seus resultados não foram muito conclusivos em relação ao intermediário proposto. Segundo seu trabalho, após a desproteção com fluoreto de tetrabutilamônio, o íon percarboxilato formado interage rapidamente com o ativador (ACT).



Hadd *et al.*^{18,19}, em um estudo mais detalhado com respeito ao mecanismo, discutiram a importância do papel catalítico do imidazol e a formação da di-imidazolida como um intermediário importante para a eficiência da reação. Nestes trabalhos, os autores defendem as estruturas **C** e **F** como intermediários de alta energia²⁰.

Stevani *et al.*²¹, reportaram a tentativa de capturar a 1,2-dioxetanodiona, um possível intermediário de alta energia formado na reação peroxioxalato, pela inserção de trifenilantimônio na ligação O-O deste peróxido cíclico. O produto esperado nesta reação, 2,2,2-trifenil-2λ⁵-1,3,2-dioxastilbolano-4,5-diona, foi preparado por uma rota independente e caracterizado por RMN de ¹³C, espectroscopia na região do infravermelho e espectrometria de massa. Entretanto, não foi bem sucedida a detecção da 1,2-dioxetanodiona a partir da reação do peroxioxalato com trifenilantimônio, provavelmente devido ao seu tempo de vida, que não é o suficiente para reagir com o trifenilantimônio, ou devido à decomposição catalítica do peróxido na presença de trifenilantimônio (Esquema 10).

Esquema 10



Jonsson *et al.*²², estudaram a reação de TCPO com H_2O_2 catalisada por uma série de derivados de imidazol, sendo que alguns deles são utilizados em síntese de peptídeos, na presença de 3-aminofluoroanteno (3-AFA) em acetonitrila. O objetivo foi examinar as propriedades catalíticas destes derivados na reação peroxioxalato. Os autores observaram eficiência catalítica com os compostos 1,2,4-triazol, 1-metilimidazol, 2-metilimidazol, 4-metilimidazol e 4,5-tricloro-imidazol, enquanto que os compostos 2-mercapto-imidazol, 2-nitro-imidazol, 4-nitro-imidazol entre outros, não apresentaram emissão de luz detectável nas condições investigadas. Além disso, a reação do sistema peroxioxalato utilizando 1-metilimidazol ($\text{pK}_a = 7,06$) possui uma intensidade 25 vezes menor do que com imidazol ($\text{pK}_a = 6,99$) nas mesmas condições, embora ambos os catalisadores tenham pK_a 's similares. Os autores atribuem este comportamento ao fato, do intermediário gerado da reação entre TCPO e 1-metilimidazol, possuir carga positiva que o desestabiliza, fazendo com que o equilíbrio desta reação seja desfavorável à formação dos produtos. Por outro

lado, a mesma reação utilizando imidazol levaria a um intermediário mais estável devido à transferência de próton do imidazol para outro imidazol presente na solução. Assim, o equilíbrio da reação seria favorável à formação dos produtos. Os autores concluíram que o catalisador tem um papel importante para a eficiência da reação peroxioxalato, pois o intermediário formado deve ser mais suscetível à reação com H_2O_2 do que TCPO com H_2O_2 .

Lee *et al.*²³, estudaram a reação de DNPO com H_2O_2 sem adição de catalisador na presença de perileno em acetato de etila. Os autores observaram que quando a reação era efetuada em baixas concentrações de H_2O_2 produzia um decaimento lento, enquanto que na presença de altas concentrações de H_2O_2 duas diferentes emissões eram observadas: um decaimento rápido seguido de um decaimento lento. Para esta observação experimental, os autores propuseram a formação de dois intermediários de alta energia (IAE), as estruturas **D** e **H** (Figura 3). Estes autores também utilizaram TCPO e PCPO em altas concentrações de H_2O_2 e observaram que na reação com TCPO ocorreu apenas um decaimento lento, enquanto que, com PCPO foi observado um fraco decaimento rápido seguido de um decaimento lento. Com base nestes resultados, os autores sugeriram que o IAE proveniente do decaimento rápido, deveria ter em sua estrutura um forte grupo sacador de elétrons, pois a curva de decaimento rápido depende da força do substituinte do anel aromático do éster oxálico ($\text{DNP} > \text{PCP} > \text{TCP}$).

Em um outro trabalho²⁴ publicado no mesmo ano, foi investigada a reação de TCPO com H_2O_2 catalisada por IMI-H na presença de perileno, com o objetivo de elucidar as propriedades do possível IAE, mediada pela adição variada de reagentes. Como fruto deste estudo, concluíram que as estruturas **D** e **H** seriam os intermediários de alta energia (IAE). Além disso, também observaram que a mesma reação sem adição de H_2O_2 resultava em emissão de luz. Assim, este IAE seria formado pela reação entre TCPO e IMI-H. Entretanto, não foi proposta uma estrutura para este intermediário, sendo designada pelos autores apenas como intermediário **Z**.

Outros trabalhos relevantes são os de Shamsipur *et al.*²⁵⁻²⁷, que investigaram o sistema peroxioxalato na presença de derivados de cumarinas e acriflavinas como ativadores. O interesse no estudo, destas espécies reside no fato de possuírem propriedades antimicrobianas. No caso das acriflavinas, são também, utilizadas como foto-sensitizadores para agentes anti-cancerígenos²⁵.

Das estruturas citadas como intermediário de alta energia (**A-H**) foi demonstrado que derivados da estrutura **D** não poderiam ser intermediários de alta energia, visto que o O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-clorofenila, um derivado análogo à estrutura **D**, não levava a emissão de luz em presença apenas do ativador, necessitando de uma base para que tal evento fosse observado^{7,28}. Tal fato indica, que deveria ocorrer uma reação química, anterior à emissão, provavelmente uma ciclização, originando, então, o intermediário de alta energia. Neste trabalho foram também obtidas evidências experimentais adicionais, ainda que indiretas, que sustentavam a hipótese da 1,2-dioxetanodiona (**A**) ser o intermediário reativo.

Bos R *et al.*²⁹, reportaram pela primeira vez, o uso de cloreto de oxalila isotópico (¹³C) com H₂O₂ na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) em THF anidro para monitorar a formação do intermediário de alta energia por RMN de ¹³C, variando a temperatura entre -80 a +20 °C. Os autores observaram um sinal de baixa intensidade em δ 154,5 que se tornava mais intenso a -70 °C, sendo este atribuído a 1,2-dioxetanodiona. Na temperatura de -60 °C, o mesmo sinal apresentou um alargamento. Além disso, foram observados outros sinais, atribuídos a outros intermediários, como por exemplo, monocloreto de peroxioxalila. No espectro obtido a +20 °C todos os sinais desapareciam, exceto a ressonância em δ 160,4. Segundo os autores, este composto possuiria uma estabilidade térmica relativa, porém, ainda, não foi possível identificá-lo. Baseado nos resultados da RMN de ¹³C juntamente com os dados de cálculo *ab initio*, propuseram a 1,2-dioxetanodiona como intermediário de alta energia (IAE).

De acordo com os vários trabalhos apresentados na literatura, pode-se perceber que o mecanismo da reação e principalmente a estrutura do intermediário de alta energia responsável pela emissão de luz, ainda, não estão bem esclarecidos.

O interesse pela estrutura do IAE é grande, pois este é o responsável pela emissão de luz que ocorre na etapa de quimiexcitação do sistema peroxioxalato.

Rauhut *et al.*^{13,30,31}, foram os primeiros a propor a formação de um intermediário meta-estável, provavelmente a 1,2-dioxetanodiona, capaz de provocar a excitação do ativador, mediante excitação originada por um complexo de transferência de carga. Dos experimentos de rendimento quântico de quimiluminescência (Φ_{CL}) foi observado que quanto menor o potencial de oxidação do ACT era maior era a velocidade de formação de estados excitados. Além disso, quanto menor a energia singlete, maior o Φ_{CL} .

Schuster *et al.*⁹, ao estudar uma série de peróxidos cíclicos e lineares também observou que a velocidade de decomposição destes peróxidos era acelerada em presença de ativadores com baixo potencial de oxidação e altos rendimentos de fluorescência (Φ_F), além de ocorrer um aumento na intensidade de emissão de luz. Com base nestas informações foi postulado o mecanismo CIEEL. Na etapa de quimiexcitação da reação peroxioxalato estariam envolvidas apenas duas espécies: O IAE e o ativador (ACT). Considerando que o IAE é o mesmo para qualquer ativador utilizado, as informações obtidas desta etapa seriam provenientes da mudança do Φ_F , energia singlete e potencial de oxidação dos ativadores.

Stevani *et al.*³², estudaram a etapa de quimiexcitação da reação peroxioxalato através da reação de TCPO com IMI-H e H_2O_2 e da reação de O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-clorofenila catalisada por IMI-H na presença de uma série de ativadores aromáticos policondensados, como por exemplo: 9,10-difenilantraceno, rubreno, perileno entre outros. Para os dois sistemas foram obtidas evidências experimentais que reforçaram a hipótese da

transferência de elétron entre o ativador e o IAE, através da correlação linear entre a constante de velocidade catalisada (k_{cat}) e o potencial de oxidação; conforme postulado pelo mecanismo CIEEL. Entretanto, para dois ativadores, não comumente utilizados, 9,10-dimetóxi-antraceno (DMOA) e 9,10-dicianoantraceno (DCNA) foram observados desvios significativos. Até o momento, não há uma explicação para tal comportamento. Isto mostra que detalhes sobre este interessante mecanismo, ainda, precisam ser esclarecidos.

Silva *et al.*³³, reportaram a reação de TCPO catalisada por IMI-H com H_2O_2 na presença de vários derivados de oxazolinilidenos esteróides substituídos como ativadores. Os resultados obtidos também se aplicam ao mecanismo CIEEL, isto é, com transferência de elétron entre o IAE e o ACT. A informação mais importante obtida neste trabalho foi mostrar que compostos com esqueletos totalmente distintos das estruturas dos ativadores comumente empregados no estudo do mecanismo CIEEL, também podem ser aplicados.

1.4 Aplicações Analíticas

De modo geral, a quimiluminescência tem sido largamente aplicada em diversas áreas de biotecnologia, farmacologia, biologia molecular, clínica e química, sendo que o sistema que mais se destaca é a reação peroxioxalato. Portanto, torna-se importante conhecer o mecanismo desta reação para que seja possível ampliar e melhorar a eficiência de sua aplicação. Do ponto de vista analítico, esta reação é um das mais interessante reportada na literatura, pois possui um alto rendimento quântico de quimiluminescência, comparado apenas a sistemas biológicos, ou seja, é um sistema altamente sensível^{34,35}.

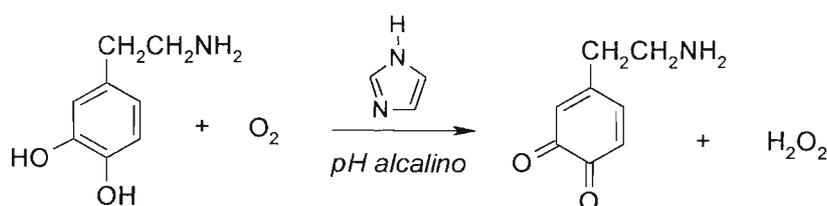
O sistema peroxioxalato possui uma série de aplicações, sendo que os derivados de ésteres oxálicos mais utilizados são o bis(2,4,6-triclofenil) oxalato, bis(2,4-dinitrofenil) oxalato e o bis[2-(3,6,9-trioxadeciloxicarbonil)-4-nitrofenil] oxalato^{36,39}. A primeira aplicação prática da reação peroxioxalato foi como "light sticks", que são bastões de plástico contendo em seu interior os reagentes necessários para que ocorra uma reação com propriedades de

quimiluminescência. Estes bastões ao serem quebrados possibilitam a mistura dos reagentes, o qual resulta na emissão de luz. Há uma série de aplicações para estes bastões, sendo uma delas como sinalizadores em mergulho. Os bastões são até hoje fabricados pela “American Cynamid Co.,” que teve como funcionário MM Rauhut, descobridor da reação peroxioxalato⁷.

Na literatura há um grande número de trabalhos, nos quais a quimiluminescência da reação peroxioxalato é utilizada como ferramenta analítica. Basicamente, qualquer sistema que forme peróxido de hidrogênio ou o destrua, que forme uma substância com propriedades de fluorescência ou contenha um composto que suprima a fluorescência, pode ser aplicado ao sistema peroxioxalato. A seguir serão relatados alguns exemplos de aplicação analítica da reação peroxioxalato com o intuito de ilustrar a sua importância.

Nozaki *et al*^{37,38} e Ragab³⁹ utilizaram a reação peroxioxalato, especificamente o bis(2-(3,6-9-trioxadecaniloxicarbonil)-4-nitrofenil oxalato (TDPO), para otimizar a produção de H₂O₂ produzido pela oxidação da dopamina em meio básico. A dopamina é um neurotransmissor, geralmente, presente em baixas quantidades em fluídos biológicos. Sob condições fisiológicas, pode gerar H₂O₂ enzimaticamente, resultando em dopamina neurotóxica. O H₂O₂ produzido é detectado por HPLC pelo método de injeção em fluxo. No intuito de otimizar o estudo, testou-se vários compostos cíclicos nitrogenados, dentre eles imidazol como catalisadores da reação (Esquema 11).

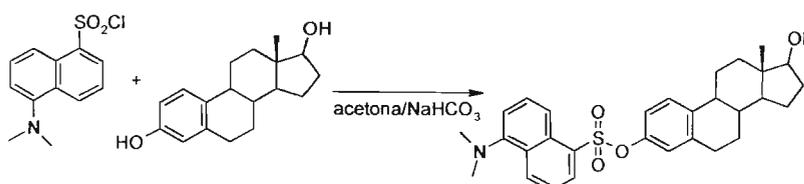
Esquema 11



Yamada *et al.*⁴⁰, utilizaram a reação peroxioxalato para determinar a presença de estradiol em plasma utilizando HPLC. O limite de detecção observado foi de 15 fmol (4 pg). Estradiol é um dos mais importantes

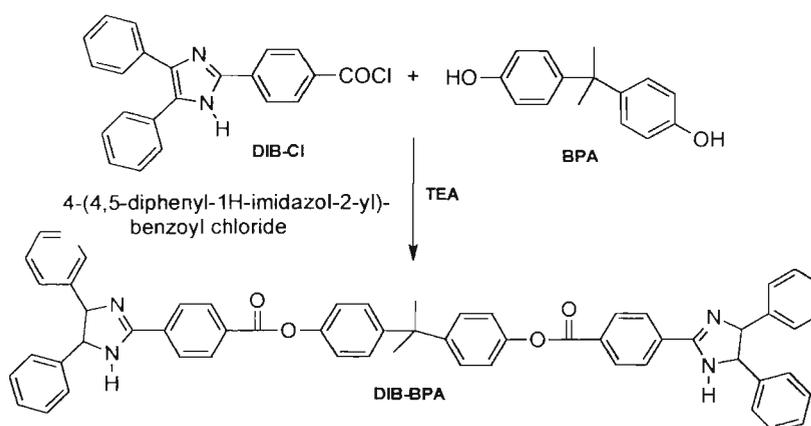
estrógenos secretado pelo ovário humano, sendo responsável pela manutenção do sistema reprodutivo feminino. Além disso, derivados de estradiol têm sido usados como agente anti-osteoporose. Como o estradiol não possui propriedades de fluorescência, foi necessário derivatizá-lo com cloreto de dansila (Esquema 12).

Esquema 12



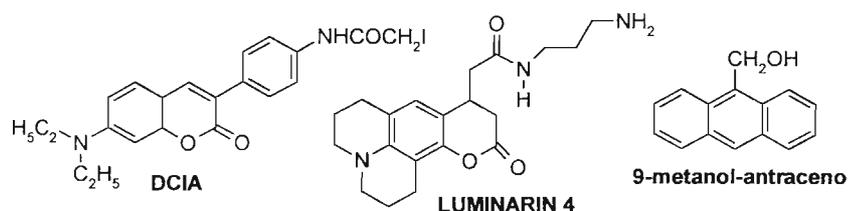
Sun *et al.*⁴¹, desenvolveram um método por HPLC para detectar a presença de 4,4'-isopropylidenediphenol (bisfenol A, **BPA**) proveniente de recipientes de policarbonato durante o processo de esterilização, como por exemplo mamadeiras. Segundo os autores, pesquisadores tem mostrado que BPA apresenta efeitos xeno-estrogênicos *in vitro* em concentrações de 6 ppb (25 nM). Sendo assim, os autores julgaram importante desenvolver um método altamente sensível para monitorar o nível de BPA (Esquema 13).

Esquema 13



Pode ser observado que para a maioria das determinações analíticas é necessário uma derivação da espécie a ser analisada, pois muitos compostos não possuem propriedades de fluorescência. Além de cloreto de dansila, vários

outros compostos são utilizados como reagentes de derivatização (Esquema 14)⁴².

Esquema 14

Estes exemplos correspondem a uma pequena demonstração das possíveis aplicações envolvendo a reação peroxioxalato. Percebe-se que o método mais utilizado é a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Porém, observa-se também o desenvolvimento da aplicação do sistema peroxioxalato em eletroforese^{43,44}. Em suma, o sistema peroxioxalato é aplicado em uma série de sistemas, cujo objetivo é desenvolver um método simples, de fácil aplicação, sensível e seletivo.

1.5 Referências

- ¹ Campbell AK, *Chemiluminescence: Principles and Applications in Biology and Medicine*. Weinheim; Deerfield Beach, FL: VCH; Chichester: Horwood, 1998.
- ² Turro NJ, *Modern Molecular Photochemistry*. The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., 1978.
- ³ Hercules DM, "Chemiluminescence from Electron –Transfer Reactions", *Acc. Chem. Res.*, **2**, 301-7, 1969.
- ⁴ Albrecht HO, "Über die Chemilumineszenz des aminophthalsäurehydrazids", *Z. Physik. Chem.* **136**, 321-30, 1928.
- ⁵ Kopecky KR & Mumford C, "Abstracts, 51st Annual Conference of the Chemical Institute of Canada", Vancouver BC, p. 41, 1968.
- ⁶ Kopecky KR & Mumford C, "Luminescence in the thermal decomposition of 3,3,4-trimethyl-1,2-dioxetane", *Can. J. Chem.*, **47**, 709-10, 1969.
- ⁷ Stevani CV, "Estudo Mecânico do Sistema Peróxi-Oxalato", *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 1997.
- ⁸ Schuster GB, "Chemi-luminescence of organic peroxides-conversion of ground-state reactants to excited-state products by the chemically-initiated electron-exchange luminescence mechanism", *Acc. Chem. Res.*, **12** (10), 366-73, 1979.
- ⁹ Koo J-Y & Schuster GB, "Chemiluminescence of Diphenoyl Peroxide Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence. A New General Mechanism for Chemical Production of Electronically Excited States", *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4496-4503, 1978.
- ¹⁰ Koo J-y, Schmidt SP & Schuster GB, "Bioluminescence of firefly-key steps in formation of electronically excited-state for model systems", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **75** (1), 30-3, 1978.
- ¹¹ McElroy WD, Seliger HH & White EH, "Mechanism of Bioluminescence, Chemiluminescence and Enzyme function in the oxidation of firefly luciferin", *Photochem. Photobiol.*, **10**, 153-70, 1969.

-
- ¹² Catalani LH & Wilson T, "Electron Transfer and Chemiluminescence. Two Inefficient Systems: 1,4-Dimethoxy-9,10-diphenylanthracene Peroxide and Diphenoyl Peroxide", *J. Am. Chem. Soc.*, **111** (7), 2633-9, 1989.
- ¹³ Rauhut MM, "Chemiluminescence from Concerted Peroxide Decomposition Reactions", *Acc. Chem. Res.*, **2**, 80-7, 1969.
- ¹⁴ Chandross EA, "A New Chemiluminescent System", *Tetrahedron Lett.*, 761-65, 1963.
- ¹⁵ Stevani CV, Lima DF, Toscano VG & Baader WJ, "Kinetic Studies on the Peroxyoxalate Chemiluminescence Reaction: Imidazole as a Nucleophilic Catalyst", *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 989-95, 1996.
- ¹⁶ Silva SM, Casallanovo F, Oyamaguchi KH, Ciscato LFLM, Stevani CV & Baader WJ, "Kinetic Studies on the Peroxyoxalate Chemiluminescence Reaction: determination of the cyclization rate constant", *Luminescence*, **17**, 313-20, 2002.
- ¹⁷ Hohman JR, Givens RS, Carlson RG & Orosz G, "Synthesis and Chemiluminescence of a Protected Peroxyoxalate", *Tetrahedron Lett.*, **37**(46), 8273-6, 1996.
- ¹⁸ Hadd AG, Birks JW, "Kinetics and Mechanisms of the Nucleophilic Substitution Reaction of Imidazole with Bis(2,4,6-trichlorophenyl) Oxalate and bis(2,4-dinitrophenyl) Oxalate", *J. Org. Chem.*, **61**, 2657-63.
- ¹⁹ Hadd AG, Robinson AL, Rowlen KL & Birks JW, "Stopped-Flow Kinetics Investigation of the Imidazole-Catalyzed Peroxyoxalate Chemiluminescence Reaction", *J. Org. Chem.* **63**, 3023-31, 1998.
- ²⁰ Hadd AG, Seeber A, Birks JW, "Kinetics of two Pathways in Peroxyoxalate Chemiluminescence" *J. Org. Chem.*, **65**, 2675-83, 2000.
- ²¹ Stevani C & Baader WJ, "Preparation and characterization of 2,2,2-triphenyl-2λ⁵-1,3,2-dioxastilbolane-4,5-dione as standard for an attempt to trap 1,2-dioxetanodione, a possible high-energy intermediate in peroxyoxalate chemiluminescence", *J. Chem. Res. (S)*, 430-2, 2002.

-
- ²² Jonsson T, Emteborg M & Irgum K, " Heterocyclic compounds as catalysts in the peroxyoxalate chemiluminescence reaction of bis(2,4,6-trichlorophenyl) oxalate", *Anal. Chim. Acta*, **361**, 205-15, 1998.
- ²³ Lee JH, Rock JC, Schlautman MA & Carraway ER, "Characteristics of key Intermediates Generated in Uncatalyzed bis (2,4-dinitrophenyl) oxalate (DNPO) Chemiluminescence Reactions", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1653-57, 2002.
- ²⁴ Lee JH, Rock JC, Park SB, Schlautman MA & Carraway RE, " Study of the Characteristics of Three High-Energy Intermediates in Peroxyoxalate Chemiluminescence (PO-CL) Reactions" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 802-9, 2002.
- ²⁵ Shamsipur M & Chaich MJ, "A Study of Chemiluminescence from Reactions of Peroxyoxalate Esters, Hydrogen Peroxide and 7-amino 4-trifluoromethylcumarin", *Spectrosc. Letters*, **34** (4), 459-68, 2001.
- ²⁶ Shamsipur M & Chaich MJ, "Quenching effect of Triethylamine on Peroxyoxalate Chemiluminescence in the Presence of 7-amino-4-trifluoromethylcumarin", *Spectrochim. Acta Part A*, **57**, 2355-58, 2001.
- ²⁷ Shamsipur M, Chaich MJ & Karami AR, "A Study of Peroxyoxalate-Chemiluminescence of Acriflavine" *Spectrochim. Acta Part A*, 59, 511-7, 2003.
- ²⁸ Stevani CV, Campos IPAR & Baader WJ, "Synthesis and Characterisation of an Intermediate in the Peroxyoxalate Chemiluminescence: 4-chlorophenyl O,O-hydrogen Monoperoxyoxalate", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1645-8, 1996.
- ²⁹ Bos R, Barnett NW, Dyson GA, Lim KF, Russel RA & Watson SP, "Studies on the mechanism of the peroxyoxalate chemiluminescence reaction part 1. Confirmation of 1,2-dioxetanodione as an intermediate using ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy", *Anal. Chim. Acta*, 502, 141-147, 2004.

-
- ³⁰ Rauhut MM, Bollyky LJ, Roberts BG, Loy M, Whitman RH, Iannotta AV, Semsel AM & Clarke RA, "Chemiluminescence from reactions of electronegatively substituted aryl oxalates with hydrogen peroxide and fluorescent compounds", *J. Am. Chem. Soc.*, **89** (25), 1967.
- ³¹ Rauhut MM, Roberts BG & Semsel AM, "A study of chemiluminescence from reactions of oxalyl chloride, hydrogen peroxide, and fluorescent compounds", *J. Am. Chem. Soc.*, **88** (15), 1966.
- ³² Stevani CV, Silva SM & Baader WJ, "Studies on the mechanism of the excitation step in peroxyoxalate chemiluminescence", *Eur. J. Org. Chem.* 4037-46, 2000.
- ³³ Silva SM, Wagner K, Weiss D, Beckert R, Stevani CV & Baader WJ, "Studies on the chemiexcitation step in peroxyoxalate chemiluminescence using steroid-substituted activators", *Luminescence*, **17**, 362-9, 2002.
- ³⁴ Kuroda N, Hosoki N, Akiyama S & Givens RS, "Photographic detection of fluorescent-labelled oligodeoxynucleotide in the blotting format by peroxyoxalate chemiluminescence." *J. Biolumin. Chemilumin.* **13** (2), 101-5, 1998.
- ³⁵ Ellingson A. & Karnes HT, "Investigation of far red dyes for use in peroxyoxalate chemiluminescence detection and analysis of the CY5 derivative of amantadine hydrochloride in human plasma." *Biomedical Chromatography*, **12** (1), 8-12, 1998.
- ³⁶ Nakamura MM, Saraiva SA & Coichev N, " Parameters Affecting the Peroxyoxalate Chemiluminescence" *Analytical Letters*, **32** (12), 2471-87, 1999.
- ³⁷ Nozaki O, Iwaeda T & Kato Y, "Amines for Detection of Dopamine by Generation of Hydrogen Peroxide and Peroxyoxalate Chemiluminescence", *J. Biolumin. Chemilumin.*, **11**, 309-13, 1996.
- ³⁸ Nozaki O. "Detection of Substances with Alcoholic or Phenolic Hydroxyl Groups by Generation of Hydrogen Peroxide with Imidazole and Peroxyoxalate Chemiluminescence", *J. Biolumin. Chemilumin.* **10**, 339-44, 1995.

B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

- ³⁹ Ragab GH, Nohta H & Zaitso K. "Chemiluminescence determination of catecholamines in human blood plasma using 1,2-bis(3-chlorophenyl)ethylenediamine as pre-column derivatizing reagent for liquid chromatography", *Anal. Chim. Acta.*, **403**, 155-60, 2000.
- ⁴⁰ Yamada H, Kuwara Y, Takasumo Y & Hayase T. "A new sensitive determination method of estradiol in plasma using peroxyoxalate ester chemiluminescence combined with an HPLC system.", *Biomed. Chromatogr.*, **14**, 333-7, 2000.
- ⁴¹ Sun Y, Wada M, Al-Dirbashi O, Kuroda N, Nakazawa H & Nakashima K. "High-performance liquid chromatography with peroxyoxalate chemiluminescence detection of bisphenol A migrated from polycarbonate baby bottles using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)benzoyl chloride as a label", *J. Chromatogr. B*, **749**, 49-56, 2000.
- ⁴² Ohba Y, Kuroda N & Nakashima K *Anal. Chim. Acta*, **465**, 101-9, 2002.
- ⁴³ Tsukagoshi K, Kameda T, Yamamoto M & Nakajima R. "Separation and determination of phenolic compounds by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection", *J. Chromatogr. A*, **978**, 213-20, 2002.
- ⁴⁴ Appelblad P, Irgum K. "Separation and detection of neuroactive steroids from biological matrices", *J. Chromatogr. A*, **955**, 151-82, 2002.

2 Parte Experimental

2.1 Aparelhagem

Para seguir a cinética de emissão proveniente das reações dos perácidos e do sistema peroxioxalato, foi utilizado um espectrofluorímetro SPEX FLUOROLOG 1681, com tensão de 750V na fotomultiplicadora, fenda de 1mm e grade na condição de espelho. Com a grade do monocromador estando posicionada na condição de espelho, a luz emitida pela reação é toda refletida para a fotomultiplicadora sem a separação espectral. Além disso, foi utilizado um outro espectrofluorímetro da marca Varian Cary Eclipse, tensão na fotomultiplicadora de 750 V, fenda 20nm e grade também na condição de espelho. Para registrar os espectros de absorção foi utilizado um espectrofotômetro SHIMADZU Multispec1501. Nos experimentos efetuados na ausência de H_2O_2 foi utilizado um contador de fóton equipado com um refrigerador termoelétrico, modelo THORN EMI Gencom Inc 1kV. (Modelo FACT 50 MK). A saída da fotomultiplicadora foi conectada a um amplificador Princeton Applied Research (modelo 1121A).

Para medir a viscosidade das misturas de tolueno e difenilmetano foi utilizado um reômetro Brookfield para baixa viscosidade, modelo LV DVIII cone CP40 ângulo $0,8^\circ$ volume = 0,5 mL e raio 2,4 cm.

Os potenciais de oxidação dos ativadores **9** a **13** foram determinados em um aparelho EG & G Princeton applied Research modelo 175, nas seguintes condições: eletrodo de platina (trabalho), eletrodo Ag^0/Ag^+ (referência), filtro 590 Hz, capacitor 15 nF, eletrólito: perclorato de tetrabutilamônio (0,1M) em acetonitrila.

Na sublimação do composto **4** foi utilizado um sublimador modelo: BÜCHI-Glass Oven B-580 e na cromatografia circular foi utilizado em um Chromatotron 7924T.

. Para caracterizar os compostos, preparados neste trabalho, foram utilizados os seguintes equipamentos: Bruker DRX 500, Bruker AC200, FT IR Bomem MB100, Shimadzu CG MS-QP5050A, Elemental Analyzer 2400CHN Perkin Elmer.

2.2 Reagentes

A piridina foi mantida em temperatura de refluxo por 4 h na presença de NaOH e destilada a 111 °C. A trietilamina foi destilada de NaOH após refluxo de 3 horas. A solução de H₂O₂, utilizada na preparação dos compostos **5-8**, foi preparada a partir da extração de 20 mL de uma solução concentrada (60%) de H₂O₂ com três porções de 15 mL de éter etílico, sendo a solução seca com MgSO₄ a 5 °C. A concentração da solução resultante variava entre 5-8 M, determinada por iodometria. O *p*-cresol foi recristalizado de hexano, o fenol de éter de petróleo (40-60 °C), o *p*-metoxifenol de hexano e o *p*-nitrofenol em tolueno/EtOAc 9:1. Todos foram secos à vácuo e armazenados sob P₂O₅. 9,10-difenilantraceno (DPA) (Aldrich), imidazol (Aldrich 99%), cloreto de *p*-bromofenilbenzoíla (Fluka), reagente de Lawesson (Fluka) (**26**), cloreto de bis(trifenilfosfina) paládio II [(Ph₃P)₂PdCl₂] (**27**), fenilacetileno (Merck) e hidrazina hidratada (Merck) foram utilizados sem purificação prévia.

Os compostos **9 a 13** foram preparados no laboratório do Prof. Rainer Beckert¹: 3-[2-(4-metoxifenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (**9**), 3-[2-(3-metoxifenil)-5,5-dimetiloxazol]-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (**10**), 3-[2-(4-clorofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (**11**), 3-[2-(4-fluorofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (**12**) e 3-[2-(4-nitrofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (**13**).

2.3 Solventes

O acetato de etila foi seco sob CaCl_2 por um dia, filtrado e submetido à agitação mecânica por 30 minutos com 1 M de NaOH a $0\text{ }^\circ\text{C}$, sendo novamente filtrado e destilado lentamente (p.e. = $77\text{ }^\circ\text{C}$) na presença de P_2O_5 .

O éter dietílico foi pré-seco com H_2SO_4 (100 mL por litro), destilado e aquecido à temperatura de refluxo por 4 h com Na° na presença de benzofenona. Após esta etapa de purificação foi, então, redistilado na presença de peneira molecular de 4 Å e armazenado também sob peneira molecular de 4 Å pré-ativada.

O tolueno e o THF utilizados na síntese dos derivados de oxazolona foram tratados com sódio metálico e benzofenona, sendo destilados após a mistura atingir a coloração azul característica de meio anidro.

O clorofórmio foi destilado de CaCl_2 após 24 horas na presença do agente secante.

O etanol e o metanol foram utilizados sem tratamento prévio. O tolueno utilizado nos estudos de viscosidade foi destilado de P_2O_5 e armazenado sob peneira molecular 4Å.

O difenilmetano (p.f. = $25,4\text{ }^\circ\text{C}$) também utilizado nos estudos da viscosidade foi destilado à vácuo ($90\text{ }^\circ\text{C} - 3\text{ mmHg}$). As características físicas destes solventes estão relacionadas na tabela 2.

Tabela 2: Características físico-químicas dos solventes utilizados no estudo da viscosidade.

solvente ^a	η (mPas)	ϵ	n_D^{20}	p.e ($^\circ\text{C}$)
tolueno	0,560	2,379	1,4960	110
difenilmetano	1,945	2,54	1,5770	264
acetato de etila	0,423	6,08	1,372	76,5

^a obtidos da literatura²

2.4 Determinação da concentração dos perácidos 5-7 e das soluções anidras de H₂O₂

Na determinação da concentração de cada perácido foi empregada uma cubeta de quartzo de caminho óptico 1,0 cm a temperatura de 25 °C contendo 3,0 mL de uma solução 0,05 M de KI em tampão NaOAc/AcOH (pH = 3,8), sendo a absorção determinada em 353 nm ($\epsilon = 2,55 \cdot 10^4 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Nesta solução era adicionado 5 μL da solução do perácido (5-7), cuja diluição variava de 5 a 20 vezes, pois dependia da concentração da solução estoque do perácido a ser analisado. A concentração da solução estoque variou em torno de aproximadamente 300mM.

Para determinar a concentração de H₂O₂ empregava-se a mesma metodologia utilizada na determinação dos perácidos. Porém, era necessário diluir 100 vezes, em água, a solução estoque de H₂O₂, cuja concentração era de aproximadamente 2 M (1 mL de H₂O₂ 60% em 10mL de acetato de etila anidro) e adicionar 10 μL de solução de peroxidase HRP VI ($\lambda = 403 \text{ nm}$, $\epsilon = 1,02 \cdot 10^5 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), cuja concentração final era $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

2.5 Estudo cinético dos derivados de O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de arila (5-7)

Em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm e volume de 3 mL foram adicionados 300 μL de uma solução estoque de 9,10-difenilantraceno (10 mM), 5 μL a 2,5 mL de uma solução estoque de imidazol (300 mM) e 0,15 mL a 2,64 mL de acetato de etila. A reação foi iniciada com aproximadamente 30 μL do perácido (5-7) (50 mM), o volume do perácido variou de acordo com a concentração da solução estoque, o qual foi determinada antes de cada experimento. A concentração final para cada reagente era: [5], [6] e [7] = 0,5, 0,1 e 0,5 mM respectivamente, [IMI-H]=0,5 mM a 250 mM e [DPA]=1 mM. Todas as

soluções foram preparadas em acetato de etila anidro, e os dados cinéticos calculados a partir da intensidade de emissão de luz.

2.6 Estudo do sistema peroxioxalato variando a viscosidade

Em uma cubeta de quartzo, de caminho óptico de 1,0 cm a 25 °C, cujo volume máximo era 3,0 mL, foram adicionados 0,3 mL de solução de DPA (10 mM) em difenilmetano (DFM), 63,80 μL ou 31,40 μL de uma solução de imidazol (23,50 mM) em tolueno e 3,5 μL de uma solução de H_2O_2 (2,10 mM) em acetato de etila. O volume restante foi completado com tolueno e difenilmetano (Tabela 3). A reação foi iniciada pela adição de 25 μL de uma solução de TCPO (12 mM) em tolueno.

Tabela 3: Composição das misturas de solventes (tolueno e difenilmetano) utilizadas nos experimentos.

DFM %	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}$ (mL)	tolueno (mL)
0 ^a	-	2,60
10 ^b	-	2,60
20 ^b	0,3	2,31
40 ^b	0,9	1,70
60 ^b	1,5	1,10
80 ^b	2,1	0,51
90 ^b	2,4	0,20

^a solução estoque de DPA em tolueno, ^b solução estoque de DPA em DFM.

As concentrações finais de cada reagente foram: $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,5 \text{ mM}$, $[\text{TCPO}] = 0,1 \text{ mM}$, $[\text{IMI-H}] = 1,0 \text{ mM}$ ou $[\text{IMI-H}] = 0,5 \text{ mM}$ e $[\text{DPA}] = 1,0 \text{ mM}$. A solução de H_2O_2 foi preparada em acetato de etila, devido a sua baixa solubilidade em tolueno/ $\text{C}_{13}\text{H}_{12}$. No entanto, para reduzir a influência nas características físico-químicas do sistema, preparou-se uma solução de H_2O_2 3M de modo que o volume da alíquota em acetato de etila fosse reduzido (2,5 μL), ou seja 0,08 %.

2.7 Estudo do sistema peroxioxalato utilizando os ativadores 9-13

Em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm a 25 °C, cujo volume máximo era 3,0 mL, foram adicionados de 0,015 a 1,5 mL da solução estoque do ativador (9-13), (solução estoque: 1,0 mM), 40 µL de IMI-H, (solução estoque de 75 mM), 30 µL de H₂O₂ (solução estoque de 1.0 M) e 1,41-2,89 mL de acetato de etila, completando o volume para 2,95 mL. A reação foi iniciada pela adição de 50 µL da solução estoque do TCPO (6,1 mmol L⁻¹). As concentrações finais das soluções contidas na cubeta eram as seguintes: [TCPO] = 0,10 mM, [IMI-H] = 1,0 mM, [H₂O₂] = 10 mM e [ACT]= 0,005-0,5 mM.

2.8 Estudo do sistema peroxioxalato na ausência de H₂O₂

Em uma cubeta de quartzo a 25 °C, cujo volume era de 6 mL foram adicionados 106 µL de IMI-H, 200 µL de rubreno e 66 µL de DNPO ou TCPO. Os experimentos foram executados na presença (1,7 µL) e ausência de peróxido de hidrogênio. O restante do volume foi completado com acetato de etila anidro para 4 mL. A concentração estoque e final corresponderam as descritas na tabela 4:

Tabela 4: Concentrações dos reagentes utilizados no sistema peroxioxalato sem H₂O₂.

Reagente	[Reagente] _{sol.estoque} (mmol L ⁻¹)	[Reagente] _{final} (mmol L ⁻¹)
IMI-H	75	2
TCPO	12	0,2
DNPO	12	0,2
Rubreno	1	0,05
H ₂ O ₂	1,19 e ⁻⁵ e 1,19 e ⁻⁶	5 e ⁻⁷ a 5 e ⁻¹⁰

2.9 Calibração da fotomultiplicadora

Como a intensidade de emissão de luz é medida em unidade arbitrária (u.a.) ou em contagens por segundo (cs^{-1}), unidades que dependem do instrumento utilizado, é necessário fazer a calibração da fotomultiplicadora. A calibração é necessária para que a intensidade de luz emitida possa ser transformada em *Einstein* (**E**, unidade SI de quantidade de luz emitida). Este procedimento foi efetuado utilizando-se a reação de luminol com H_2O_2 , catalisada por hemina, descrita na literatura³ e que foi estabelecida pelo nosso grupo como reação padrão na determinação de rendimentos de quimiluminescência⁴. Cabe ressaltar, que o rendimento quântico de quimiluminescência da reação de luminol com H_2O_2 ($\Phi_{\text{luminol}} = 0,0114 \pm 0,0006 \text{ E mol}^{-1}$) é independente da concentração inicial do luminol e, também que, a concentração do peróxido de hidrogênio deve ser 100 vezes maior que a concentração do luminol. As soluções utilizadas, exceto a solução estoque do luminol, devem ser preparadas, imediatamente, antes do experimento. Para este procedimento são utilizadas as seguintes soluções: luminol (0,10 mM, em solução tampão de fosfato pH 11,6, $\epsilon = 7600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), H_2O_2 (0,30 % em água deionizada), e hemina bovina dissolvida em meio aquoso alcalino (duas soluções com absorvância 0,6 e 0,2 medidas em 414 nm). Em uma cubeta contendo 2,8 mL de solução de luminol posicionada no espectrofluorímetro sob agitação são rapidamente adicionadas 100 μL de solução de H_2O_2 , seguida da adição de 100 μL da solução de hemina mais diluída (absorvância 0,2). A adição da solução de hemina é acompanhada por um pulso de emissão de luz, seguida de um decaimento relativamente rápido. Quando a intensidade atinge aproximadamente 2% da intensidade máxima de luz, 100 μL da solução de hemina mais concentrada (absorvância 0,6) são adicionados. Observa-se novamente um pulso de luz, o qual retorna rapidamente à linha base. Este procedimento é utilizado para garantir o consumo completo de luminol. Após a

aquisição de sete experimentos é determinada a área abaixo da curva de emissão obtida para cada um dos experimentos.

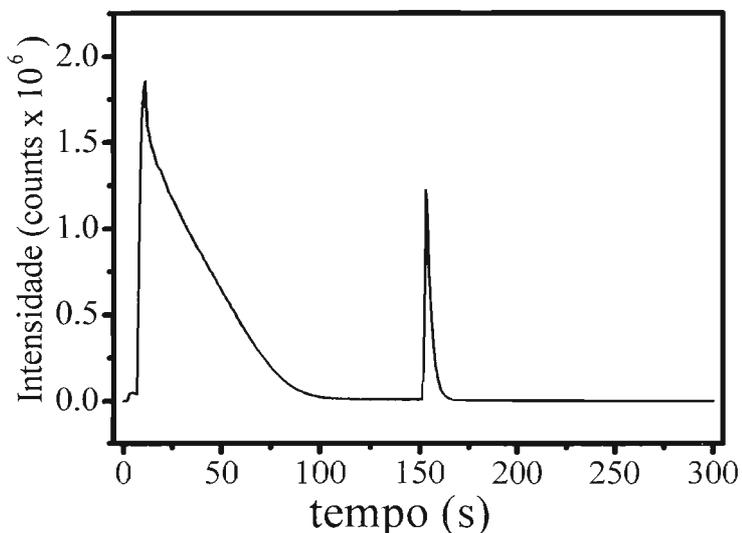


Figura 4: Variação da intensidade de emissão de quimiluminescência em função do tempo na reação de luminol com peróxido de hidrogênio, utilizando hemina bovina como catalisador. O segundo pico obtido corresponde à adição da alíquota da solução de hemina mais concentrada (absorbância 0,6).

O fator de calibração (F_{CF}) é determinado, através do valor da integral abaixo da curva experimental obtida em contagens ou em unidade arbitrária (u.a.). Desta forma pode ser transformada em Einstein (E), ou seja, mols de fótons.

$$F_{CF} = \frac{\Phi_{luminol} n_{luminol}}{Q_{\text{área}}} \quad \text{Equação 4}$$

onde: $Q_{\text{área}}$ = área integrada abaixo da curva de emissão da reação do luminol; F_{CF} = fator de calibração da fotomultiplicadora; $n_{luminol}$ = mols de luminol utilizado na reação; $\Phi_{luminol}$ = rendimento de quimiluminescência do luminol.

2.10 Medida da viscosidade da mistura de tolueno com difenilmetano ($C_{13}H_{12}$).

Para a determinação da viscosidade da mistura de tolueno com $C_{13}H_{12}$ em várias proporções foi utilizado um reômetro Brookfield para baixa viscosidade. As medidas foram executadas a 25 °C.

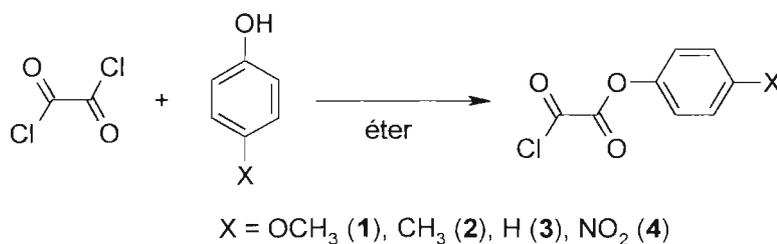
Tabela 5: Viscosidade das misturas tolueno e difenilmetano em várias proporções.

DFM %	η (cP)
0	0,56 ^a
10	0,703 \pm 0,011
20	0,816 \pm 0,035
40	1,050 \pm 0,006
60	1,372 \pm 0,012
80	2,166 \pm 0,021
90	2,573 \pm 0,040

^a obtido da literatura².

2.11 Preparação dos cloretos de feniloxalila substituídos

A mesma metodologia sintética foi utilizada na preparação dos cloretos de feniloxalila substituídos. Assim, será apresentado a seguir o procedimento geral seguido da caracterização de cada composto.



Procedimento geral:

Em um balão de 100 mL, contendo 106 mmol do fenol substituído dissolvido em 60 mL de éter dietílico anidro, foram adicionados, gota a gota, aproximadamente 106 mmol de cloreto de oxalila (9,2 mL, $d = 1,455 \text{ g cm}^{-3}$). A

mistura foi mantida sob agitação à temperatura ambiente durante três dias. Após este tempo, o solvente foi evaporado restando um sólido, exceto para o **2**. Este sólido foi destilado sob pressão reduzida, utilizando banho de silicone e condensador de destilação aquecido [p.e/mmHg: 100 °C / 7 (**1**), 80 °C / 1 (**2**), 145 °C / < 1 (**3**)].

Rendimentos: 62 % (**1**), 82 % (**2**) e 60 % (**3**).

Análise elementar

Composto 1 (%): **observado** 52,21 (C), 3,04 (H) e 19,28 (Cl) / **calculado** 52,06 (C), 2,73 (H) e 19,21 (Cl).

Composto 2 (%): **observado** 54,64 (C) e 3,70 (H) / **calculado** 54,43 (C) e 3,55 (H). Diferentemente dos outros compostos preparados, este composto é um líquido viscoso, por isso não foi possível efetuar a determinação do cloro.

Composto 3 (%): **observado** 50,16 (C), 3,33 (H) e 16,35 (Cl) / **calculado** 50,37 (C), 3,29 (H) e 16,52 (Cl).

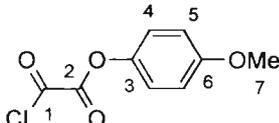
Infravermelho (KBr)

- 1** 1776 e 1753 cm^{-1} (ν , C=O), 689-761 cm^{-1} (δ , C-Cl). 1173 cm^{-1} (δ , C-O éster) 1486 cm^{-1} (δ , C=C "anel aromático") e 3394 cm^{-1} (ν , O-H) (impureza do ácido correspondente).
- 2** 1783 cm^{-1} (ν , C=O), 712 cm^{-1} (δ , C-Cl) 1249 cm^{-1} (δ , C-O éster), 1505 cm^{-1} (δ , C=C "anel aromático").
- 3** 1737 e 1764 cm^{-1} (ν , C=O), 1209 cm^{-1} (δ , C-O), 772 cm^{-1} (δ , C-Cl), 1508 cm^{-1} (δ , C=C) e 3503 cm^{-1} (ν , O-H) (impureza do ácido correspondente).

Espectrometria de Massa

- 1 (EI) Injeção direta, m/z (%): 184 (19,5) M⁺, 156 (6,5), 121 (10,5), 93 (14,84) e 77 (100), além da presença do ácido correspondente, cujo pico do íon molecular é 165 (3,07).
- 2 (CI) Ionização química, m/z (%) [198+H]⁺(0,13), 163 (0,13), [136+H]⁺(9,89), 109 (100), 91 (2,41).
- 3 (EI) Injeção direta m/z (%) 214/216 (5/2) M⁺, 186 (1), 151 (1), 124 (100), 109 (86) e 81 (28). Há também a presença do ácido correspondente, cujo pico do íon molecular é 196 (13).

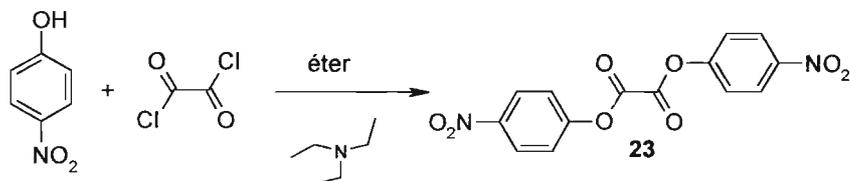
RMN de ¹³C (DRX125 MHz, CDCl₃)

- 3  (δ) 160,8 (C-1), 158,2 (C-6), 154,3 (C-2), 143,4 (C-3), 121,3 (C-4), 114,7 (C-5), 55,6 (C-7) (Anexo 8)

2.11.1 Tentativa de preparação do cloreto de *p*-nitrofeniloxalila (4)

A tentativa de preparação do composto **4** foi feita de acordo com o procedimento descrito na seção 2.11, contudo não foi obtido o produto. Cabe dizer que, embora várias tentativas tenham sido feitas, não foi possível purificar este composto por destilação à pressão reduzida. Embora, a mistura de reação tenha sublimado dentro da aparelhagem de destilação, tentativas de purificação por sublimação também não foram bem sucedidas, resultando em rendimentos insatisfatórios. Apesar do teste com o produto sublimado, juntamente com H₂O₂, imidazol e 9,10-difenilantraceno ter resultado em emissão de luz visível, o resultado da análise elementar mostrou que este composto era o *p*-nitrofenol. Por outro lado, o resultado do espectro na região do infravermelho apresentou as seguintes bandas: 628-753 cm⁻¹ (δ , C-Cl), 1202 cm⁻¹ (δ , C-O), 1757 cm⁻¹ (ν , C=O) banda fina e 3366 cm⁻¹ (ν , O-H) banda larga (proveniente do fenol ou do ácido correspondente).

2.11.2 Preparação do bis(4-nitrofenil) oxalato (23)



Em um balão de fundo redondo de 100 mL com três bocas foram dissolvidos 10 g (72 mmol) de *p*-nitrofenol em 25 mL de éter dietílico anidro. A solução foi resfriada a -10°C e 7,1 mL (50 mmol, $d=0,72 \text{ g/cm}^3$) de trietilamina foram adicionados lentamente. Em seguida foram adicionados lentamente 2,4 mL (27,5 mmol, $d=1,455 \text{ g/cm}^3$) de cloreto de oxalila durante, aproximadamente, 30 minutos. A reação ficou sob agitação à temperatura ambiente durante 13 horas. O solvente foi evaporado à pressão reduzida, restando um sólido marrom o qual foi lavado sob agitação magnética por uma hora com éter de petróleo e, depois, mais uma hora com acetato de etila. O produto foi recristalizado em acetato de etila. **Rendimento:** 47,8% (4,3 g)

Análise elementar:

(%): **observado** 50,60 (C), 2,41 (H) e 8,43 (N) / **calculado** 50,63 (C), 2,95 (H) e 8,40 (N).

Infravermelho (KBr)

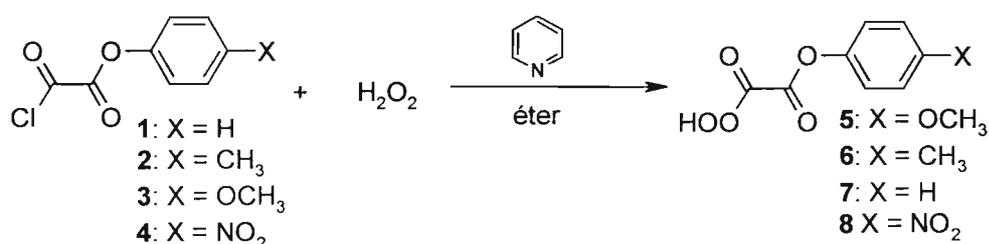
1772 cm^{-1} (v, C=O), δ (C-O) 1348 cm^{-1} , (δ , C-NO₂) 886 cm^{-1} , (δ , C=C) 1484 - 1616 cm^{-1} .

Espectrometria de Massa (Impacto eletrônico)

m/z (%): 332 (1,33) M⁺, 304 (29,49), 166 (43,98), 139 (35,24), 122 (100,00).

2.12 Síntese dos derivados de *O,O*-hidrogênio monoperoxioxalato de arila (5-8)

Os perácidos utilizados neste trabalho foram preparados de acordo com uma metodologia comum. Assim, a exemplo da preparação do cloreto de feniloxalila substituídos, será apresentado um procedimento geral, dando ênfase apenas nas diferenças entre cada preparação.



Procedimento geral:

Em um balão contendo o cloreto de feniloxalila substituído (1-4) em 10 mL de éter dietílico anidro a -25 °C, foi adicionada, gota a gota durante 20 minutos, uma solução etérea de H₂O₂, contendo piridina, sob atmosfera de N₂, conforme mostra a tabela abaixo.

Após 30 minutos de agitação a -25 °C, a mistura foi lavada com uma solução saturada e gelada de cloreto de amônio (3 x 20 mL) e a porção etérea seca com sulfato de magnésio anidro por 10 minutos a 0 °C. Após este tempo o solvente foi evaporado a -40 °C e substituído por 2-4 mL de acetato de etila anidro. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placa de SiO₂ com indicador de fluorescência, 60 F₂₅₄, a -20 °C, e solução de KI 10% como revelador. Foram observados os seguintes fatores de retenção (R_f):

Composto 5: CH₂Cl₂/EtOAc 9,5:0,5 (eluente) / R_f ≈ 0,0 (H₂O₂), R_f = 0,44 (5) e R_f = 0,85 (*p*-metoxifenol).

Composto 6: CH₂Cl₂/EtOAc 8,5:1,5 (eluente) / R_f = 0,63 (6) e R_f = 0,80 (*p*-metilfenol).

Composto 7: CH₂Cl₂/ EtOAc 9:1 (eluente) / R_f = 0,52 (7), R_f = 0,31 (ácido correspondente) revelado com alaranjado de metila e R_f = 0,67 (fenol).

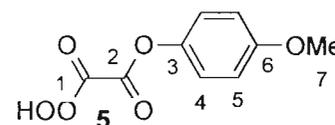
O rendimento foi calculado através da determinação do conteúdo peroxídico.

Tabela 6: Relação em mols dos reagentes utilizados para a preparação dos compostos 5 a 8.

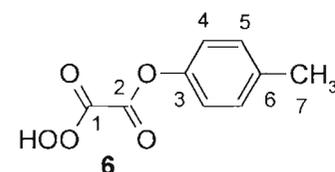
Produto	(Reagente) mol	H ₂ O ₂ (mol)	Piridina (mol)	Rendimento %
5	3 (3,10)	31,0	3,10	13,5
6	2 (3,03)	30,3	3,03	13,0
7	1 (3,25)	32,5	3,25	31,2
8	4 (2,62)	26,2	2,62	não observado

Caracterização: RMN de ¹³C Bruker 125,7 MHz, Acetona, D₆-40 °C, deslocamento químico em relação ao solvente.

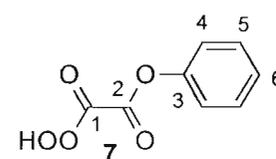
RMN de ¹³C (δ) 154,8 (C-1), 155,9 (C-2), 143,8 (C-3), 122,8 (C-4), 114,9 (C-5), 158,3 (C-6) e 55,4 (C-7).



RMN de ¹³C (δ) 154,7 (C-1), 156,0 (C-2), 148,4 (C-3), 121,6 (C-4), 130,7 (C-5), 137,0 (C-6) e 20,6 (C-7).



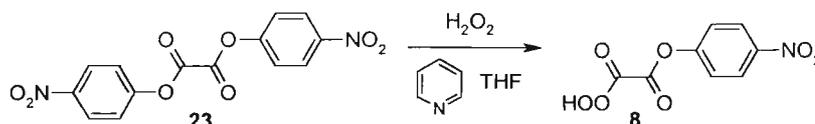
RMN de ¹³C (δ), 154,8 (C-1), 156,1 (C-2), 150,6 (C-3), 122,0 (C-4), 130,5 (C-5), 127,5 (C-6).



2.12.1 Tentativa de síntese do O,O-hidrogênio monoperoxioalato de *p*-nitrofenila (**8**) a partir do composto **4**

A primeira tentativa de preparação do composto **8** foi feita de acordo com o procedimento descrito na seção 2.12. Entretanto, não foi observada a presença de mancha peroxidica. CCD: CH₂Cl₂/EtAc 9:1 (eluente) / R_f =0,05 (H₂O₂) e R_f=0,80 (*p*-nitrofenol).

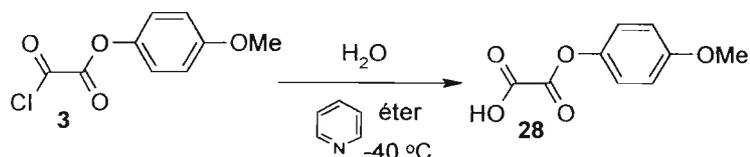
2.12.2 Segunda tentativa de síntese do O,O-hidrogênio monoperoxioalato de *p*-nitrofenila (**8**) a partir do composto **23**



Em um balão de 125 mL com três bocas foram dissolvidos 100 mg (0,3 mmol) de **23** em 40 mL de THF. Em seguida adicionaram-se 67,8 μL (0,15 mmol - 2,21 M) de H₂O₂ diluído em 5 mL de THF através de um funil de adição e 1,2 μL (0,015 mmol, d=1,05 g cm⁻³) de piridina em 5 mL através de outro funil de adição. A reação foi conduzida a -40 °C sob argônio e acompanhada por CCD em placa de SiO₂ com indicador de fluorescência, a -20 °C, 60 F₂₅₄, eluídas em CH₂Cl₂/Hex/ACN 5:2:3. As placas foram reveladas com uma solução aquosa de KI 10%. Após 35 minutos de reação observou-se a presença de uma substância com grupo funcional peroxidico (R_f = 0,51).

Seguiu-se o mesmo processo de lavagem utilizados na preparação dos outros perácidos, entretanto não foi observado conteúdo peroxidico após a lavagem com NH₄Cl.

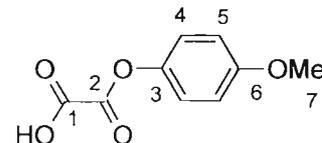
2.13 Síntese do ácido *p*-metoxifeniloxálico (28)



Em um balão de 50 mL foram dissolvidos 300 mg (1,4 mmol) de cloreto de *p*-metoxifeniloxalila (**3**) em 10 mL de éter anidro. Durante 20 minutos foi adicionada, gota a gota, uma solução etérea contendo água (0,40 mL / 22,22 mmol) e piridina (0,11 mL / 1,4 mmol), sob atmosfera de N₂ seco. Após 30 minutos de agitação a -40 °C, a mistura reacional foi lavada com uma solução saturada e previamente resfriada de cloreto de amônio (3 x 15 mL) e a porção etérea seca com sulfato magnésio por 10 minutos a 0 °C. O solvente foi evaporado a -10 °C, obtendo-se um sólido branco. CCD -20 °C, eluente: CH₂Cl₂/HEX/ACN 15:3:2 e revelação com alaranjado de metila (R_f = 0,12).

RMN de ¹³C (Acetona-D₆, -40 °C, 125 MHz)

(δ): 158,9 (C-1), 158,6 (C-2), 144,6 (C-3), 122,9 (C-4), 115,4 (C-5), 158,1 (C-6), 55,9 (C-7) (anexo 7).

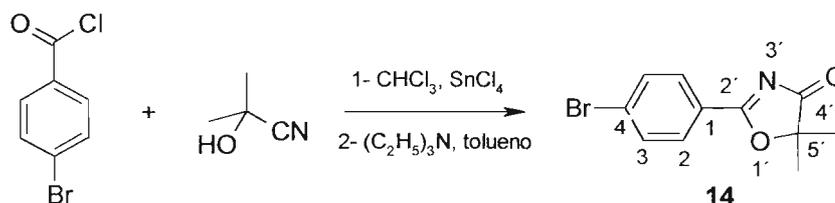


2.14 Síntese de derivados de oxazolonas

2.14.1 Preparação do MnO₂ em carvão ativo¹.

Uma solução contendo 20 g de KMnO₄ em 250 mL de água destilada foi agitada com 10g de carvão ativo a temperatura ambiente por 48 horas. Após este tempo a mistura foi filtrada em um funil de Büchner, lavada com água destilada e seca à temperatura de 105 -110 °C por 24 horas.

2.14.2 2[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (14)



Em um balão de 125 mL de 3 bocas foram dissolvidos 8,7 g (40 mmol) de cloreto de *p*-bromofenil benzoíla em 40 mL de clorofórmio seco juntamente com 3,4 g (40 mmol) de cianidrina de acetona ($d = 0,93 \text{ g/cm}^3$). Em seguida, utilizando um funil de adição, foram adicionados lentamente 10,4 g (40 mmol) de cloreto de estanho IV ($d = 2,217 \text{ g/cm}^3$). A reação permaneceu sob agitação à temperatura ambiente sob argônio por 20 horas.

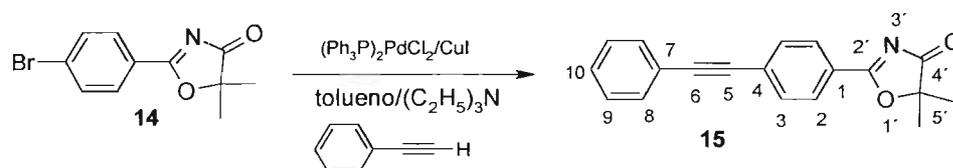
O sal formado foi filtrado em um funil de placa sinterizada, em seguida adicionado a 150 mL de tolueno seco juntamente com 10 mL (71 mmol, $d=0,72 \text{ g/cm}^3$) de trietilamina e aquecido à temperatura de refluxo por 30 minutos. Após este período o solvente da mistura reacional foi evaporado à pressão reduzida, ao sólido restante foram adicionados mais 150 mL de tolueno, submetendo a mistura novamente ao refluxo por 30 minutos. O solvente foi removido à pressão reduzida e o produto recristalizado em etanol/tolueno.

Rendimento: 20% (2,14 g).

RMN de ¹H (DMSO D₆), Bruker 250MHz, (δ): 7,8 (d, 2H, H-2, ³J=8,68 Hz), 8,1 (d, 2H, H-3, ³J=8,68 Hz) e 1,5 (s, 6H, CH₃) (anexo 13).

RMN de ^{13}C (δ): 129,5 (C-1), 132,5 (C-2), 131,3 (C-3), 124,9 (C-4), 183,5 (C-2'), 193,6 (C-4'), 85,7 (C-5') e 22,7 (2 x CH_3) (anexo 14).

2.14.3 2-[4-benzilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15)



Em um balão de 50 mL do tipo “Schlank” foram adicionados 0,5 g (1,86 mmol) do composto **14** em 15 mL de tolueno seco juntamente com 20 mL (142 mmol, $d=0,72 \text{ g/cm}^3$) de trietilamina e 0,19 g (1,86 mmol) de fenilacetileno ($d = 0,93 \text{ g/cm}^3$). Em seguida foram adicionados 0,0035 g (0,0185 mmol) de CuI e 0,0130 g (0,0186 mmol) de $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2$ (II). A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica com uma mistura de tolueno/EtOAc 9:1 como eluente. O produto desejado possuía um $R_f = 0,39$ e fluorescência azul.

Rendimento: 13% (69 mg)

Análise elementar

(%): **observado** 76,03 (C), 5,44 (H), 4,57 (N) e 13,96 (O) / **calculado** 78,87 (C), 5,23 (H), 4,85 (N) e 11,06 (O).

Infravermelho (KBr)

2993 cm^{-1} (ν , H-C), 2222 cm^{-1} (ν , C-C), 1744 cm^{-1} (ν , C=O), (ν , C=N) 1604 cm^{-1} .

Espectrometria de Massa (Impacto eletrônico)

m/z (%): 289 (93) $\text{M}^{+\bullet}$, 203 (100), 176 (10) e 43 (10)

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, TMS)

(δ) 7,7 (d, 2H, H-2, $^3J=8,5\text{Hz}$), 8,2 (d, 2H, H-3, $^3J=8,5\text{Hz}$), 7,54 (m, 2H, H-8), 7,36 (m, 2H, H-9) e 1,61 (s, 6H, CH_3).

RMN de ^{13}C

(δ) 130,3 (C-1), 129,9 (C-2), 132,4 (C-3), 125,3 (C-4), 88,5 (C-5), 94,1 (C-6), 122,4 (C-7), 131,8 (C-8), 128,5 (C-9), 129,1 (C-10), 184,2 (C-2'), 194,1 (C-4') e 85,7 (C-5').

UV $\lambda_{\text{máx}}$ 323 nm ($\log_{\epsilon} = 4,51$)

2.14.4 2-[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-tiona (16)¹

0,5 g (1,86 mmol) do composto **14** foi adicionado em 15 mL de toluol e em seguida 0,53 g (1,21 mmol) do reagente de Lawesson (**26**). A mistura foi aquecida à temperatura de refluxo por 10 horas, sendo que a formação do produto foi acompanhada por CCD. O produto formado foi purificado por coluna cromatográfica utilizando sílica (Kieselgel Merck 0,040mm-0,063mm) como fase estacionária e tolueno como fase móvel.

Rendimento: 47%. (0,25 g)

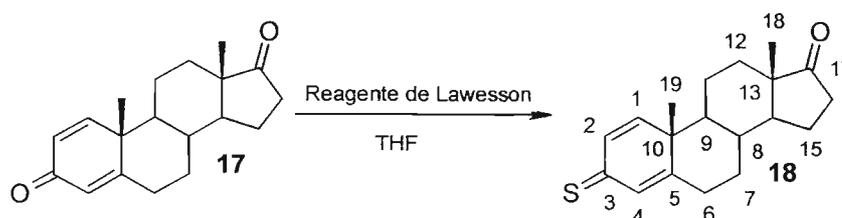
RMN de ¹H (Bruker 250 MHz) CDCl₃, TMS)

(δ) 7,63 (d, 2H, H-2, $J^3=6,8\text{Hz}$), 8,09 (d, 2H, H-3, $J^3=6,8\text{Hz}$) e 1,63 (s, 6H, CH₃).

RMN de ¹³C

(δ) 124,5 (C-1), 132,6(C-2), 131,1(C-3), 124,5(C-4), 182,1(C-2'), 233,7(C-4'), 101,3(C-5') e 27,26 (2xCH₃) (anexo15).

2.14.5 Androsta-1,4-dieno-3-tiona-17-ona (18)



2g (7,04 mmol) de ADD (17) e 1,86g (4,22mmol) de reagente de Lawesson foram adicionados em 50 mL de THF seco. Após 1 hora de agitação à temperatura ambiente formou-se um produto azul o qual foi isolado em coluna cromatográfica utilizando sílica (Merck-Kieselgel 0,043mm-0,060mm) e tolueno/THF 6:4. O produto purificado foi recristalizado de acetato de etila.

Rendimento: 88% (1,86 g).

Pf 162,3-163,6 °C (literatura 165-168 °C)⁵.

RMN de ¹H (Varian 500 MHz, CDCl₃, TMS)

(δ) 0,95 (s, 3H, CH₃-18), 1,29 (s, 3H, CH₃-19), 6,80 (d, 1H, $J^3 = 9,65$ Hz, H-1), 6,86 (m, 1H, H-4) e 6,89 (dd, 1H, $J^3=9,64$ Hz, $J^4=1,65$ Hz, H-2).

RMN de ¹³C

(δ) 133,5 (C-4), 135,6 (C-2), 147,4 (C-1), 160,9 (C-5), 218,9 (C-3) e 217,5 (C-17) (anexo16).

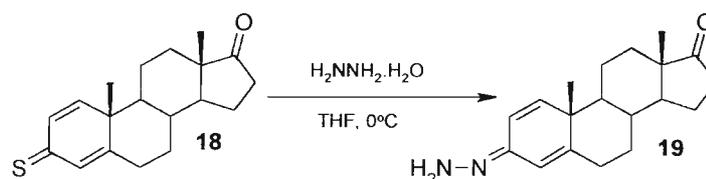
Infravermelho (KBr)

(ν , C=O) 1737 cm⁻¹, (δ , C=S) 1134 cm⁻¹, (δ , C=C) 1625 cm⁻¹, (ν , C-H) 2926 cm⁻¹

Espectrometria de Massa (ionização química)

m/z (%): [300+CH₅⁺]⁺ (M⁺) (100), [300+H⁺]⁺ (M⁺) (40), [268+H⁺] (11).

2.14.6 Androsta-1,4-dieno-3 hidrazona-17-ona (19)

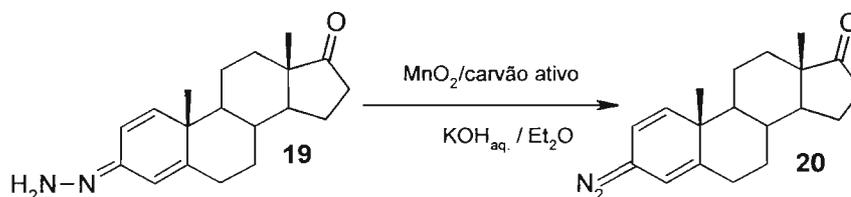


0,3 g (1 mmol) do composto **18** foi adicionado em 30 mL de THF seco e a temperatura desta solução foi diminuída para 0°C . Em seguida foi adicionado 0,1 g (2 mmol) de hidrazina hidratada. formou-se um produto azul-violeta que permaneceu sob agitação por mais 10 minutos à temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1), sendo o produto purificado por coluna cromatográfica. Este composto foi caracterizado apenas por infravermelho e comparado com a literatura⁵.

Rendimento: 91%.(0,27 g)

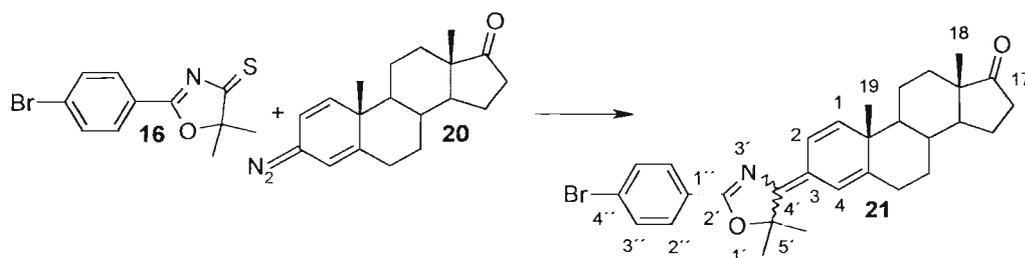
Infravermelho (KBr)

(v, N-H) 3386 cm^{-1} , (v, N-H) 3221 cm^{-1} , (v, C=O) 1734 cm^{-1} e (δ , C=N) 1658 cm^{-1} .

2.14.7 Androsta-1,4-dieno-3 diazo 17-ona (20)¹

3 g de $\text{MnO}_2/\text{carvão ativo}$ (1:2) foram adicionados em 20 mL de éter dietílico, sendo a mistura agitada no ultra-som durante 5 minutos. Em seguida foi adicionado 0,27 g (0,91 mmol) do composto **19** juntamente com 5 gotas de KOH aquoso. Em poucos minutos formou-se uma solução levemente azulada. Após 1 hora de reação, a solução foi retirada e transferida para outro recipiente. Ao resíduo foram adicionados mais 20 mL de éter dietílico e submetido à agitação por mais 30 minutos à temperatura ambiente. É importante ressaltar que, este produto é estável apenas por algumas horas, portanto é recomendável executar a etapa seguinte, logo ao término desta reação.

2.14.8 3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]-androsta-1,4-dien-17-ona (21)¹



0,108 g (0,38 mmol) do composto **16** foi adicionado à solução do composto **20**, proveniente de 0,27g (0,91mmol) de **19**, e a mistura da reação foi submetida a 24 horas de repouso à temperatura ambiente. A reação despreendeu N₂ e precipitou enxofre. A formação do produto foi acompanhada por CCD (tolueno/EtOAc 95:5). Ao final da reação observou-se a formação de três substâncias amarelas fluorescentes: R_f = 0, R_f = 0,38 e R_f = 0,9. As substâncias foram separadas por cromatografia em coluna de sílica utilizando tolueno como eluente. O produto corresponde ao R_f = 0,38.

Rendimento: 32% (E/Z 0,78/0,99)

Infravermelho (KBr)

(ν, H-C) 2932 cm⁻¹, (δ, C=N) 1664 cm⁻¹, (ν, C=O) 1737, (δ, C-O) 1010 cm⁻¹, (δ, C-Br) 1068 cm⁻¹.

RMN de ¹H (Varian 300MHz, CDCl₃, TMS)

(δ) 0,91 (s, 3H, CH₃-18), 1,19 (s,3H, CH₃-19), 1,66 (s, 6H, CH₃-5'), 5,85 (d, 1H, H-1E, J³ =10,1), 5,87 (d, 1H, H-1Z, J³=10,1), 6,08 (s,1H, H-4E), 6,83 (s,1H, H-4Z), 7,02 (dd, 1H, H-2E, ³J=10,1 Hz, ⁴J=1,78 Hz), 6,25 (dd, 1H, H-2Z, J³=10,15, J⁴=1,8), 7,51-7,61 (m, 2-H, 3''-aromático), 7,85-7,90 (m,2-H, 2''-aromático).

B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo

RMN ^{13}C (δ ppm)

(δ) 13,83 (C-18), 14,17 (C-15), 21,78 (C-19), 21,00, 27,08 (2xCH₂), 26,98 (C-CH₃), 31,40, 32,35 (2xCH₂), 35,62 (C-8), 35,71 (C-16), 41,44 (C-10), 47,77 (C-13), 50,95 (C-14), 52,99 (C-9), 87,30 (C-5'), 115,23 (C-4E), 125,87 (C-2Z), 117,15 (C-3), 117,30 (4-Z), 122,01 (C-4''), 126,98 (C-1''), 126,89 (C-2E), 125,87 (C-2Z), 129,58 (C-2''), 131,58 (C-3''), 134,24 (C-1E), 136,29 (C-1Z), 147,31 (C-5E), 145,61 (C-5Z), 149,57 (C-4'), 163,39 (C-2'), 219,81 (C-17).

Espectrometria de Massa (ionização química)

m/z (%): [520+H⁺]⁺ (M⁺) (81), 504 (17), 442 (100), 426 (20).

2.15 Referências

¹ Wagner K, Weiss D & Beckert R, "New Luminescent Materials Based on a Steroid Molecule", *Eur. J. Org. Chem.*, 3001-5, 2000.

² Handbook Chemistry and physics 79th, 1998-1999, CRC PRESS.

³ Lee J & Seliger HH "Absolute Spectral Sensitivity of Phototubes and the Application to the Measurement of the Absolute Quantum Yields of Chemiluminescence and Bioluminescence" *Photochem. Photobiol.*, **4**, 1015-48, 1965.

⁴ Stevani CV, Silva SM & Baader WJ, "Studies on the Mechanism of the excitation step in the peroxyoxalate system. *Eur. J. Org. Chem.*, 4037-46, 2000.

⁵ Weiß D, Gaudig U & Beckert R, "Eine neue Methode zur Herstellung von Thioxosteroiden", *Synthesis*, 751-2, 1992.

3 Resultados

3.1 Síntese e estudo dos derivados de *O,O*-hidrogênio monoperoxioxalato de arila (5-7)

3.1.1 Síntese e caracterização

A síntese dos intermediários (5-7) foi efetuada a partir dos cloretos de feniloxalila substituídos (1-3) e, de uma maneira geral, obtidos com rendimentos satisfatórios. Entretanto, devido à rápida hidrólise sofrida por estes compostos, o ideal é armazená-los em ampolas condicionadas abaixo de -20 °C. A tabela 7 apresenta a relação em mol entre fenol e cloreto de oxalila utilizados na preparação de cada derivado, juntamente com os rendimentos e pontos de ebulição.

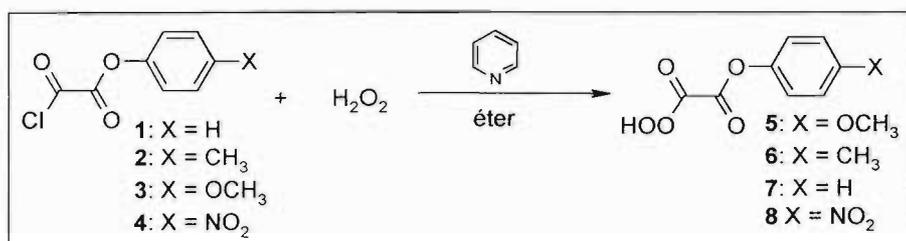
Tabela 7: Resultados obtidos na preparação dos compostos 1-4.

	Fenol/Cloreto de Oxalila mmol / mmol	Produto Rendimento (%)	Destilação (°C / mmHg)
H (1)	1:1,5	62	100 / 7
CH ₃ (2)	1:1,5	82	80 / 1
OCH ₃ (3)	1:1,2	84	145 / 6
NO ₂ (4)	1:1,4	6,33	sublimado

Exceto o composto 4, os demais (1-3) foram submetidos à destilação sob pressão reduzida para separar o cloreto de fenila monosubstituído do derivado dissustituído, possivelmente formado pela reação com dois fenóis. Na destilação do cloreto de feniloxalila (1) é importante mencionar que se a destilação for feita sob pressão abaixo de 5 mmHg, o composto 1 é arrastado para o “trap” de segurança. O cloreto de *p*-metilfeniloxalila (2) foi o único dos três cloretos preparados que se apresentou como um líquido amarelado de característica levemente oleosa, enquanto que os demais derivados formaram um sólido branco, após o processo de destilação.

A análise na região do infravermelho do composto **2** apresentou apenas uma banda referente ao estiramento de carbonila em 1783 cm^{-1} . Este fato experimental nos levou a inferir que as freqüências das carbonilas, pertinentes aos grupos éster e cloreto de acila, estariam muito próximas, não sendo possível identificá-las separadamente. Já os outros derivados (**1** e **3**) apresentaram duas bandas, embora também muito próximas.

A reação de cada derivado do cloreto de feniloxalila com peróxido de hidrogênio na presença de piridina em éter dietílico, resultou na formação dos derivados do O,O-hidrogênio monoperóxioxalato de arila (**5-7**)



Cabe ressaltar, que os compostos (**5-7**) se apresentaram instáveis a temperatura ambiente, decompondo-se rapidamente (no caso do composto **7**, a decomposição ocorreu em alguns minutos), sendo necessário armazená-los a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. A formação do produto foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), que ao ser revelada com solução aquosa de KI 10% apresentou uma mancha escura característica de função peroxídica, devido à oxidação do iodeto para iodo. Este comportamento foi observado para os três derivados (**5-7**). Acompanhou-se, também, a formação do ácido correspondente com alaranjado de metila (pH 3,2-4,4). Foi interessante observar que ao borrifar a placa com alaranjado de metila, formava-se uma mancha branca na região do perácido. Além da formação do ácido, também foi observada a presença do fenol correspondente em algumas preparações.

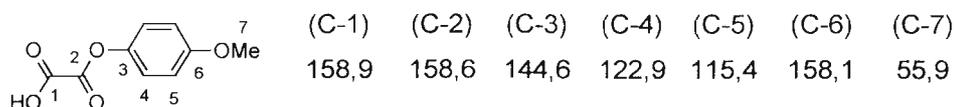
Com o objetivo de separar o composto peroxídico das demais impurezas presentes na amostra, tentou-se uma separação por cromatografia circular dentro de uma câmara fria ($7\text{ }^{\circ}\text{C}$), usando como eluente a mistura de

CH₂Cl₂/Hex/ACN 7:2:1, obtendo-se a separação de duas substâncias não peroxídicas, e uma terceira que ficou retida na placa, cuja revelação, com solução de KI10%, também mostrou não ser peroxídica. O mesmo comportamento foi observado na tentativa de purificação de um composto análogo¹, com o cloro como substituinte no anel aromático, por cromatografia relâmpago em coluna, utilizando sílica, alumina e florisil como fases estacionárias, em várias misturas de CH₂Cl₂/Hex a -40 °C. Em tal purificação, não foi obtido sucesso, devido à decomposição do peróxido. Tal fato também foi observado para alquil peroxioxalatos, os quais também sofreram decomposição quando submetidos à cromatografia em coluna².

Como a tentativa de purificação do composto **7** não foi bem sucedida, abandonou-se a idéia de purificação, preocupando-se em analisar a influência das impurezas na ocasião dos estudos cinéticos futuros.

3.1.1.1 O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de *p*-metoxifenila (**5**)

A espectroscopia na frequência de RMN de ^{13}C constituiu a técnica mais adequada para caracterizar os compostos **5** a **7**, uma vez que os compostos preparados, geralmente continham como impurezas o derivado do ácido oxálico e o fenol correspondente. Portanto, técnicas como espectroscopia na região de infravermelho ou espectrometria de massas não seriam satisfatórias para identificar cada composto presente na mistura. As carbonilas, tanto do perácido como do ácido, possuem deslocamentos químicos muito próximos, que variam entre 154 a 158 δ , o que nos levou a preparar um dos compostos com alta pureza para que este fosse submetido à análise espectroscópica detalhada. O composto **5** foi escolhido como composto modelo, pois, em relação aos outros, foi o que apresentou maior facilidade de manipulação. A análise foi iniciada com a preparação e caracterização por RMN de ^{13}C ($-40\text{ }^\circ\text{C}$, Acetona D_6 , Varian DRX500) do ácido *p*-metoxifeniloxálico (**28**), resultando nos seguintes deslocamentos químicos:



Na região de carbonilas de éster e ácido foram observados três sinais, dois deles foram atribuídos aos carbonos carbonílicos 1 e 2 (δ 158,9 e 158,6 respectivamente) e o deslocamento observado em δ 158,1 foi atribuído ao carbono aromático 6. A atribuição dos deslocamentos químicos do anel aromático foi feita em analogia aos dados relatados na literatura para o ácido *p*-clorofeniloxálico³ (Anexo 1).

A análise da mistura contendo o perácido foi feita nas mesmas condições do ácido *p*-metoxifeniloxálico (**28**). Assim, no espectro do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de *p*-metoxifenila (**5**) foi observado a presença do composto **28** como impureza, mas não a presença do *p*-metoxifenol, devido à ausência de

sinais em δ 149,9 e δ 151,2 provenientes dos deslocamentos químicos dos carbonos 3 e 6 respectivamente. A atribuição dos sinais do perácido foi feita com base no composto O,O-hidrogênio monoperóxioalato de *p*-clorofenila (**8A**)³, através da contribuição dada pelas carbonilas dos grupos éster e peróxido ao anel aromático. Desta forma também, foi possível prever o deslocamento químico do anel aromático para cada mudança de substituinte (Anexo 1).

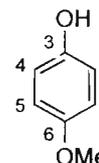


Tabela 8: Deslocamentos químicos observados no O,O-hidrogênio monoperóxioalato de *p*-metoxifenila (**5**) e ácido *p*-metoxifeniloxálico (**28**), juntamente com as intensidades relativas de cada. Acetona D₆, -40 °C, Varian DRX500.

	OH	Obs.	Cal.	OOH	Obs.	Cal.
	1	158,1 (1,18)	158,5 ^a	1	154,8 (0,75)	154,6 ^a
	2	157,9 (0,91)	157,8 ^a	2	155,9 (0,92)	156,3 ^a
	3	144,1 (1,00)	143,2	3	143,8 (1,00)	142,9
	4	122,8 (2,18)	123,2	4	122,7 (3,00)	123,1
	5	114,8 (2,16)	115,7	5	114,9 (3,00)	115,8
	6	158,4 (1,27)	158,0	6	158,3 (1,42)	158,3
	7	55,49 (1,09)	54	7	55,47 (1,09)	54

^a Deslocamentos químicos obtidos da literatura³.

Os sinais observados na análise por RMN de ¹³C foram atribuídos aos compostos **5** e **28**. Na região de carbonila de éster foram observados sinais em δ 154,8 e 155,9 (perácido) e 158,1 e 157,9 (ácido). Os sinais em δ 158,3 e 158,4 foram atribuídos ao carbono 6 do anel aromático do perácido e do ácido, respectivamente (Anexo 4). Os sinais atribuídos aos carbonos 7 do perácido (δ 55,47) e do ácido (δ 55,49), por apresentarem sinais muito próximos, foram diferenciados com base em simulação feita pelo programa *MESTRE C 2.3*.

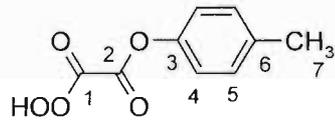
A adição de KI para reduzir o perácido, resultou no completo desaparecimento dos sinais em δ 154,8 e 155,9 atribuídas às carbonilas 1 e 2 do perácido. Deste modo, foi possível distinguir os deslocamentos químicos das carbonilas do perácido das carbonilas do ácido (Anexo 6). Em δ 162,5 foi observado um sinal que pode ser referente à formação do ácido oxálico, pois na

redução do perácido é possível também a formação deste tipo de composto, cujo sinal pode ser observado em aproximadamente δ 160¹¹. Ademais, os sinais em δ 114,9; δ 122,8 e δ 143,8 (região do anel aromático) diminuíram de intensidade em relação aos sinais (δ 114,8; δ 122,7 e δ 144,1) dos carbonos do anel aromático proveniente do ácido **28**. Ainda, na região de aromáticos foram observados sinais em δ 114,7 e 122,6 que, a princípio, poderiam ser atribuídos à formação do *p*-metoxifenol. Contudo, não foram observados sinais em δ 149,9, δ 115,2 e δ 151,2, os quais seriam os sinais aproximados para o *p*-metoxifenol. Foram também observados sinais de baixa intensidade em δ 18,5; δ 69,4; δ 125,2 e δ 137,0. Porém, de acordo com os deslocamentos esperados para os principais produtos da reação, não existe proposta para tais observações. Isto também vale para o sinal observado em δ 157,3. Finalmente, os experimentos de adição de KI confirmam claramente a atribuição dos sinais de RMN de ¹³C feita para o perácido **5**, pois todos os sinais atribuídos a este composto sofreram alterações consideráveis. Os sinais atribuídos as carbonilas desapareceram completamente e os sinais atribuídos aos carbonos do anel aromático diminuíram de intensidade em relação ao anel aromático do ácido **28** (Anexo 6).

3.1.1.2 O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de *p*-metilfenila (6)

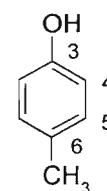
De acordo com o resultado da análise em RMN de ^{13}C , a amostra analisada era composta basicamente do perácido **6** e do *p*-metilfenol. O derivado ácido, geralmente encontrado em concentração expressiva, estava presente na mistura em apenas 1%. Portanto, os sinais relacionados ao ácido apresentaram fraca intensidade. Os deslocamentos químicos relacionados ao composto **6** estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9: Deslocamentos químicos observados no O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de *p*-metilfenila (**6**), juntamente com as intensidades relativas. Acetona D_6 , $-40\text{ }^\circ\text{C}$, Varian DRX500.

	OOH	Obs.	Cal.
	1	154,7 (1,08)	154,6 ^a
	2	156,0 (1,04)	156,3 ^a
	3	148,4 (1,00)	147,8
	4	121,6 (2,80)	121,9
	5	130,7 (3,20)	130,9
	6	137,0 (1,05)	135,9
	7	20,6 (1,09)	20

^a Deslocamentos químicos obtidos da literatura³

Além destes deslocamentos químicos, foram observados também sinais relacionados ao *p*-metilfenol, cujos deslocamentos e intensidades relativas foram: δ 155,7 (1,01), 115,4 (2,03), 130,4 (2,05), 128,3 (1,00), 20,3 (1,03), para os carbonos 3, 4, 5, 6 e 7 respectivamente.



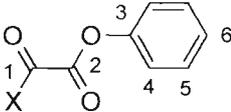
Conforme fora mencionado, o ácido *p*-metilfeniloxálico apresentou deslocamentos químicos de baixa intensidade (Anexo 9), porém não foi possível identificar os deslocamentos químicos provenientes das carbonilas, apenas os carbonos do anel aromático, cujos sinais foram δ 149,2, 136,7, 121,5 e 20,5. Ademais, foi observada a presença de éter dietílico (δ 66,1 e 15,4) proveniente da preparação de **6**, uma vez que este fora usado como solvente, e

um deslocamento em δ 125,3 que não pode ser atribuído a nenhum dos compostos presentes na mistura.

3.1.1.3 O,O-hidrogênio monoperóxiooxalato de fenila (7)

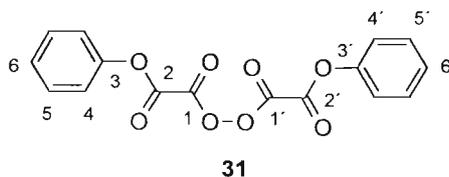
Na análise do O,O-hidrogênio monoperóxiooxalato de fenila (7) por RMN de ^{13}C foram observadas as presenças de ácido feniloxálico e fenol, além da presença do composto 7.

Tabela 10: Deslocamentos químicos observados no O,O-hidrogênio monoperóxiooxalato de fenila (7) e ácido feniloxálico, juntamente com as intensidades relativas de cada. Acetona D_6 , -30 °C, Varian DRX500.

	OH	Obs.	Cal.	OOH	Obs.	Cal.
	1	158,8 (0,92)	158,5 ^a	1	154,8 (0,98)	154,6 ^a
	2	157,9 (0,89)	157,8 ^a	2	156,1 (0,53)	156,3 ^a
	3	150,9 (1,00)	151,1	3	150,6 (1,00)	150,8
	4	122,0 (2,11)	122,1	4	121,9 (2,26)	122,0
	5	130,4 (1,92)	130,1	5	130,5 (2,74)	130,2
	6	127,2 (0,92)	126,5	6	127,5 (1,02)	126,8

^a Deslocamentos químicos obtidos da literatura³

Os deslocamentos químicos observados em δ 150,6, 122,0, 130,5 e 127,5 foram atribuídos aos carbonos 3, 4, 5 e 6 do anel aromático de 7 respectivamente. No mesmo espectro de RMN de ^{13}C também havia um composto que não pode ser identificado, cuja quantidade na mistura era o equivalente a 10,3%, segundo a integração dos sinais. Em primeira análise, nossa proposta estrutural seria o peranidrido 31; muito embora, nem todos os sinais relativos a este composto estivessem presentes. Os sinais excedentes foram: δ 117,4, 121,4, 123,9, 128,7, 153,0 e 157,03 (Anexos 11 e 12).

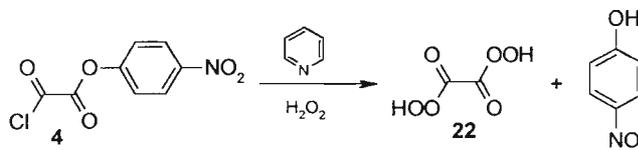


De fato, considerando que, a estrutura do peranidrido **31** é semelhante à do composto **7**, esperar-se-ia que os deslocamentos químicos para ambos compostos fossem também semelhantes. Outro fato que corrobora este argumento está relacionado com as intensidades relativas dos sinais de **31**, que deveriam ser 1:1:1:2:2:1. Entretanto, as intensidades relativas observadas foram 1:3,5:3:3,6:3,2:0,36, respectivamente. Sendo assim não há uma proposta estrutural consistente para os sinais observados.

3.1.1.4 Tentativa de preparação do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de *p*-nitrofenila (**8**)

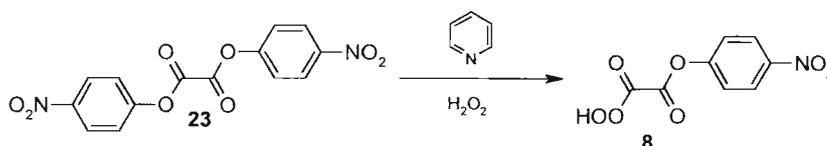
Na tentativa de preparação deste composto foram encontradas várias dificuldades. Primeiramente, o cloreto de *p*-nitrofeniloxalila (**4**) não pôde ser destilado, visto que sublimava, cristalizando ao longo da aparelhagem de destilação. Por outro lado, a tentativa de purificação por sublimação apresentou baixo rendimento, devido ao controle da temperatura, sempre abaixo de 110 °C, para que não ocorresse degradação do composto **4**. Ademais, as técnicas utilizadas para a caracterização, principalmente a análise elementar, não revelaram a presença de **4**, embora o teste qualitativo de quimiluminescência fosse positivo. Como os processos de purificação não foram eficientes, o cloreto de *p*-nitrofeniloxalila (**4**) foi utilizado sem purificação prévia na tentativa de preparação do perácido **8**. A reação do composto **4** com H₂O₂ efetuada na presença de piridina foi acompanhada por CCD, sem, contudo, detectar a presença de um composto peroxídico. Além disso, durante a extração, com uma solução aquosa saturada de NH₄Cl, um processo necessário para retirar o excesso de cloreto de piridínio e H₂O₂, observou-se uma coloração amarela. Este fato indica que talvez tenha ocorrido a formação de *p*-nitrofenol, devido à hidrólise do composto **8**, eventualmente formado em pequenas quantidades, do composto **4** ou proveniente da formação do ácido diperoxálico (**22**) (Esquema 15). Este último pode ser formado pela adição do peróxido de hidrogênio à carbonila do éster. A formação de carga positiva no oxigênio ligado ao anel aromático, devido ao efeito atraente de elétron do grupo nitro na posição *para*, resultaria no aumento da reatividade da carbonila, ligada neste oxigênio, frente ao ataque nucleofílico do peróxido de hidrogênio. Ademais o peróxido de hidrogênio encontra-se em excesso estequiométrico de dez vezes.

Esquema 15



Tendo isto em vista, foi testada uma outra abordagem envolvendo a reação de bis(4-nitrofenil) oxalato (**23**) com peróxido de hidrogênio na presença de piridina visando a obtenção do composto **8** (Esquema 16). Este método, à princípio, apresentava vantagens em relação ao método utilizado na obtenção dos outros perácidos pois evitava a preparação do cloreto de *p*-nitrofeniloxalila (**5**) bem como as dificuldades decorrentes de sua purificação. Neste caso, o peróxido de hidrogênio foi usado como reagente limitante (relação molar **23**: H_2O_2 de 1:0,5) para evitar uma suposta formação de ácido diperoxálico (**22**). Após 35 minutos de reação a $-40\text{ }^\circ\text{C}$ sob argônio, detectou-se uma substância peroxídica com $R_f = 0,65$ quando revelada com solução aquosa de KI 10% (placa de SiO_2 , CH_2Cl_2 /Hex/ACN 5:2:3, -20°C), que, à princípio, poderia ser o perácido **8**. Entretanto, após a lavagem com uma solução saturada e gelada de cloreto de amônio não se observou mais a presença da substância peroxídica. Na etapa de evaporação do solvente observou-se a formação de alguns cristais brancos, que, de acordo com o teste de KI, não eram peroxídicos. Estes cristais também não eram do ácido correspondente, cuja identificação foi feita com alaranjado de metila. O sobrenadante proveniente da formação dos cristais também não continha substância peroxídica. Deste modo, cessou-se as tentativas de preparar o composto **8**.

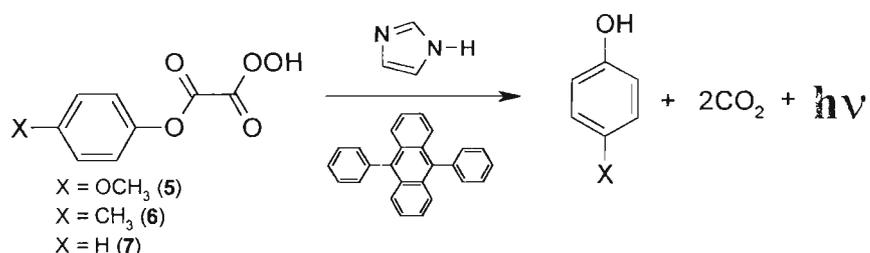
Esquema 16



3.2 Estudo das propriedades de quimiluminescência dos intermediários 5-7

As propriedades de quimiluminescência de cada perácido foram estudadas pela reação destes compostos (5-7), catalisados por imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) em acetato de etila anidro a 25 °C (Esquema 17). A emissão de luz proveniente desta reação apresentou um rápido aumento da intensidade de emissão seguida de um decaimento lento, sendo que esta intensidade variou de acordo com a natureza do substituinte no anel aromático.

Esquema 17



O aumento da concentração de imidazol resultou em um aumento da constante de velocidade de decaimento (Figura 5). A curva experimental foi ajustada com uma função de decaimento mono-exponencial de primeira ordem (Equação 1), sendo a constante de velocidade observada (k_{obs}) relacionada com o consumo de cada perácido. É importante frisar que o mesmo comportamento cinético foi observado para todos os perácidos 5-7.

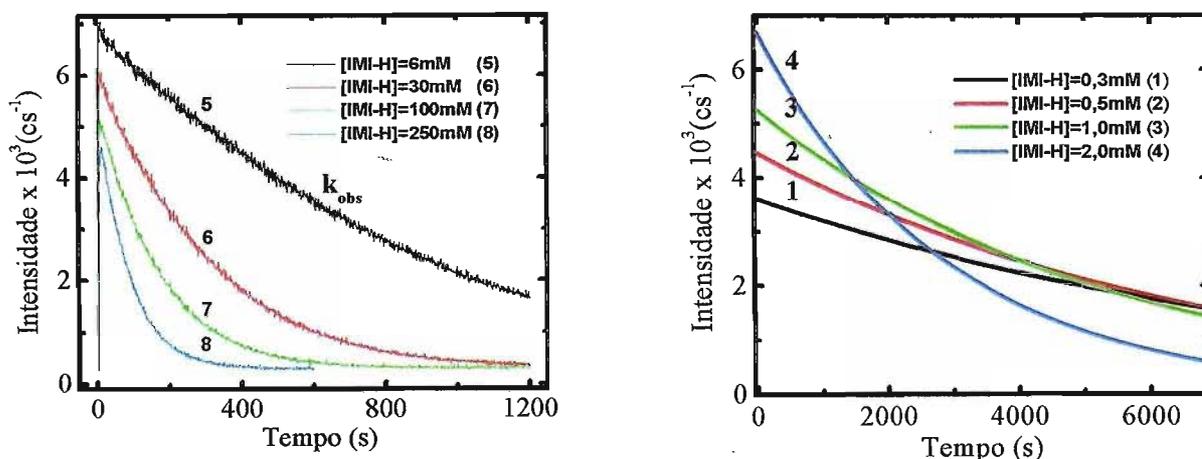


Figura 5: Emissão de luz proveniente da reação de O,O-hidrogênio monoperoxioalato de *p*-metoxifenila (5) em várias concentrações de imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA). Espectrofluorímetro nas seguintes condições: fenda 1mm, tensão na fotomultiplicadora=750V e monocromador na condição de espelho.

$$f(t) = A * \exp(-k_{obs} \cdot t) \quad \text{Equação 5}$$

Assim, ao estudar como variava a intensidade de emissão de luz em função da concentração de imidazol para os perácidos (5-7), observamos que tal intensidade diminuía com o aumento da concentração de imidazol. Cabe ressaltar que comportamento semelhante também foi observado na reação do sistema peroxioalato⁴ e no trabalho de Stevani *et al*³.

A seguir estão relacionadas tabelas com os valores das constantes de velocidade observadas (k_{obs}), juntamente com os rendimentos quânticos singlete (Φ_S) obtidos no estudo de cada perácido. Observa-se que ocorre um aumento na constante de velocidade (k_{obs}) em função do aumento da concentração de imidazol, para os três perácidos, de aproximadamente 60 vezes, no caso dos perácidos 5 e 6, e de aproximadamente 120 vezes no caso do perácido 7. Por outro lado, observa-se também uma diminuição drástica do rendimento quântico singlete (Φ_S).

Tabela 11: Constantes de velocidade observadas (k_{obs}) e rendimentos quânticos singlete (Φ_S) obtidos da reação do O,O-hidrogênio monoperóxioalato de *p*-metoxifenila (**5**) com imidazol, na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) em acetato de etila anidro¹.

	[IMI-H] (mM)	$k_{obs1} \times 10^3$ (s ⁻¹)	$\Phi_S \times 10^4$ (Emol ⁻¹)
1	0,3	0,17 ± 0,04	9,36 ± 2,40
2	0,5	0,20 ± 0,01	10,17 ± 2,17
3	0,7	0,18 ± 0,01	9,26 ± 2,22
4	1,0	0,24 ± 0,01	8,63 ± 0,72
5	2,0	0,34 ± 0,06	6,69 ± 1,16
6	4,0	0,59 ± 0,03	4,32 ± 1,05
7	6,0 ²	0,99 ± 0,22	3,13 ± 0,59
8	8,0	1,02 ± 0,01	2,63 ± 0,55
9	10	1,66 ± 0,02	2,21 ± 0,36
10	30	2,50 ± 0,04	0,99 ± 0,17
11	50	3,72 ± 0,01	0,83 ± 0,03
12	70	4,62 ± 0,04	0,54 ± 0,07
13	100	5,65 ± 0,01	0,44 ± 0,02
14	125	6,38 ± 0,07	0,39 ± 0,06
15	150	7,16 ± 0,05	0,31 ± 0,04
16	200	8,50 ± 0,05	0,25 ± 0,02
17	225	9,25 ± 0,06	0,24 ± 0,02
18	250	10,4 ± 0,07	0,23 ± 0,04

¹[**5**]=0,5mM e [DPA]=1,0mM a 25 °C, espectrofluorímetro na condição padrão.

²Não foi usado para calcular k_{Bim} (vide Fig. 14, discussão).

Tabela 12: Constantes de velocidade observadas (k_{obs}) e do rendimento quântico singlete (Φ_s) obtidos da reação do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de *p*-metilfenila (**6**) catalisada por imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA), utilizando acetato de etila anidro¹.

	[IMI-H]mM	$k_{\text{obs}} \times 10^3 \text{ s}^{-1}$	$\Phi_s \times 10^4 \text{ Emol}^{-1}$
1	0,5	0,19 ± 0,01	45,6 ± 6,3
2	1,0	0,41 ± 0,12	27,4 ± 0,1
3	2,0	0,63 ± 0,10	17,2 ± 6,4
4	4,0	1,04 ± 0,06	10,8 ± 2,6
5	6,0	1,43 ± 0,11	7,71 ± 1,88
6	8,0	1,74 ± 0,11	6,39 ± 1,81
7	10	1,92 ± 0,06	4,82 ± 0,71
8	20	2,86 ± 0,04	3,09 ± 0,68
9	40	4,05 ± 0,12	1,69 ± 0,06
10	60	5,11 ± 0,29	1,38 ± 0,02
11	80	6,13 ± 0,83	0,91 ± 0,13
12	100	6,14 ± 0,08	0,98 ± 0,21
13	120	7,04 ± 0,31	0,73 ± 0,04
14	130	7,37 ± 0,42	0,73 ± 0,06
15	150	8,31 ± 0,13	0,64 ± 0,04
16	170	8,95 ± 0,68	0,56 ± 0,01
17	200	10,20 ± 0,21	0,50 ± 0,02
18	230	11,80 ± 0,07	0,46 ± 0,01
19	250	12,7 ± 0,6	0,45 ± 0,01

¹[**6**]=0,1mM, [DPA]=1,0mM a 25°C, espectrofluorímetro: fenda=8mm.

Tabela 13: Constante de velocidade observada (k_{obs}) e do rendimento quântico singlete (Φ_S) obtidos da reação do O,O-hidrogênio monoperóxido de fenila (**7**) com imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) em acetato de etila anidro¹.

	[IMI-H]mM	$k_{obs} \times 10^3 \text{ s}^{-1}$	$\Phi_S \times 10^4 \text{ Emol}^{-1}$
1	0,5	0,14 ± 0,01	54,6 ± 5,6
2	1,0	0,31 ± 0,12	37,7 ± 18,1
3	2,0	0,54 ± 0,01	22,6 ± 6,2
4	4,0	1,01 ± 0,12	13,1 ± 4,0
5	6,0	1,49 ± 0,17	9,26 ± 0,90
6	8,0	1,68 ± 0,17	7,44 ± 0,48
7	10	1,93 ± 0,29	6,44 ± 0,63
8	20	3,14 ± 0,43	3,66 ± 0,49
9	40	4,96 ± 0,74	2,00 ± 0,34
10	60	5,8 ± 1,2	1,77 ± 0,27
11	80	7,26 ± 0,99	1,21 ± 0,09
12	100	8,62 ± 1,21	1,02 ± 0,14
13	130	10,5 ± 1,52	0,79 ± 0,07
14	150	11,9 ± 1,97	0,58 ± 0,13
15	170	13,2 ± 1,36	0,62 ± 0,07
16	200	15,4 ± 1,72	0,53 ± 0,07
17	230	19,6 ± 0,6	0,48 ± 0,04
18	250	20,4 ± 2,61	0,45 ± 0,06

¹[7]=0,5mM e [DPA]=1,0mM a 25°C, espectrofluorímetro na condição padrão.

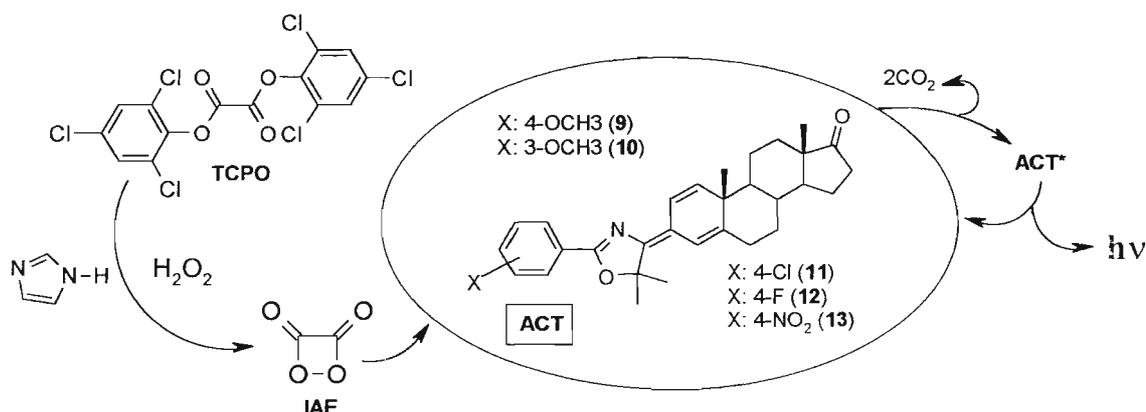
3.3 Estudo da eficiência de transferência de elétron na etapa de quimiexcitação.

3.3.1 Determinação do rendimento quântico singlete

Conforme foi apresentado na introdução deste trabalho, na etapa de quimiexcitação ocorre interação do intermediário de alta energia (IAE) com o ativador, resultando na excitação eletrônica deste último. Para que um determinado composto possa atuar eficientemente como ativador é necessário que este tenha um alto rendimento de fluorescência (Φ_s), baixo potencial de oxidação e que seja estável nas condições de reação.

Os resultados apresentados neste tópico estão relacionados com a reação de bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato (TCPO) com peróxido de hidrogênio catalisado por imidazol na presença de 3-(2-*aryl*-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno)androsta-1,4-dien-17-onas (**9-13**), denominados de ativadores (ACT), conforme exemplificado no esquema 18.

Esquema 18



A reação apresentou um rápido aumento na intensidade de emissão de luz seguida de um decaimento lento (Figura 6). A cinética foi monitorada por um fluorímetro, registrando *intensidade vs tempo* e os experimentos realizados a 25°C. Da curva cinética foram obtidas duas constantes de velocidade, denominadas de k_{obs1} e k_{obs2} através da função abaixo (Equação 6):

$$f(t) = A_1 \exp(-k_{obs1}t) - A_2 \exp(-k_{obs2}t) \quad \text{Equação 6}$$

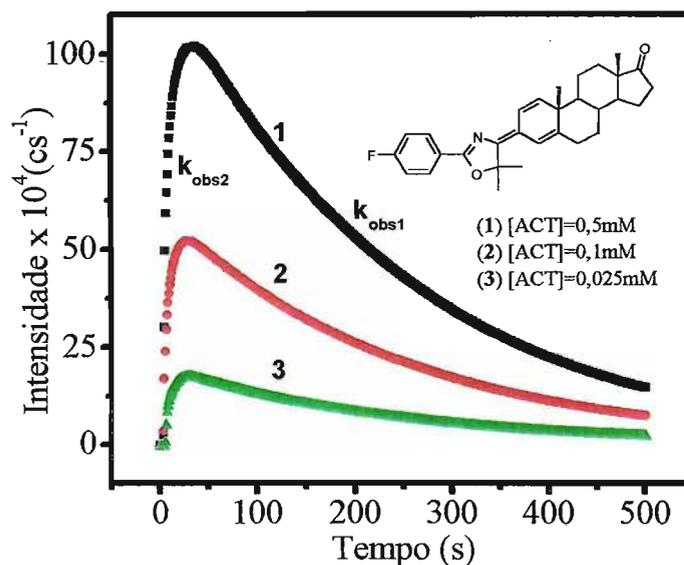


Figura 6: Emissão de luz proveniente da reação de bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato (TCPO) com peróxido de hidrogênio catalisado por imidazol na presença de 3-[2-(4-fluorofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (**12**) em acetato de etila anidro, nas seguintes condições: [TCPO]=0,1mM, [IMI-H]=1,0mM, [H₂O₂]=10mM e [**12**]=0,5mM, 0,1mM e 0,025mM.

Com os resultados apresentados neste tópico foram obtidas informações sobre o mecanismo CIEEL, utilizado para explicar a geração de estados excitados em reações com propriedades de quimiluminescência. Determinou-se o rendimento quântico singlete (Φ_s), de cada ativador, utilizando a seguinte equação:

$$\Phi_s = \frac{\text{Área} \cdot f_{CF} \cdot f_{SF}}{n \cdot \Phi_F} \quad \text{Equação 7}$$

onde: Área = área obtida abaixo da curva de emissão, f_{CF} = fator de calibração da fotomultiplicadora, f_{SF} = fator de sensibilidade da fotomultiplicadora, n = número de mols do TCPO e Φ_F = rendimento quântico de fluorescência do ativador.

O fator de calibração da fotomultiplicadora foi obtido utilizando a reação de luminol como padrão, para que fosse possível transformar a unidade de contagens por segundo em Einstein por mol, uma unidade de fótons de luz. O método é relativamente simples, sendo a calibração realizada a cada nova série de experimentos e os valores obtidos tendo variações mínimas entre $(5-6) \cdot 10^{-17}$ E counts⁻¹. Outro fator igualmente importante é o fator de sensibilidade da fotomultiplicadora com o comprimento de onda (f_s) (Tabela 14). Para obter este fator para a emissão de quimiluminescência basta registrar um espectro de fluorescência sem correção e outro espectro com correção (geralmente esta correção é feita pela solução de rodamina B presente nos aparelhos de espectrofluorimetria) e dividir a área abaixo da curva do espectro corrigido pelo espectro sem correção.

Tabela 14: Rendimento quântico de fluorescência (Φ_s) e fator de sensibilidade da fotomultiplicadora (f_s) para os ativadores 9-13.

ACT		Φ_F^5	f_s
9	4-OCH ₃	0,65	1,75
10	3-OCH ₃	0,78	1,65
11	4-Cl	0,80	1,72
12	4-F	0,84	1,87
13	4-NO ₂	0,046	6,04

Além dos dois fatores mencionados, foi necessário determinar o rendimento de fluorescência de cada ativador. Estas medidas foram feitas em acetato de etila, utilizando 9-cianoantraceno como padrão secundário em etanol⁶, utilizando-se comprimento de onda de excitação em 330 nm e absorção neste mesmo comprimento de onda de aproximadamente 0,05.

$$\frac{\mathit{Área}_{(padr\tilde{a}o)}}{\mathit{Área}_{(ACT)}} = \frac{\Phi_{F(padr\tilde{a}o)}}{\Phi_{F(ACT)}} \times \frac{Abs_{(padr\tilde{a}o)}}{Abs_{(ACT)}} \times \left(\frac{n_{(EtOH)}}{n_{(EtAc)}} \right)^2 \quad \text{Equa\c{c}\~{a}o 8}$$

onde: $\mathit{Área}_{(padr\tilde{a}o)}$ = \u00e1rea abaixo da curva de emiss\u00e3o do padr\u00e3o, $\mathit{Área}_{(ACT)}$ = \u00e1rea abaixo da curva de emiss\u00e3o do ativador (ACT), neste caso os compostos **9** a **13**, $\Phi_{F(padr\tilde{a}o)}$ = rendimento qu\u00e2ntico de fluoresc\u00eancia do padr\u00e3o, $\Phi_{F(ACT)}$ = rendimento qu\u00e2ntico de fluoresc\u00eancia do ACT, $Abs_{(padr\tilde{a}o)}$ = absor\c{c}\~{a}o do padr\u00e3o no λ_{ex} , $Abs_{(ACT)}$ = absor\c{c}\~{a}o do ACT, $n_{(EtOH)}$ = \u00edndice de refra\c{c}\~{a}o do solvente utilizado no padr\u00e3o; neste caso, etanol e $n_{(EtAc)}$ = \u00edndice de refra\c{c}\~{a}o do acetato de etila utilizados nos ativadores.

$$\frac{1}{\Phi_S} = \frac{1}{\Phi_S^\infty} + \left(\frac{k_D}{k_{CAT} \Phi_S^\infty} \right) \frac{1}{[ACT]} \quad \text{Equação 9}$$

Com os valores do rendimento quântico singlete (Φ_S), obtido em várias concentrações de cada ativador (Anexo 2), foi possível construir um gráfico do inverso do Φ_S em função do inverso da concentração do ativador ($1/\Phi_S$ vs. $1/[ACT]$), correlacionando o Φ_S e a concentração do ativador através da equação 5, para a interação do ativador com o IAE (24).

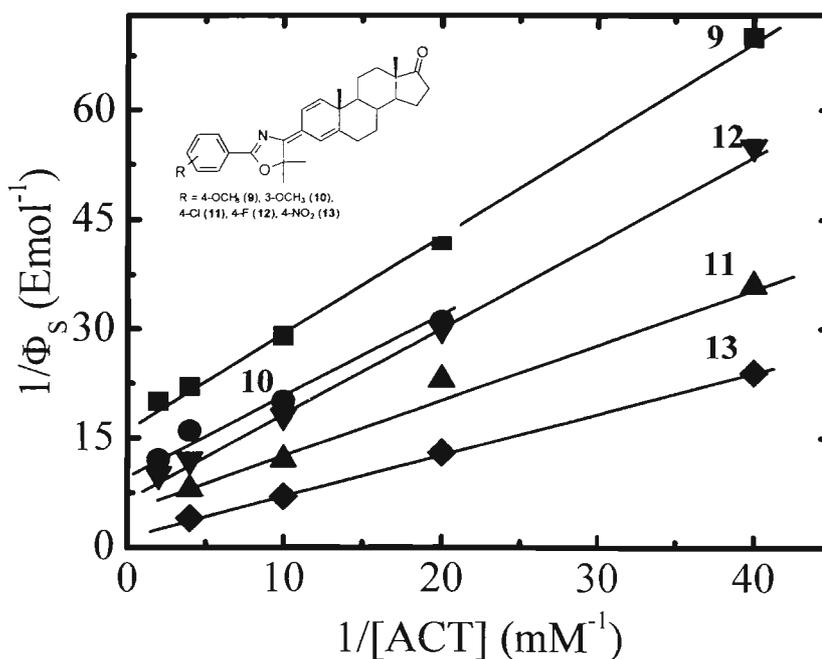


Figura 6: Duplo recíproco do rendimento quântico singlete (Φ_S) em função da concentração dos ativadores (9-13).

Do intercepto desta relação foi obtido o rendimento quântico na concentração infinita (Φ_S^∞). Nesta condição admite-se que todo o intermediário formado na etapa de quimiexcitação é interceptado pelo ativador, resultando na eficiência máxima de emissão de luz. Além disso, pode-se obter da inclinação

da reta o valor da relação k_{cat}/k_D , ($1/\Phi_{\infty}\theta$, onde θ é o coeficiente angular da relação $1/\Phi_{CL}$ vs. $1/[ACT]$) onde k_{cat} é a constante de velocidade da interação do ativador com o intermediário de alta energia (IAE), enquanto que o k_D é a constante de velocidade de decomposição do IAE e, portanto, independe do ativador. Esta é uma medida indireta, pois k_{cat} não pode ser medido diretamente devido ao fato da etapa de interação do IAE com o ACT ser muito mais rápida do que as etapas que levam a formação do IAE.

Os parâmetros de Φ_s , relação k_{cat}/k_D , potencial de oxidação de meio pico ($E_{p/2}^{ox}$), assim como os rendimentos de fluorescência dos ativadores estão relacionados na tabela 15.

Tabela 15: Parâmetros de quimiluminescência da reação de bis(2,4,6-triclofenil) oxalato com peróxido de hidrogênio catalisado por imidazol na presença de 3-[2-(aril)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-onas **9-13**.

	Ativador	$E_{p/2}^{ox}$ (a) (V vs. SHE)	Φ_{FL}	$\Phi_S^{\infty} \times 10^2$ (Emol ⁻¹)	$k_{CAT}/k_D \times 10^{-3}$ (mol ⁻¹ L)
9	4-OCH ₃	0,95	0,65	6,0 ± 0,2	13 ± 4
10	3-OCH ₃	1,02	0,78	11 ± 2	8 ± 1
11	4-Cl	1,02	0,80	20 ± 6	6 ± 2
12	4-F	1,03	0,84	16 ± 1	5,0 ± 0,3
13	4-NO ₂	1,09	0,046	75 ± 10	2,4 ± 0,4

^a acetonitrila, SHE eletrodo padrão de hidrogênio

A variação no $E_{p/2}^{ox}$ é pequena com a mudança do substituinte; entretanto, observa-se que a variação, do rendimento quântico singlete na concentração infinita do ACT (Φ_S^{∞}), é bastante pronunciada quando se compara o derivado 4-NO₂ (**13**) com o 4-OCH₃ (**9**). Além disso, observa-se também que ocorre uma diminuição na relação k_{cat}/k_D em relação ao aumento do $E_{p/2}^{ox}$. É importante mencionar que k_{obs1} e k_{obs2} , obtidas das curvas cinéticas (Figura 6) não dependem da natureza e concentração do ativador, indicando que a interação do IAE com o ACT ocorre em etapas rápidas.

3.4 Influência da viscosidade no rendimento quântico singlete (Φ_s)

De acordo com mecanismo postulado para a formação de estados excitados na etapa de quimiexcitação do sistema peroxioxalato, as etapas de transferência e retro-transferência de elétron entre o IAE e o ativador, ocorreriam dentro de uma gaiola de solvente. Admitindo-se este pressuposto, já que esta etapa depende da formação de um complexo de transferência de carga, a polaridade e viscosidade do solvente influenciariam na eficiência de formação de estados excitados. Supõe-se que em solventes de alta polaridade ocorreria a solvatação das espécies, dificultando a aproximação necessária para gerar o ativador no estado excitado. Por outro lado, em solventes com baixa polaridade, não seria criada a condição de solvatação em volta das espécies. Deste modo, também não haveria o processo de transferência e retro-transferência de elétron.

Os experimentos apresentados neste tópico têm como objetivo verificar a eficiência da suposta gaiola de solvente na troca de elétron que ocorre na etapa de quimiexcitação. Para este propósito, foram utilizadas misturas de tolueno e difenilmetano em várias proporções, resultando em um aumento da intensidade de emissão com aumento da viscosidade (Figura 7). Da curva cinética foram extraídas duas constantes de velocidade utilizando a equação 6.

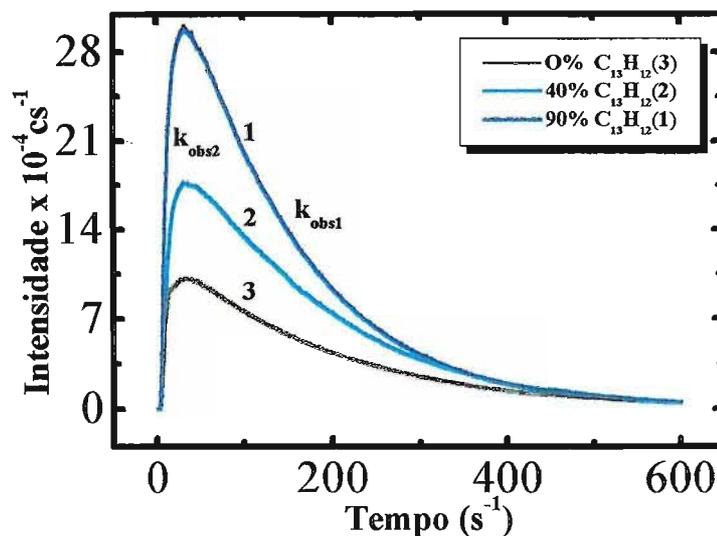


Figura 7: Influência da viscosidade do solvente sobre a intensidade de emissão de luz da reação do TCPO com H_2O_2 catalisado por imidazol na presença de DPA, nas seguintes condições: $[\text{TCPO}] = 0,1 \text{ mM}$, $[\text{IMI-H}] = 1,0 \text{ mM}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,5 \text{ mM}$ e $[\text{DPA}] = 1,0 \text{ mM}$ utilizando misturas de tolueno com difenilmetano.

Tabela 16: Influência da viscosidade do solvente sobre a reação do bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato com H_2O_2 , utilizando IMI-H (1,0 mM) como catalisador na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA), em misturas de tolueno/difenilmetano.

η (cP)	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}$ (%)	$k_{\text{obs1}} \times 10^3$ (s^{-1})	$k_{\text{obs2}} \times 10^1$ (s^{-1})	$\Phi_s \times 10^3$ ^a (Emol^{-1})
0,70	10	$6,14 \pm 1,06$	$1,71 \pm 0,01$	$3,53 \pm 0,25$
0,82	20	$5,54 \pm 0,60$	$0,94 \pm 0,03$	$3,97 \pm 1,11$
1,05	40	$5,03 \pm 0,20$	$1,40 \pm 0,24$	$5,30 \pm 0,96$
1,37	60	$3,71 \pm 0,10$	$1,05 \pm 0,01$	$6,88 \pm 0,40$
2,16	80	$2,92 \pm 0,50$	$1,00 \pm 0,14$	$10,80 \pm 1,02$
2,57	90	$1,90 \pm 0,20$	$0,68 \pm 0,11$	$13,10 \pm 0,45$

^a $[\text{IMI-H}] = 1,0 \text{ mM}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,5 \text{ mM}$; $[\text{DPA}] = 1,0 \text{ mM}$; $[\text{TCPO}] = 0,1 \text{ mM}$.

Conforme está descrito na tabela 16, o rendimento quântico singlete (Φ_S) aumenta aproximadamente 4 vezes com o aumento da viscosidade do solvente com difenilmetano, enquanto que o Φ_S utilizando 0,5mM de imidazol aumenta 10 vezes (Tabela 17). Entretanto, chama a atenção o fato de ocorrer uma diminuição nas constantes de velocidade observada (k_{obs1} e k_{obs2}) com o aumento da viscosidade. Considerando que as etapas anteriores à etapa de quimiexcitação são lentas, não se esperaria variação significativa de k_{obs1} e k_{obs2} com a variação da viscosidade solvente.

Em relação ao aumento do rendimento quântico singlete (Φ_S) em função do aumento da viscosidade do solvente, pode-se dizer que a formação da gaiola de solvente é importante para que ocorra a formação de estados excitados do ativador. O aumento da viscosidade do meio reacional deve diminuir o escape das espécies para fora da gaiola de solvente e deste modo o processo de transferência e retro-transferência de elétron torna-se mais eficiente.

Tabela 17: Influência da viscosidade do solvente sobre a reação do bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato com H_2O_2 , utilizando IMI-H (0,5 mM) como catalisador na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA), em uma mistura de tolueno/difenilmetano.

η (cP)	$k_{obs1} \times 10^3$ s^{-1}	$k_{obs2} \times 10^1$ s^{-1}	$\Phi_S \times 10^3$ (Emol ⁻¹) ^a
0,50	2,67 ± 0,71	2,87 ± 0,28	2,20 ± 0,21
0,70	3,06 ± 0,41	0,92 ± 0,23	3,99 ± 0,78
0,82	2,46 ± 0,28	1,39 ± 0,33	5,02 ± 0,40
1,05	1,56 ± 0,45	0,98 ± 0,28	6,25 ± 0,82
1,37	1,30 ± 0,60	1,28 ± 0,11	10,90 ± 0,02
2,16	1,24 ± 0,52	0,84 ± 0,28	19,90 ± 0,43
2,57	0,62 ± 0,20	0,53 ± 0,01	20,30 ± 3,47

^a [IMI-H] = 0,5 mM, [TCPO] = 0,1 mM, [H_2O_2] = 2,5 mM, [DPA] = 1,0 mM.

O fato do Φ_S ser maior quando se utiliza 0,5 mM de imidazol em relação à concentração de 1,0mM, não surpreende, pois já foi observado em trabalhos anteriores do mesmo grupo em que o presente trabalho foi desenvolvido, que o aumento da concentração de imidazol diminui o rendimento quântico singlete (Φ_S)¹.

3.5 Estudo do Sistema Peroxioxalato na ausência de H_2O_2

Recentemente fora reportado na literatura um trabalho sobre a emissão de luz do sistema peroxioxalato sem a adição de peróxido de hidrogênio⁷. A reação foi executada com TCPO ou DNPO catalisada por imidazol na presença de perileno. Segundo estes resultados⁷, o intermediário de alta energia (IAE) é proveniente de um derivado oxálico formado antes da 1,1'-di-imidazolida (ODI). Vale lembrar que o ODI é formado pela substituição nucleofílica de dois imidazóis no TCPO. Os autores não apresentaram qual seria a eficiência de formação de estados excitados na reação sem a adição de peróxido de hidrogênio, bem como as intensidades relativas na ausência e presença de H_2O_2 .

O estudo descrito no presente trabalho, relata a reação com TCPO nas condições padrão, conforme descrito na legenda, cuja concentração de peróxido de hidrogênio é 10mM (figura 9-curva A). A curva de emissão apresentada na curva B é proveniente da reação com DNPO. Pode ser observada que a intensidade de emissão do DNPO é dez vezes maior do que com o TCPO nas mesmas condições. Por outro lado, diminuindo a concentração do H_2O_2 em 100 vezes, na reação de DNPO, observa-se que a intensidade de emissão diminui em torno de 160000 vezes (curva C). Não foi possível reduzir, ainda mais, a concentração de peróxido de hidrogênio, pois abaixo de $0,5 \mu M$ de H_2O_2 a intensidade de emissão de luz era muito próxima do limite de detecção do equipamento (aproximadamente 300 counts). Os experimentos foram executados em um espectrofluorímetro do tipo Spex Fluorolog 1681.

Como a emissão de luz abaixo de $0,5 \mu M$ era pouco intensa, os experimentos foram continuados em um "Photon Counter", aparelho mais adequado para registrar sistemas de quimiluminescência com fraca intensidade de emissão de luz.

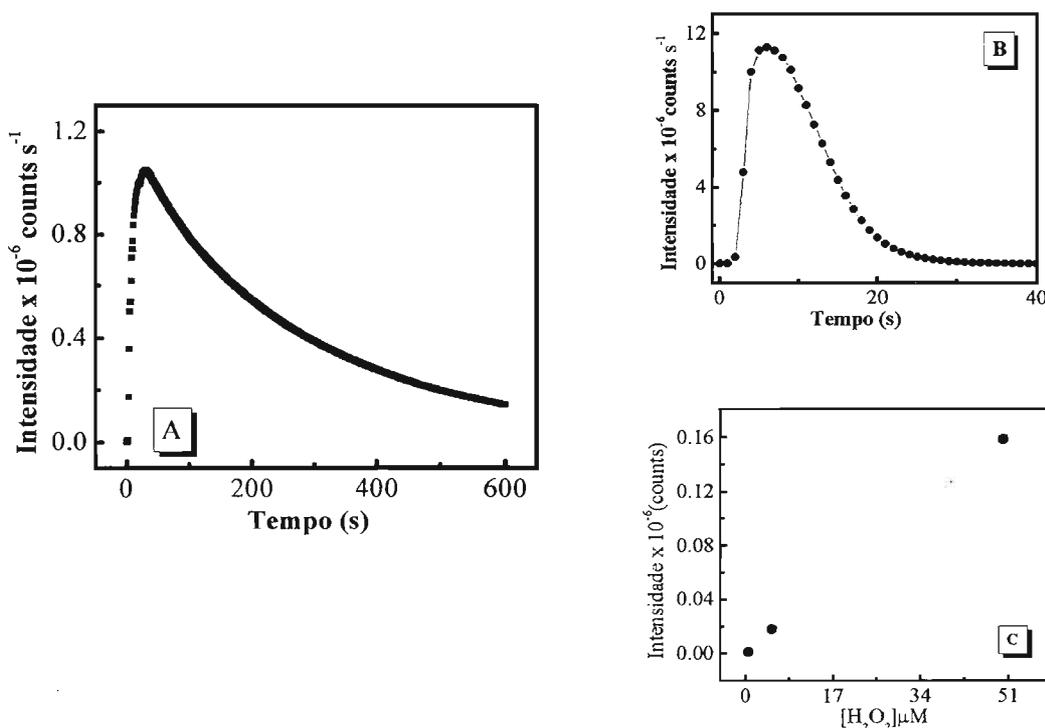


Figura 8: Emissão de luz proveniente da reação do TCPO com H₂O₂ catalisada por imidazol na presença de perileno, nas seguintes condições: [IMI-H]=1,0 mM, [TCPO]=0,1 mM, [perileno]=0,5mM e [H₂O₂]=10mM (A), curva B nas mesmas condições de A, exceto o TCPO que foi substituído por DNPO na mesma concentração e (C) variação da concentração de H₂O₂ em 100 vezes, nas seguintes condições de reação: [DNPO]=0,2mM, [IMI-H]=2,0mM, [perileno]=0,05mM e [H₂O₂]=0,5μM a 50μM.

Após uma série de experimentos variando a concentração de peróxido de hidrogênio entre $5 \cdot 10^{-7}$ e $5 \cdot 10^{-10}$ observou-se que a variação nas intensidades era muito baixa. Além disso, foi atentado ao cuidado na manipulação dos reagentes e da vidraria utilizada, pois foi observado que traços de impurezas também geravam emissão de luz nas condições investigadas. As reações de TCPO e DNPO sem adição de IMI-H e H₂O₂ apresentaram intensidade de emissão de luz de aproximadamente $10000 \text{ counts s}^{-1}$, considerando que a intensidade da linha base era de 60 counts s^{-1} , a intensidade observada na reação sem catalisador e peróxido é significativa (Figura 9).

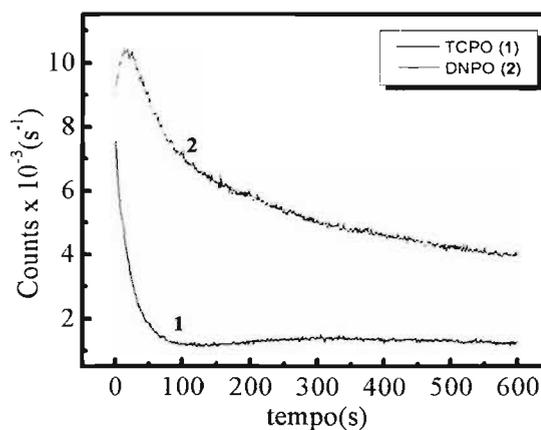


Figura 9: Emissão de luz proveniente da reação de bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato (TCPO) e bis(3,5-dinitrofenil) oxalato (DNPO) com perileno, na ausência de imidazol e H₂O₂, nas seguintes condições: [TCPO] e [DNPO]=0,2mM, [IMI-H]=2mM.

Qualitativamente, as reações do TCPO e DNPO, com IMI-H e perileno, sem adição e com adição de H₂O₂ ($5 \cdot 10^{-10}$ M) apresentaram intensidades de emissão muito semelhantes (Figura 10). A diferença nas intensidades de emissão é de aproximadamente quatro vezes no caso da reação do DNPO e aproximadamente 3 vezes no caso da reação do TCPO. Supondo, que a emissão de luz observada sem a adição de peróxido, seja causada pela presença de H₂O₂ no solvente como impureza, esta concentração está abaixo de $5 \cdot 10^{-10}$ M.

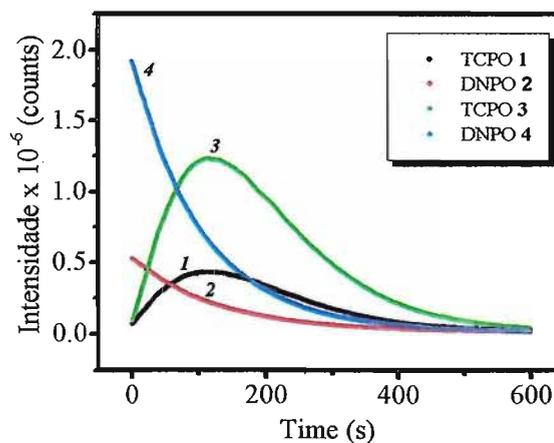


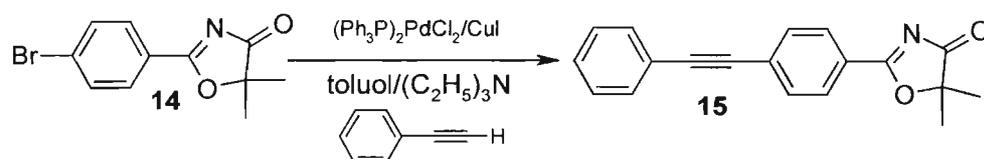
Figura 10: Emissão de luz proveniente da reação de TCPO e DNPO utilizando imidazol como catalisador e perileno como ativador (ACT) na presença e ausência de peróxido de hidrogênio em acetato de etila anidro. $[IMI-H]=2,0mM$, $[TCPO]$ e $[DNPO]=0,2mM$, $[perileno]=0,05mM$, $[H_2O_2]=5.10^{-10}M$ (curvas 3 e 4). Nas curvas 1 e 2 o H_2O_2 está ausente.

3.6 Síntese de derivados de Oxazolonas (14-21)

O trabalho apresentado nesta seção teve como objetivo preparar compostos com propriedades físico-químicas e foto-físicas distintas dos compostos geralmente aplicados no sistema peroxioxalato, porém análogos aos compostos **9** a **13**. Além disso, um dos objetivos iniciais do projeto, era converter estes compostos em reagentes de derivatização para aplicá-los em sistemas biológicos e analíticos utilizando o sistema peroxioxalato. Esta parte do trabalho foi desenvolvida durante três meses na universidade Friedrich Schiller em Jena na Alemanha e financiado pelo DAAD (Intercâmbio acadêmico Brasil-Alemanha).

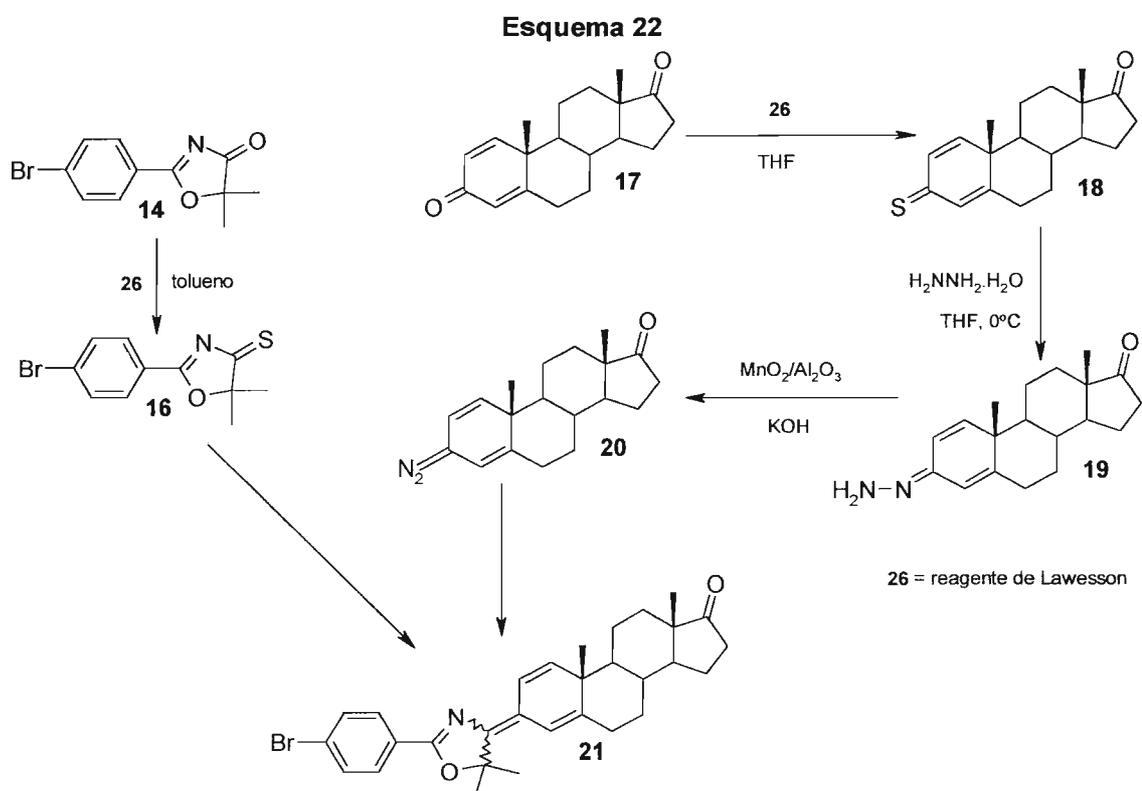
3.6.1 2-[4-fenilacetileno]-5-dimetiloxazol-4-ona (**15**)

Esquema 21



O composto **15** foi preparado pela reação de **14** com fenilacetileno catalisado por bis(trifenilfosfina) paládio (II) em meio de tolueno e trietilamina, de acordo com o descrito na literatura⁸. Entretanto, o rendimento da reação foi insatisfatório devido à formação de um produto secundário. A reação foi acompanhada por CCD, no qual, após 20 horas de agitação, à temperatura ambiente sob argônio, não se observou a formação de produto. A mistura reacional foi aquecida brandamente, obtendo-se três produtos após 2 horas. Além do produto desejado, $R_f = 0,39$, foi isolado um produto secundário ($R_f = 0,92$) que de acordo com a análise por espectrometria de massas sugeriu-se ser o dímero do fenilacetileno, cujo sinal do íon molecular possui $m/z = 202$. Uma possível alternativa a fim de elevar o rendimento da oxazolona **15** seria encontrar uma condição reacional que minimizasse a formação do dímero.

3.6.2 3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]androsta-1,4-dien-17-ona (21)⁹



A preparação do composto **21** seguiu uma rota composta por cinco etapas de reações. A reação do composto **14**, com o reagente de Lawesson (**26**), resultou no composto **16** cuja coloração era laranja intensa. O composto foi caracterizado por RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . A diferença marcante entre o reagente de partida e o produto está no deslocamento da carbonila de 40 ppm (RMN de ^{13}C) ao ser convertida em tiocarbonila (Anexos 14 e 15). Da mesma maneira, o composto **18** (anexo 16) foi preparado pela reação do composto **17** com **26**, no qual também foi observada uma mudança brusca na coloração, na medida que foi introduzido o grupo enxofre, formando um produto de coloração roxa. A caracterização do composto **18** (anexo 16) foi feita por comparação com o composto descrito na literatura¹⁰. O que chama a atenção é o fato de uma

carbonila insaturada (C-3) ter preferência na substituição, frente a uma carbonila saturada (C-17), visto que carbonilas α,β -insaturadas são estabilizadas por ressonância e, portanto deveriam ser menos reativas do que as saturadas. Entretanto, observou-se que, se a reação for efetuada em THF à temperatura ambiente durante uma hora, ocorre formação apenas do composto **18**. Na caracterização foi dada maior atenção aos deslocamentos que evidenciam a molécula quando esta sofre mudança do reagente para o produto. No composto **17** (reagente de partida), as carbonilas possuem os seguintes deslocamentos: C-3 (δ 186) e C-17 (δ 219,7). Ao ser convertido em produto, o sinal referente à carbonila C-3 se desloca para δ 217,5. Vale mencionar que, se as duas carbonilas (C-3 e C-17) do composto **17** (reagente) sofressem substituição, seria observado um deslocamento químico em δ 217,5 e em aproximadamente δ 260, correspondente ao grupo tiocarbonila do carbono 17, conforme previsão feita pelo programa de simulação de espectros *NMR Prediction*¹¹.

A conversão do composto **18** em **19** foi feita com hidrazina hidratada em THF à 0 °C, e o produto caracterizado apenas por espectroscopia na região do infravermelho e comparado com a literatura⁹.

A preparação do composto diazo **20** via oxidação da hidrazona **19** requer bastante cuidado para evitar a dimerização de **20**. Esta reação foi feita em éter com MnO₂ em carvão ativo e submetida ao ultra-som por 5 minutos em meio básico. Ao término da reação foi retirada uma solução fracamente azulada, sendo o seu volume reduzido cuidadosamente à pressão reduzida, para que não ocorresse dimerização. Acredita-se que esta dimerização ocorra pela formação de um carbeno, devido à instabilidade do composto diazo **20**, seguido do acoplamento entre os carbenos formados na reação.

O rendimento de formação da olefina **21** foi de aproximadamente 30%, entretanto, de acordo com a literatura, pode-se chegar a 40% dependendo do substituinte. A reação ocorre sem necessidade de agitação, bastando adicionar o sólido do composto **16** ao composto **20** e deixar em repouso durante 24

horas. A reação ocorre via mecanismo de Barton Kellog (*vide discussão*), sendo que, além da formação do produto desejado, foi detectada a formação do dímero do composto **16**, caracterizado por espectrometria de massa, cujo sinal do íon molecular possui $m/z = 503$.

3.7 Referências

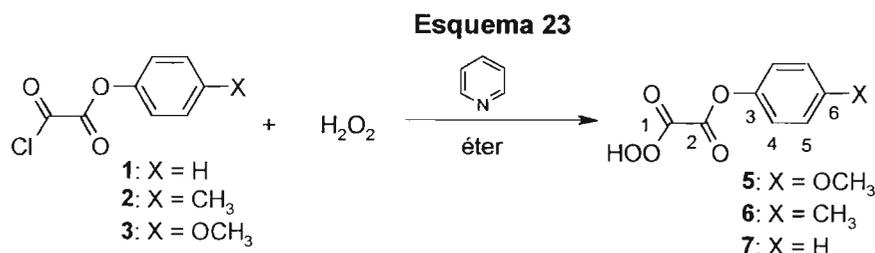
- ¹ Stevani CV, "Estudo mecanístico do sistema peróxi-oxalato", *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 1997.
- ² Bartlett PD & Pincock RE, Peresters. VI. Ethyl, Benzyl, *p*-nitrophenyl and *p*-methoxybenzoyl *t*-butyl-peroxyoxalate, *J. Am. Chem. Soc.*, **82** (7), 1769-73, 1960.
- ³ Stevani CV, Campos IPA & Baader WJ, "Synthesis and characterisation of an intermediate in the peroxyoxalate chemiluminescence: 4-chlorophenyl O,O-hydrogen monoperoxyoxalate", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1645-8, 1996.
- ⁴ Silva SM, Casallanovo F, Oyamaguchi KH, Ciscato LFLM, Stevani CV & Baader WJ, "Kinetic studies on the peroxyoxalate reaction: determination of the cyclization rate constant", *Luminescence*, 313-20, 2002.
- ⁵ Silva SM, Wagner K, Weiss D, Beckert R & Baader WJ " Studies on the chemiexcitation step in peroxyoxalate chemiluminescence using steroid-substituted activators" *Luminescence*, **17**, 362-9, 2002.
- ⁶ Melhuish WH, "Quantum efficiencies of fluorescence of organic substances: effect of solvent and concentration of the fluorescent solute" *J. Phys. Chem.*, **65**, 229-35, 1961.
- ⁷ Lee JH, Rock JC, Park SB, Schlautman MA & Carraway RE, " Study of the characteristics of three high-energy intermediates in peroxyoxalate chemiluminescence (PO-CL) reactions" *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 802-9, 2002.
- ⁸ Sonogashira K, Tohda Y & Hagihara N, "Convenient synthesis of acetylenes-catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines," *Tetrahedron Lett.*, **50**, 4467-70, 1975.
- ⁹ Wagner K, Synthese und Eigenschaften neuer A-Ring substituierter Steroide-Ein Beitrag zur modernen biochemischen Analytik, *Dissertation*, Universität Jena, 1998.
- ¹⁰ Weiß D, Gaudig U & Beckert R, "Eine neue Herstellung von gekreuzt-konjugierten 3-Thioxosteroiden", *Synthesis*, 751-2, 1992.

¹¹ Pretsch E, Bühlmann P, Affotter C & Badertscher M, *Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung Organischer Verbindungen*, Springer Verlag, 2001.

4 Discussão

4.1 Síntese dos derivados do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato (5-7)

Os derivados **5** a **7** foram preparados através da reação dos derivados **1** a **3** com peróxido de hidrogênio na presença de piridina em éter anidro (Esquema 23). Inicialmente é importante destacar que para preparar os derivados do O,O-hidrogênio monoperoxioxalato de arila (**5-7**) foram necessários alguns cuidados para que não ocorresse degradação do produto, já que estes são instáveis à temperatura ambiente. Por exemplo, foi necessária a rápida extração para isolar o produto dos reagentes. Por isso, devido a sua instabilidade, tornou-se como procedimento armazená-los a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

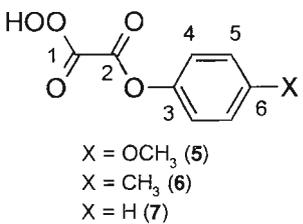


A formação dos compostos (**5-7**) foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD) e a caracterização por RMN de ^{13}C pelo método INVGATE (inverse gated coupling) (Tabela 18). O método permite a integração dos sinais e com isso foi possível analisar a relação entre o ácido e o perácido na amostra.

Os sinais dos compostos **5** a **7** apresentaram intensidades relativas similares, cuja razão esperada entre os carbonos 1 a 6 era de 1:1:1:2:2:1, muito embora a integração referente aos sinais dos carbonos 4 e 5 de cada composto tenha apresentado valores acima do esperado. Talvez isto esteja relacionado com a determinação da área da integral, pois os sinais dos carbonos 4 e 5 do perácido são muito próximos dos sinais dos carbonos 4 e 5 dos ácidos correspondentes, resultando na variação observada. Além disso, o efeito do

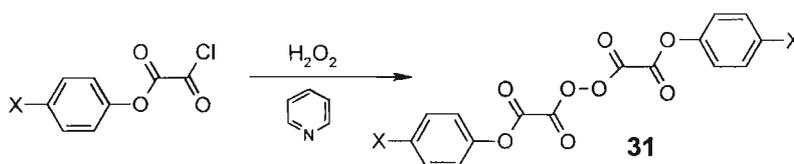
substituinte sobre os deslocamentos químicos de cada perácido é pronunciado nos carbonos 3 e 6.

Tabela 18: Deslocamentos químicos da RMN de ^{13}C (INVGATE) dos compostos **5** a **7** juntamente com as intensidades relativas, nas seguintes condições: Acetona D_6 , **5** e **6** ($-40\text{ }^\circ\text{C}$) e **7** ($-30\text{ }^\circ\text{C}$), 125 MHz.

	C	5	6	7
 <p>X = OCH_3 (5) X = CH_3 (6) X = H (7)</p>	1	154,8 (0,75)	154,7 (1,08)	154,8 (0,98)
	2	155,9 (0,92)	156,0 (1,04)	156,1 (0,53)
	3	143,8 (1,00)	148,4 (1,00)	150,6 (1,00)
	4	122,8 (3,00)	121,6 (2,80)	122,0 (2,26)
	5	114,8 (2,16)	130,7 (3,20)	130,5 (2,74)
	6	158,3 (1,42)	137,0 (1,05)	127,5 (1,02)
	7	55,47 (1,09)	20,6 (1,09)	-

A CCD, ao longo do trabalho, tornou-se um método bastante eficiente para acompanhar a formação do produto. Geralmente, estes compostos (**5-7**) continham, como impurezas, fenol e o ácido correspondente, que podiam ser identificados com lâmpada UV, no caso do fenol, e com alaranjado de metila, no caso do ácido. Foi interessante observar que o perácido, na presença de alaranjado de metila, causava a formação de uma mancha branca na placa de CCD, demonstrando a decomposição do alaranjado de metila na presença do perácido. Tal comportamento tornou-se um método complementar para identificação do perácido no produto bruto. Havia também a possibilidade de formação do peranidrido (**31**) (Esquema 24), o qual apresentaria comportamento similar ao perácido. Entretanto, segundo a literatura¹, o excesso de peróxido de hidrogênio impediria a formação de tal composto. Sendo assim, a reação foi feita utilizando H_2O_2 em excesso de dez vezes.

Esquema 24



Conforme mencionado anteriormente, o perácido geralmente apresentava fenol e o ácido correspondente como impurezas. Como não foi possível isolar o fenol, foram feitos alguns testes para verificar a sua influência na cinética da reação e na emissão de luz (Figura 11). Observou-se que a variação da concentração de fenol em 10 vezes em relação à concentração de **7** não resultou na diminuição da intensidade de emissão de luz nem na variação na cinética da reação, indicando que o fenol presente no perácido não afetaria os experimentos futuros.

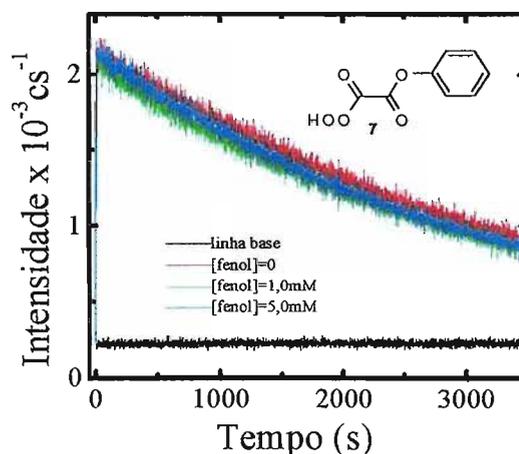


Figura 11: Influência da concentração de fenol na emissão de luz proveniente da reação do composto **7** catalisado por imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA), nas seguintes condições: [7]=0,5mM, [IMI-H]=1,0mM e [DPA]=1,0mM em acetato de etila anidro.

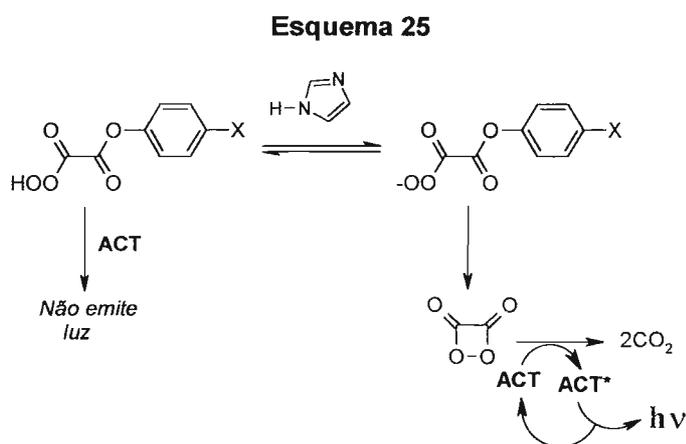
Outro ponto importante foi verificar qual o comportamento do ácido correspondente na presença da base, pois assim como o perácido, o ácido também sofre reação com imidazol. Esta reação pôde ser acompanhada pela liberação do fenol correspondente através da sua absorção na região do ultravioleta. Infelizmente, não foi possível conseguir um perácido livre da presença do fenol, e com isso o experimento de absorção no UV tornou-se inviável. Por outro lado, Stevani², observou que o ácido *p*-clorofeniloxálico

reagia 100 vezes mais lentamente do que o O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-clorofenila (**8A**). Portanto, esta foi uma condição para admitir que provavelmente os outros ácidos correspondentes (H, CH₃ e OCH₃) teriam comportamento semelhante em relação aos perácidos.

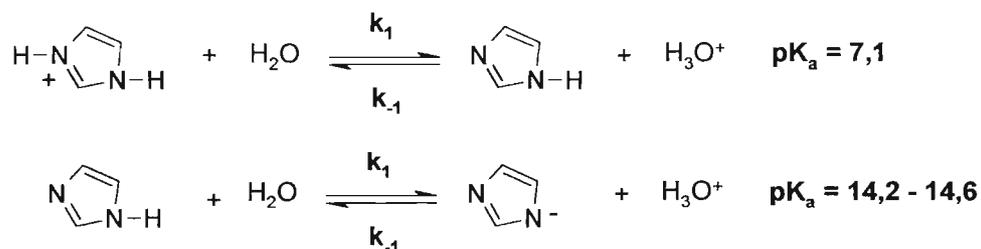
O resultado mais importante da preparação dos compostos **5-7** foi verificar que estes não reagem com o ACT na ausência de uma base. Foi relatado na literatura que derivados dos compostos **5** a **7** seriam os intermediários de alta energia (IAE) que na presença de um ativador (ACT), resultariam na emissão de luz³. Entretanto, foi verificado que a emissão de luz só é observada quando uma base adequada ($pK_a > 6,0$) é utilizada. Este resultado também foi observado por Stevani ao estudar O,O-hidrogênio monoperioxalato de *p*-clorofenila².

4.2 Estudo cinético dos perácidos 5 a 7

A reação dos compostos **5** a **7** foi catalisada por imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) em acetato de etila anidro, resultando em emissão de luz, devido à desprotonação do mesmo por imidazol, saída do grupo de partida e formação do IAE; que, por sua vez, interage com o DPA na etapa de quimiexcitação provocando a sua excitação eletrônica. (Esquema 25).



O uso de imidazol neste estudo merece alguns comentários, pois foi observado que em estudos envolvendo o sistema peroxioxalato, os melhores resultados foram observados com esta base, e isto inclui, também, trabalhos de química analítica. Imidazol é uma molécula heterocíclica plana com seis elétrons π . Em solução aquosa, um equilíbrio ácido-base é estabelecido com o solvente.



As reações inversas são favoráveis, cujas constantes de velocidades são controladas por difusão. O imidazol pode ser protonado no nitrogênio 3

formando o íon imidazolium ($pK_a=7,1$) ou pode ser desprotonado, em soluções fortemente alcalinas, no nitrogênio 1 formando o íon imidazolida ($pK_a=14,2-14,6$)⁴. O extenso interesse pelas propriedades catalíticas de imidazol começou depois que Hartley e Massey⁵ observaram que éster metílico da benzoil histidina catalisava hidrólise de acetato de *p*-nitrofenila. De lá para cá, uma série de trabalhos relevantes podem ser encontrados na literatura; dentre eles os trabalhos de Jencks *et al*^{6,7}, Bruice *et al*¹⁵, Fife⁸, entre outros.

No estudo dos perácidos, apresentado neste trabalho, foi observado uma dependência de primeira ordem em baixas concentrações de imidazol e uma dependência de segunda ordem em altas concentrações, caracterizando uma dependência complexa para os três casos (Figuras 12, 14 e 16).

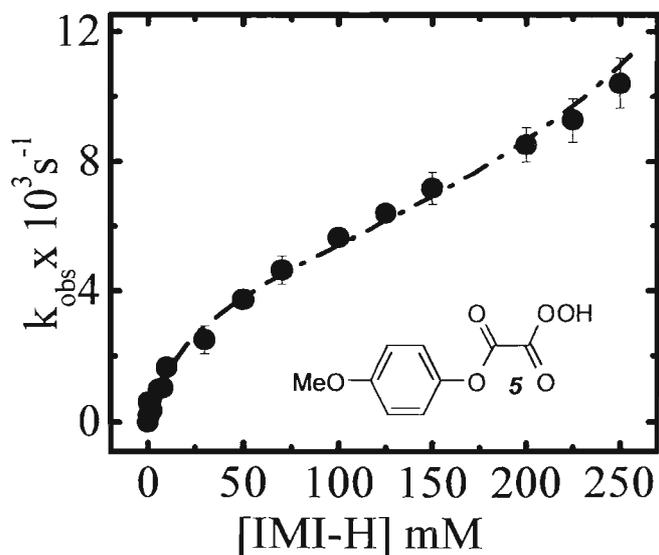


Figura 12: Os valores da constante de velocidade observada (k_{obs}) na reação de **5**, variando a concentração de imidazol na presença de DPA, utilizando acetato de etila anidro como solvente, nas seguintes condições: $[\mathbf{5}] = 0,5 \text{ mM}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \text{ mM}$ e $[\text{IMI-H}] = 0,3 \text{ mM}$ a 250 mM a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

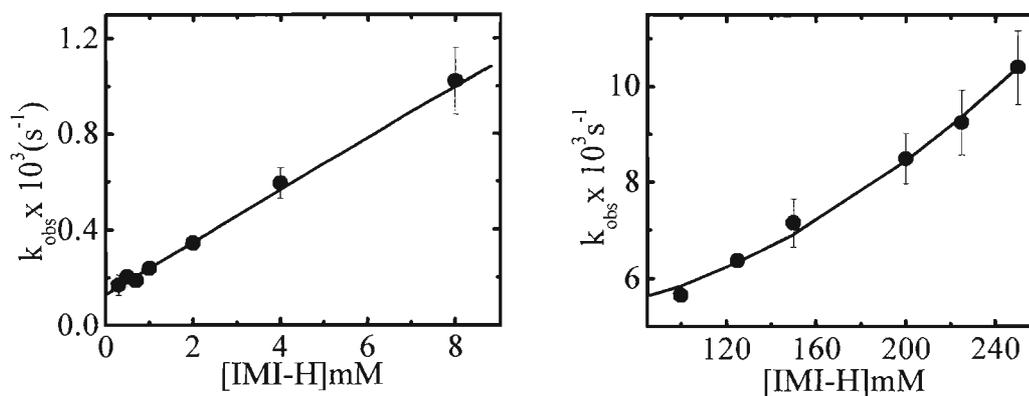


Figura 13: Resultados experimentais provenientes da figura 12. $[\text{IMI-H}] \leq 8 \text{ mM}$ e $[\text{IMI-H}] \geq 100 \text{ mM}$.

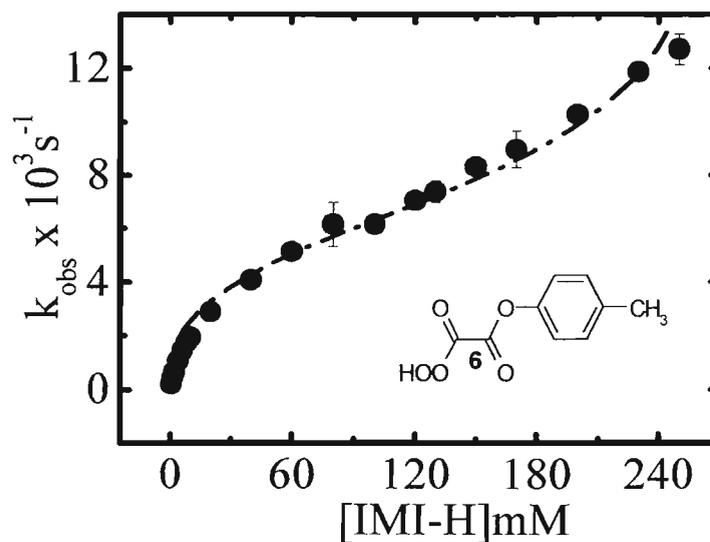


Figura 14: k_{obs} vs. $[\text{IMI-H}]$ para a reação de **6** com imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA), utilizando acetato de etila anidro como solvente, nas seguintes condições: $[\mathbf{6}] = 0,1 \text{ mM}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \text{ mM}$ e $[\text{IMI-H}] = 0,5 \text{ mM}$ a 250 mM .

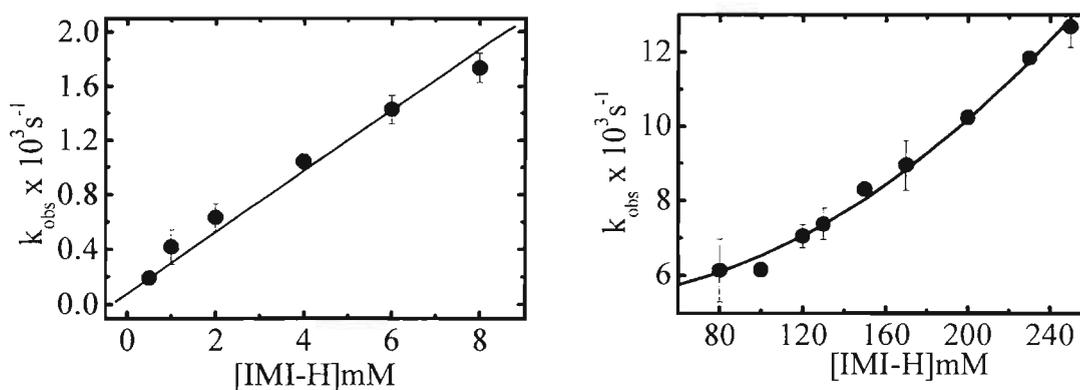


Figura 15: Resultados experimentais obtidos a partir da figura 14, cuja concentração de $[\text{IMI-H}] \leq 6 \text{ mM}$ e $[\text{IMI-H}] \geq 80 \text{ mM}$.

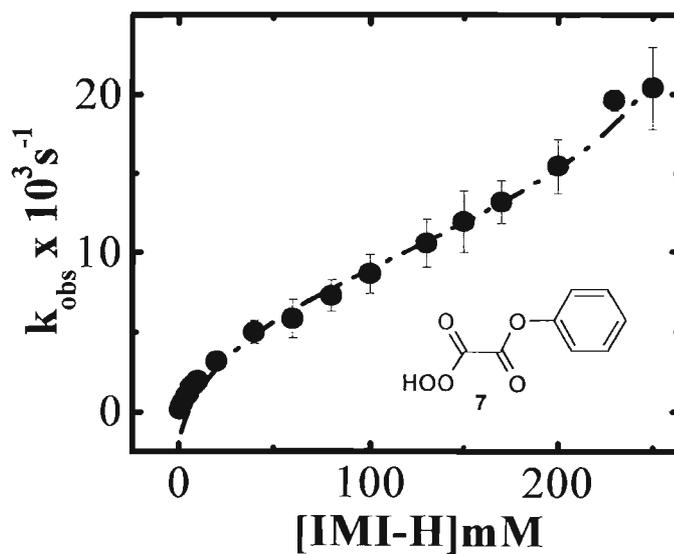


Figura 16: Constante de velocidade observada (k_{obs}) em função da concentração de imidazol no estudo cinético da reação de 7 catalisada por imidazol na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA), utilizando acetato de etila anidro como solvente, nas seguintes condições: $[\text{7}] = 0,5 \text{ mM}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \text{ mM}$ e $[\text{IMI-H}] = 0,5 \text{ mM}$ a 250 mM .

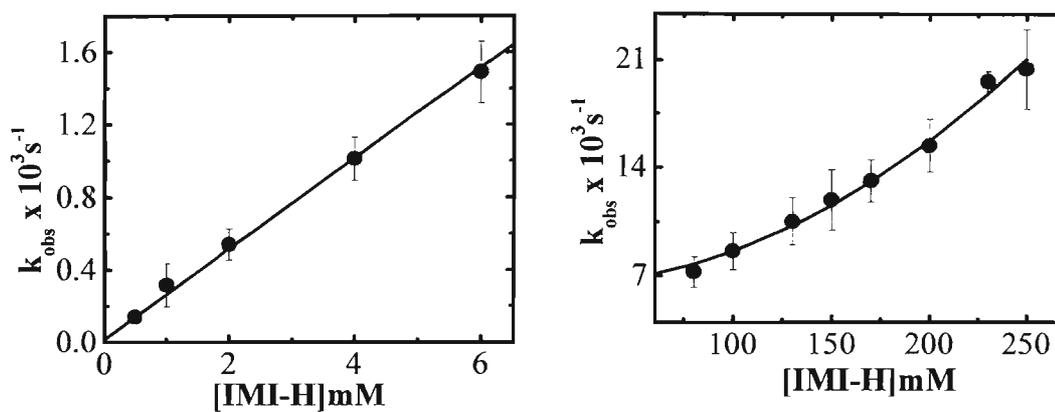
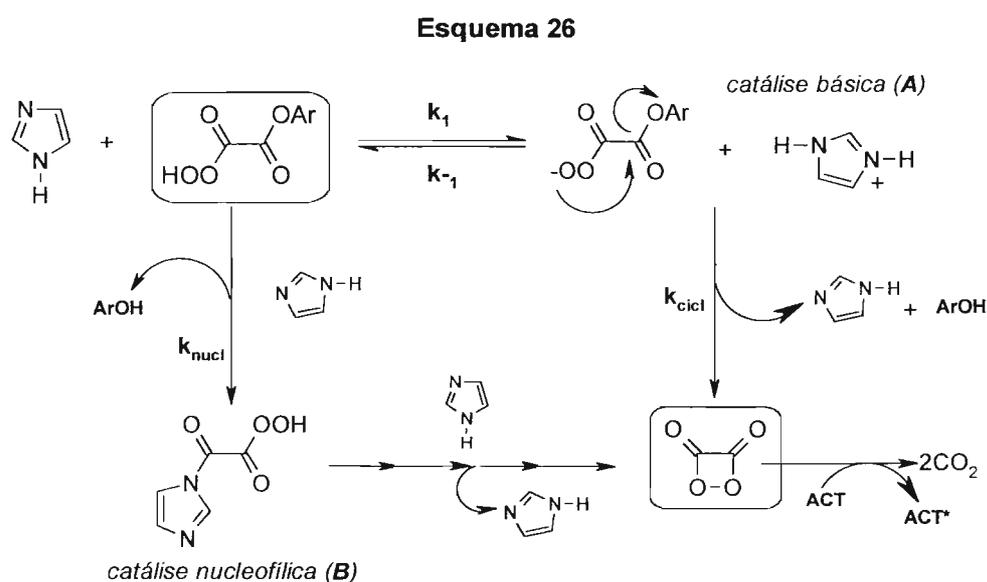
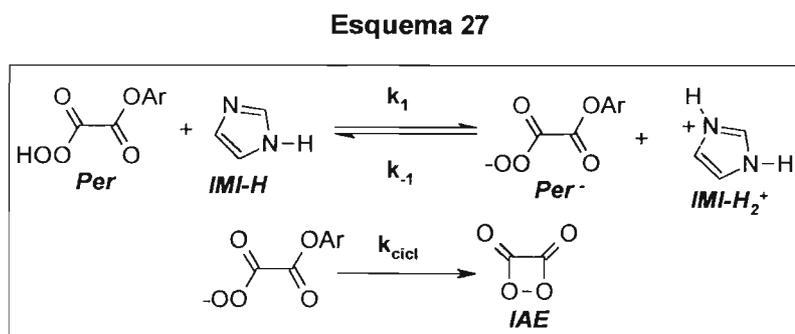


Figura 17: Resultados experimentais obtidos a partir da figura 16. $[\text{IMI-H}] \leq 6 \text{ mM}$ e $[\text{IMI-H}] \geq 80 \text{ mM}$.

O comportamento de k_{obs} em função da concentração de imidazol pode ser explicado pelo mecanismo proposto no esquema 26. Em baixas concentrações de imidazol este agiria principalmente como catalisador básico desprotonando o perácido, resultando em íon percarboxilato. Este por sua vez, sofreria ciclização no passo lento, formando o intermediário de alta energia. Neste passo ocorre a participação de apenas uma molécula de imidazol. Em concentrações mais altas de imidazol, este agiria predominantemente como catalisador nucleofílico (Esquema 26), com a participação de duas moléculas de imidazol no passo lento^{7,8}.



De acordo com o mecanismo proposto, a contribuição do imidazol em baixas concentrações pode ser deduzida a partir do seguinte esquema mecanístico (Esquema 27).



O aumento da concentração da base no meio reacional, favorece a desprotonação do perácido, resultando na sua ciclização e na formação do intermediário de alta energia (IAE).

Aplicando a aproximação do estado estacionário no perácido desprotonado têm-se:

$$\frac{d[Per^-]}{dt} = k_1[Per][IMI-H] - k_{-1}[Per^-][IMI-H_2^+] - k_{cicl}[Per^-] = 0$$

$$[Per^-] = \frac{k_1[Per][IMI-H]}{k_{-1}[IMI-H_2^+] + k_{cicl}}$$

A velocidade da reação é dada por: $k_{obs} = k_{cicl}[Per^-]$

$$k_{obs} = \frac{k_{cicl}k_1[IMI-H]}{k_{-1}[IMI-H_2^+] + k_{cicl}}$$

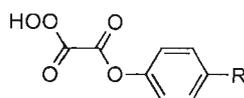
A equação não pôde ser mais simplificada porque não há os valores das constantes de equilíbrio envolvidas em acetato de etila. Esta dedução está relacionada apenas com a etapa de catálise básica específica. Para obter a equação global correspondente aos dois mecanismos em questão, basta somar uma equação de segunda ordem.

$$k_{obs} = \frac{k_{cicl}k_1[IMI-H]}{k_{-1}[IMI-H_2^+] + k_{cicl}} + k_{nucl}[IMI-H]^2$$

A maneira encontrada para se obter dados das curvas com dependência complexa, foi analisá-las separadamente (Figuras 12, 14 e 16). Estas curvas foram divididas em duas regiões, uma para baixas concentrações e outra para altas concentrações de imidazol. Da região linear ($[IMI-H] < 8,0\text{mM}$), obteve-se uma constante de velocidade bimolecular (k_{Bim}) utilizando a seguinte equação: $k_{obs} = k_{Bim}[IMI-H]$ e da região de altas concentrações ($[IMI-H] > 80\text{mM}$) a curva pôde ser ajustada com uma função de segunda ordem: $k_{obs} = k_{Trim}[IMI-H]^2 + C$, obtendo-se, desta forma, a constante de velocidade trimolecular (Tabela 19).

As constantes de velocidade bimolecular (k_{bim}) e trimolecular (k_{trim}) são condizentes com o efeito eletrônico de seus substituintes, ou seja, diminuindo o efeito atraente de elétrons dos substituintes observa-se uma diminuição na constante de velocidade. Porém, no caso do derivado com o grupo metila **6**, a diferença não é muito acentuada quando se compara com o derivado não substituído **7**.

Tabela 19: Influência dos substituintes nas constantes de velocidade bimolecular (k_{Bim}) e trimolecular (k_{Trim}) dos derivados **5-7** e **8A**.

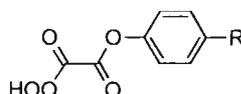


R	$k_{\text{Bim}} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$[\text{IMI-H}] \leq$ (mM)	$k_{\text{Trim}} (\text{M}^{-2}\text{s}^{-1})$	C	$[\text{IMI-H}] \geq$ (mM)
OCH₃ (5)	$0,108 \pm 0,009$	8	$0,086 \pm 0,003$	$0,0049 \pm 0,0001$	100
CH₃ (6)	$0,224 \pm 0,010$	6	$0,122 \pm 0,003$	$0,0053 \pm 0,0001$	80
H (7)	$0,250 \pm 0,006$	6	$0,234 \pm 0,009$	$0,0062 \pm 0,0003$	80
Cl (8A)^a	$0,96 \pm 0,02$	20	$1,6 \pm 0,2$	$0,040 \pm 0,005$	100

^a Ref. 2

Em relação ao rendimento quântico singlete (Φ_{S}) observa-se que aumentando a concentração de imidazol o Φ_{S} diminui (Tabela 20). Correlacionando os diferentes perácidos, esta redução fica em torno de aproximadamente 100 vezes, sendo que, a maior variação foi observada com o perácido **7**. Vale lembrar que a influência do imidazol sobre o Φ_{S} também foi observada com o bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato. Neste caso foi verificado que o imidazol, interage com o intermediário de alta energia (IAE), anulando a interação deste com o ativador (ACT)⁹.

Tabela 20: Correlação entre os rendimentos quânticos singlete (Φ_S) obtidos dos compostos **5**, **6**, **7** e **8A**.



R	OCH ₃ (5)	CH ₃ (6)	H (7)	Cl (8A) ^a
[IMI-H]	$\Phi_S \times 10^3$	$\Phi_S \times 10^3$	$\Phi_S \times 10^3$	$\Phi_S \times 10^3$
mM	(Emol ⁻¹)	(Emol ⁻¹)	(Emol ⁻¹)	(Emol ⁻¹)
1	0,86 ± 0,07	2,74 ± 0,63	3,77 ± 1,81	3,5 ± 0,3
10	0,22 ± 0,03	0,48 ± 0,07	0,17 ± 0,03	0,51 ± 0,01
100	0,044 ± 0,002	0,098 ± 0,021	0,10 ± 0,01	0,080 ± 0,003
250	0,023 ± 0,002	0,045 ± 0,001	0,045 ± 0,006	0,038 ± 0,003

^a Ref.2

Um ponto a ser ressaltado com respeito à diminuição do rendimento quântico singlete corresponde às impurezas presentes no perácido. O aumento da concentração de imidazol, conforme foi observado, causou uma queda no Φ_S . Porém, esta diminuição poderia também ser causada pela interação das impurezas com o imidazol ou com o DPA. Estas impurezas são constituídas basicamente de fenol, correspondente a cada derivado, e também do ácido correspondente. De acordo com alguns testes, sabe-se que o fenol não interfere na emissão de luz, portanto, em primeira análise, não poderia ser o responsável pela diminuição do Φ_S .

Para verificar como as impurezas influenciam na emissão de luz, foram feitos alguns testes com o perácido **7**, variando a sua concentração e a concentração do DPA. De acordo com os resultados, o aumento da concentração de **7** resultou na diminuição do Φ_S , enquanto que no k_{obs} ocorreu uma variação pouco significativa (Tabela 21). Isto indica que a presença de impurezas não altera a etapa lenta da reação; embora interfira na etapa de excitação, resultando na diminuição do Φ_S .

O aumento da concentração de DPA em dez vezes resultou em um aumento de sete vezes no Φ_S^∞ de emissão e uma pequena variação na

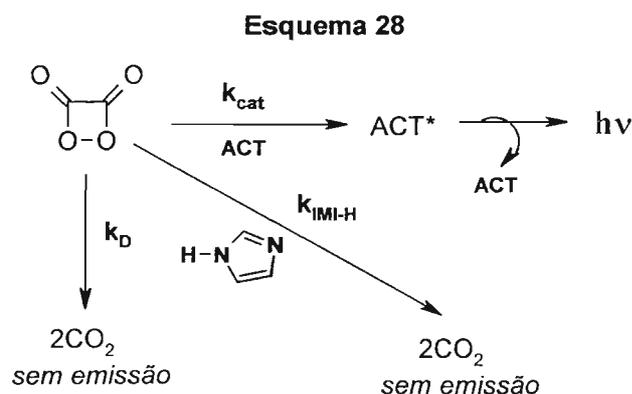
constante de velocidade observada (k_{obs}). Fato também observado com o perácido **8A**² e com o sistema peroxioxalato⁹. Ainda neste sentido, experimentos sobre a influência de impurezas, contidas no perácido, na fluorescência do 9,10-difenilantraceno (DPA) foram realizados. Ao registrar o espectro de fluorescência do DPA na presença da solução do perácido **7**, verificou-se que estas supostas impurezas não seqüestram a fluorescência do ACT (*dados não mostrados*).

Tabela 21: Influência da variação da concentração de **7** e da concentração de DPA na constante de velocidade observada (k_{obs}) e na área de emissão de luz, nas seguintes condições: [DPA]=1,0mM e [IMI-H]=1,0mM para os experimento com variação de **7** e [7]=0,5, [IMI-H]=1,0mM para os experimentos com variação de DPA.

[7] mM	$k_{obs} \times 10^4$ s ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ (Emol ⁻¹)		[DPA] mM	$k_{obs} \times 10^4$ s ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ (Emol ⁻¹)
0,25	3,66	4,36		0,5	1,82	2,11
1,0	2,97	1,86		1,0	2,49	2,60
1,5	3,07	1,76		2,5	2,46	6,55
				5,0	1,65	15,8

A redução no rendimento quântico singlete (Φ_S), observado na reação dos perácidos e também no sistema peroxioxalato, quando se aumenta a concentração de imidazol pode ser, em uma primeira análise, associada ao processo de supressão de energia, muito embora, na reação em questão não ocorra transferência de energia. Na etapa de quimiexcitação do sistema peroxioxalato ocorre a interação do IAE com o ativador, gerando o ativador no estado excitado. Esta interação, a qual resulta em emissão de luz, provavelmente ocorre em concorrência com outros caminhos que desativam a formação de estados excitados.

Ao que tudo indica, o imidazol adicionado à reação, responsável pela catálise nas etapas anteriores ao processo de quimiexcitação, contribui para que ocorra um destes caminhos de desativação (Esquema 28).



Com base nestas observações mecanísticas, de que maneira o imidazol poderia atuar na supressão da emissão de luz? Em um estudo desenvolvido anteriormente¹⁰, foi reportado que a variação na concentração de imidazol não altera a fluorescência do 9,10-difenilantraceno (DPA) e, que, portanto, esta interação não é fotofísica, isto é, atuação direta do imidazol sobre o estado excitado do DPA. O caminho mais provável para que ocorra esta supressão é através da interação do imidazol diretamente com o IAE por intermédio de uma interação química. Considerando, que a concentração do ACT é inalterada, e que a intensidade de emissão diminui com o aumento da concentração de imidazol, podemos, à princípio, aplicar uma relação de Stern-Volmer¹¹; já que o imidazol, nesta reação, atua como um “seqüestrador” de emissão e, deste modo, obter o rendimento singlete na concentração zero (Φ_s^0) de imidazol, eliminando a sua interação com o ACT (Figura 18 e Tabela 22).

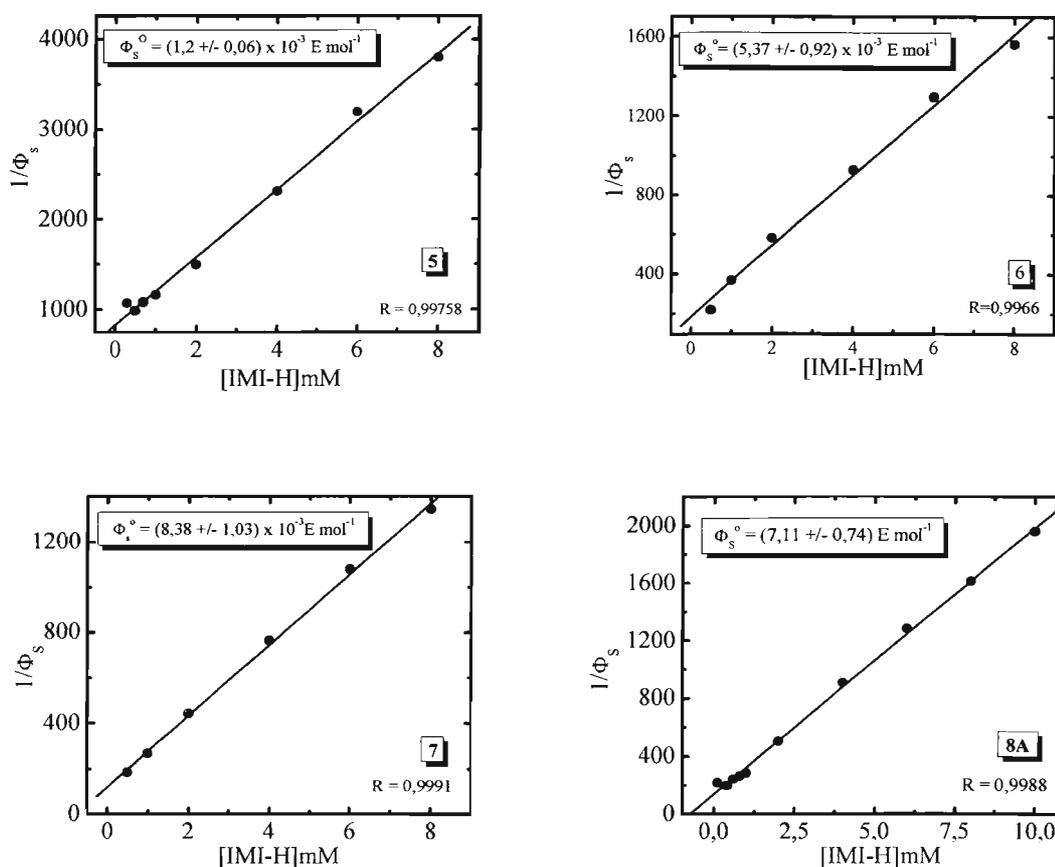


Figura 18: Influência da concentração de imidazol sobre o Φ_s na reação de **5** a **7** e **8A** com imidazol: extrapolação para concentração zero de imidazol.

Embora o processo de supressão da emissão de luz que ocorre na reação do perácido seja diferente de um processo de supressão clássico (desativação do estado excitado), a resposta cinética é a mesma, isto é, diminuição da intensidade de luz. Sendo assim, é permitido aplicar a relação de Stern-Volmer aos resultados obtidos.

Tabela 22: Rendimento quântico singlete extrapolado para a concentração zero de imidazol (Φ_S^0), ($1/\Phi_S$ vs. $[\text{IMI-H}]$), juntamente com o rendimento quântico singlete (Φ_S) obtido na menor $[\text{IMI-H}]$.

R	$\Phi_S^0 \times 10^3 \text{ E mol}^{-1}$	$\Phi_S \times 10^3 \text{ E mol}^{-1}$
-OCH₃ (5)	1,21 ± 0,06	0,9 ± 0,2 ^b
-CH₃ (6)	5,37 ± 0,92	4,6 ± 0,6 ^c
H (7)	8,38 ± 1,03	5,5 ± 0,6 ^c
Cl (8A)^a	7,13 ± 0,74	4,6 ± 0,7 ^d

^a obtidos com os dados da Ref.2, ^b $[\text{IMI-H}] = 0,3\text{mM}$, ^c $[\text{IMI-H}] = 0,5\text{mM}$, ^d $[\text{IMI-H}] = 0,1\text{mM}$

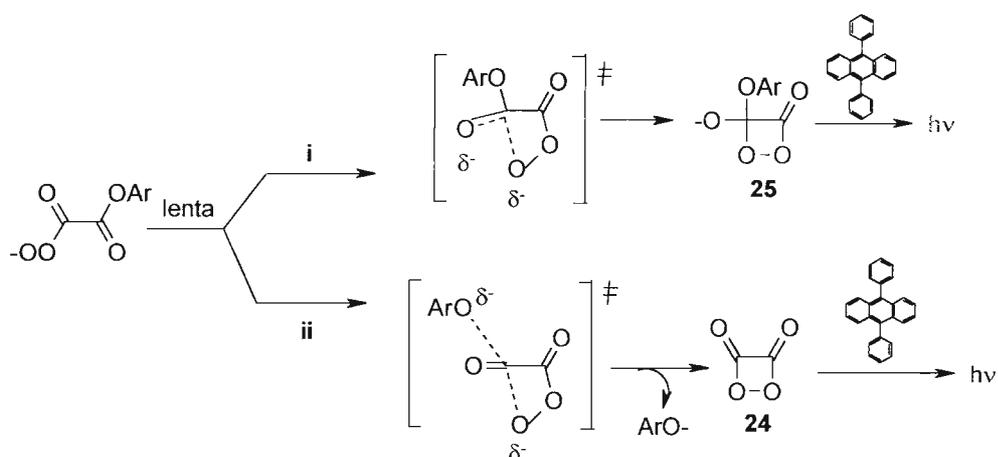
A Figura 19 apresenta os resultados obtidos do inverso do rendimento quântico singlete (Φ_S) em função da concentração de imidazol, sendo que o rendimento quântico na concentração zero de imidazol (Φ_S^0) aumenta de acordo com o efeito do substituinte, exceto para o perácido **8A** (Tabela 22). Em primeira análise, isto mostra que há outros fatores responsáveis pela diminuição da emissão de luz e não apenas o efeito do imidazol.

Os valores do Φ_S^0 são maiores do que o Φ_S observado para a menor concentração de imidazol, confirmando que o imidazol, além de atuar como catalisador também reduz a formação de estados excitados.

4.3 Correlação de estrutura e reatividade

Conforme fora mencionado na introdução, a estrutura do intermediário de alta energia (IAE), que se forma na etapa de quimiexcitação, é um dos motivos de controvérsia entre vários grupos de pesquisa. Para obter informações a respeito deste IAE, foi feito um estudo de correlação de estrutura e reatividade, calculando o valor de ρ , através dos gráficos do tipo $\log k_{\text{bim}}$ e $\log k_{\text{trim}}$ vs σ^- (Figura 19) com o intuito de obter evidências sobre a identidade estrutural do intermediário de alta energia (Esquema 29). Os dois intermediários de alta energia mais prováveis na reação peroxioxalato são a 1,2-dioxetanodiona (**24**) e a 1,2-dioxetanona **25**, os quais podem ser formados a partir de derivados de perácidos¹². A ciclização do perácido, após a desprotonação, pode ocorrer de duas maneiras: (i) ataque intramolecular do íon percarboxilato, sem saída do grupo de partida, resultando na formação da 1,2-dioxetanona (**25**), que, por sua vez, pode agir diretamente como IAE ou formar **24** pela saída do grupo de partida em uma etapa rápida; (ii) ataque intramolecular do íon percarboxílate, acompanhado pela saída simultânea do grupo de partida fenolato, resultando na 1,2-dioxetanodiona (**24**) (Esquema 29).

Esquema 29



O valor elevado de ρ positivo calculado pela correlação de Hammett para os derivados de perácidos contendo diferentes substituintes no anel aromático indicaria a ocorrência do caminho **ii** e com isso forneceria uma evidência clara para a participação da 1,2-dioxetanodiona (**24**) como IAE na reação peroxioxalato.

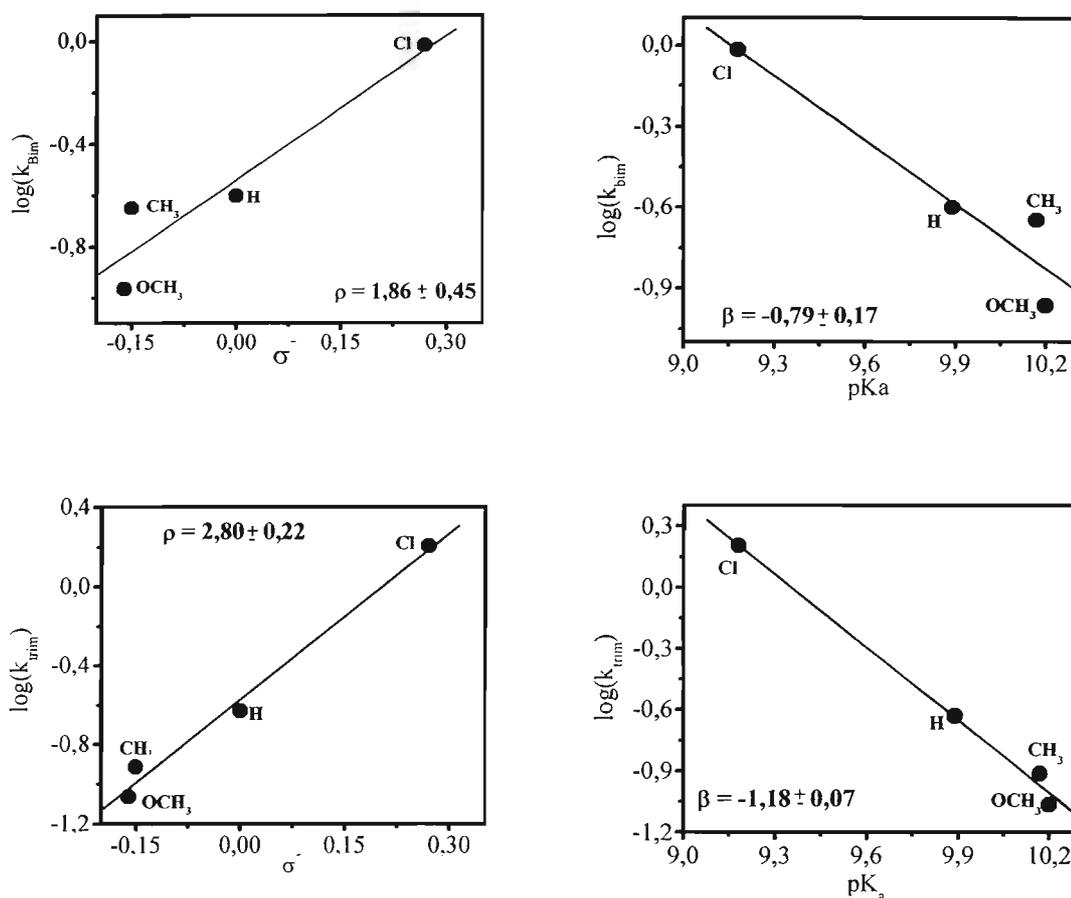
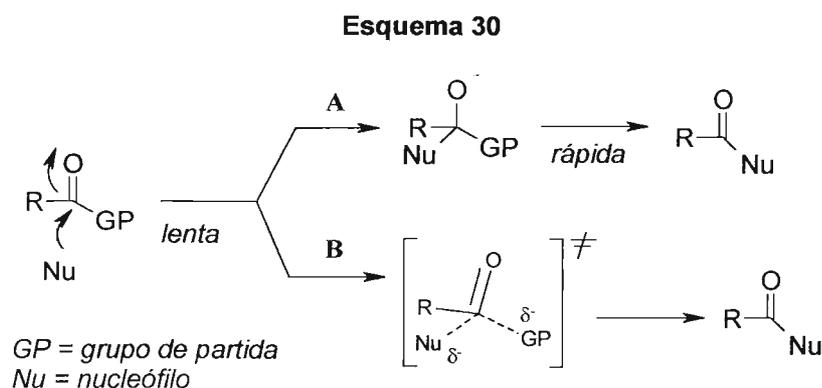


Figura 19: Correlação de Hammett, $\log k_{bim}$ e $\log k_{trim}$ vs σ^- , e $\log k_{bim}$ e $\log k_{trim}$ vs pK_a do fenol, respectivamente com os derivados do O,O-hidrogênio monoperioxalato de arila (**5-7** e **8A**) com diferentes substituintes.

Com o gráfico $\log k_{bim}$ vs σ obteve-se um valor de ρ igual a $1,86 \pm 0,45$, indicando que no estado de transição da etapa limitante ocorre o

desenvolvimento de carga negativa e, a partir do gráfico k_{bim} vs $\text{p}K_{\text{a}}$ obteve-se $\beta_{\text{GP}} = -0,79$ (*inclinação Brønsted*).

De acordo com Jencks *et al*⁶, correlações do tipo Hammett para reações de acetato de arila substituídos com determinadas aminas exibem valores de ρ aproximadamente igual a 2, indicando que estas reações apresentam grande sensibilidade em relação à natureza do grupo de partida. Enquanto que, nucleófilos básicos oxigenados exibem valores menores. A questão fundamental neste tipo de reação está relacionada ao mecanismo operante, o qual resulta na liberação do fenol substituído. Nestas reações, haveria a formação de um intermediário tetraédrico na etapa limitante e saída do grupo de partida em uma etapa posterior e rápida (Esquema 30A), ou a reação ocorreria por um mecanismo concertado, sem a formação do intermediário (Esquema 30B)?



Na hidrólise alcalina de tiobenzoatos de fenila substituídos, Um *et al*¹³., observaram um valor de ρ igual a 0,75 e β igual a -0,35. Com base nestes resultados, os autores propuseram a formação de um intermediário na etapa limitante da reação. Por outro lado, El Seoud *et al*.¹⁴, relataram valores de ρ igual a 1,59 e β igual a -0,75, para a reação de hidrólise de 3,5-benzoatos de fenila substituídos catalisada por imidazol. Os autores propuseram saída do fenol na etapa limitante, ou seja, saída simultânea do fenol concomitante com o ataque nucleofílico.

A magnitude do valor de β indica a extensão da ligação do grupo de partida no estado de transição da etapa limitante. Valores baixos, entre -0,2 e -0,35 foram encontrados para reações de hidrólises de acetatos¹⁵ e cinamatos de arila¹⁶, para aminólises de acetatos de arila⁶, e tioderivados¹⁷. Com base nestes valores, foi proposta a formação de um intermediário tetraédrico na etapa limitante. Por outro lado, também foram reportados trabalhos envolvendo a saída do grupo de partida na etapa-limitante da velocidade, isto é, sem formação de intermediário tetraédrico, cujos valores de β foram acima de -0,75; como por exemplo: reações de cinamatos de arila com íon N_3^- ($\beta_{GP} = -0,95$), aminólise de acetatos de arila, benzoatos com grupos pobres de partida ($\beta_{GP} = -1,40$) e hidrólise de derivados de benzoatos de fenila substituídos catalisado por imidazol ($\beta_{GP} = -0,75$)¹⁴.

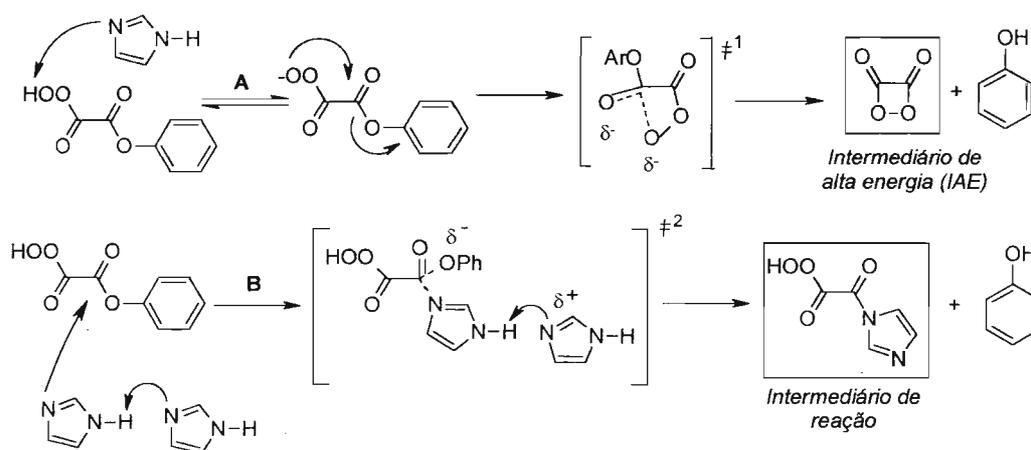
Diante do resultado obtido no presente trabalho ($\rho = 1,86 \pm 0,45$ e $\beta_{GP} = -0,79$), é possível propor que na reação de derivados de O,O-hidrogênio monoperóxoxalato de fenila catalisada por imidazol, ocorra ataque intramolecular do íon percarboxilato acompanhado pela saída simultânea do grupo de partida, sendo portanto o caminho ii o mecanismo mais adequado e a 1,2-dioxetanodiona (**24**) o IAE mais provável (Esquema 29). Além disso, o valor de β_{GP} indica que no passo de ciclização, para a formação do IAE, mais da metade da carga formal está localizada no fenolato.

As correlações obtidas com o $\log k_{trim}$ vs σ e pK_a indicam que ocorre a formação de uma alta densidade de carga negativa, $\rho = 2,80 \pm 0,22$ e $\beta_{GP} = -1,18 \pm 0,07$, no estado de transição. Todavia, de acordo com o mecanismo proposto (Esquema 26), esta é a etapa de adição nucleofílica do imidazol à carbonila do éster, resultando na saída do fenolato. Nesta etapa não ocorre a formação do IAE.

Observa-se que os valores de ρ e β são maiores na região de catálise nucleofílica ($\rho = 2,80 \pm 0,22$ e $\beta_{GP} = -1,18 \pm 0,07$) do que na região de catálise básica ($\rho = 1,86 \pm 0,45$ e $\beta_{GP} = -0,79$). Na região de catálise nucleofílica (altas

concentrações de imidazol), o ataque do imidazol à carbonila do éster e saída do fenol, resulta em um intermediário (Esquema 31 B), diferente do intermediário que seria esperado na catálise básica e, que, resultaria na saída do fenol formando diretamente o intermediário de alta energia (IAE) (Esquema 31A). Portanto, o valor de β obtido nesta etapa não fornece nenhuma informação sobre o IAE, pois este é formado em uma etapa posterior à saída do fenolato.

Esquema 31



Deve-se destacar ainda, que os nucleófilos envolvidos nas etapas correspondentes as constantes k_{bim} e k_{trim} são diferentes, ou seja, íon percarboxilato e imidazol, respectivamente. Isto explica a diferença nos valores de ρ e β obtidos.

Em resumo deve-se destacar que, o valor de ρ ($\log k_{\text{Bim}}$ vs σ) indica que no estado de transição para a formação do IAE ocorre o desenvolvimento de uma alta densidade de carga negativa. Este fato, estaria associado ao ataque nucleofílico intramolecular do íon percarboxilato à carbonila do éster com concomitante saída do grupo de partida, o que nos permite inferir que a 1,2-dioxetanodiona (**24**) seria o intermediário de alta energia que interage com o ativador na etapa de quimiexcitação da reação peroxioxalato.

O gráfico de $\log(\Phi_s^0)$ vs. σ^- (Figura 20) não apresentou correlação significativa. De acordo, com a tabela 22, o Φ_s^0 é maior do que o Φ_s obtido na

menor concentração de imidazol, fato esperado, visto que nas condições de Φ_s^0 não há a interferência do imidazol. Em primeira análise, supõe-se que seria observada correlação linear do Φ_s^0 com o σ^- , pois o melhor grupo de partida geraria o IAE mais eficientemente. Entretanto, talvez este não seja necessariamente o único fator influente, já que outros fatores poderiam influenciar a obtenção do Φ_s^0 como, por exemplo, impurezas presentes no sistema ou até mesmo o modo de preparação dos compostos, como é o caso do composto **8A**. Por outro lado, este pode ser o comportamento real do Φ_s^0 em função do σ^- , não existindo correlação linear entre estas duas variáveis.

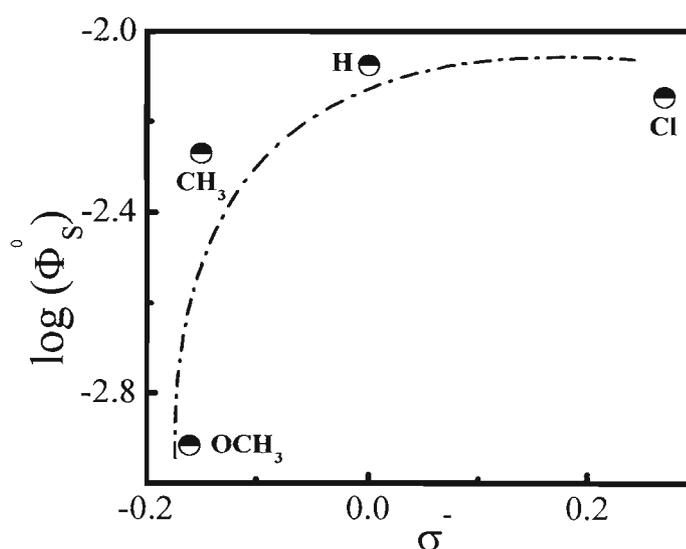
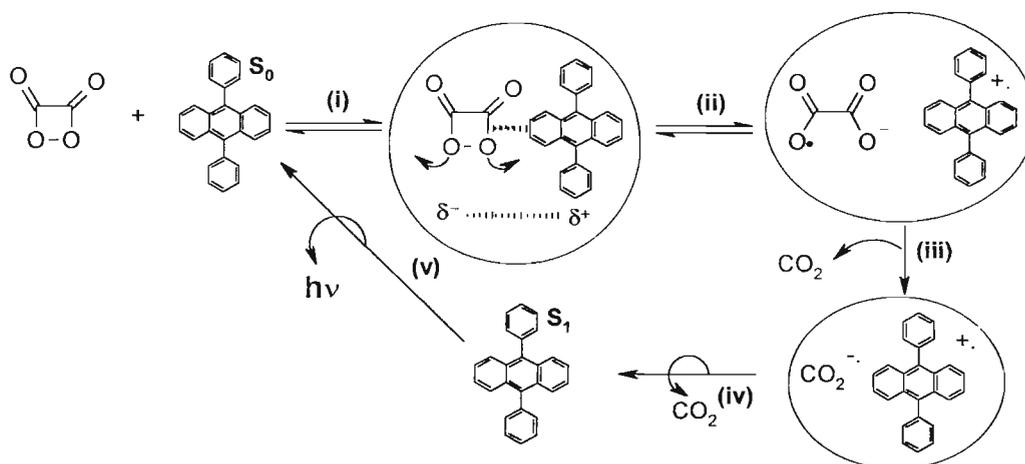


Figura 20: Correlação de Hammett, $\log(\Phi_s^0)$ vs. σ^- , com os valores de σ^- de Hammett para os perácidos **5** a **7** e **8A**.

4.4 Estudo da Eficiência de transferência de elétron na etapa de quimiexcitação

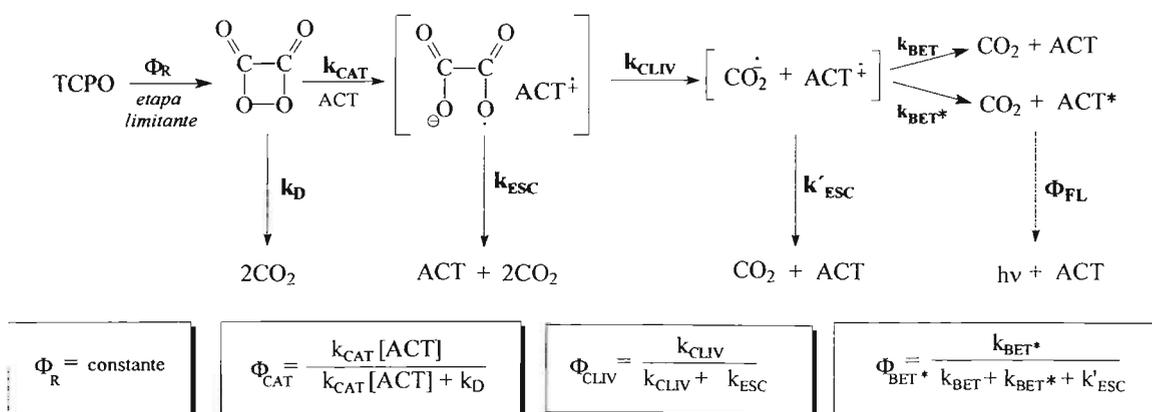
Conforme fora dito anteriormente, a etapa de quimiexcitação ocorre em uma etapa rápida da reação, e, portanto não pode ser avaliada por cinética. Esta é a etapa a qual envolve a interação do IAE com o ativador dentro da gaiola de solvente mediada por uma transferência de elétron. Considerando que nesta etapa há apenas o envolvimento de duas substâncias, a mudança na estrutura de uma delas poderia trazer informações sobre o processo no qual elas estão inseridas. Alteração na estrutura do ativador mudaria principalmente o rendimento de fluorescência (Φ_F) e o potencial de oxidação. O mecanismo utilizado para explicar a geração de estados excitados que ocorre na etapa de quimiexcitação é o mecanismo CIEEL (*vide introdução*) (Esquema 32). Os resultados apresentados nesta parte do trabalho, têm como objetivo principal obter informações sobre o mecanismo CIEEL do sistema peroxioxalato proposto neste trabalho¹⁸. O intermediário de alta energia (IAE) postulado nesta reação é a 1,2-dioxetanodiona, conforme evidência indireta reportada na literatura¹⁹, e nos resultados obtidos neste trabalho.

Esquema 32



De acordo com o mecanismo CIEEL proposto, ocorre a transferência de elétron do ACT para o IAE no passo limitante da reação, acompanhada pela clivagem da ligação O-O do peróxido. A clivagem da ligação carbono-carbono do peróxido leva à formação do ânion radical do CO₂, ainda associado ao cátion radical do ACT dentro da gaiola de solvente (Esquema 32). Em seguida, o par de íons radical sofre retro-transferência (BET), levando a formação de CO₂ e do ativador no estado singlete excitado (k_{BET*}) ou no estado fundamental (k_{BET}), ou ainda, através do escape das espécies da gaiola de solvente, formando os produtos no estado fundamental. Considerando cada caminho que leva a formação do estado excitado, juntamente com os que o desativam, o rendimento para cada etapa pode ser obtido de acordo com o esquema 33.

Esquema 33



Dos gráficos do inverso do rendimento quântico singlete ($1/\Phi_S$) em relação ao inverso da concentração do ACT ($1/[\text{ACT}]$) dos ativadores **9** a **13** (Figura 6-resultados) foram obtidos os parâmetros de quimiluminescência $k_{\text{cat}}/k_{\text{D}}$ e Φ_S^∞ (Tabela 15-resultados). Os valores de $\ln(k_{\text{cat}}/k_{\text{D}})$ apresentam correlação linear com o potencial de oxidação de meio-pico ($E_{1/2}^{\text{ox}}$) dos ativadores (Figura 21), conforme seria esperado pelo mecanismo. A transferência de elétron do ativador para o intermediário de alta energia (**24**) é proposta como a etapa limitante do mecanismo, sendo que neste par o potencial de redução

permanece inalterado, visto que a espécie que interage com os diferentes ativadores é a mesma.

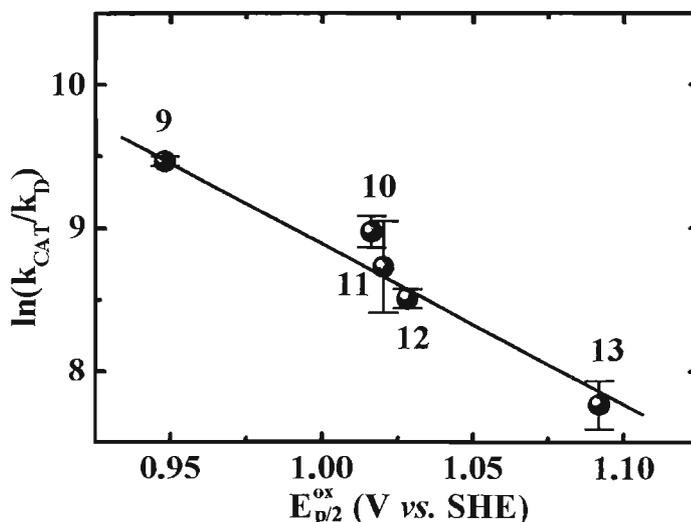


Figura 21: Correlação do parâmetro de quimiluminescência k_{cat}/k_D com o potencial voltamétrico de meio-pico ($E_{p/2}^{ox}$) dos ativadores (9-13). De acordo com a equação 7, $\alpha=0,29\pm0,03$, $R=0,985$.

Da inclinação da reta obteve-se o coeficiente de transferência de elétron (α), um indicador empírico da sensibilidade do valor de k_{cat} em relação à mudança do potencial de oxidação do ativador, desenvolvido por Scandola *et al.*²⁰ (Equação 6). Entretanto, o valor de α aqui reportado não é um coeficiente de transferência de elétron verdadeiro, visto que na correlação está sendo usado o potencial voltamétrico (Equação 10). O valor de α aparente ($\alpha=0,29\pm0,03$)¹⁸ observado é consideravelmente maior do que o valor recentemente obtido no sistema peroxioxalato utilizando ativadores triviais (hidrocarbonetos aromáticos policondensados) em estudos desta natureza. Por outro lado, muito similar aos valores reportados em outros sistemas CIEEL, cujos valores típicos são de aproximadamente $0,3$ ²¹⁻²⁷.

$$k_{CAT} = A \exp \left[\frac{-\alpha}{RT} \left(E_{ox} - E_{red} \frac{e^2}{R_o \epsilon} \right) \right]$$

$$\ln(k_{CAT}) = \ln A + \alpha B - \left(\frac{\alpha}{RT} \right) E_{ox} \quad \text{Equação 10}$$

$$\text{onde: } B = \frac{e^2}{R_o \epsilon RT} + \frac{E_{red}}{RT}$$

onde: **A** e **B** são constantes, α é o coeficiente de transferência de elétron, **R** é a constante geral dos gases ($8,613 \text{ e}^{-15} \text{ eV K}^{-1}$), **T** é a temperatura em Kelvin ($295 \pm 2\text{K}$), E_{ox} é o potencial de oxidação do ACT, E_{red} é o potencial de redução do IAE, que no caso é constante, pois a espécie é a mesma para todos os ativadores, **e** é a carga do elétron, R_o é a distância entre os íons no complexo de transferência de carga no ponto de transição e ϵ é a constante dielétrica do solvente.

Ao contrário do comportamento observado para os valores de k_{cat}/k_D , não há correlação entre o $\ln(\Phi_S^\infty)$ e o $E_{p/2}^{ox}$ dos ativadores (Figura 22). Esta correlação não é esperada pelo mecanismo CIEEL, pois Φ_S^∞ é obtido pela extrapolação do gráfico duplo-recíproco na concentração infinita do ativador, portanto não depende da constante de velocidade de interação do IAE com o ACT (k_{cat}) e conseqüentemente é independente do potencial de oxidação dos ativadores (Esquema 33). Porém, o **13**, com maior potencial de oxidação, resultou no rendimento de excitação mais alto (*vide resultados*), enquanto que os ativadores mais facilmente oxidáveis (**9-10**) resultaram em rendimentos mais baixos. A correlação empírica entre a intensidade de quimiluminescência e o potencial de oxidação dos ativadores tem sido reportada na literatura em vários estudos envolvendo o mecanismo CIEEL, nos quais os maiores rendimentos quântico foram obtidos com ativadores com baixo potencial de oxidação²²⁻²⁶. Entretanto, a intensidade de emissão em certas concentrações de ativadores depende de ambos, Φ_S^∞ e k_{cat} . Os resultados da literatura são, em uma primeira análise, contrários aos obtidos no presente trabalho. Entretanto, analisando estas observações mais detalhadamente é necessário verificar dois pontos importantes que poderiam esclarecer esta aparente contradição: (i) Na maioria dos trabalhos reportados na literatura, como por exemplo, Catheral e

Palmer^{28,29}, foram utilizados os valores de Φ_S em uma determinada concentração do ACT para a correlação com o E_{ox} , e não os valores de Φ_S^∞ utilizados no presente trabalho. Segundo o Esquema 33, os rendimentos quânticos singlete em uma certa concentração do ACT dependem tanto do Φ_{CAT} , o qual é correlacionado com o E_{ox} , quanto do Φ_{BET^*} , o qual deveria apresentar também correlação com o E_{ox} , porém de maneira inversa. Em casos onde o valor do Φ_{CAT} contribui mais para o Φ_S (baixa concentração do ACT) deve-se esperar correlação do Φ_S com o E_{ox} , conforme postulado pelo mecanismo CIEEL. (ii) Os ativadores comumente utilizados em estudos sobre o mecanismo CIEEL são hidrocarbonetos aromáticos policondensados e, para estes, há uma correlação empírica entre o E_{ox} e a energia do primeiro estado singlete⁹. Neste caso, o Φ_S para ativadores com baixo potencial de oxidação pode ser mais alto, em razão da menor energia singlete e desde modo, podem ser excitados mais eficientemente⁹.

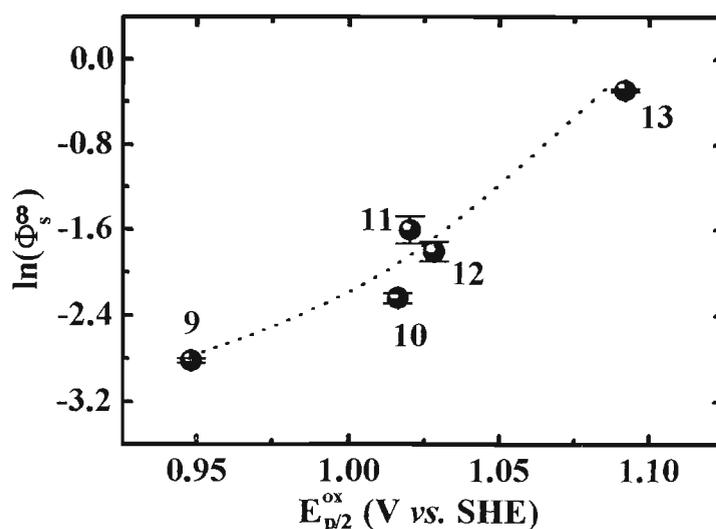


Figura 22: Correlação do rendimento quântico singlete (Φ_S^∞) com o potencial voltamétrico de meio-pico dos ativadores ($E_{p/2}^{ox}$).

A eficiência de formação do estado excitado (Φ^{∞}_S) depende da etapa que ocorre após a transferência de elétron inicial, juntamente com a clivagem da ligação oxigênio-oxigênio (k_{cat}). Já que a clivagem do ânion radical de **24** e o escape da gaiola não dependem da natureza do ativador ($\Phi_{\text{cliv}} = \text{constante}$), a eficiência da retro-transferência (BET) para gerar o estado excitado do ativador (Φ_{BET^*}) é que determina o rendimento quântico singlete na concentração infinita do ACT (Φ^{∞}_S). Portanto, o Φ^{∞}_S depende do Φ_{BET^*} . Assim, o Φ_{BET^*} é determinado pela relação entre k_{BET^*} e k_{BET} , do qual depende principalmente do balanço energético (Esquema 33)¹⁸.

Tabela 23: Balanço de energia livre da etapa de retro-transferência de elétron entre o ânion radical do CO₂, o cátion radical do ativador e o deslocamento de Stokes juntamente com Φ^{∞}_S .

	Ativador	$E_s^{(a)}$ (kJmol ⁻¹)	$\Delta G_{\text{BET}}^{(b)}$ (kJmol ⁻¹)	$\Delta G_{\text{BET}^*}^{(c)}$ (kJmol ⁻¹)	Deslocamento de Stokes (nm)	$\Phi^{\infty}_S \times 10^2$ (E mol ⁻¹)
9	4-OCH ₃	264	-326	-62	138	6,0 ± 0,2
10	3-OCH ₃	267	-333	-66	141	11 ± 2
11	4-Cl	261	-333	-72	146	20 ± 6
12	4-F	268	-334	-66	138	16 ± 1
13	4-NO ₂	211	-340	-129	216	75 ± 10

^a obtidos dos espectros de emissão e absorção dos ativadores³⁰.

^b $\Delta G_{\text{BET}} = F[E_{p/2}(\text{ativador}) - E_{1/2}(\text{CO}_2)] = -2.44V$ e $E_{p/2}(\text{ativador})$ proveniente da tabela 14.

^c $\Delta G_{\text{BET}^*} = E_s + \Delta G_{\text{BET}}$.

A energia desta transformação para o estado excitado é determinada somente pela energia contida no cátion radical do ativador e na sua energia singlete. Vale lembrar que para todos os ativadores a espécie do ânion radical é a mesma, ou seja, o ânion do radical de CO₂. A correlação entre o Φ^{∞}_S e a E_s dos ativadores foi observada primeiramente por Lechtken e Turro³¹. Entretanto, nos resultados aqui apresentados, os rendimentos quânticos singlete na

concentração infinita (Φ_S^∞) de vários ativadores podem ser correlacionados com o balanço energético do processo de retro-transferência de elétron (BET)¹⁸. A mudança de energia livre associada com o processo de BET do ânion radical de CO₂ para o cátion radical dos ativadores, o qual resulta em produtos no estado fundamental (ΔG_{BET}), pode ser estimado do potencial de meio-pico dos ativadores (Tabela 23) e do potencial de redução do CO₂ em acetonitrila, $E_{1/2} = -2,44 \text{ V vs. SHE}$ ³².

Conforme o esperado, esta mudança de energia livre, ΔG_{BET} , é maior para ativadores com maior potencial de oxidação (Tabela 23), muito embora haja uma diferença relativamente pequena entre os valores. O balanço de energia livre proveniente do processo de retro-transferência (BET) para obter o ativador no estado singlete excitado (S_1) é obtido considerando a energia singlete (E_s) dos ativadores e a ΔG_{BET} (Figura 23). O valor de ΔG_{BET}^* é muito similar para os ativadores **9** a **12**, porém um valor significativamente maior é obtido para o ativador **13**, principalmente devido a sua energia singlete mais baixa. Uma correlação razoável, porém não linear, foi obtida entre o ΔG_{BET}^* calculado e o Φ_S^∞ determinado experimentalmente para os ativadores **9** a **13** (Figura 24).

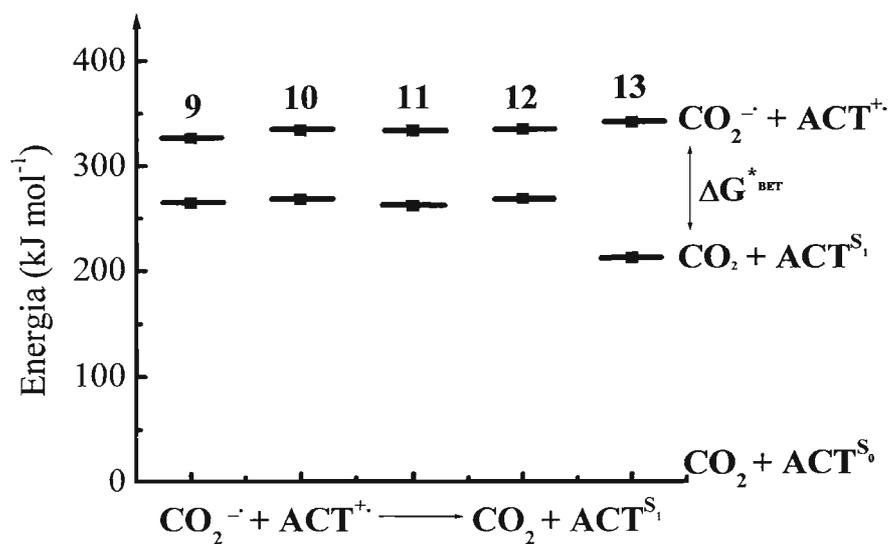


Figura 23: Potencial de energia livre para o processo de retro-transferência de elétron (BET*) entre o anion radical do CO₂ e o cátion radical do ativador.

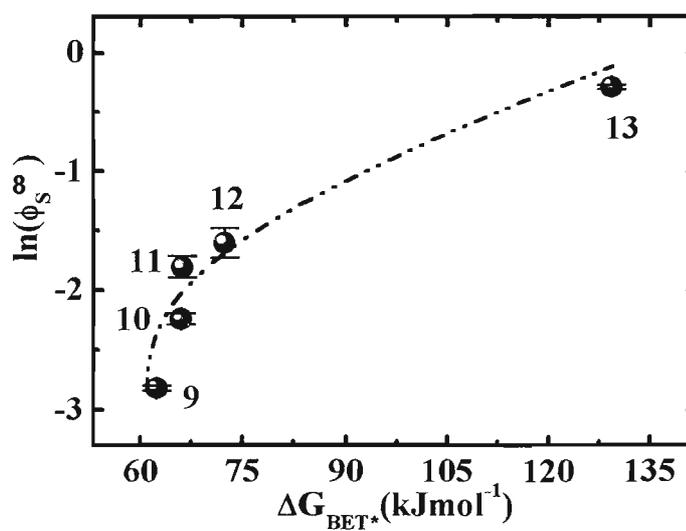


Figura 24: Correlação do parâmetro de quimiluminescência Φ_s° com a mudança na energia livre na etapa de retro-transferência para a formação do estado excitado do ativador (ΔG_{BET}^*).

O ativador que possui o ΔG_{BET^*} mais favorável também possui o rendimento quântico singlete na concentração infinita (Φ_{S}^{∞}) mais alto, e os ativadores **9** a **12** para os quais os valores de ΔG_{BET^*} são próximos, também possuem rendimentos de excitação (Φ_{S}^{∞}) similares. Além do balanço de energia mais favorável, o Φ_{S}^{∞} obtido com o ativador **13** deve estar relacionado com fatores geométricos, visto que este ativador possui um deslocamento de Stokes de 216 nm contra aproximadamente 140 nm observado nos ativadores **9** a **12**. Este fato indica que o primeiro estado singlete excitado do ativador **13** é estruturalmente diferente do estado fundamental e isto deve ser uma razão adicional para a maior eficiência para a formação do estado excitado na etapa de retro-transferência do ânion radical do CO_2 para o cátion radical do ativador **13**, presumindo que este radical deva ser estruturalmente similar ao estado singlete excitado.

Até o início deste estudo, nenhum composto com estrutura diferente de hidrocarboneto aromático policondensado havia sido utilizado no estudo do mecanismo CIEEL. Sendo assim, este trabalho mostra que compostos, como, por exemplo, derivados de esteróides, com estruturas e propriedades foto-físicas diferentes dos ativadores comumente utilizados podem ser aplicados neste tipo de estudo e os resultados obtidos demonstram claramente a validade do mecanismo CIEEL para o passo de quimiexcitação da reação peroxioxalato.

4.5 Influência da viscosidade no rendimento quântico singlete

A mudança de viscosidade do meio não afeta ou, em alguns casos, interfere muito pouco na eficiência de transferência radiativa. Entretanto, pode influenciar substancialmente a polarização da emissão de luz e a eficiência de certos processos não-radiativos. Geralmente, estes parâmetros são relevantes em processos de transferência de energia dependentes da formação de complexos de carga, os quais são estabilizados pelo aumento da viscosidade³³. Em outras palavras, a mudança do solvente poderia ou não aumentar o rendimento de emissão de luz em processos fotofísicos.

No caso de processos quimiluminescentes, com formação de complexo de carga e transferência de elétron, a viscosidade desempenha um papel fundamental. Como por exemplo, utilizando-se o sistema difenoil-peróxido, o rendimento de emissão mais baixo foi observado em solventes polares, não viscosos como acetonitrila e diclorometano. Por outro lado, utilizando ftalato de dimetila, o qual tem constante dielétrica semelhante ao dicloro metano, porém mais viscoso, o rendimento de emissão foi aumentado em três vezes. Koo e Schuster²² observaram que o rendimento de emissão mais alto foi observado com éter dietílico (baixa constante dielétrica e viscosidade), enquanto que, utilizando benzeno como solvente, menos polar e mais viscoso do que éter dietílico, o rendimento de emissão foi cinco vezes menor. Isto mostra que a constante dielétrica ou a viscosidade não são os únicos parâmetros que podem influenciar a transferência de elétron em reações com propriedades de quimiluminescência.

Adam *et al.*³⁴, estudaram o efeito do aumento da viscosidade, utilizando benzeno e difenilmetano, sobre a eficiência de transferência de elétron de um dioxetano-spiroadamantil substituído. Neste trabalho, o autor mostra que para a escolha do solvente deve-se levar em consideração a teoria de transferência de elétron de Marcus³⁵.

Segundo esta teoria, qualquer alteração na constante dielétrica do solvente pode afetar a velocidade de transferência de elétron, pois esta é controlada pela energia de reorganização que engloba reorganização das ligações (estiramento, deformação angular e movimento torsional) e reorganização do solvente (mudança eletrostática em volta dos reagentes). Uma transferência de elétron ocorre de acordo com o princípio de Franck Condon, ou seja, a transferência é muito mais rápida que o movimento nuclear. Desse modo, a velocidade de transferência de elétron é controlada apenas pela energia de reorganização³⁶.

$$\Delta G_o^* = \frac{e^2}{4} \left(\frac{1}{2r_D} + \frac{1}{2r_A} - \frac{1}{r_{AD}} \right) \left(\frac{1}{n^2} - \frac{1}{\varepsilon} \right) \text{Equação 11}$$

onde:

e = carga do elétron

r_a e r_D = são os raios moleculares do acceptor de elétron e do doador de elétron, respectivamente.

r_{DA} = representa o diâmetro de colisão do doador de elétron e do acceptor de elétron.

ε = constante dielétrica do solvente

n = índice de refração do solvente.

De acordo com a equação acima, a utilização de solventes com polaridades diferentes, deveria afetar o processo de transferência de elétron, principalmente quando o fator $\left(\frac{1}{n^2} - \frac{1}{\varepsilon} \right)$ difere significativamente de um solvente para o outro. Na prática, esta teoria é utilizada apenas como uma ferramenta para a escolha da mistura de solventes mais adequada, de modo que o efeito observado seja proveniente apenas da mudança da viscosidade.

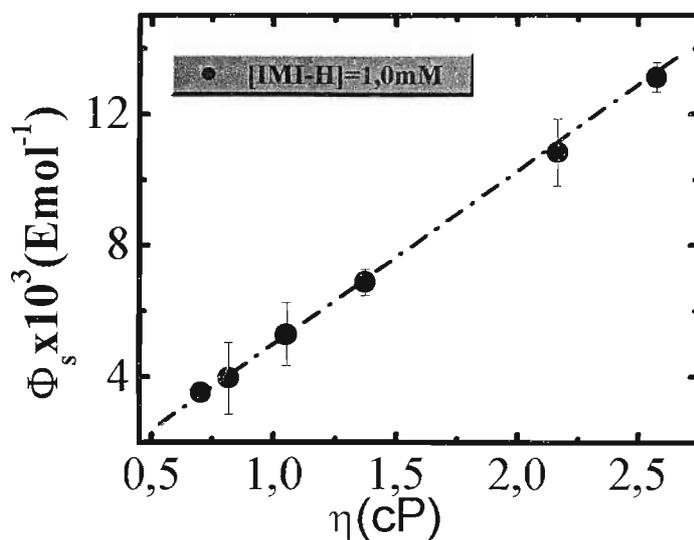


Figura 25 Influência da viscosidade do solvente sobre o rendimento quântico singlete (Φ_s), na reação do TCPO com H_2O_2 , catalisado por IMI-H na presença de DPA. As condições de reação foram: $[IMI-H] = 1,0$ mM, $[H_2O_2] = 2,5$ mM, $[DPA] = 1,0$ mM e $[TCPO] = 0,1$ mM.

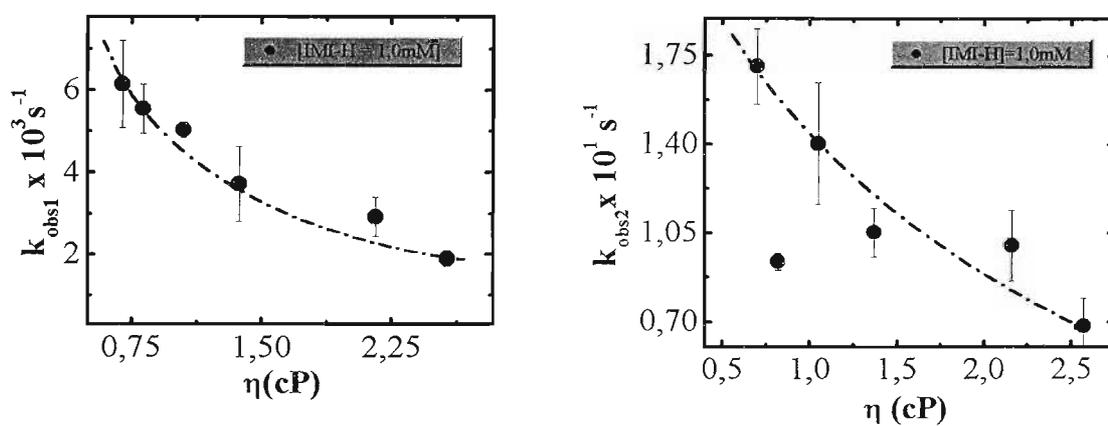


Figura 26: Influência da viscosidade sobre k_{obs1} e k_{obs2} , nas condições descritas na Figura 25.

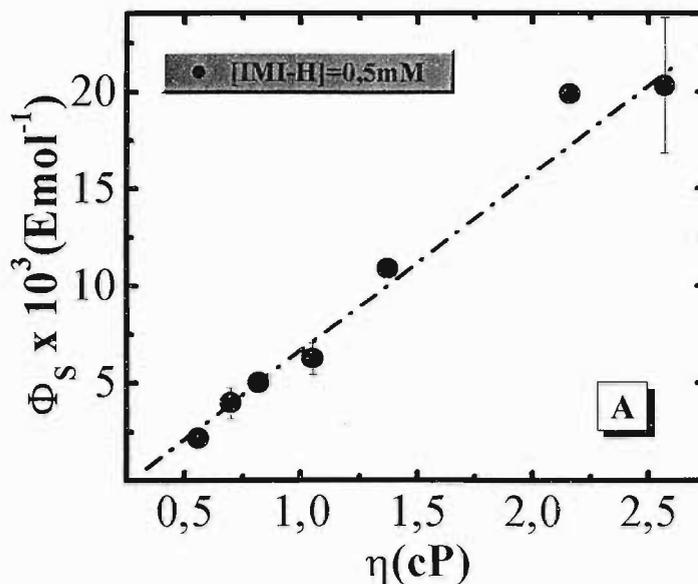


Figura 27 Influência da viscosidade do solvente sobre o rendimento quântico singlete (Φ_s), na reação do TCPO com H_2O_2 , catalisado por IMI-H na presença de DPA. As condições de reação foram: $[IMI-H] = 0,5 \text{ mM}$, $[H_2O_2] = 2,5 \text{ mM}$, $[DPA] = 1,0 \text{ mM}$ e $[TCPO] = 0,1 \text{ mM}$.

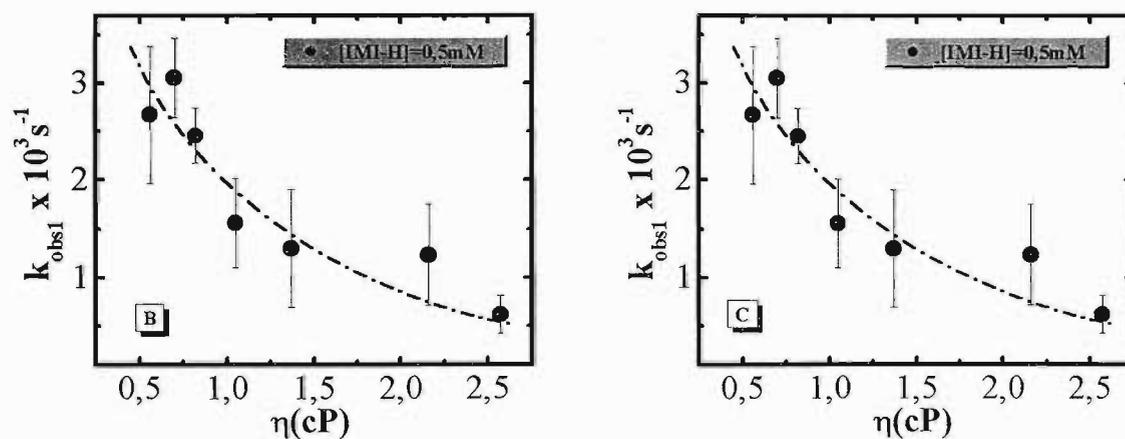


Figura 28: Influência da viscosidade sobre k_{obs1} e k_{obs2} , nas condições descritas na Figura 27.

No estudo apresentado neste trabalho utilizando tolueno e difenilmetano, esta condição foi respeitada. A reação do bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato com peróxido de hidrogênio, utilizando imidazol como catalisador na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) em misturas variadas de tolueno/difenilmetano apresentou um aumento no rendimento quântico singlete (Φ_S) à medida que aumentou-se a viscosidade do solvente com difenilmetano. Sabe-se que na reação peroxioxalato há várias etapas consecutivas e paralelas que levam a formação do intermediário de alta energia (IAE) e que são regidas pela reatividade. Após a formação do intermediário, em etapas anteriores, ocorre a interação deste com o DPA, via transferência de elétron dentro da gaiola de solvente (Esquema 32).

O aumento no rendimento quântico singlete (Φ_S) em função do aumento da viscosidade (*vide resultados*), indica um comportamento compatível com o mecanismo CIEEL (Esquema 32), isto é, a etapa de quimiexcitação ocorre dentro de uma gaiola de solvente e o aumento da viscosidade do solvente, diminuiu a difusão das espécies responsáveis pela excitação do ativador, para fora da gaiola, resultando no aumento da emissão de luz.

Por outro lado, as constantes de velocidade observadas (k_{obs1} e k_{obs2}) apresentaram uma variação nos seus valores, indicando que a reação torna-se mais lenta (Figuras 26 e 28). Entretanto, isto não seria um comportamento esperado, visto que a etapa de formação do intermediário de alta energia (IAE) não é regida somente pela difusão, mas também pela reatividade. Portanto, o rendimento da reação, Φ_R , deveria manter-se constante na reação (Esquema 33), na prática as constantes de velocidade (k_{obs1} e k_{obs2}) não deveriam sofrer variação. O fato é que até o momento não há uma proposta para tal observação. Provavelmente, trabalhos futuros poderão responder tal questão.

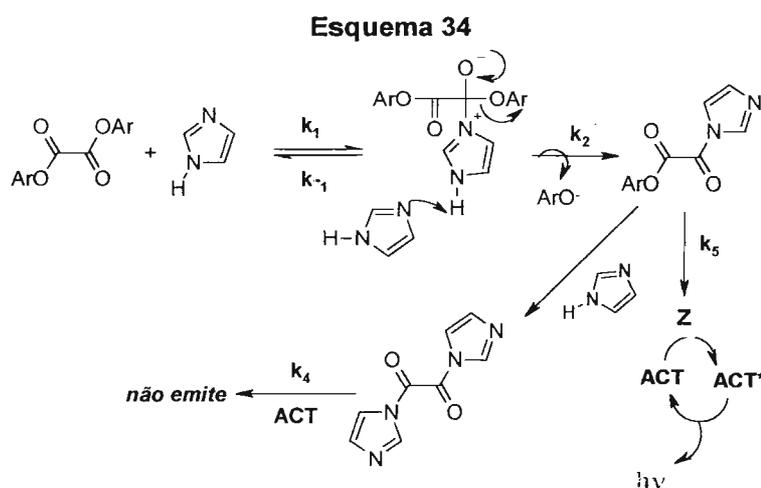
De acordo com os resultados obtidos, o rendimento quântico singlete (Φ_S) aumenta até 10 vezes com o aumento da viscosidade de 0,5 para 2,5 cP. Utilizando uma mistura de solventes semelhantes, benzeno e difenilmetano, Adam *et al.*³⁴, observaram um aumento de 2,5 vezes no Φ_S do sistema

spiroadamantil. Com base nestes resultados, propuseram que a eficiência da quimiexcitação depende da formação da gaiola de solvente, uma vez que, a etapa de retro-transferência de elétron exerce papel importante no mecanismo, constituindo um mecanismo CIEEL intermolecular.

O que se pode concluir dos nossos resultados é que o mecanismo, o qual resulta na excitação do ativador, ocorre em vários passos consecutivos, e não em um processo “concertado” envolvendo transferência de carga em um único passo conforme foi sugerido por Wilson³⁷, como uma possível alternativa ao mecanismo CIEEL.

4.6 Estudo do Sistema Peroxioxalato na ausência de H_2O_2

A emissão de luz observada no sistema peroxioxalato sem adição de peróxido de hidrogênio apresentou intensidade de emissão muito baixa³⁸. Lee *et al.*³⁸, propuseram que o intermediário formado antes da 1,1'-di-imidazolidina (ODI) (Esquema 34), denominado de "Z", seria o responsável pela emissão de luz. Os autores relataram que o intermediário "Z", muito instável, interage com o ativador resultando em emissão de luz. Porém não foi proposto, qual seria este intermediário.



No presente trabalho, a intensidade de luz observada na reação de TCPO e DNPO sem adição de H_2O_2 , apresentou intensidade de emissão de aproximadamente 3 vezes menor do que a intensidade observada com a concentração de H_2O_2 igual a $5 \cdot 10^{-10} M$ (*vide resultados*). Esta concentração é tão baixa que poderia ser proveniente de outras fontes de contaminação, inclusive de traços de H_2O_2 presentes no solvente. Após vários experimentos verificou-se que utilizando uma concentração tão baixa, qualquer traço de impureza que gerasse uma fraca emissão de luz, poderia ser detectado pelo aparelho sem ser necessariamente proveniente de um intermediário não peroxídico formado na reação peroxioxalato. Deste modo, é necessário ter cautela ao inferir novas informações a respeito do mecanismo, visto que se

trata de um sistema bastante complexo. Por fim, independentemente da estrutura do intermediário de alta energia formado na etapa de quimiexcitação, a sua contribuição é insignificante para a eficiência do processo global que leva a emissão de luz nas condições geralmente utilizadas na reação. A diferença na intensidade de emissão de luz entre a reação de DNPO com adição de peróxido de hidrogênio ($[H_2O_2 = 5 \cdot 10^{-5} M]$), observado no espectrofluorímetro, e sem adição de H_2O_2 observado no contador de fótons é de aproximadamente 160000 vezes. Sendo assim, podemos concluir que na reação peroxioxalato não há um caminho de reação sem o envolvimento de peróxido de hidrogênio que leve a formação eficiente de estados eletronicamente excitados.

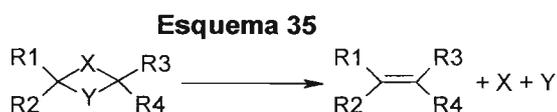
4.7 Síntese de derivados de Oxazolonas (14-21)

Conforme foi mencionado na introdução, a reação *peroxioxalato* é um dos sistemas mais sensíveis em determinações de compostos fluorescentes reportado na literatura. Por isso, têm sido largamente utilizados em aplicações de química analítica, incluindo determinação de ácidos graxos, esteróides, etc... Entretanto, em alguns compostos, a reação de derivatização, antes da análise, é necessária para introduzir propriedades fluorescentes dentro da molécula, a ser analisada, para aumentar a sua sensibilidade. Para este propósito, vários tipos de *reagentes de derivatização* são comumente utilizados.

A quimiluminescência tem sido largamente aplicada em diversas áreas de biotecnologia, farmacologia, biologia molecular, clínica e química, sendo que o sistema que mais se destaca é a reação peroxioxalato. Portanto, torna-se importante conhecer o mecanismo deste sistema para que seja possível ampliar e melhorar a eficiência de sua aplicação. Do ponto de vista analítico, este sistema é um dos mais interessante reportado na literatura, pois possui um alto rendimento quântico de quimiluminescência, comparado apenas a sistemas biológicos, ou seja, para um químico analítico é considerado altamente sensível.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver algumas metodologias para a síntese de novos derivados de esteróides para o estudo mecanístico do sistema peroxioxalato e para futuras aplicações analíticas.

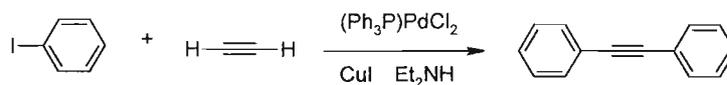
Para preparar estes compostos, foram utilizadas as reações de Barton-Kellog³⁹ e Sonogashira⁴⁰, os quais resultaram nos compostos **15** e **21**. A reação de Barton-Kellog é um caminho alternativo para a preparação de olefinas trissubstituídas e tetrassubstituídas (Esquema 35).



A reação de Sonogashira possibilita que um hidrogênio acetilênico possa ser facilmente substituído por iodoarenos, bromoalcenos ou bromopiridinas na

presença de uma quantidade catalítica de dicloreto de bis(trifenilfosfina)paládio-iodeto cuproso em dietilamina sob condições brandas.^{41,42} (Esquema 36).

Esquema 36

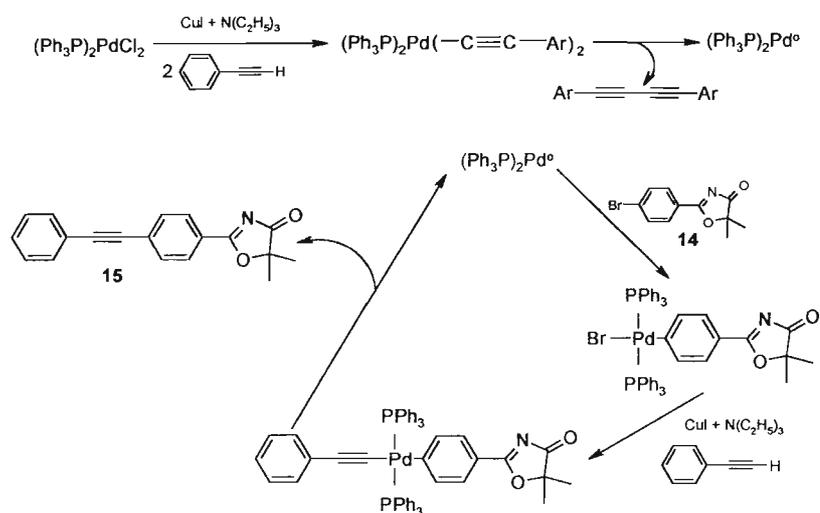


A reação é iniciada pela adição do haleto ao Pd⁰ gerado *in situ* a partir do Pd(II). O intermediário arilpaládio forma um complexo com o alceno resultando na formação da ligação carbono-carbono e regeneração do Pd⁰, sendo que o CuI tem a função de co-catalisador⁴⁰.

4.7.1 2-[4-benzilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15)

Na preparação do composto **15** foi observada a formação de um produto secundário em grande quantidade, o dímero do fenilacetileno. De acordo, com o mecanismo proposto por Sonogashira para a formação destes compostos, a reação seria iniciada pela inserção de duas moléculas de fenilacetileno ao complexo de paládio, seguida da eliminação do dímero para gerar o Pd⁰ (Esquema 37). Vale lembrar que o complexo de paládio é usado em quantidades catalíticas; portanto, bastaria uma quantidade também catalítica de fenilacetileno para gerar o Pd⁰ no primeiro passo. Após a formação da espécie reduzida, este entra no ciclo da reação, no qual seria regenerado sem a necessidade de consumir mais fenilacetileno no primeiro passo. Entretanto, o rendimento da reação foi baixo, devido a formação do dímero do fenilacetileno. Segundo o mecanismo proposto, o fenilacetileno tem duas funções na reação: contribuir para a redução do paládio, e neste caso ocorre a formação do dímero e agir como reagente de acoplamento. Talvez uma maneira de melhorar o rendimento da reação, seria adicionar, aos poucos, uma quantidade maior de fenilacetileno durante a reação.

Esquema 37

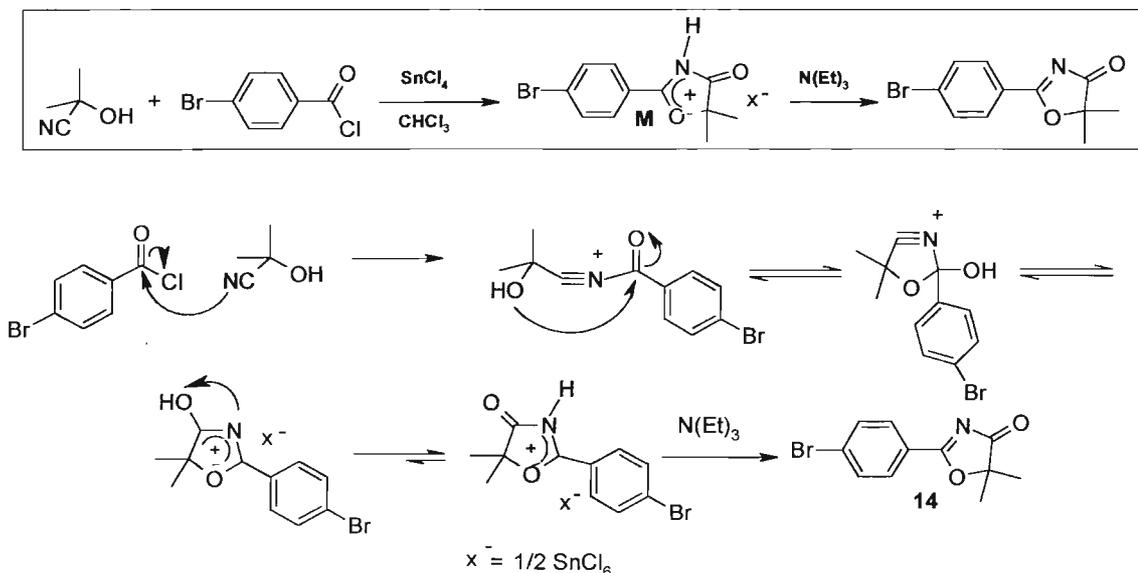


4.7.2 3-[2-(4-bromofenil)-5,5-dimetiloxazol-4-ilideno]-androsta-1,4-dien-17-ona (21)

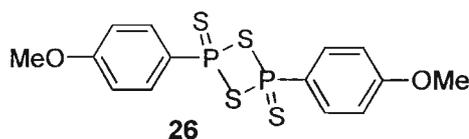
A síntese do composto **21** foi iniciada pela preparação do derivado de oxazolona **14**. Na literatura⁴³ foi descrito um método para síntese do sal de oxazolônio, partindo de α -hidróxinitrilas e cloreto de ácido na presença de ácido de Lewis, conforme demonstrado na reação de cianidrina de acetona com cloreto de *p*-bromobenzoíla e tetracloreto de estanho (Esquema 38). O sal é convertido em derivado de oxazolona quando tratado com trietilamina utilizando tolueno como solvente.

De acordo com a proposta para o mecanismo, a reação seria iniciada pela adição nucleofílica do grupo CN à carbonila do cloreto de benzoíla formando uma amida com carga. A etapa seguinte foi o ataque nucleofílico do grupo OH à mesma carbonila formando um anel cíclico que, após alguns equilíbrios, resulta na formação o sal (**M**). O tratamento de **M** com trietilamina resulta na oxazolona **14**.

Esquema 38

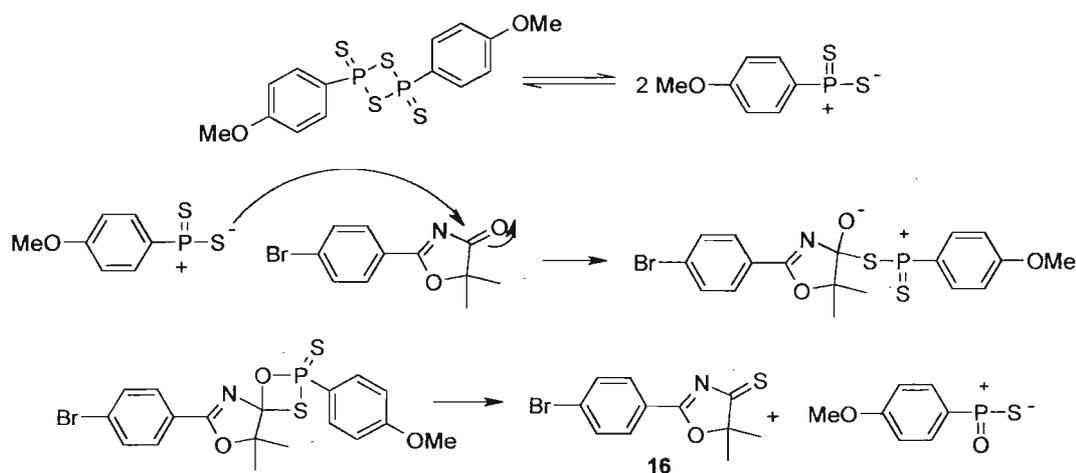


A oxazolona **14** foi convertida no derivado tiocarbonílico **16**. A química de conversão de compostos carbonílicos em compostos tiocarbonílicos tem sido de grande interesse para a química orgânica sintética. O uso de pentasulfito de fósforo para tal finalidade foi reportado pela primeira vez em 1869 por Henry⁴⁴ e Wislicenus⁴⁵. O procedimento usual envolve xileno, tolueno e piridina⁴⁶ como solventes e requer um grande excesso de reagente, resultando em baixos rendimentos. Uma investigação posterior mostrou que a reação de compostos carbonílicos pode ser conduzida em temperaturas mais brandas, com solventes polares, como por exemplo, acetonitrila e tetra-hidrofurano na presença de uma base como catalisador^{47,48}. Mais tarde, descobriu-se que 2,4-bis(*p*-metoxifenil)-1,3-ditiadifosfetano-2,4-disulfeto (Reagente de Lawesson) (**26**) é superior aos reagentes, até então utilizados, para a conversão de compostos carbonílicos em tiocarbonílicos⁴⁹.



Conforme relatado por Cava e Levinson⁴⁹, este reagente não é estável em temperaturas acima de 110 °C, sofrendo polimerização lenta e outras decomposições. Há uma série de especulações a cerca do mecanismo de reação de **26** com compostos carbonílicos. Entretanto, Lawesson sugeriu que uma espécie dipolar é formada em baixas concentrações, semelhante ao ílideo de Wittig. O ataque nucleofílico desta espécie à carbonila e “colapso” da nova espécie dipolar formada, resulta em um anel heterocíclico de quatro membros, cuja clivagem gera o composto tiocarbonílico **16** e uma nova espécie dipolar de fósforo (Esquema 39).

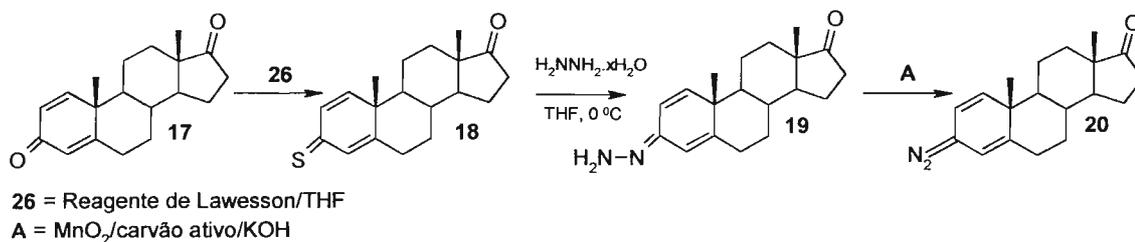
Esquema 39



A etapa seguinte foi a formação do derivado diazo **20**, partindo-se inicialmente do composto **17**. Conforme a literatura⁵⁰, não é possível a reação direta de **17** com hidrazina hidratada devido à formação de uma mistura de produtos, pois a reação não é seletiva. A alternativa encontrada foi preparar um derivado 3-tiocarbonílico **18**. A conversão de **17** em **18** ocorreu quase que quantitativamente na presença de **26** (Esquema 40). Sendo a tiocarbonila da posição 3 mais reativa do que a carbonila da posição 17, esperar-se-ia que a formação do composto **19**, a partir do **18**, fosse mais favorecida. A formação da hidrazona (**19**) é semelhante à reação de redução de cetonas e aldeídos de Wolff-Kishner. Entretanto, na redução Wolff-Kishner a hidrazona não é

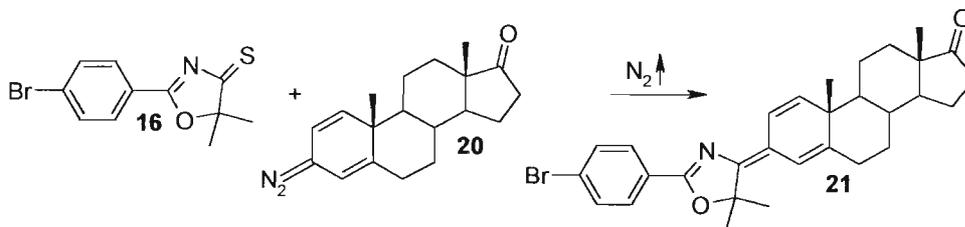
isolada⁵⁰. A formação do composto diazo **20** ocorreu via reação de oxidação, em meio básico, com dióxido de manganês em carvão ativo.

Esquema 40



A etapa final para a formação do composto **21** foi o acoplamento dos compostos **16** e **20** via reação de Barton- Kellog. Geralmente, a formação de olefinas tetrassubstituídas é seriamente afetada pelo impedimento estérico, por isso seus rendimentos são, na maioria das vezes, baixos³⁹. A reação de Wittig tem sido largamente utilizada na preparação de olefinas dissustituídas, mas o rendimento de formação diminui à medida que se aumenta a substituição, como no caso de olefinas trissubstituídas e tetrassubstituídas. A olefinação de Barton-Kellog⁵¹ consiste em um caminho alternativo para a formação de olefinas com impedimento estérico; como foi o caso da formação do composto **21**. A adição do sólido do composto **16** ao composto **20** gerou o composto **21** e mais dois compostos, de acordo com a CCD. Para um destes compostos foi sugerida a dimerização do composto **16**, de acordo com a análise de espectrometria de massa.

Esquema 41



Esta parte do trabalho tinha como objetivo desenvolver algumas metodologias para a síntese de novos derivados de esteróides para o estudo mecanístico do sistema peroxioxalato e futuras aplicações analíticas.

O composto **21** é o material de partida para que outros compostos possam surgir, como por exemplo, substituição de bromo, via reação de Sonogashira, por derivados que possam aumentar a conjugação do sistema. Isto poderia promover o deslocamento da emissão de luz para comprimentos de onda mais longos, e talvez aumentar o rendimento de fluorescência.

Esta etapa do trabalho fazia parte de um projeto que deveria ser desenvolvido em três meses e cujo objetivo final seria preparar uma série de compostos com propriedades fluorescentes para que fossem aplicados na reação peroxioxalato e em sistemas analíticos. Sendo assim, foram preparados dois compostos: **16** e **21**. Além disso, foram preparados outros compostos (**14**, **15**, **18**, **19** e **20**), os quais foram utilizados como reagentes intermediários de reação.

O ponto importante desta etapa do trabalho, foi ter a oportunidade de conciliar o trabalho de estudo cinético da reação peroxioxalato com a síntese de compostos com propriedades fluorescentes que poderiam ser aplicados nesta reação.

4.8 Referências

- ¹ Stevani CV & Baader WJ. "Kinetics studies on the chemiluminescence decomposition of and isolation intermediate in the peroxyoxalate reaction. *J. Phys. Org. Chem.*, **10**, 593-9, 1997.
- ² Stevani CV, "Estudo mecanístico do sistema peróxi-Oxalato", *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, 1997.
- ³ Hohman JR, Givens RS, Carlson RG & Orosz G, "Synthesis and chemiluminescence of a protected peroxyoxalate" *Tetrahedron Lett.*, **37**(46), 8273-6, 1996.
- ⁴ Yagil G, "The proton dissociation constant of pyrrole, indole and related compounds", *Tetrahedron*, **23**, 2855-61, 1967.
- ⁵ Hartley BS and Massey V, *Annu. Rep. Prog. Chem.*, **51**, 311, 1954, *apud* Höfle G, Steglich W & Vorbrüggen H, "4-Dialkylaminopyridines as highly active acylation catalysts", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **17**, 569-83, 1978.
- ⁶ Jencks PW & Gilchrist M, "Nonlinear structure-reactivity correlations. The reactivity of nucleophilic reagents toward esters", *J. Am. Chem. Soc.*, 2622-37, 1968.
- ⁷ Kirsch JF & Jencks W, "Base catalysis of imidazole catalysis of ester hydrolysis" *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 833-7, 1964.
- ⁸ Fife TH, "Kinetic and mechanistic effects of ease of C-N bond breaking in amide hydrolysis. The mechanisms of hydrolysis of N-acylimidazoles and N-acylbenzimidazoles" *Acc. Chem. Res.* **26**, 325-31, 1993.
- ⁹ Stevani CV, Silva SM & Baader WJ, "Studies on the mechanism of the excitation step in the peroxyoxalate system. *Eur. J. Org. Chem.*, 4037-46, 2000.
- ¹⁰ Dados apresentados em relatório interno.
- ¹¹ Turro NJ, *Modern Molecular Photochemistry*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1978.
- ¹² Stevani CV & Baader WJ, "O sistema quimiluminescente peróxi-Oxalato" *Química Nova*, **22**(6), 715-23, 1999.

-
- ¹³ Um I-H, Lee J-Y, Kim HT & Bae SK, "Curved hammett plot and hydrolysis of O-aryl thionobenzoates: change in rate-determining step versus ground-state stabilization", *J. Org. Chem.*, **69**, 2436-41, 2004.
- ¹⁴ El Seoud OA, Ruasse M-F & Rodrigues WA, "Kinetics and mechanism of phosphate-catalysed hydrolysis of benzoate esters: comparison with nucleophilic catalysis by imidazole and o-iodosobenzoate", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1053-8, 2002.
- ¹⁵ Bruice TC, Fife TH, Bruno JJ & Brandon NE, "Hydroxyl group catalysis. II. The reactivity of the hydroxyl group of serine. The nucleophilicity of alcohols and the ease of hydrolysis of their acetyl esters as related to their pKa", *Biochemistry*, **1**, 7-12, 1962.
- ¹⁶ Suh J & Lee BH, "Structure-reactivity relationships in nucleophilic reactions on cinnamoyl azide and phenyl cinnamates. Kinetic stability of the acyl azide and relative leaving ability of nitrogen and oxygen", *J. Org. Chem.*, **45**, 3103-7, 1980.
- ¹⁷ Castro EA, Leandro L, Quesieh N & Santos JG, "Kinetics and mechanisms of the reactions of 3-methoxyphenyl, 3-chlorophenyl and 4-cyanophenyl 4-nitrophenyl thionocarbonates with alicyclic amines", *J. Org. Chem*, **66**, 6130-5, 2001.
- ¹⁸ Silva SM, Wagner K, Weiss D, Beckert R & Baader WJ " Studies on the chemiexcitation step in peroxyoxalate chemiluminescence using steroid-substituted activators" *Luminescence*, **17**, 362-9, 2002.
- ¹⁹ Stevani CV, Lima DF Toscano VG & Baader WJ, "Kinetic studies on the peroxyoxalate chemiluminescent reaction: imidazole as a nucleophilic catalyst. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 989-95, 1996.
- ²⁰ Scandola F, Balzani V & Schuster GB. "Free-energy relationships for reversible and irreversible electron-transfer processes." *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2519-23, 1981.
- ²¹ Schuster GB, "Chemiluminescence of organic peroxides. Conversion of ground-state reactants to excited-state products by the chemically initiated electron-exchange luminescence mechanism." *Acc.Chem. Res.* **12**, 366-373, 1979.

- ²² Koo J-Y, Schuster GB, "Chemiluminescence of diphenoyl chemically initiated electron exchange luminescence. A new general mechanism for chemical production of electronically excited states." *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4496-503, 1978.
- ²³ Schmidt SP, Schuster GB, "Chemiluminescence of dimethyldioxetanone. Unimolecular generation of excited singlet and triplet acetone. Chemically initiated electron-exchange luminescence, the primary light generating reaction." *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 306-14, 1980.
- ²⁴ Dixon BG, Schuster GB, "Investigation of the mechanism of the unimolecular and the electron-donor-catalyzed thermal fragmentation of secondary peroxy esters. Chemiluminescence of 1-phenylethyl peroxyacetate by the chemically initiated electron-exchange luminescence mechanism." *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 3116-8, 1979.
- ²⁵ Smith JP, Schrock AK & Schuster GB, "Chemiluminescence of organic peroxides. Thermal generation of an *o*-xylylene peroxide." *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 1041-47, 1982.
- ²⁶ Darmon MJ, Schuster GB. Thermal chemistry of cyclopropyl-substituted malonyl peroxides. A new chemiluminescent reaction. *J. Org. Chem.*, **47**, 4658-64, 1982.
- ²⁷ Adam W & Cueto O. "Fluorescer-enhanced chemiluminescence of α -peroxylactones via electron exchange." *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6511-15, 1979.
- ²⁸ Catheral CLR & Palmer F. "Chemiluminescence from reactions of bis(pentachlorophenyl) oxalate, hydrogen peroxide and fluorescent compounds - Kinetics and mechanism", *J. Chem. Soc., Faraday Trans 2*, **80**, 823-34, 1984.
- ²⁹ Catheral CLR & Palmer F. "Chemiluminescence from reactions of bis(pentachlorophenyl) oxalate, hydrogen peroxide and fluorescent compounds – Role of the fluor and nature of chemielectronic process (es), *J. Chem. Soc., Faraday Trans 2*, **80**, 837-49, 1984.
- ³⁰ Melhuish WH, "Quantum efficiencies of fluorescence of organic substances: effect of solvent and concentration of the fluorescent solute." *J. Phys. Chem*, **65**, 229-35, 1961.
- ³¹ Lechtken P & Turro NJ. "Peroxyoxalate chemiluminescence. Chemiexcitation of high-energy excited states in acceptor molecules." *Mol. Photochem.*, **6**, 95-9, 1974.

- ³² Chang M-M, Saji T & Bard AJ, "Electrogenerated chemiluminescence. 30. Electrochemical oxidation of oxalate ion in the presence of luminescers in acetonitrile solutions." *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 5399-403, 1977.
- ³³ Campbell AK, *Chemiluminescence –Principles and applications in biology and medicine*, Weinheim; Deerfield Beach, FL.: VCH; Chichester: Horwood, 1988.
- ³⁴ Adam W, Bronstein I, Trofimov AV & Vasil' ev RF. "Solvent-cage effect (viscosity dependence) as diagnostic probe for the mechanism of the intramolecular chemically initiated electron-exchange luminescence (CIEEL) triggered from a spiroadamantyl-substituted dioxetane." *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 958-961, 1999.
- ³⁵ Marcus RA. "On the theory of oxidation-reduction reactions involving electron transfer" *Chem. Phys.*, **24** (5), 966-78, 1956.
- ³⁶ Ebersson, L "Electron transfer reactions in organic chemistry" Springer-Verlag, Berlin, 1987.
- ³⁷ Frimer A, *Single Oxygen*, vol.2, CRC Press. Boca Raton, 1985.
- ³⁸ Lee JH, Rock JC, Park SB, Schlautman MA & Carraway ER, "Study of the characteristics of three high-energy intermediates generated in peroxyoxalate chemiluminescence (PO-CL) reactions", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 2002, 802-9.
- ³⁹ Barton DHR & Willis BJ, "Olefin synthesis by two-fold extrusion processes. Part I. Preliminary experiments." *J. Chem. Soc. Perkin I*, 305-10, 1972.
- ⁴⁰ Sonogashira K, Tohda Y & Hagihara N, "Convenient synthesis of acetylenes-catalytic substitutions of acetylenic hydrogen with bromoalkenes, iodoarenes and bromopyridines." *Tetrahedron Lett.*, 4467-70, 1975.
- ⁴¹ Hudson RHE, Li G & Tse J, "The use of sonogashira coupling for the synthesis of modified uracil peptide nucleic acid." *Tetrahedron Lett.*, **43**, 1381-6, 2002.
- ⁴² Albrecht M Blau O & Röttele H, "An ethylene-linked catechol/8-hydroquinoline derivative and its dinuclear gallium (III) complex." *New J. Chem.*, **24**, 619-22, 2000.

-
- ⁴³ Dorofeenko GN, Karpenko VD & Ryabukhin Yu I, "Synthesis of 4(5H)-oxazolonium salts and 4(5H)-oxazolones from α -hidroxy nitriles", *J. Org. Chem. USSR* (Engl. Transl.) **14**, 1767-71, 1978.
- ⁴⁴ Henry L, "Über eine neue Bildgung-und Darstellungs-weise der Nitrile", *Ann.Chem.Pharm.*, **152**, 148-52, 1869.
- ⁴⁵ Wislicenus J, *Z.Chem.*, 324, 1869, *apud* [49].
- ⁴⁶ Campaigne E, "Thiones & thials", *Chem. Rev.*, **1**, 39, 1946.
- ⁴⁷ Scheeren JW, Ooms PHJ & Nivard RJF, "General procedure for conversion of a carbonyl group into a thione group with tetraphosphorus decasulfide", *Synthesis* 149-51, 1973.
- ⁴⁸ Dash B, Dora EK & Panda CS, "Triethylamine solubilized phosphorus pentasulfide as thiation reagent a novel route to totally thiated heterocycles", *Heterocycles* **19** (11), 2093, 1982.
- ⁴⁹ Cava MP, Levinson MI, "Thionation reactions of Lawesson's reagents", *Tetrahedron*, **41**, 5061-87, 1999.
- ⁵⁰ Wagner K, Weiss D & Beckert R, "New nitrogen derivatives of steroids by regioselective reactions of 3-thioxoandrosta-1,4-dien-17-one." *Synthesis*, 1245-7, 1995.
- ⁵¹ Wagner K, Weiss D & Beckert R, "New luminescent materials based on a steroid molecule", *Eur. J. Org. Chem.*, 3001-5, 2000.

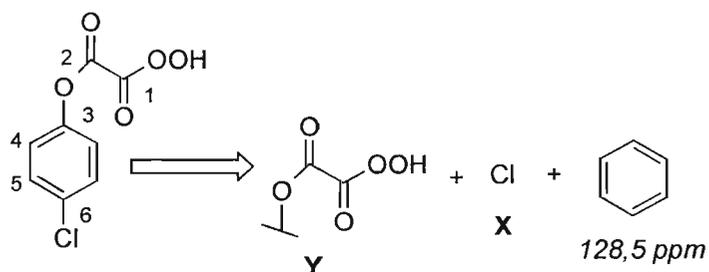
5 Conclusão

Os resultados obtidos no estudo da etapa de quimiexcitação da reação peroxioxalato foram bastante satisfatórios, contribuindo para o esclarecimento desta etapa fundamental para a eficiência de geração de estados excitados na reação peroxioxalato, sendo que, a etapa de quimiexcitação ocorre conforme o mecanismo de Luminescência Induzida Quimicamente pela Transferência de Elétron (CIEEL). De acordo com os dados, o intermediário de alta energia (IAE) que interage com o ativador na etapa de quimiexcitação é a 1,2-dioxetanodiona. Isto quer dizer que, este IAE se forma devido ao ataque nucleofílico intramolecular do íon percarbóxilato à carbonila do éster concomitantemente com a saída do grupo fenolato, via um mecanismo concertado, portanto exclui a outra proposta para o IAE que seria a 1,2-dioxetanona **25**.

Em relação ao processo de transferência e retro-transferência de elétron que ocorre entre o intermediário e o ativador, ficou provado que esta interação depende do potencial de oxidação do ativador, devido à correlação da constante de velocidade relativa com o potencial de oxidação, bem como os rendimentos quânticos singlete, também, correlacionam com as energias livres para gerar o ativador no estado excitado. Nos estudos do efeito da viscosidade sobre o rendimento quântico singlete foi comprovado que, a gaiola de solvente exerce um papel fundamental para a eficiência do processo de transferência e retro-transferência de elétron, indicando que estas ocorrem em vários passos envolvendo íons radicais, conforme a hipótese CIEEL.

Os compostos preparados, **15** e **21**, serão aplicados como precursores de reagentes de derivatização em estudos analíticos, envolvendo o sistema peroxioxalato.

6 Anexos

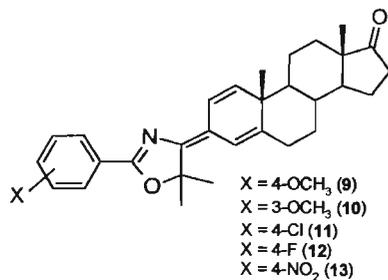


	δ (ppm) ^a	=	Y	+	X ^b	+	128,5	
3	149,3	=	Y	+	-1,5	+	128,5	Y = +22,3
4	123,8	=	Y	+	1,8	+	128,5	Y = -6,5
5	130,4	=	Y	+	0,2	+	128,5	Y = +1,7
6	132,4	=	Y	+	5,6	+	128,5	Y = -1,7

^a Ref. 3 – Discussão, ^b Ewing DE, *Org. Magn. Reson.*, **12**, 499, 1979.

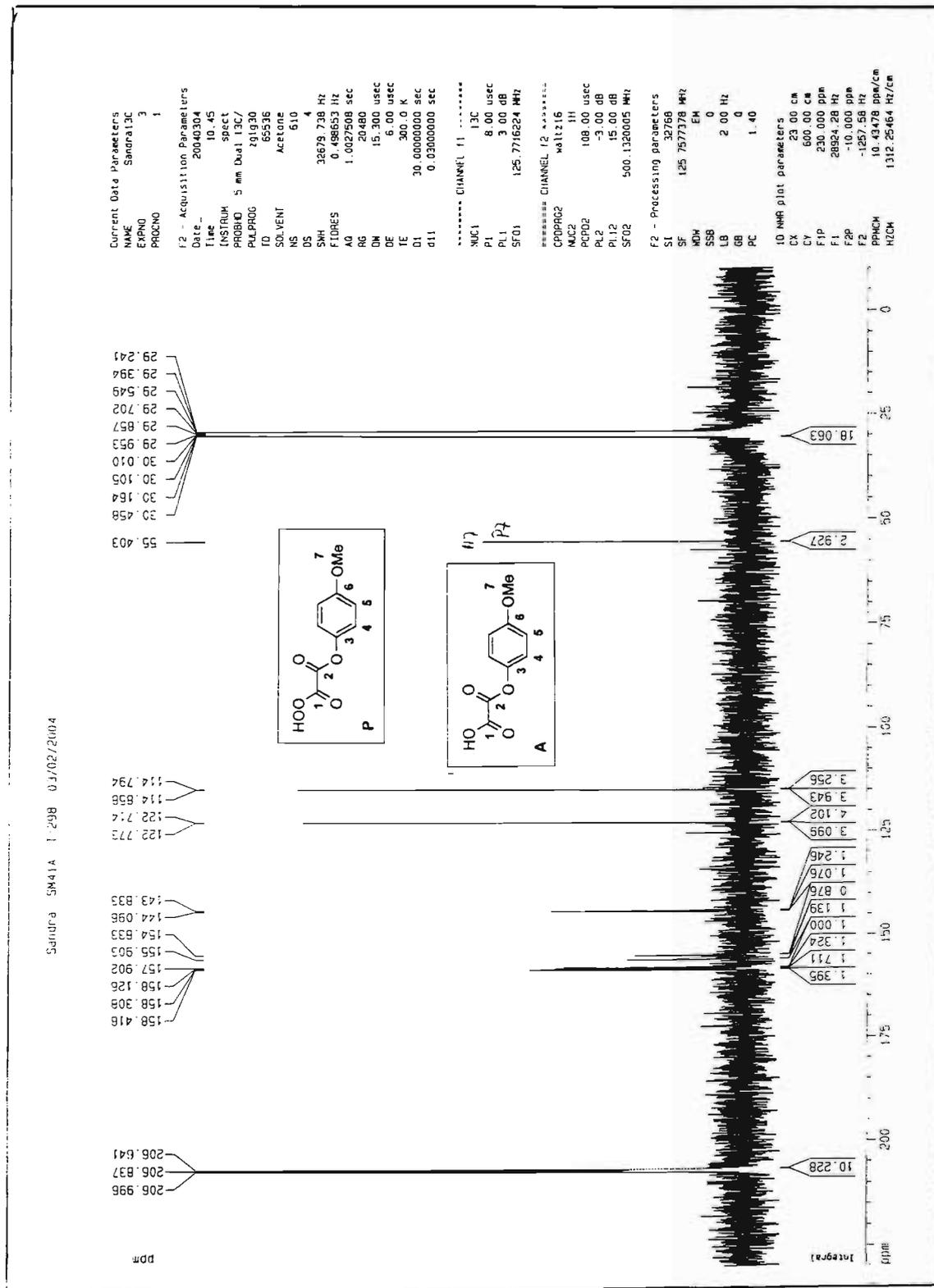
Anexo 1: Determinação do valor da contribuição do grupo Y para o deslocamento químico dos carbonos aromáticos dos compostos 5 a 7. O mesmo raciocínio foi utilizado para calcular os deslocamentos dos ácidos correspondentes.

Anexo 2: Rendimento quântico singlete (Φ_S) obtido na reação do bis(2,4,6-triclorofenil) oxalato (TCPO) com H_2O_2 catalisado por IMI-H na presença dos compostos **9-13** (ACT), nas seguintes condições: $[TCPO] = 0,1\text{mM}$, $[H_2O_2] = 10\text{mM}$, $[IMI-H] = 1,0\text{mM}$ e $[ACT] = 1,0\text{mM}$.

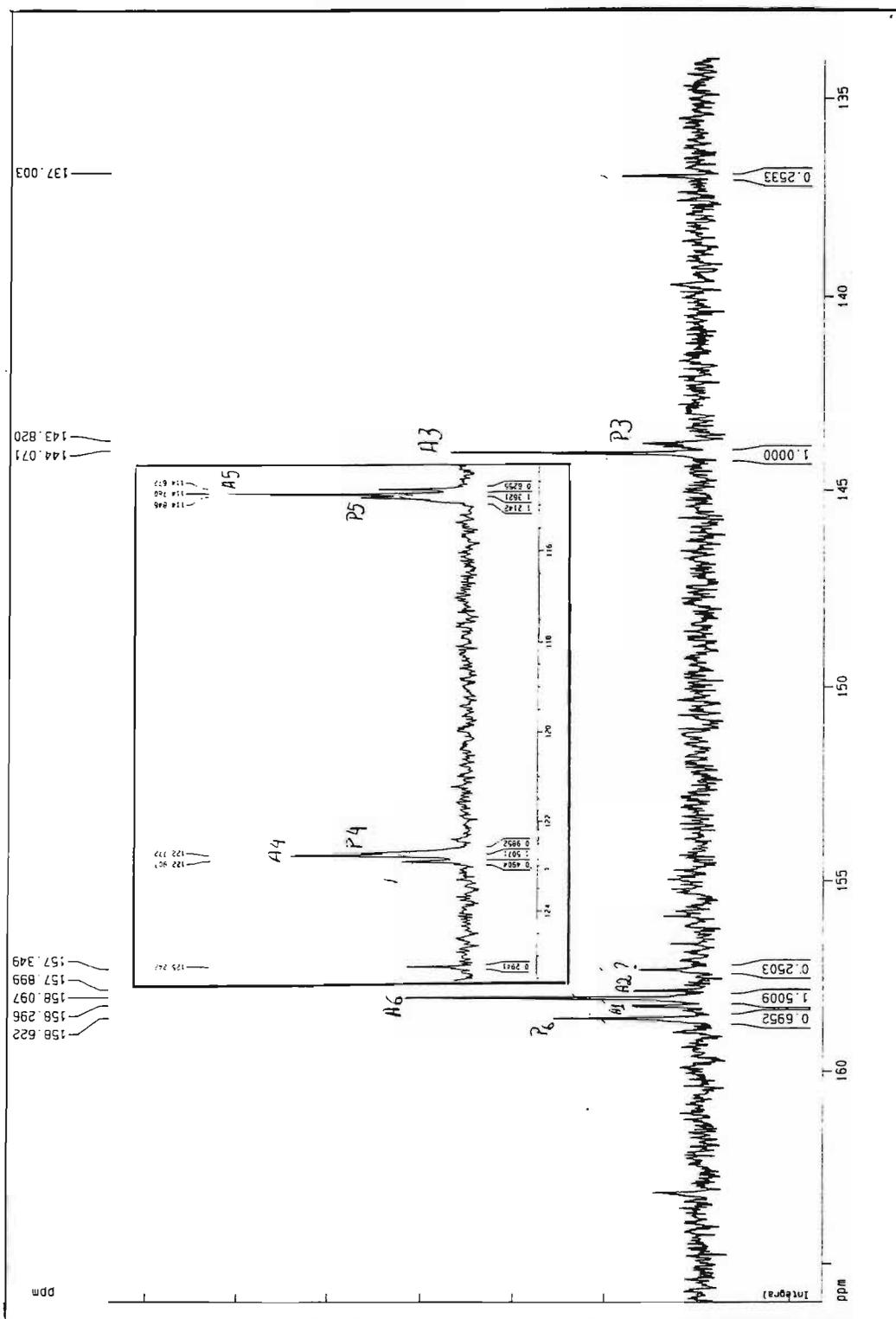


[9] mmol L ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ E mol ⁻¹	[10] mmol L ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ E mol ⁻¹	[11] mmol L ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ E mol ⁻¹
0,005	3,6 ± 0,2	0,01	8,7 ± 0,4	0,005	9 ± 1
0,025	14 ± 1	0,05	36 ± 3	0,01	15 ± 2
0,05	24 ± 2	0,1	55 ± 2	0,025	29 ± 4
0,1	35 ± 2	0,25	68 ± 17	0,05	45 ± 6
0,25	46 ± 2	0,5	93 ± 7	0,1	86 ± 10
0,5	48 ± 3			0,25	135 ± 21
				0,5	117 ± 28

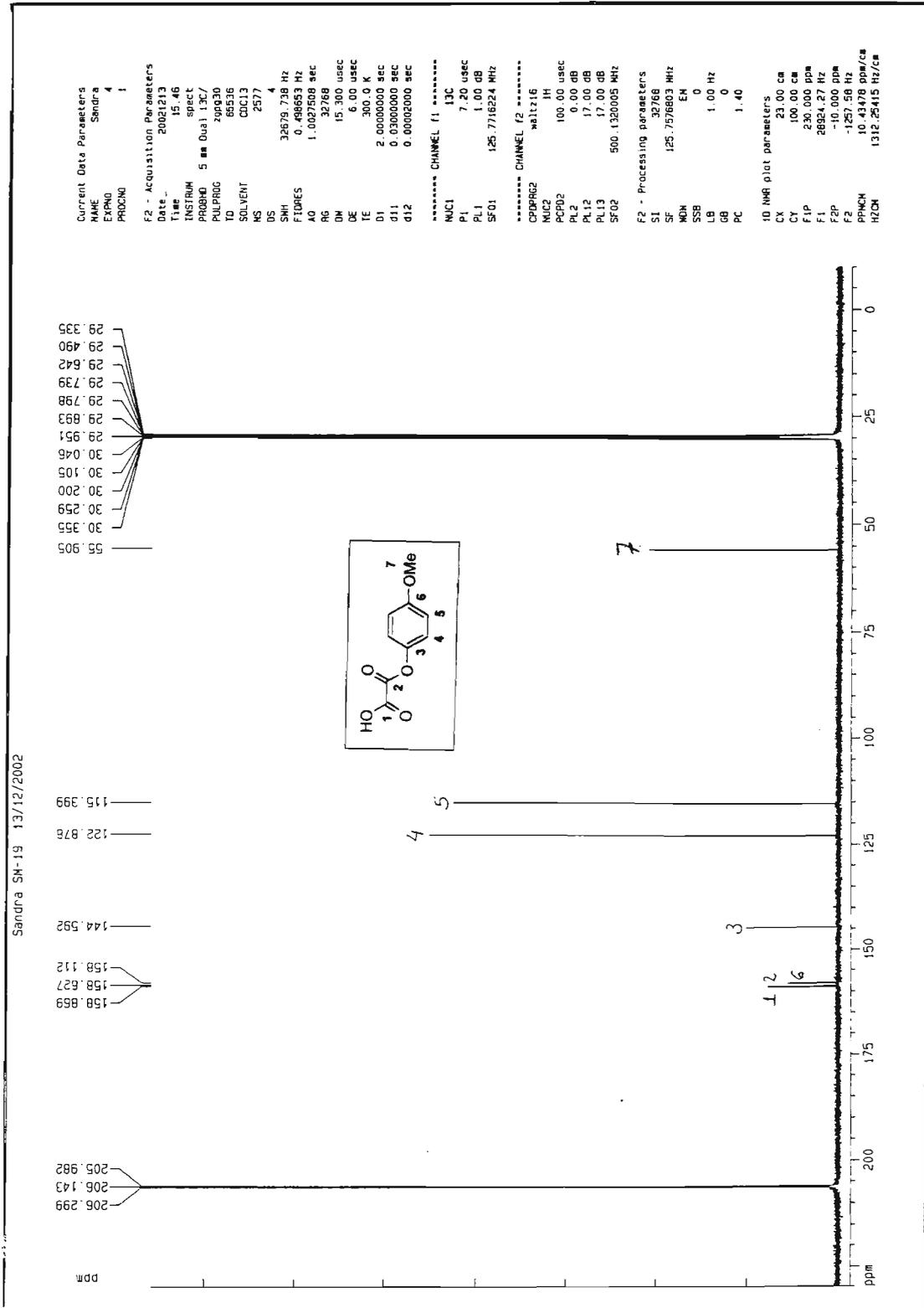
[12] mmol L ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ E mol ⁻¹	[13] mmol L ⁻¹	$\Phi_S \times 10^3$ E mol ⁻¹
0,005	4,5 ± 0,1	0,005	18 ± 1
0,025	21 ± 1	0,01	32 ± 3
0,05	38 ± 4	0,025	56 ± 9
0,1	63 ± 4	0,05	103 ± 16
0,25	97 ± 4	0,1	197 ± 5
0,5	117 ± 6	0,25	366 ± 30
		0,5	700 ± 34



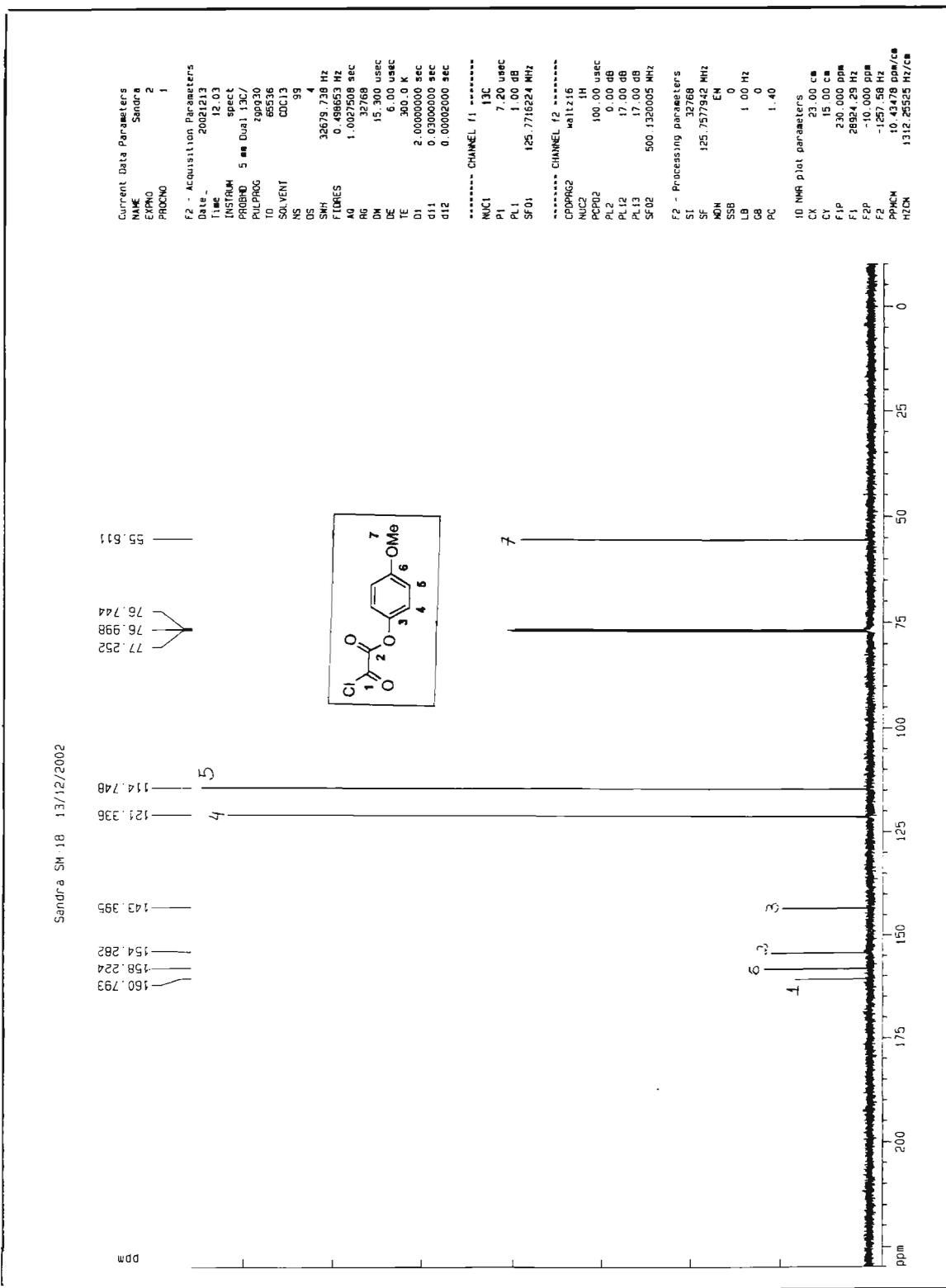
Anexo 3: Espectro de RMN de ¹³C (acetona-D₆, -40 °C, 125 MHz) do O,O-hidrogênio monoperoxalato de p-metoxifenila (5) (P), contendo como impureza o ácido p-metoxifeniloxálico (28) (A).



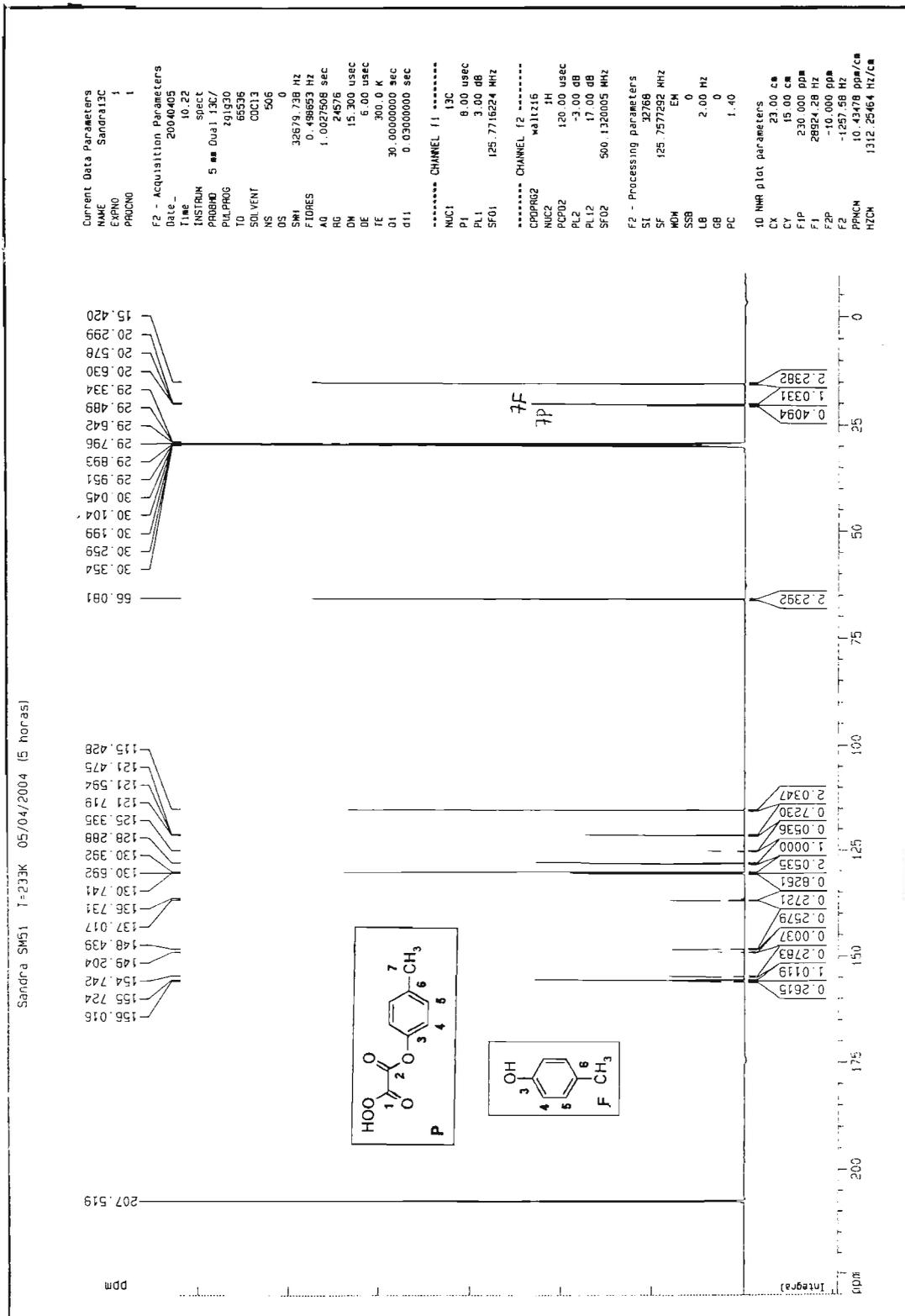
Anexo 6: Idem ao espectro 3 após a adição de KI. Região de carbonila e anel aromático.



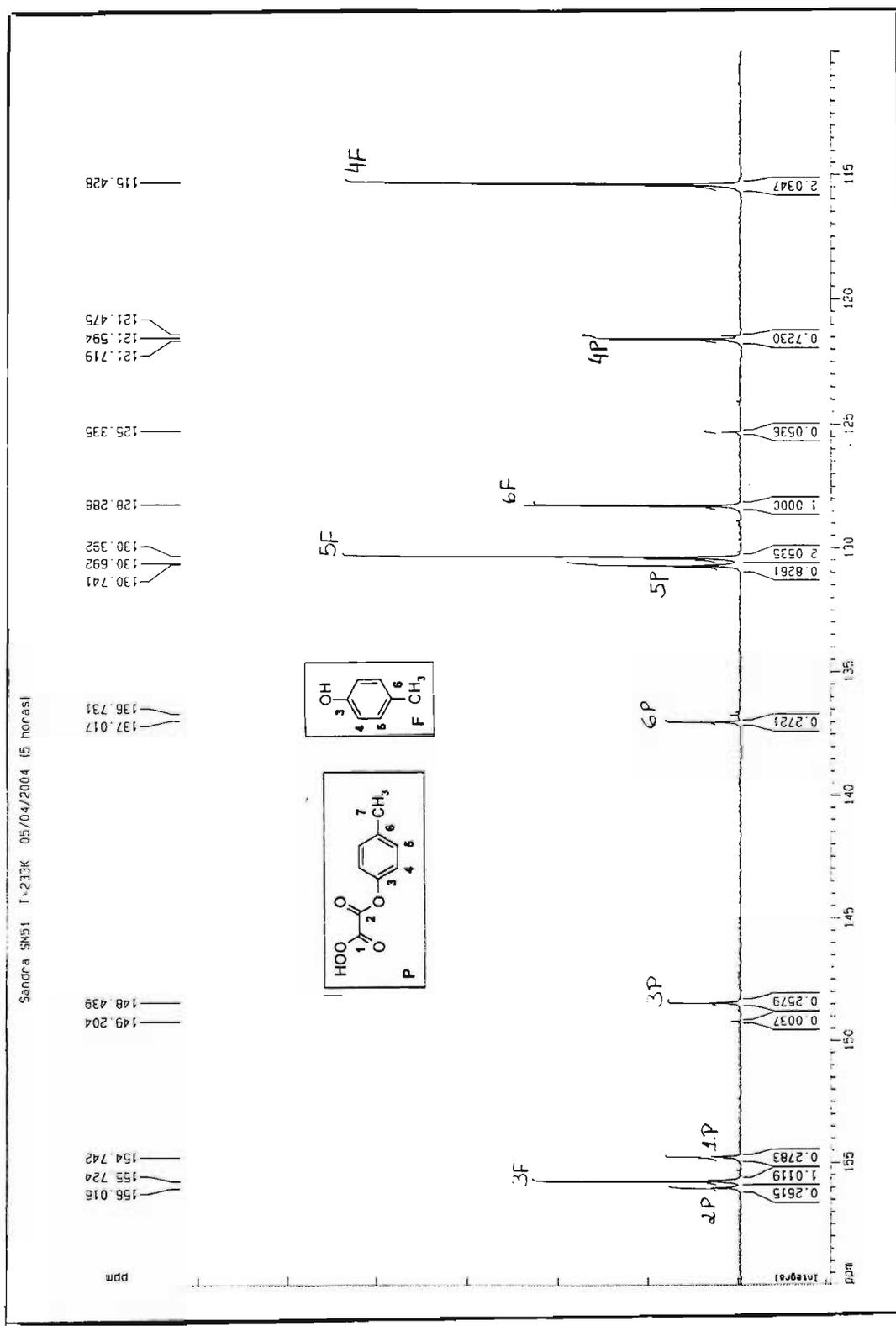
Anexo 7: Espectro de RMN de ¹³C (acetona-D₆, -40 °C, 125 MHz) do ácido *p*-metoxifeniloxílico (28).



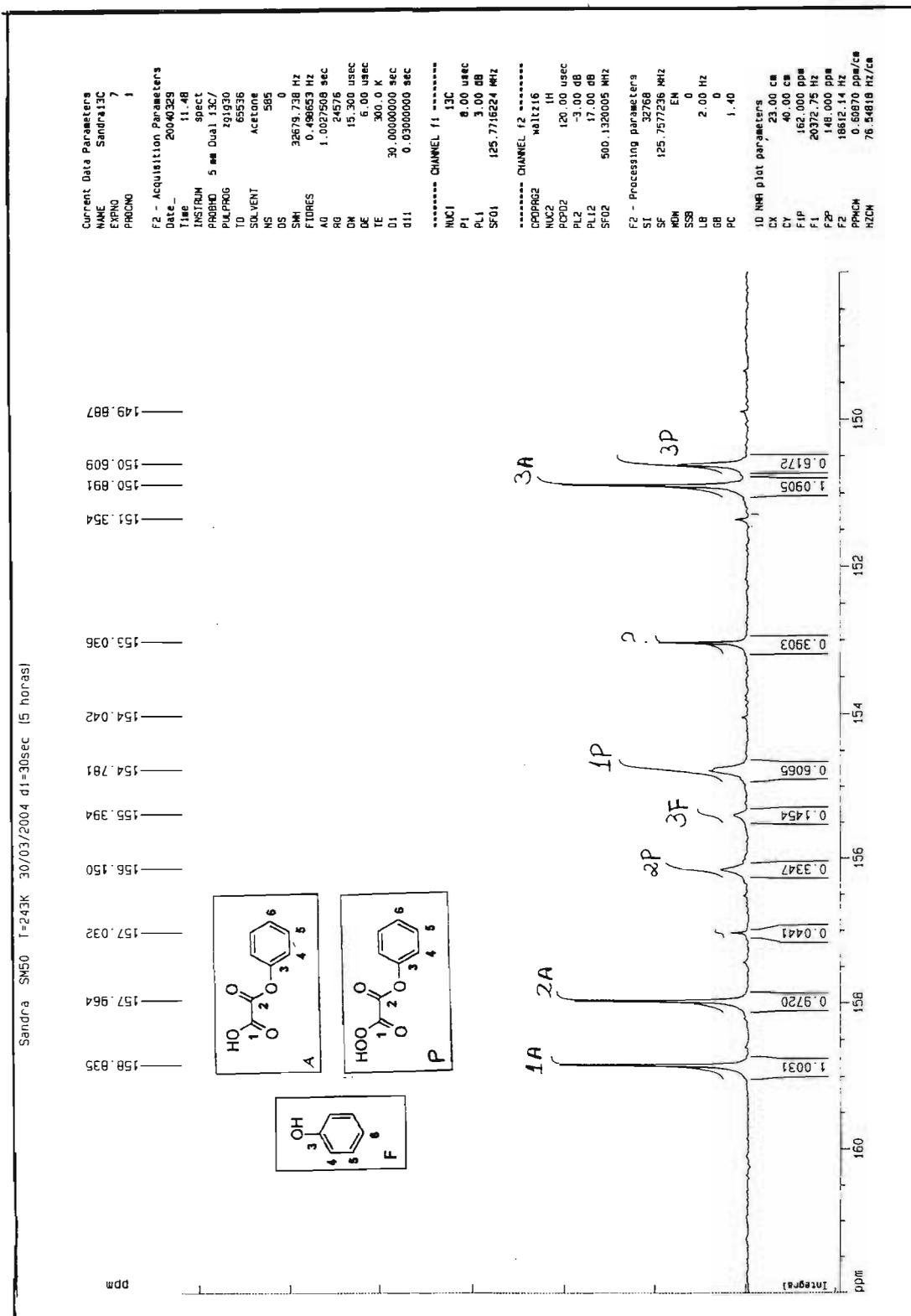
Anexo 8: Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) do cloreto de *p*-metoxifeniloxalila (3).



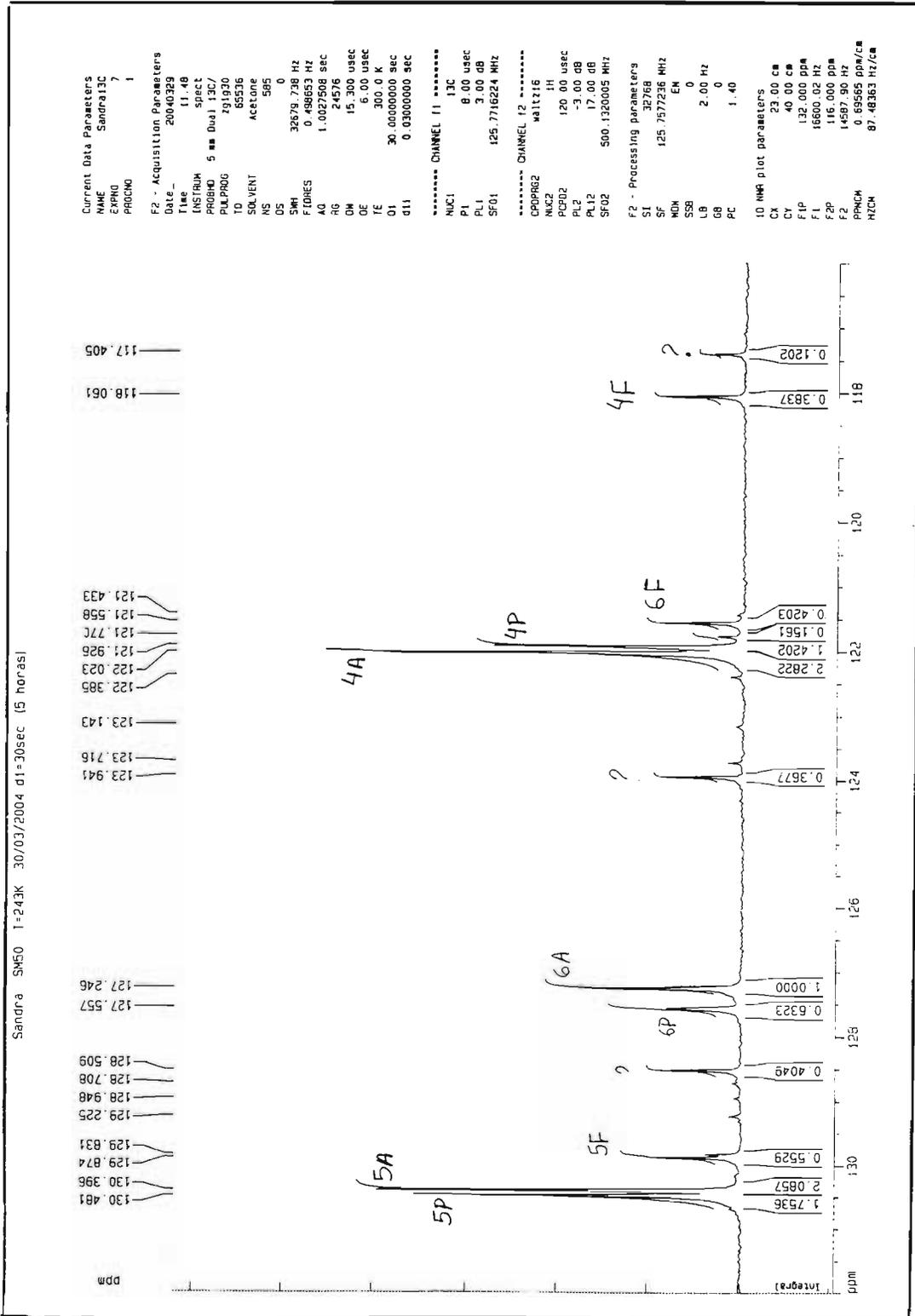
Anexo 9: Espectro de RMN de ¹³C (acetona-D₆, -40 °C, 125 MHz) do O,O-hidrogênio monoperóxalato de p-metilfenila (P), contendo como impureza p-metilfenol (F).



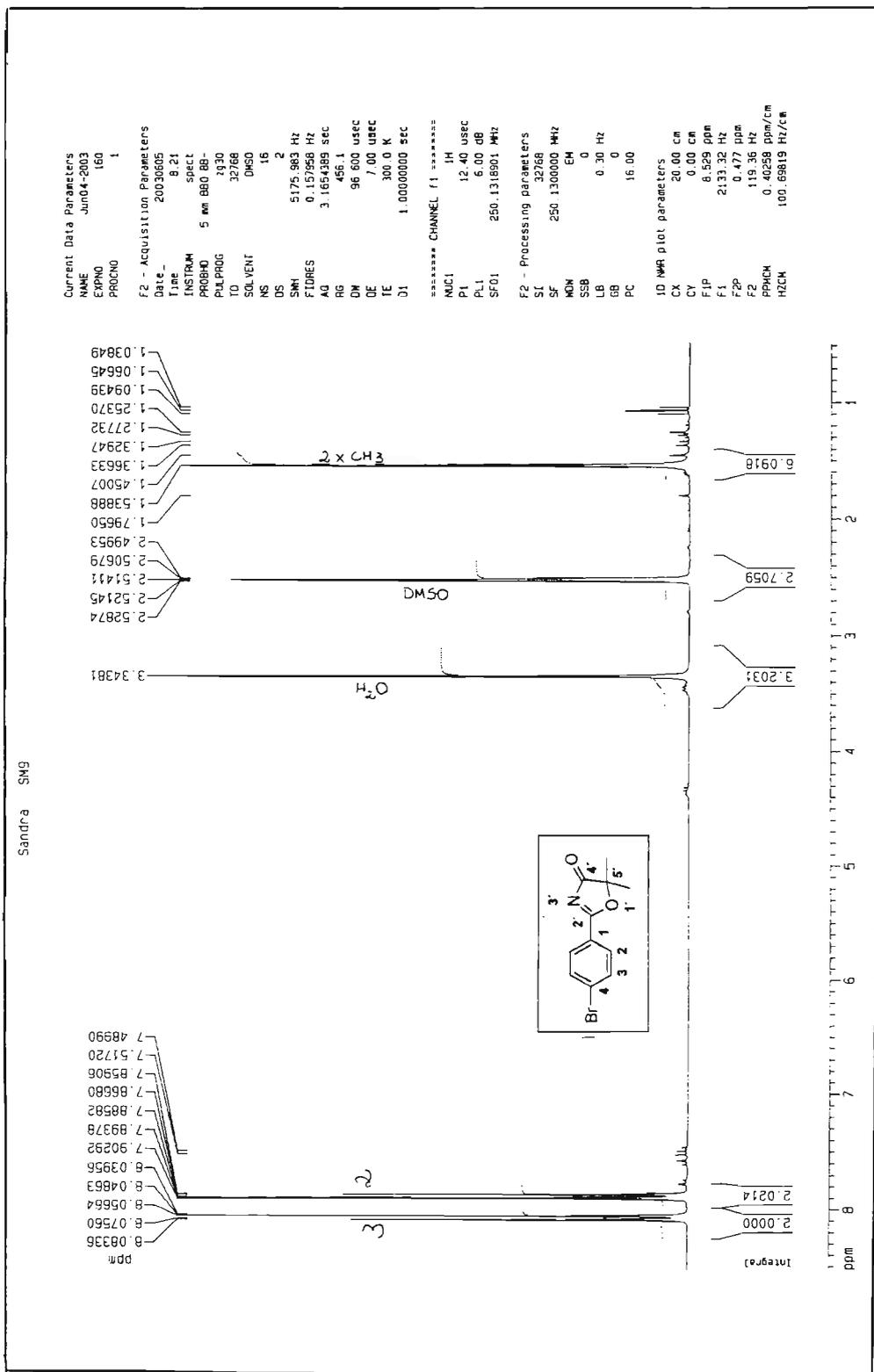
Anexo 10: Idem ao espectro 9, porém região de carbonila e anel aromático.



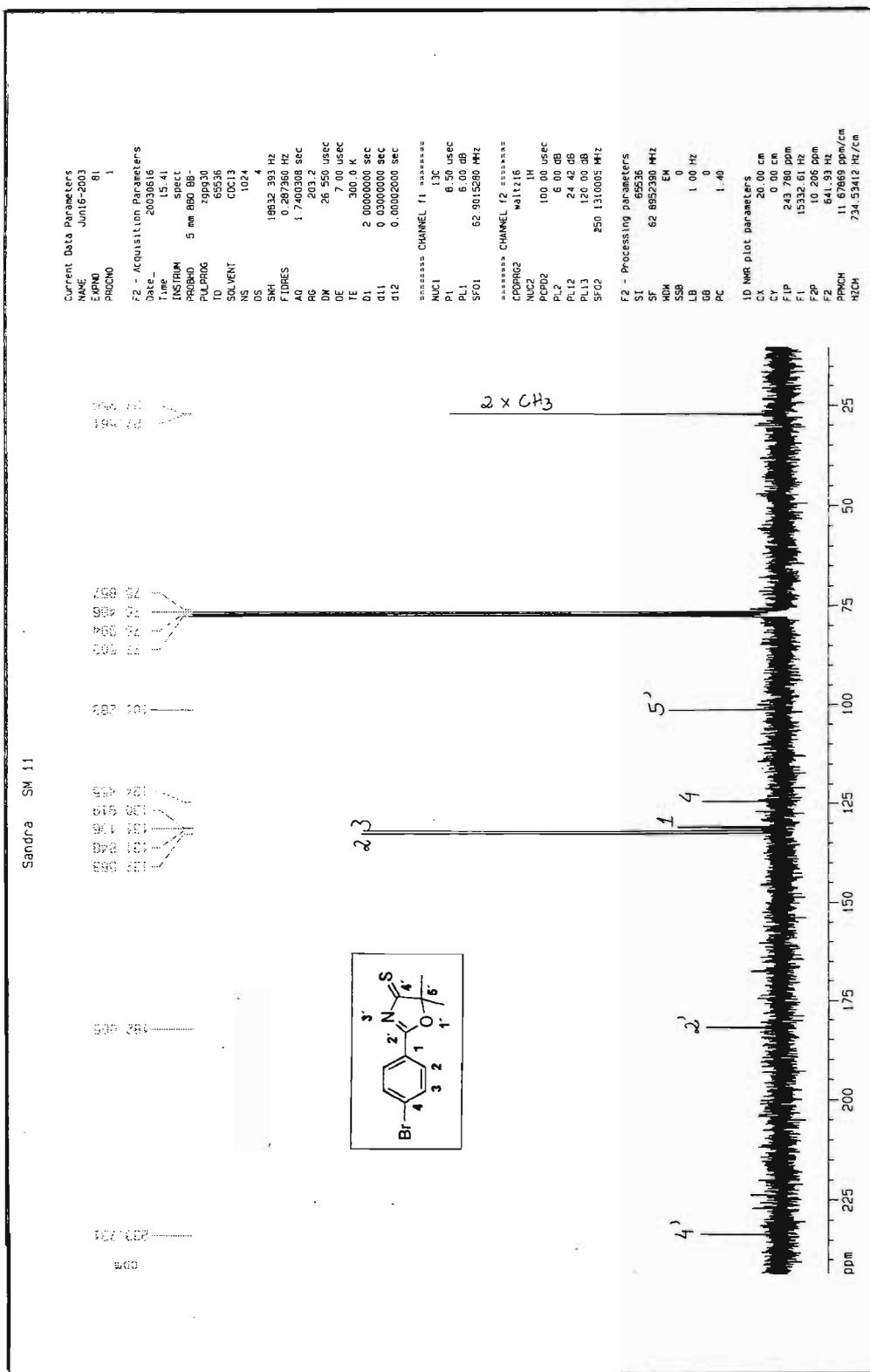
Anexo 11: Espectro de RMN de ¹³C (acetona-D₆, -30 °C, 125 MHz) do O,O-hidrogênio monoperóxido de fenila (7) (P), contendo como impurezas o ácido p-metoxifeniloxálico (30) (A) e fenol (F).



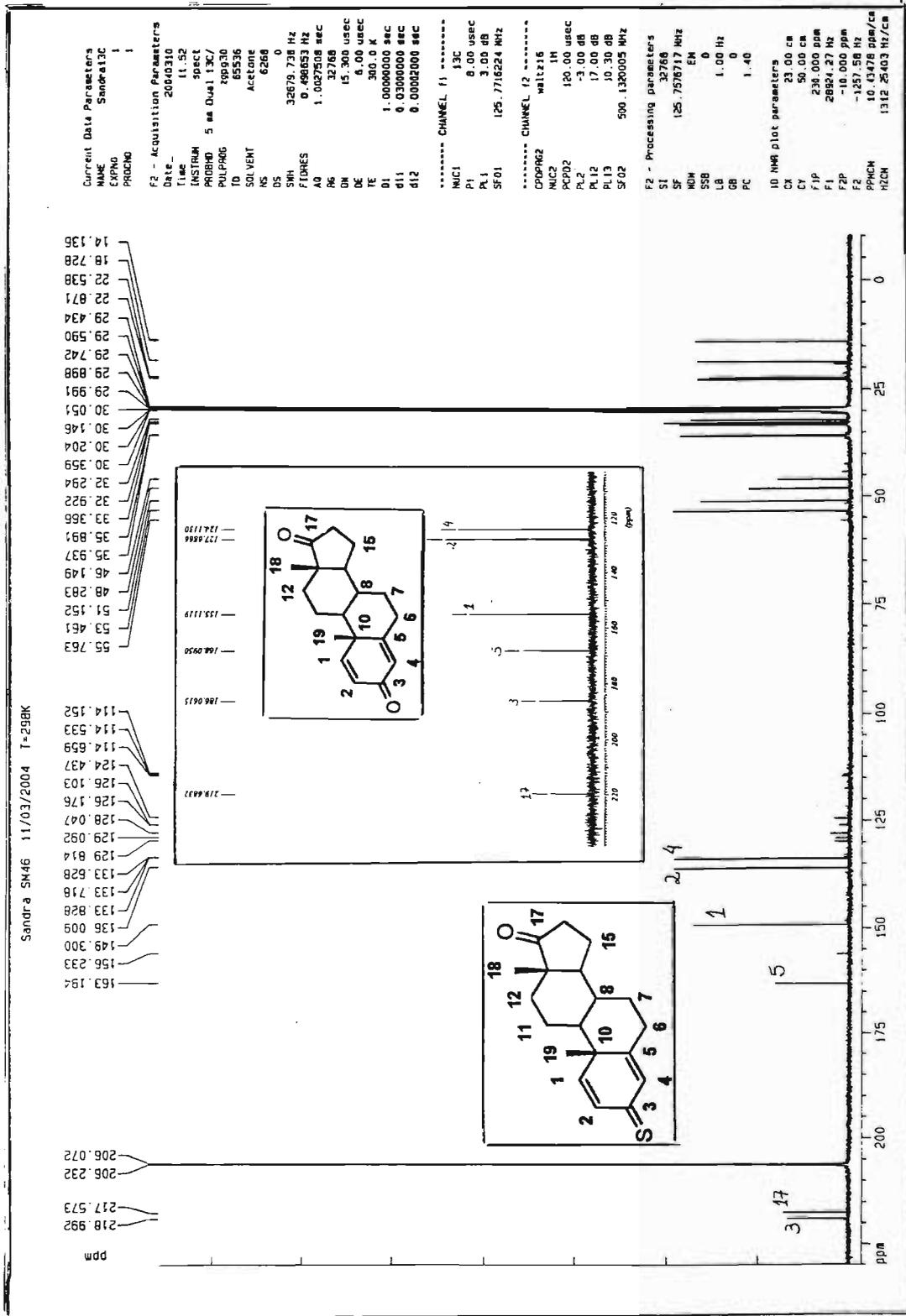
Anexo 12: Idem ao espectro 11, porém região de anel aromático.



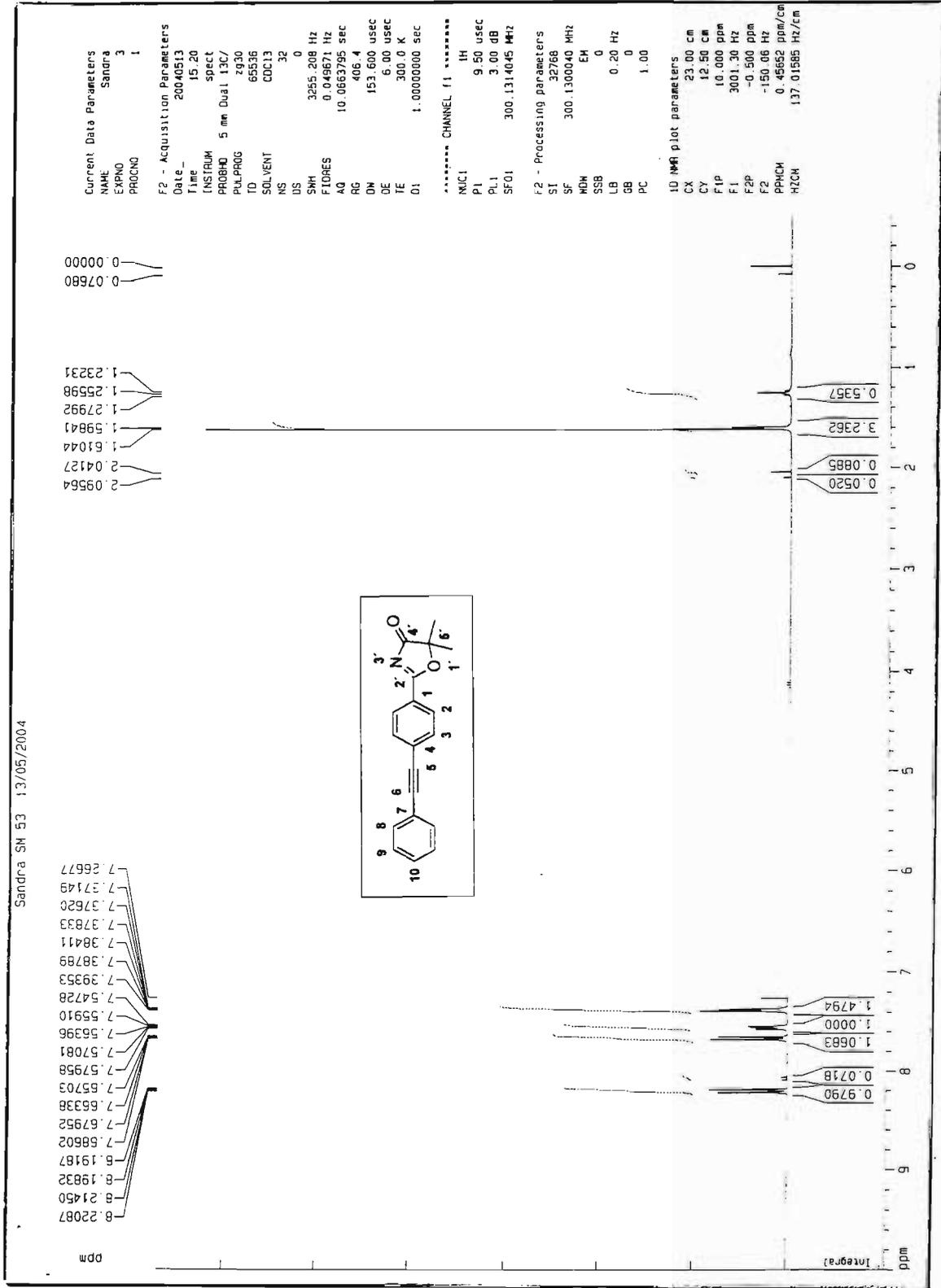
Anexo 13: Espectro de RMN de ¹H (DMSO, 250 MHz) do 2-[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (14).



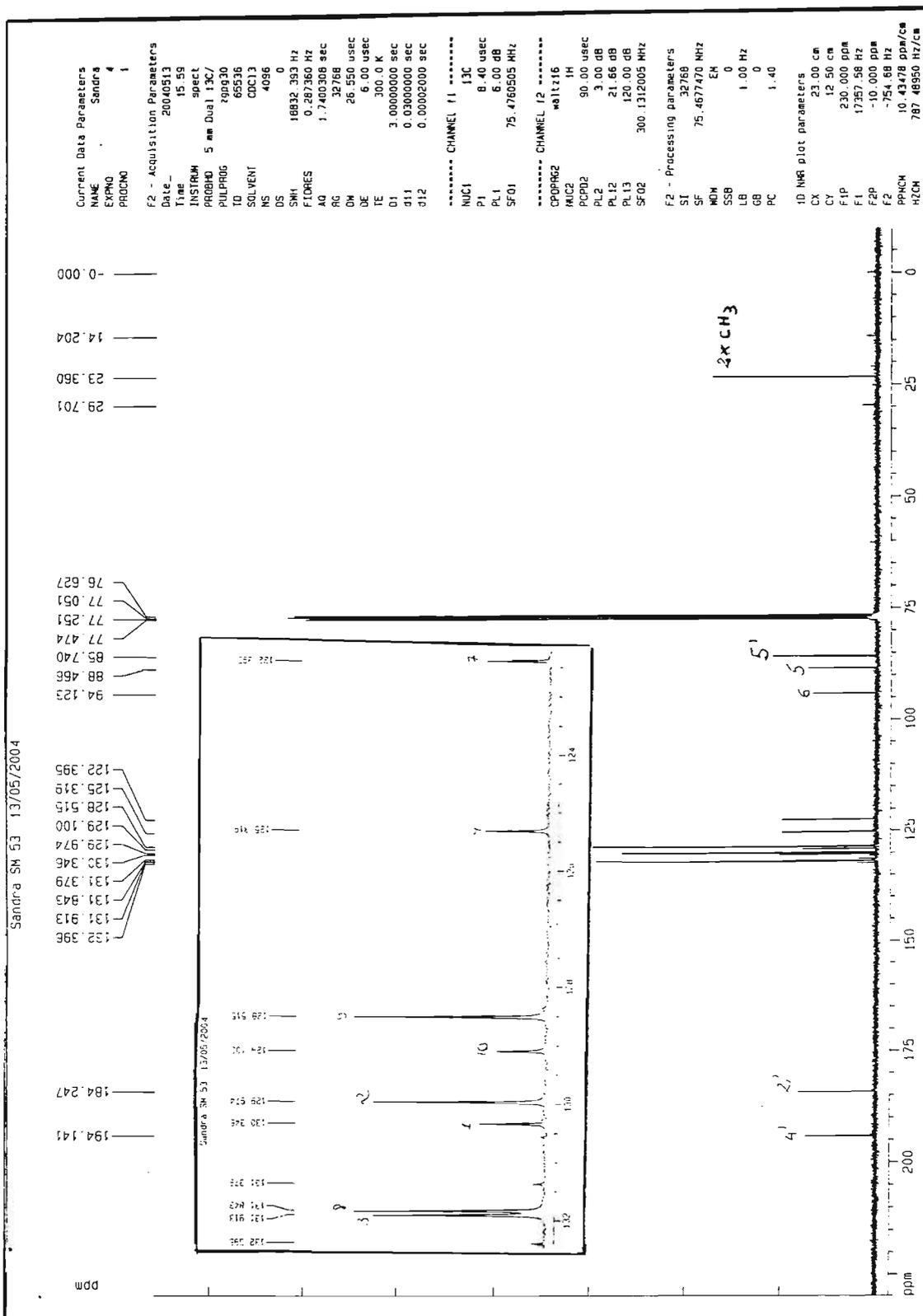
Anexo 15: Espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 62,5 MHz) do 2-[4-bromofenil]-5,5-dimetiloxazol-4-tiona (16).



Anexo 16: Espectro de RMN ¹³C (Acetona D₆, 125 MHz) do Androsta-1,4-dieno-3-tiona-17-ona (18) e o espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) do Androsta-1,4-dieno-3,17-diona (17).



Anexo 17: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) do 2-[4-fenilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15).



Anexo 18: Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) do 2-[4-fenilacetileno]-5,5-dimetiloxazol-4-ona (15).