UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

Estudo Mecanístico
do
Sistema Peróxi-Oxalato

Cassius Vinicius Stevani

Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Josef Wilhelm Baader

São Paulo

1997

“Estudo Mecanístico do Sistema Peróxi-Oxalato”.

CASSIUS VINICIUS STEVANI

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 Ciências - Área: Química Orgânica

Aprovado por:

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

Profa. Dra. LILIANA MARZORATI
IQ - USP

Prof. Dr. JONAS GRUBER
IQ - USP

Profa. Dra. ELISABETE FROLLINI
IQSCar - USP

Prof. Dr. NOBORU HIOKA
UEM

SÃO PAULO
12 DE SETEMBRO DE 1997

Aos meus pais, Nelson e Shirley, pelo amor, compreensão e apoio.

Aos meus irmãos, Marcus e Glaucus, pelo companheirismo e amizade.

Aos meus padrinhos, Rocha e Marlei, sem a ajuda dos quais eu não conseguiria ter me formado.

À minha namorada, Patricia, pelo carinho e muita paciência.

Ao meu avô, João, que almejava um diploma de químico...

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu orientador, Willi, pelas discussões (nem sempre pacíficas), pelo apoio nas horas (meses) difíceis, por ter me ensinado muito do pouco que sei sobre química e, acima de tudo, por ter me ensinado como ser uma boa pessoa (embora eu não tenha aprendido bem).

À todo o pessoal do B10 e do B12. Em especial à Adriana (B10-S) pela simpatia e disponibilidade com que sempre me ajudou; ao Carlão pelas “discussões filosóficas” no bar do Zé; ao Décio meu amigo e partner; ao Luís Geraldo pelas consultorias em informática; ao Gianluca pelas conversas animadoras; ao Greg por achar tudo “simples e fácil” e pelo seu “amor” por química orgânica; ao Chico Saito por ter conseguido “abrir” novamente minha tese; ao Lique e ao Xuds pela ajuda experimental e teórica no transcorrer de meu trabalho; ao Makoto pelas medidas voltamétricas, ao Roque, da Central Analítica, pela paciência e competência demonstrada nos experimentos de RMN ^{13}C (INVGATE), ao Farah pelo interesse acerca de modelagem molecular, à Silvia pela gentileza; aos estagiários do B12-S que eu supervisionei, Erick, Fúlvio e Sandra, por me terem dado a possibilidade de usar uma palavra que odeio ouvir, mas que gosto muito de dizer: “Repita!!”; ao Ivan e à Daisy pelas discussões, científicas ou não; ao Sascha e ao Ricardo Albertin pelas fotos do sistema peróxi-oxalato, à Ana pelo bom humor e pelo “silêncio” nas horas certas e incertas.

Ao pessoal da central analítica, da seção de pós-graduação, ao Chiquinho e ao Jailton pelo constante bom humor; à Janete com muito carinho.

Aos meus amigos no IQ: Beto, Boto, Buda, Caio, “Duxo”, “Fauzani”, gaúchos do B11 (Gilson, Marcelo, Paulo e Luís), Gibinha, Guilherme, “Henrica”, Luís, Maleita, Marcão (B5), Marcela, Neuzinha, Norba, Rodrigo, Túlio, Zé Bidu, etc.

Finalmente, a todos aqueles de que eventualmente eu me esqueci e, parodiando meu amigo Gianluca, àqueles que simplesmente não atrapalharam.

(FOTO: Ricardo Albertin & Sascha Röpke)

Sistema Peróxi-Oxalato: Reação de TCPO [bis(2,4,6-triclorofenil)oxalato] com H_2O_2 , catalisado por imidazol, em presença de ativadores (ACT) diversos, utilizando ftalato de n-butila como solvente. A luz vermelha provém da utilização de clorofila como ACT; a luz verde: 9,10-bis(feniletinil)antraceno; a luz amarela: rubreno e a luz azul: DPA.

Abreviaturas.....	iii
1. Resumo	iv
2. Abstract	vi
3. Introdução	1
3.1 O que é Quimiluminescência?	1
3.2 Determinação do Rendimento Quântico de Quimiluminescência (Φ_{CL}).....	5
3.3 Clivagem Unimolecular de 1,2-Dioxetanos	6
3.4 Mecanismo da Luminescência Quimicamente Iniciada por Transferência de Elétron (CIEEL) ..	7
3.5 Eletroquimiluminescência	13
3.6 O Sistema Peróxi-Oxalato	14
3.6.1 Estudos Mecanísticos	14
3.6.2 Aplicações do Sistema Peróxi-Oxalato	21
4. Objetivos.....	23
5. Resultados.....	25
5.1 Preparação de Intermediários do Tipo II	25
5.1.1 Tentativas de Obtenção de Intermediários do Tipo II Protegidos.....	25
5.1.2 Preparação do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)	26
5.1.3 Caracterização do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)	26
5.2 Experimentos Cinéticos de 1 com Diferentes Bases	28
5.2.1 Bases Oxigenadas.....	28
5.2.2 Bases Nitrogenadas	30
5.2.2.1 Cinética de 1 com Imidazol (IMI-H)	31
5.2.2.2 Cinética de 1 com 1,8-Bis(dimetilamino)naftaleno (BDN)	34
5.3 Medidas do Φ_{CL} com Vários Ativadores.....	35
5.3.1 Determinação do Potencial de Oxidação dos Ativadores	38
5.4 Tentativa de Seqüestro do Intermediário de Alta Energia.....	39
5.4.1 Preparação do 4,5-Dioxo-2,2,2-Trifenil-1,2,3-Dioxastibolano (DTDS).....	39
5.4.1.1 Tentativa de Seqüestro da 1,2-Dioxetanodiona com Trifenilantimônio	39
5.4.2 Tentativa de Comprovação de um Intermediário Volátil.....	40
6. Discussão.....	41
6.1 Preparação do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)	42
6.2 Experimentos Cinéticos de 1 com Diferentes Bases	43
6.3 Medidas do Φ_{CL} e Parâmetros Quimiluminescentes (Φ_{∞} e k_{CAT}/k_D)	49
6.4 Tentativa de Seqüestro do Intermediário de Alta Energia.....	60
7. Conclusão.....	65

8. Experimental	66
8.1 Materiais e Métodos	66
8.1.1 Reagentes	66
8.1.2 Solventes	66
8.1.3 Solução de H_2O_2	67
8.1.4 Determinação Espectrofotométrica de Peróxidos	67
8.1.5 Aparelhagem	67
8.2 Tentativas de Obtenção do Intermediário do Tipo II Protegido	68
8.2.1 Preparação do $NaOOSi(CH_3)_3$	68
8.2.1.1 Preparação do Complexo $DABCO.2H_2O_2$	68
8.2.1.2 Preparação do $Me_3SiOOSiMe_3$	68
8.2.1.3 Preparação do $NaOOSi(CH_3)_3$	68
8.2.2 Reação de $NaOOSi(CH_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#1)	69
8.2.2.1 Reação de $NaOOSi(CH_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#2)	69
8.2.2.2 Reação de $NaOOSi(CH_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#3)	69
8.2.2.3 Reação de $NaOOSi(CH_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#4)	70
8.2.2.4 Reação de $NaOOSi(CH_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#5)	70
8.2.3 Preparação de Silil Hidroperóxidos	71
8.2.3.1 Preparação do <i>t</i> -Butildifenilsilil Hidroperóxido (#1)	71
8.2.3.2 Preparação do <i>t</i> -Butildifenilsilil Hidroperóxido (#2)	71
8.2.3.3 Preparação do Trifenilsilil Hidroperóxido	72
8.3 Preparação do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)	72
8.3.1 RMN ^{13}C de 1	73
8.4 Preparação do 4-Clorofenil Hidrogênio Oxalato (2)	74
8.5 Experimentos Cinéticos de 1 com Diferentes Bases	74
8.5.1 Cinética de 1 com Imidazol	74
8.5.2 Cinética de 1 com 1,8-Bis(dimetilamino)naftaleno	74
8.5.3 Cinética de 1 com <i>t</i> -Butóxido de Potássio (TB)	75
8.5.4 Cinética de 1 com <i>p</i> -Clorofenolato de Potássio (CP)	75
8.6 Medida do Φ_{CL} da Reação de 1 com Imidazol em Presença de Vários ACTs	75
8.6.1 Padronização com Luminol	76
8.7 Tentativa de Seqüestro do Intermediário de Alta Energia	78
8.7.1 Reação de H_2O_2 com Cloreto de Oxalila	78
8.7.2 Preparação do 4,5-Dioxo-2,2,2-Trifenil-1,2,3-dioxastibolano (DTDS)	79
8.7.2.1 RMN ^{13}C do DTDS	79
8.7.3 Tentativa de Seqüestro da 1,2-Dioxetanodiona com Trifenilantimônio	79
8.7.4 Tentativa de Comprovação de um Intermediário Volátil	80
9. Referências	82
10. Anexos	86
10.1 Variação do Φ_{CL} com a [ACT]	86
10.2 Espectros	87
10.3 <i>Curriculum Vitae</i>	93

α :	coeficiente de transferência de elétron.
ACAC-Cr:	tris(2,4-pentanodionato) de cromo (III).
ACT:	ativador.
BDN:	1,8-bis(dimetilamino)naftaleno.
CIEEL:	Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence ou Luminescência Quimicamente Iniciada por Transferência de Elétron.
CP:	<i>p</i> -clorofenolato.
DABCO:	1,4-diazobiciclo[2.2.2]octano.
DCNA:	9,10-dicianoantraceno.
DFPO:	bis(2,6-difluorofenil)oxalato.
DMOA:	9,10-dimetóxi-antraceno.
DPA:	9,10-difenil-antraceno.
DTDS:	4,5-dioxo-2,2,2-trifenil-1,2,3-dioxastibolano.
$E_{p/2}^{ox}$:	potencial de oxidação voltamétrico de meio-pico.
E_s :	energia singlete.
Φ_{∞} :	rendimento quântico de quimiluminescência em concentração infinita do ACT.
f_{CF} :	fator de correção da fotomultiplicadora (Einstein counts ⁻¹).
Φ_{CL} :	rendimento quântico de quimiluminescência em uma determinada concentração do ACT.
Φ_F :	rendimento quântico de fluorescência.
f_{SF} :	fator de correção da sensibilidade da fotomultiplicadora com o comprimento de onda.
IAE:	intermediário de alta energia.
IMI-H:	imidazol.
ISC:	intersystem crossing ou cruzamento inter-sistema.
MCBA:	ácido <i>m</i> -clorobenzóico.
MCPBA:	ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico.
ODI:	1,1'-oxalildi-imidazol.
PCPO:	bis(pentaclorofenil)oxalato.
PPO:	2,5-difeniloxazol.
SEN:	sensibilizador.
TB:	<i>t</i> -butóxido.

1. Resumo

Ao contrário das reações bioluminescentes, que apresentam rendimentos quânticos de emissão de luz por volta de 90%, as reações quimiluminescentes, geralmente, apresentam rendimentos abaixo de 1%. Entretanto, existe um sistema quimiluminescente cujo rendimento está na faixa de 30%, o denominado sistema peróxi-oxalato, descoberto na década de 60 e muito utilizado hoje em dia como ferramenta analítica. O sistema peróxi-oxalato consiste na reação de ésteres fenólicos do ácido oxálico com H_2O_2 , catalisada por uma base e em presença de compostos poli-aromáticos fluorescentes com baixos potenciais de oxidação (ACT).

Um dos principais motivos para que este sistema seja tão pesquisado há trinta anos deve-se ao seu alto rendimento quântico de emissão e à dificuldade em se obter informações sobre o mecanismo de geração de estados excitados. Na verdade, até hoje não se sabe com certeza qual é o intermediário de alta energia (IAE) que transfere a “energia química” para o ACT, levando este último para o estado excitado que, pelo decaimento, emite luz. Uma controvérsia ainda maior existe sobre o mecanismo de quimi-excitação. Enquanto a maior parte dos pesquisadores da área aceitam o mecanismo “Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence” (CIEEL) como operante no sistema peróxi-oxalato e em muitos outros sistemas quimiluminescentes, alguns pesquisadores argumentam em contrário a este mecanismo, mostrando as suas deficiências e a falta de evidências claras para a comprovação da sequência de eventos proposta.

Os estudos mecanísticos desenvolvidos até o presente momento sobre o sistema peróxi-oxalato permitiram propor diversas moléculas como IAE, responsáveis pela excitação do ACT (I - IV).

Neste trabalho é relatado um estudo mecanístico do sistema peróxi-oxalato, o único com alta eficiência comprovada que pode envolver o mecanismo CIEEL, com o objetivo de contribuir para um melhor entendimento do passo de quimi-excitação. Foi sintetizado um derivado do intermediário do tipo II, o 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperoxalato (1), caracterizado por RMN ^{13}C (INVGATE), infravermelho e espectrometria de massa. O resultado mais significativo deste trabalho é o fato de 1, em presença de um ACT (*i.e.* rubreno, DPA, perileno), não emitir luz, o que exclui, definitivamente, intermediários do tipo II como intermediários de alta energia. 1 somente emite em presença de um ACT e de bases com pK_a adequado ($\text{pK}_a > 6$). Tal fato sugere que deve ocorrer uma

reação química anterior à emissão, provavelmente uma ciclização, que dá origem ao intermediário de alta energia.

Foram feitos estudos cinéticos da reação de **1** com diversas bases [*i.e.* imidazol, *p*-clorofenolato e *t*-butóxido de potássio e 1,8-bis(dimetilamino)naftaleno], observando-se a emissão de luz em presença de DPA ou a absorção do *p*-clorofenol liberado em 292 nm. Destes estudos puderam ser propostos esquemas mecanísticos dos processos que antecedem a etapa de quimi-excitação e foram obtidas evidências indiretas para a ocorrência da 1,2-dioxetanodiona (**I**) como IAE.

Visando obter informações sobre a etapa de quimio-excitação foram medidos os rendimentos quânticos de quimiluminescência da reação de **1** com imidazol, em presença de sete ativadores, com diferentes potenciais de oxidação. Destes estudos foram obtidas informações indiretas a respeito da velocidade de transferência de elétron. Com estes dados pode-se verificar a validade do mecanismo CIEEL, propondo um mecanismo condizente com os resultados experimentais.

Para finalizar, tentou-se verificar a natureza volátil do IAE e de seqüestrar o IAE, possivelmente a 1,2-dioxetanodiona (**I**), utilizando-se trifenilantimônio. Apesar de várias tentativas, utilizando diversas condições experimentais, os resultados foram pouco conclusivos.

2. Abstract

Contrarily to bioluminescent reactions which present quantum yields of around 90%, chemiluminescent reactions generally present quantum efficiencies of around 1%. However, there is a chemiluminescent system discovered in the 60's and widely used nowadays as analytical tool, which quantum yields can reach up to 30%, the so called peroxyoxalate system. This system consists in the reaction of aromatic oxalyl esters with H_2O_2 catalyzed by a base in the presence of polyaromatic, highly fluorescent compounds with low oxidation potentials (ACT).

The main reason for the studies of the peroxyoxalate system during 30 years is its highly chemiluminescence quantum yield and difficulties to obtain informations about the mechanism of the excited states generation. In fact, there is no strong evidence till now about the high energy intermediate (HEI) responsible for the transformation of the “chemical energy” into the ACTs electronically excitation, which leads to light emission. There exists a still greater controversy with respect to the chemiexcitation mechanism. While the most chemiluminescence researchers accept the “Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence” (CIEEL) mechanism to explain the chemiexcitation process in the peroxyoxalate and many others chemiluminescent systems, some researchers contest it, exposing the lack of clear evidences for the sequence of events proposed.

The mechanistic research developed till now about the peroxyoxalate system allowed the proposal of several structures as HEI, as the most probable to excite the ACT (I-IV).

In this work is reported a mechanistic study on the peroxyoxalate system, the only one with proven high efficiency supposed to involve the CIEEL mechanism, aiming to contribute to a better knowledge of the chemiexcitation pathway. A type II intermediate derivative, 4-chlorophenyl O,O-hydrogen monoperoxalate (**1**), was synthesized and characterized by ^{13}C NMR (INVGATE) infrared and mass spectrometry. Perhaps the most significant result in this work is the fact that **1**, in the presence of a suitable ACT (*i.e.* rubrene, DPA, perylene) does not lead to light emission. What excludes definitively type II structures as high energy intermediates in the peroxyoxalate system. Moreover, as **1** only lead to light emission in the presence of bases with suitable pK_a ($\text{pK}_a > 6$) and an ACT, it suggests that a chemical reaction has to take place before emission, probably a cyclization leading to the high energy intermediate.

Kinetic investigations on the reaction of **1** with several bases [*i.e.* imidazole, potassium *p*-chlorophenolate and *t*-butoxide and 1,8-bis(dimethylamino)naphthalene] were performed. The

reaction was followed either by light emission in the presence of DPA or by changes in absorption at 292 nm due to *p*-chlorophenol released. These investigations allow the proposal of mechanistic schemes for the processes that occur before chemiexcitation and indirect evidences for the occurrence of 1,2-dioxetanedione (**I**) as the HEI could be obtained.

The chemiluminescent quantum yields of the reaction of **1** with imidazole in the presence of seven ACTs with different oxidation potentials were measured with the aim to obtain informations about the chemiexcitation pathway. Indirect informations on the electron transfer rate constant could be obtained. The validity of the CIEEL mechanism could be verified with these data and a mechanism proposed which is in agreement with the experimental results.

Finally, trapping of the HEI, probably 1,2-dioxetanedione (**I**), using triphenylantimony was attempted. Several attempts to trap the HEI, although using various experimental conditions, were not successful. The results were not conclusive.

3. Introdução

3.1 O que é Quimiluminescência?

O termo quimiluminescência foi primeiramente utilizado por WIEDEMANN [1888] para descrever reações químicas que emitiam luz: “Das bei chemischen Prozessen auftretende Leuchten würde Chemilumineszenz genannt” ou, traduzindo, “Um processo químico que ocorre com luminescência seria chamado quimiluminescência”[CAMPBELL, 1988]. Wiedemann distinguiu dois tipos diferentes de mecanismos pelos quais sólidos, líquidos ou gases podem produzir luz, um requerendo aumento da temperatura e, o outro, não. O primeiro mecanismo de emissão trata-se de incandescência, que não é um processo químico, mas sim físico, decorrente da emissão de radiação pelo corpo negro. O fenômeno da incandescência, hoje em dia bem estabelecido, foi primeiramente explicado por Planck em 1900 e a equação física que o descrevia foi formulada, de modo mais detalhado, por Einstein em 1904, como resultado dos estudos sobre o efeito fotoelétrico.

Desde os primórdios da civilização humana, ocorrem referências sobre seres luminosos em todo o mundo, originando mitologia relacionada a estes fenômenos. Gregos e romanos foram os primeiros a classificar e relatar as características peculiares de seres luminosos como peixes, bactérias e fungos. Embora a grande quantidade de vívidas descrições bioluminescentes, somente no século XVII começaram investigações científicas sobre o fenômeno de “luz fria”.

Hennig Brand, médico hamburguês, em 1669, produziu um composto que emitia luz em contato com o ar, através da fervura de urina humana com salitre, álcool e areia. O composto produzido era fósforo branco [GMELIN, 1966]. Na mesma época, foram feitos diversos experimentos com fungos e bactérias bioluminescentes, onde foi comprovado a necessidade de oxigênio nestes processos de emissão de luz.

O primeiro composto sintético orgânico que exibiu uma reação quimiluminescente foi a lofina, sintetizado em 1887 por Bronislau RADZISZEWSKI [1877], que também relatou, logo após seu primeiro artigo, uma grande lista de compostos orgânicos sintéticos quimiluminescentes. Radziszewski relatou que “a lofina não emite luz quando aquecida”, comentário que permitiu a Wiedemann, em 1888, não somente distinguir quimiluminescência de incandescência, mas estabelecer a quimiluminescência como um fenômeno fascinante situado na interface entre a química e a física.

Esquemáticamente, uma reação quimiluminescente pode ser formulada como o inverso de uma reação fotoquímica. Em uma reação fotoquímica, após haver a absorção de um fóton por uma determinada substância, esta vai para um estado eletronicamente excitado e, através de uma reação química, forma-se um produto no estado fundamental. Em uma reação quimiluminescente, ocorre uma reação química, que leva à produção de uma substância no estado excitado, que, pelo decaimento para o estado fundamental, emite luz (Esquema 1A). Analisando simplificada, este processo ocorre porque o produto inicial da reação química é produzido, preferencialmente, no estado excitado, devido à semelhança energética e geométrica entre os níveis eletrônicos do reagente e do produto excitado. Ou seja, para reações extremamente exotérmicas e nas quais a geometria do estado excitado do(s) produto(s) é parecida com a geometria do(s) reagente(s), a energia (ou entalpia livre) de ativação para a reação levando ao estado excitado pode ser menor do que a da reação levando ao estado fundamental, conforme ilustra de maneira simplificada o Esquema 1B [HERCULES, 1969].

Esquema 1: A) Esquema energético simplificado da coordenada de uma reação quimiluminescente, B) Diagrama de Jablonski para uma reação quimiluminescente. Para um bom rendimento de quimiluminescência: $\Delta G^{\ddagger*} < \Delta G^{\ddagger}$, $\Delta G^{\ddagger}$: energia de ativação, $\Delta G^{\ddagger*}$: energia de ativação quimiluminescente, R: reagente, P^0 : produto no estado fundamental, P^* : produto excitado.

Em uma análise um pouco mais detalhada, uma condição necessária, mas não suficiente, para que uma reação química produza estados excitados é que ela produza energia igual ou maior à do produto formado no estado excitado (ΔE). Esta energia é fornecida pela energia livre de reação (ΔG^0_R), mais $\Delta G^\ddagger$, de tal forma que: $\Delta E \leq \Delta G^0_R + \Delta G^\ddagger$. Além disso, ainda há um pré-requisito, baseado no princípio de Franck-Condon, que diz que “toda transição eletrônica ocorre verticalmente e sem mudança na geometria da molécula”, ou seja, se a geometria do estado de transição da reação química for semelhante à do produto no estado excitado (além da energia, é claro), haverá preferência em se formar o produto no estado excitado. Isto é consequência de que, a passagem do estado de transição para P^* envolve um menor rearranjo molecular do que a passagem do estado de transição para P^0 (Esquema 1A). Sendo assim, pode-se redefinir a expressão energética necessária e suficiente para que uma reação química produza estados excitados, pela inclusão de um termo energético baseado na geometria da molécula, $\Delta E'$, obtendo-se uma nova expressão: $\Delta E + \Delta E' \leq \Delta G^0_R + \Delta G^\ddagger$.

Resumidamente, reações quimiluminescentes geralmente envolvem a (i) geração de um intermediário de alta energia em um ou vários passos, (ii) reação térmica deste intermediário conduzindo a um produto eletronicamente excitado, (iii) liberação da energia de excitação em forma de emissão de fluorescência ou fosforescência [GUNDERMANN, 1987; ADAM & CILENTO, 1982, 1983].

A luz emitida, pelo decaimento para o estado fundamental, pode ser proveniente de uma transição entre estados excitados de mesma multiplicidade (*i.e.* singlete/singlete, triplete/triplete), chamado *fluorescência* (Esquema 2A) ou de multiplicidades diferentes, chamado *fosforescência* (Esquema 2B). No caso de uma emissão por fluorescência, o tempo de vida do produto no estado excitado é da ordem de 1 ns até 1 μ s, já para uma emissão por fosforescência, proibida pelas regras de simetria, onde necessariamente ocorre um cruzamento intersistema, o tempo é de 1 ms a 1 s.

Esquema 2: Diagrama de Jablonski para **A** emissão de luz *via* fluorescência e **B** emissão *via* fosforescência. S^0 : estado fundamental singlete, S^1 : estado excitado singlete, T^1 : estado excitado tripleto.

Uma molécula excitada pode emitir luz de duas formas diferentes, de modo direto ou indireto. Uma reação quimiluminescente direta é aquela onde a espécie química excitada, formada por uma reação química anterior, é a que emite luz (Esquema 3A). Já em uma reação quimiluminescente indireta, a espécie química responsável pela emissão não é a primeira espécie, mas sim uma outra espécie (o chamado sensibilizador, **SEN**) que é excitada pela primeira, através de um processo de transferência de energia (Esquema 3B).

Esquema 3: Esquema simplificado de reação quimiluminescente direta (**A**) e indireta (**B**).

3.2 Determinação do Rendimento Quântico de Quimiluminescência (Φ_{CL})

Além das constantes de velocidade das reações envolvidas, outro parâmetro utilizado no estudo de um sistema quimiluminescente é o rendimento quântico de quimiluminescência (Φ_{CL}), expresso em einstens por mol ($E \text{ mol}^{-1}$). Determinar o Φ_{CL} de um sistema não é um procedimento trivial, geralmente os aparelhos não são calibrados e, mesmo que fossem, o valor da intensidade de luz, em $E \text{ mol}^{-1}$, não seria por muito tempo válido, devido à deposição de poeira ou mesmo fadiga da fotomultiplicadora. Sendo assim, torna-se necessária a calibração da fotomultiplicadora utilizada, através de uma lâmpada padrão (p.e. uma lâmpada do National Bureau of Standards) [LEE & SELIGER, 1965], onde sabe-se qual a intensidade de luz emitida por tempo e pela área. Além disso, deve-se levar em conta a geometria utilizada (*i.e.* distância, área de emissão até a fotomultiplicadora, etc.). É possível evitar todo este processo trabalhoso pelo uso de padrões secundários, bem mais fáceis de se empregar. Dois padrões secundários são geralmente utilizados, o padrão luminol de Lee & Seliger e o padrão radioativo de HASTINGS & WEBER [1963, 1965]. Devido à extrema conveniência dos dois métodos, a maioria das recentes determinações de Φ_{CL} são baseadas em um, ou outro, destes padrões secundários.

O padrão luminol é altamente reprodutível, consistindo na reação de uma pequena quantidade de luminol com peróxido de hidrogênio em presença de hemina (catalisador), utilizando água como solvente ($\lambda_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$), ou reagindo-se luminol com *t*-BuOK em dimetilsulfóxido aerado ($\lambda_{\text{max}} = 484 \text{ nm}$). Já o padrão Hastings & Weber geralmente é feito pelo degaseamento meticuloso de uma solução contendo [$1\text{-}^{14}\text{C}$] hexadecano e líquido de cintilação (PPO/POPOP, $\lambda_{\text{max}} = 416 \text{ nm}$), que mantém um fluxo de fótons constante por vários anos. Apesar da conveniência, o Φ_{CL} de um certo processo, quando calculado utilizando-se o padrão Hastings & Weber e luminol, não apresentam o mesmo valor, mas, diferem de um fator de 2,5 vezes, sendo que o uso do padrão luminol resulta em valores mais baixos [HASTINGS & REYNOLDS, 1966; DUNN *et al.*, 1973]. Quando o valor do Φ_{CL} é baixo ($10^{-5} - 10^{-9} E \text{ mol}^{-1}$) a diferença entre os padrões não é muito significativa, porém, quando tem-se Φ_{CL} na ordem de 0,10 - 1,0 $E \text{ mol}^{-1}$ esta diferença é muito representativa. Sendo assim, enquanto não se desenvolve um método mais geral, torna-se necessário especificar qual método foi utilizado na determinação do Φ_{CL} .

3.3 Clivagem Unimolecular de 1,2-Dioxetanos

O envolvimento de dioxetanos e α -peróxilactonas, como intermediários de alta energia e vida curta, em muitos sistemas quimiluminescentes foi sugerido primeiramente por McCAPRA [1968] há quase trinta anos. Antes disso, dioxetanos foram postulados por Staudinger em várias reações de oxidação [STAUDINGER *et al.*, 1925; STAUDINGER, 1925]. Tais compostos, ainda não isolados em nenhuma forma naquela época, pareciam ser os únicos que poderiam desempenhar o papel de IAE, pois, (i) a clivagem térmica, em dois fragmentos carbonílicos, deveria ser altamente exotérmica, considerando a liberação da tensão do anel de quatro membros e a formação de duas ligações carbonílicas fortes, em detrimento de uma ligação fraca O-O e uma ligação C-C; (ii) na estrutura de dioxetanos, o grupo C-O está fora do plano R₁-C-R₂ (da mesma forma que aldeídos e cetonas no estado excitado), o que poderia favorecer, caso fosse possível energeticamente, a formação de carbonilas no estado excitado; (iii) em várias reações quimiluminescentes e bioluminescentes foram encontrados freqüentemente, entre os produtos de reação, compostos carbonílicos como, por exemplo, CO₂ (reações bioluminescentes).

Entretanto, KOPECKY & MUMFORD [1968], no mesmo ano, sintetizaram o trimetil-1,2-dioxetano, o qual demonstrou ser um composto relativamente estável, contrariando as previsões. Submetido ao aquecimento (*ca.* 50 °C) este dioxetano se decompôs lentamente em acetona e acetaldeído, emitindo fraca luz azulada e, em presença de DPA, que age como um sensibilizador (SEN), quimiluminescência intensa.

Dioxetanos, ao contrário da maioria das reações quimiluminescentes, representam um sistema quimiluminescente simples, onde a decomposição unimolecular de uma molécula relativamente estável, leva à formação de dois compostos carbonílicos, sendo que um deles forma-se em um estado eletronicamente excitado, singlete ou triplete [KOPECKY *et al.*, 1969]. Entretanto, esta classe de compostos, não pode ser usada como um bom modelo para reações bioluminescentes, uma vez que o rendimento quântico de formação de estados triplete ($0,3 \text{ E mol}^{-1}$) é muito maior que o singlete ($10^{-3} \text{ E mol}^{-1}$), o que ocasiona baixos rendimentos quânticos de quimiluminescência. Isto deve-se ao fato de estados excitados triplete serem desativados preferencialmente de forma não-radiativa, enquanto estados excitados singlete desativam-se preferencialmente de forma radiativa (Esquema 3). Ou seja, os rendimentos quânticos de fosforescência em solução e na presença de O₂ são extremamente baixos, enquanto os rendimentos quânticos de fluorescência podem até chegar a valores iguais a 1 E mol^{-1} , apesar de não serem também muito altos ($\sim 10^{-5} \text{ E mol}^{-1}$) para compostos carbonílicos simples.

3.4 Mecanismo da Luminescência Quimicamente Iniciada por Transferência de Elétron (CIEEL)

RAUHUT *et al.* [1965, 1967, 1969] foram os primeiros que propuseram a existência de um complexo de transferência de carga entre um intermediário de alta energia, formado na reação, e um composto chamado ativador (ACT)*, para explicar a geração de estados excitados no sistema peróxi-oxalato. Segundo os mesmos, [1967, 1969] existe um IAE meta-estável e volátil, provavelmente a 1,2-dioxetanodiona, que interage com o ACT através de um complexo de transferência de carga, havendo doação de elétron por parte do ACT. Baseado em resultados obtidos com experimentos de medida do rendimento quântico de quimiluminescência, RAUHUT [1969] propôs que, quanto menor o potencial de oxidação do ACT, maior a constante de velocidade de formação de estados excitados. Da mesma forma, quanto menor a energia singlete do ACT, maior o Φ_{CL} .

Posteriormente, SCHUSTER [1979a] constatou, através do estudo de uma série de peróxidos isoláveis cíclicos e lineares, que a constante de velocidade de decomposição destes (k_{obs} , Esquema 4), observada através da emissão de luz, sofria uma aceleração e, além disso, ocorria um aumento significativo da quantidade de luz emitida, quando em presença de ACTs com baixos potenciais de oxidação e altos rendimentos quânticos de fluorescência (Φ_F). Os principais peróxidos estudados por Schuster foram difenoil-peróxido (A), 1-feniletil peróxi-acetato (B), 3,3-dimetil 1,2-dioxetanona (C) e o *o*-xilileno peróxido D. Foi constatado também que os espectros de emissão da reação catalisada pelos ACTs eram idênticos aos espectros de fluorescência dos próprios ACTs utilizados. Através de

um estudo sistemático da variação da constante de velocidade da reação catalisada pelo ACT (k_{CAT}), Schuster pôde observar que k_{CAT}

(A)

(B)

(C)

(D)

correlacionava-se linearmente com o potencial de oxidação do ativador (E_{ox}), em todos os sistemas estudados, sendo que, a projeção de $\ln k_{CAT}$ vs. E_{ox} era linear, o que evidenciava um processo que envolvia uma transferência de elétron no passo limitante.

*Notar que existe uma diferença entre sensibilizador (SEN) e ativador (ACT). Um SEN recebe energia de um outro composto no estado excitado não interferindo na velocidade da reação, enquanto, um ACT é formado no estado excitado através de uma reação química, interferindo na velocidade da reação.

O coeficiente angular (θ) da relação $\ln k_{\text{CAT}}$ vs. E_{ox} fornece $\theta = -\alpha/RT$, onde α é um parâmetro empírico relacionado com a transferência de elétron ($0 \leq \alpha \leq 1$) (Esquema 4). O parâmetro α citado é similar ao α utilizado por Brønsted em catálise ácida geral, o qual é uma medida da transferência de próton na etapa limitante da reação, possuindo valores, também, entre 0 e 1. Este parâmetro é relacionado à extensão de transferência de elétron no estado de transição. Porém, como ocorre ruptura de uma ligação química simultaneamente à transferência de elétron, α indica também a extensão desta ruptura. Um valor de $\alpha \approx 1$ significa uma ruptura “quase” completa da ligação no estado de transição, enquanto um valor de $\alpha \approx 0$ significa “pouca” ruptura da ligação no estado de transição. Empiricamente, o valor de α diz respeito à sensibilidade da variável observada (no caso k_{CAT}) a mudanças do potencial de oxidação do ACT. Com o sistema difenilperóxido [KOO & SCHUSTER, 1978], foi comprovado que, com o aumento da viscosidade, utilizando solventes de constante dielétrica aproximadamente igual, os valores de Φ_{CL} aumentavam, o que demonstra ser este um processo que ocorre dentro da gaiola de solvente.

Esquema 4: Esquema cinético da interação de um dos peróxidos estudados por Schuster com um ACT, envolvendo uma transferência de elétron.

Em um trabalho teórico, SCHUSTER [1979b] propôs que, **(i)** no caso de reações irreversíveis de transferência de elétron, com uma constante de velocidade k_{23} (Esquema 5), o coeficiente angular da relação $\ln k_{23}$ vs. ΔG_{23} (θ) é $\theta = 0$, para reações com $\Delta G_{23} < 0$, **(ii)** para reações reversíveis, com $\Delta G_{23} > 0$, o valor do coeficiente angular é $\theta = -1/RT$ e, **(iii)** para reações irreversíveis, com $\Delta G_{23} > 0$, têm-se que $\theta = -\alpha/RT$ e $k_{\text{CAT}} = K_{12}k_{23}$. Todos os sistemas quimiluminescentes estudados por Schuster enquadram-se no caso **iii**, uma vez que ocorre rompimento da ligação peroxídica (O-O)

em conjunto com uma transferência de elétron, mais rápida do que a retro-transferência, ou seja, o processo é irreversível. A energia do par de íon-radicais é maior do que a do complexo de transferência de carga, ou seja, esta

D: doador, A: aceptor, P: produtos

Esquema 5

transferência de elétron é endotérmica. É necessário ainda observar que k_{CAT} é composto de k_{23} e K_{12} , o que faz com que, caso K_{12} dependa eventualmente do valor de ΔG_{23} , o valor medido de α contenha um componente associado à formação de um complexo de transferência de carga. Schuster obteve um valor de α aproximadamente igual a 0,3 para todos os sistemas estudados.

Em um estudo matemático mais elaborado, com respeito às relações de energia livre para reações reversíveis e irreversíveis, SCANDOLA *et al.* [1981] verificaram que, para reações com $\Delta G^\ddagger$ pequeno, a relação $\log k_{CAT}$ vs. E_{ox} é linear. Nestes casos, de reações de transferência de elétron irreversíveis, com E_{ox} conhecido e um único aceptor de elétron (E_{red} único e estabelecido termodinamicamente), α deve possuir valores entre 0,2 e 0,5.

Com base nestas observações, principalmente utilizando o sistema difenil-peróxido [KOO & SCHUSTER, 1978], Schuster propôs o mecanismo CIEEL (“**Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence**”), o qual contém os seguintes passos: (i) primeiramente o ACT entra em contato com o peróxido, formando um complexo de encontro dentro da gaiola de solvente, (ii) o peróxido é termicamente ativado, fazendo com que a fraca ligação O-O seja alongada e a energia do orbital anti-ligante mais baixo diminua; resultando em um aumento da afinidade eletrônica, podendo ocorrer uma transferência de elétron do ACT, a qual leva à formação de um par de íon-radicais, (iii) então, o radical-ânion do peróxido se cliva, gerando um novo radical-ânion na gaiola de solvente, (iv) ocorre uma reação de aniquilamento do radical-ânion formado com o cátion-radical do ACT, um processo que libera energia suficiente para promover o ACT ao seu estado excitado singlete, (v) o qual decai para o estado fundamental emitindo luz (Esquema 6).

Esquema 6: Mecanismo CIEEL exemplificado com a 3,3-dimetil-1,2-dioxetanona e DPA.

Este mecanismo, incomum e muito interessante, foi recebido com entusiasmo pelos pesquisadores da área, ainda mais quando foi utilizado, na mesma época [KOO *et al.*, 1978], para explicar o passo de quimi-excitação da reação bioluminescente do vaga-lume. No mecanismo de emissão de luz pelo vaga-lume, elucidado nos anos 60 [McELROY *et al.*, 1969], foi proposto o envolvimento de uma dioxetanona, formada através da oxidação da luciferina pelo oxigênio molecular, catalisada enzimaticamente pela luciferase (Esquema 7).

Esquema 7: Mecanismo de bioluminescência do vaga-lume.

O mecanismo de quimi-excitação desta reação, que apresenta um alto rendimento quântico de bioluminescência (em torno de $0,90 \text{ E mol}^{-1}$) pode ser explicado, como já foi dito, com base no mecanismo CIEEL. É interessante notar que a molécula de luciferina, com uma dioxetanona na ponta, apresenta os três componentes necessários para que ocorra uma reação quimiluminescente, ou

seja, uma fonte de energia, a dioxetanona com alto conteúdo energético, uma molécula que é capaz de ser formada no estado eletronicamente excitado e um “gatilho”, o OH fenólico, que ao ser desprotonado “dispara” a seqüência de eventos. Dessa forma, o que ocorre é um mecanismo CIEEL

intramolecular, onde (i) o íon fenolato livre transfere um elétron para a dioxetanona, ocorrendo a quebra da ligação O-O e (ii) a formação de um par de íons radicais, que, (iii) através de uma nova transferência de

elétron, leva à formação da oxiluciferina no estado excitado; que, finalmente, (iv) emite luz ao decair para o estado fundamental (Esquema 8).

Esquema 8: Mecanismo CIEEL intramolecular na bioluminescência do vagalume.

Um ponto bastante obscuro do mecanismo CIEEL é o que diz respeito aos rendimentos quânticos de quimiluminescência envolvidos no passo bimolecular da reação, pois, os valores calculados para o sistema difenoil-peróxido/perileno foram superestimados em várias ordens de grandeza por SCHUSTER [1979a], fato que foi revelado em um trabalho posterior [CATALANI & WILSON, 1989]. Estes últimos autores obtiveram um rendimento quântico de 10^{-4} E mol^{-1} , ao invés de 0,1 E mol^{-1} , determinado por Schuster, ou seja, o sistema difenoil-peróxido - o sistema chave para a formulação do mecanismo CIEEL - é de uma eficiência extremamente baixa neste caso.

Em uma revisão recente, WILSON [1995] indaga sobre o motivo pelo qual os sistemas modelos do mecanismo CIEEL (difenoil-peróxido e antraceno-peróxido) são tão ineficientes. Segundo a mesma, dois motivos são prováveis, baseado no mecanismo CIEEL: retro-transferência de elétron muito rápida ou difusão para fora da gaiola de solvente (Esquema 6), embora nenhum dos dois motivos pareça ser suficiente para explicar rendimentos tão baixos.

Por outro lado, o sistema peróxi-oxalato mostra rendimento quântico elevado, fato que foi comprovado por uma redeterminação independente utilizando a reação de bis(pentaclorofenil)oxalato com H_2O_2 , catalisada por salicilato de sódio, em presença de DPA [CATHERALL *et al.*, 1989]. Sendo assim, o sistema peróxi-oxalato constitui o único exemplo com alto rendimento quântico que, provavelmente, envolve a sequência mecanística CIEEL. Estudos mecanísticos deste sistema poderiam contribuir para um melhor esclarecimento da geração de estados eletronicamente excitados *via* transferência de elétron.

Um mecanismo alternativo de quimi-excitação bem criativo foi formulado por STEINFATT [1984, 1985], utilizando ftaloil-peróxido como exemplo. O autor propõe um mecanismo para a interação entre o peróxido e o ACT que não segue o esquema CIEEL (Esquema 9). Segundo Steinfatt, existe um equilíbrio, entre o ftaloil-peróxido (A) e o dioxirano (B), envolvendo um intermediário birradicalar. A termólise do dioxirano, em presença de 1,3-difenilisobenzofurano (C), produz oxigênio atômico, o qual interage com C, transformando-o no estado excitado de E, que emite luz ao decair para o estado fundamental. A interação de B com C leva, também, à formação de anidrido ftálico (D).

Esquema 9: Mecanismo quimiluminescente proposto por Steinfatt, utilizando como exemplo o ftaloil-peróxido (A).

Para a proposição de seu mecanismo, Steinfatt baseou-se nas seguintes evidências experimentais: (i) primeiramente, foi observado por ZUPANCIC *et al.* [1980] que, ftaloil-peróxido em presença de 1,3-difenilisobenzofurano (C), em THF, a 25 °C, leva à formação de anidrido ftálico (D) e *o*-dibenzoilbenzeno (E). Entretanto, conclui-se, no mesmo artigo, que não ocorre o envolvimento de $^1\text{O}_2$, como previa um artigo anterior de GUNDERMANN & STEINFATT [1975]; (ii) a reação de gás fosfênio

ou do composto **F** com Na_2O_2 leva à emissão de luz [STEINFATT, 1984], postulando-se nos dois casos, novamente, o envolvimento de um díoxirano; (iii) a reação de CO com O_3 a 75-160 °C é quimiluminescente. O processo é devido à reação de oxigênio atômico com CO, que leva à formação de CO_2 excitado. A emissão deve-se ao decaimento $\text{CO}_2 (^1\text{B}_2) \rightarrow \text{CO}_2 (^1\Sigma_g^+)$ [TOBY & ULLRICH, 1980; TOBY *et al.*, 1984]. Steinfatt propõe que o oxigênio atômico também seria capaz de excitar o ACT, analogamente ao CO. Entretanto, os seguintes fatos vão contra a hipótese de Steinfatt: (i) não há evidências da ocorrência do equilíbrio proposto para a formação de um díoxirano nas condições experimentais utilizadas; (ii) caso haja a formação de um díoxirano, ocorre liberação a partir deste, de oxigênio atômico, à temperatura ambiente? E, se ocorre a reação de oxigênio atômico com um ACT, ocorreria a excitação do ACT, com eventual decomposição e emissão de luz?

3.5 Eletroquimiluminescência

Reações que envolvem transferência de elétron podem ser estudadas por voltametria cíclica, onde um complexo de transferência de carga é gerado eletricamente, ao invés de quimicamente. Esta forma eletroquímica de geração de estados excitados, que ao decaírem emitem luz, é chamada eletroquimiluminescência. Esta técnica, amplamente utilizada e revisada [FAULKNER & GLASS, 1982], permite o estudo de reações que envolvem transferência de elétron, de um modo mais direto. De modo genérico, a luz é emitida por uma espécie química singlete excitada, gerada por sua vez de uma reação de aniquilamento entre um par de íons-radicaís ($\text{A}^\bullet$ e $\text{D}^\bullet$), produzidos por voltametria cíclica (Equação 1).

Equação 1

CHANG *et al.* [1977] tentaram obter evidências mais concretas sobre o envolvimento da 1,2-dioxetanodiona como IAE, por meio de um estudo eletroquimiluminescente de uma solução contendo oxalato de tetrabutílamônio, em presença de ACTs (rubreno, DPA, etc.), utilizando acetonitrila como solvente. Os autores propuseram um modelo de eletroquimiluminescência (Esquema 10), no qual o encontro das espécies $\text{CO}_2^\bullet$ e $\text{ACT}^{\bullet+}$ não leva à formação de ACT^* . Neste caso, a aniquilação das espécies $\text{ACT}^{\bullet+}$ e $\text{ACT}^\bullet$ (formado a partir de $\text{CO}_2^\bullet$), levando à formação de uma molécula do ACT no estado excitado e uma no fundamental.

Esquema 10: Mecanismo de eletroquimiluminescência, utilizando oxalato e ACT, proposto por CHANG *et al.* [1977].

Uma explicação possível para estes fatos é que $CO_2^{\bullet-}$ é uma molécula relativamente pequena e a diferença de energia de solvatação entre $CO_2^{\bullet-}$ e CO_2 é grande. Isto resulta em um termo grande de trabalho de solvatação, segundo o formalismo da cinética de transferência de elétron de Marcus [MARCUS, 1965], com uma velocidade de transferência de elétron mais baixa. Esta transferência lenta de elétron seria incapaz de gerar um produto no estado excitado. Uma explicação alternativa é que o tempo de vida do $CO_2^{\bullet-}$ é muito pequeno para um encontro com uma molécula de $ACT^{\bullet+}$.

3.6 O Sistema Peróxi-Oxalato

3.6.1 Estudos Mecanísticos

Em geral reações quimiluminescentes convertem energia química em luz de maneira ineficiente. Rendimentos quânticos abaixo de 1% são bem típicos. Entretanto, o sistema peróxi-oxalato apresenta um comportamento diferente, pois possuem rendimentos quânticos na ordem de 30%. Este sistema, despertou o interesse de muitos pesquisadores desde que CHANDROSS [1963] observou que, reagindo cloreto de oxalila com H_2O_2 , em presença de rubreno ocorria emissão de luz.

RAUHUT *et al.* [1965, 1967, 1969] formularam o mecanismo desta reação. Neste sistema, ésteres fenólicos do ácido oxálico, contendo substituintes atraentes de elétrons, reagem com

peróxido de hidrogênio; catalisado por base, em presença de substâncias com baixos potenciais de oxidação e altos rendimentos de fluorescência (Esquema 11).

Esquema 11: Reagentes e produtos do sistema peróxi-oxalato.

O principal motivo para que o sistema peróxi-oxalato venha sendo estudado desde a década de 60, é o seu alto rendimento quântico de quimiluminescência e o fato dele ser usado em uma grande variedade de aplicações analíticas. Por outro lado, o mecanismo desta reação complexa não foi ainda muito bem estabelecido, especialmente no que diz respeito ao chamado “passo de excitação”, ou seja, o passo elementar da reação no qual a “energia química” é transformada em energia de excitação eletrônica. No caso do sistema peróxi-oxalato, a sequência completa de reação deve levar a um, ou vários, intermediários com alto conteúdo energético - os chamados intermediários reativos - e a reação deste(s) intermediário(s), provavelmente com o envolvimento do ativador, libera em um único passo energia suficiente para a formação do ACT no seu estado excitado singlete. A estrutura do(s) intermediário(s) reativo(s) e o mecanismo do passo de excitação ainda não foram esclarecidos como mostra a breve revisão da literatura a seguir.

A cinética da reação pode ser seguida através da observação de emissão de luz ou absorção devida ao 2,4,6-triclorofenol liberado (Figura 1). Porém estudos cinéticos convencionais da etapa de excitação não podem ser feitos, uma vez que as etapas anteriores à produção do IAE, sendo bem mais lentas, são, conseqüentemente, as únicas observadas cineticamente.

Figura 1: Curvas cinéticas típicas em experimentos de emissão (A) e absorção (B) de luz, para um sistema como o descrito no Esquema 11 [Stevani *et al.*, 1996a]. A - [TCPO] = 0,10 mM, [H₂O₂] = 10 mM, [imidazol] = 1,0 mM, [DPA] = 1,0 mM, B - ídem, porém sem DPA.

RAUHUT [1969] foi o primeiro autor a verificar a dependência das constantes de formação ($k_{\text{obs}2}$) e de decaimento ($k_{\text{obs}1}$), com a [H₂O₂] e [base], respectivamente. Também, foi o primeiro a sugerir a ocorrência de um intermediário meta-estável volátil como IAE, a 1,2-dioxetanodiona (I), formulando um mecanismo que

envolvia a formação de um complexo de transferência de carga entre o IAE e o ACT, baseado na observação de que, quanto menor o E_{ox} ou, quanto menor a energia singlete do ACT, maior o Φ_{CL} .

CATHERALL *et al.* [1984] estudando a reação de bis(pentaclorofenil)oxalato (PCPO) com H₂O₂, catalisada por salicilato, em presença de DPA, (i) verificaram que a adição retardada do ACT à reação não modificava a cinética normal, onde o ACT era adicionado previamente, (ii) não propuseram a 1,2-dioxetanodiona como IAE, mas sim, intermediários do tipo (IV), pois não verificaram a ocorrência de um IAE volátil, nem meta-estável, (iii) não observaram quimiluminescência, utilizando anisol como ACT ($E_s = 426 \text{ kJ mol}^{-1}$, $\Phi_F = 0,29$), o que concorda razoavelmente bem com um trabalho anterior de LECHTKEN & TURRO [1974], onde foi verificado que o sistema peróxi-oxalato pode gerar estados eletronicamente excitados cuja energia singlete do ACT seja em torno de 439 kJ mol^{-1} , (iv) determinaram um valor relativo para a constante de

transferência de elétron, utilizando DPA (Discussão, seção 6.3), (v) não verificaram correlação entre Φ_{CL} e a E_s do ACT, (vi) observaram correlação linear entre Φ_{CL} e o $E_{1/2}^{ox}$ (energia potencial de oxidação de meia-onda) do ACT (PPO, DBA, POPOP, antraceno e DPA).

ALVAREZ *et al.* [1986], estudando a reação de TCPO com H_2O_2 , catalisada por trietilamina, em presença de DPA, observaram um comportamento aparentemente oscilatório, reminescente de um sistema cinético não-linear. Os mesmos formularam um mecanismo consistente com os resultados, no qual dois IAE, gerados em série, produzem luz (Esquema 12). As curvas cinéticas experimentais foram ajustadas através de um modelo cinético com a ajuda de um computador, onde há o envolvimento de, no mínimo, dois IAE (X e Y) interligados com um outro intermediário não-quimiluminescente (Z). Os autores ainda propuseram que X seria um intermediário do tipo II ou $ArOC(OH)(OOH)C(O)OAr$, Y seria um intermediários do tipo I ou IV e que Z seria um intermediário do tipo III.

Esquema 12: Esquema mecanístico proposto por ALVAREZ *et al.* [1986] para a quimiluminescência do sistema peróxi-oxalato.

Já ORLOVIC *et al.* [1989] afirmaram que somente era possível obter uma cinética simplificada para o sistema, quando se utilizava quantidade substancial de água (acetonitrila 75%, água 25%), propondo intermediários do tipo IV como IAE. Os autores atribuíram erroneamente a constante de velocidade de formação (r) como sendo devida à soma de dois processos r_1 e r_2 (caso r_3 e f_2 sejam muito rápidos), que significam o ataque do H_2O_2 e imidazol ao TCPO, respectivamente. Além disso, os autores erraram na atribuição da constante de decaimento (f), pois, segundo os mesmos, deve-se à somatória dos processos f_1 e l , respectivamente, à decomposição não-quimiluminescente e à

transformação do perácido no intermediário de alta energia (Esquema 13). Pois, como mostra um trabalho posterior de STEVANI *et al.* [1996a], a constante de formação é relacionada com o ataque nucleofílico do H_2O_2 à carbonila do 1,1'-oxalildi-imidazol (**ODI**) formado pelo ataque do imidazol ao TCPO, processo este que, por sua vez, é correlacionado com a constante de decaimento (Esquema 14). Ainda mais, no mesmo trabalho, é também mostrado que para $[\text{H}_2\text{O}_2] < 20 \text{ mM}$ o ataque direto do peróxido de hidrogênio à carbonila do TCPO (r_1) é desprezível.

Esquema 13: Esquema mecanístico proposto por ORLOVIC *et al.* [1989] para a quimiluminescência do sistema peróxi-oxalato.

O trabalho de CHOKSHI *et al.* [1990] é uma exceção dentre os trabalhos cinéticos, pois é o primeiro que se preocupou em obter evidências mais diretas sobre a estrutura do IAE envolvido. Utilizando a reação de bis(2,6-difluorofenil)oxalato (**DFPO**) com H_2O_2 , em acetonitrila:água (3:1), monitorada por RMN ^{19}F , os autores encontraram um sinal diferente do próprio DFPO, ou do fenol advindo da reação, que diminuía de intensidade em presença de dansilfenilalanina. Tal sinal foi atribuído como sendo devido ao IAE que, para os autores, seria um intermediário do tipo **II**.

Em um trabalho recente HOHMAN *et al.* [1996] obtiveram derivados do intermediário **II** protegidos por grupos silil, 2,6-difluorofenil O,O-tri-isopropilsilil monoperoxalato (**A**) e 2,6-difluorofenil O,O-tri-isobutilsilil monoperoxalato (**B**). Tentativas de purificação dos compostos **A** e **B** não obtiveram êxito, devido à labilidade dos mesmos. Apesar disso, foram feitos alguns experimentos cinéticos, utilizando fluoreto de tetrabutylamônio como agente desprotetor e em presença de

DPA, que demonstraram haver emissão de luz após a desproteção, apesar da má reprodutibilidade das curvas de decaimento. Hohman *et al.* especulam que após a liberação do percarboxilato ocorre rápida interação deste com o ACT, ou seja, o percarboxilato é o IAE, entretanto, nenhum experimento mais minucioso {p.e. a influência da [ACT] na constante de decaimento} foi feito até o presente momento.

Uma das bases mais utilizadas nos estudos cinéticos sobre o sistema peróxi-oxalato é o imidazol (**IMI-H**). Dentre os motivos pelos quais ele é tão utilizado destacam-se sua solubilidade (imidazol é solúvel tanto em água, quanto em diversos solventes orgânicos), o fato de poder agir como base e como catalisador nucleofílico e, principalmente, a reprodutibilidade dos experimentos cinéticos onde o imidazol é utilizado.[†] Dos estudos cinéticos feitos até agora, utilizando IMI-H, foram extraídas várias informações cinéticas referentes às etapas anteriores à formação do IAE:

- Através da relação k_{obs1} vs. [IMI-H], foi observada uma dependência de segunda ordem com a concentração de imidazol, do tipo $k_{\text{obs1}} = k [\text{IMI-H}]^2$ [NEUVONEN, 1995, HADD & BIRKS, 1996, STEVANI *et al.*, 1996a]. Tal comportamento deve-se à ocorrência de uma catálise básica geral do imidazol sobre o ataque nucleofílico do imidazol à carbonila do éster oxálico, o chamado “ataque nucleofílico de imidazol catalisado pelo próprio imidazol” [KIRSCH & JENCKS, 1964]. Utilizando imidazol como catalisador ocorre a substituição dos dois grupos fenólicos do éster, levando à formação do ODI, seguida da reação do ODI com H_2O_2 [NEUVONEN, 1995, HADD & BIRKS, 1996, STEVANI *et al.*, 1996a];
- Com a variação da $[\text{H}_2\text{O}_2]$, mantendo a concentração dos demais reagentes constante, foi observado que k_{obs1} (Figura 1, pg. 16) não dependia da $[\text{H}_2\text{O}_2]$, pelo menos até uma certa

concentração, e que a relação $k_{\text{obs}2}$ vs. $[\text{H}_2\text{O}_2]$ era linear. Tais resultados mostram que a constante de velocidade de formação ($k_{\text{obs}2}$) é relacionada com o ataque do H_2O_2 ao ODI [STEVANI *et al.*, 1996a];

Em todos os trabalhos cinéticos acerca do sistema peróxi-oxalato não se observou variação das constantes de velocidade com a variação da $[\text{ACT}]$, pois as etapas anteriores, como já foi dito, são lentas, quando comparadas com a etapa onde ocorre a interação do ACT com o IAE. Mediante tais resultados pode-se formular um esquema cinético simplificado (Esquema 14).

Como já foi dito, nos trabalhos iniciais de investigação do sistema, **I** foi postulado como intermediário meta-estável, o qual excita o ACT com o envolvimento de um complexo de transferência de carga [RAUHUT, 1969]. Entretanto, outros autores falharam em detectar a ocorrência de um intermediário meta-estável nesta reação [WHITE *et al.*, 1973]. Tais resultados confirmam a extrema sensibilidade do IAE, eventualmente **I**, a traços de impurezas presentes no sistema.

Através de uma análise minuciosa dos trabalhos até agora feitos, pode-se concluir que o mecanismo do passo de excitação, bem como a estrutura do intermediário de alta energia, ainda não foram esclarecidos. Os estudos por nós feitos até agora, como será demonstrado neste trabalho, tendem a apontar a 1,2-dioxetanodiona (**I**) como sendo o IAE, embora vários pesquisadores duvidem da existência desta molécula.[‡]

[†] É interessante notar que o sítio ativo de diversas enzimas hidrolíticas e da luciferina possuem imidazol na forma de histidina, embora não haja nenhuma razão direta para a utilização de imidazol no sistema peróxi-oxalato.

[‡] Segundo HASTINGS & WILSON [1976], “Na reação de ésteres oxálicos, o intermediário místico 1,2-dioxetanodiona permanece sedutor e evasivo. A comunidade quimiluminescente deveria oferecer uma recompensa pela sua captura”.

A primeira aplicação prática do sistema peróxi-oxalato foi na produção de “light sticks”, que são bastões de plástico contendo os reagentes necessários para a reação quimiluminescente, otimizados quanto aos reagentes, quantidade e solvente. Ao quebrar-se um tubo no interior do bastão, provavelmente contendo H_2O_2 e uma base, a reação inicia-se, podendo emitir luz por até 48h. Com certeza esta foi a primeira aplicação, pois o sistema foi descoberto por M.M. Rauhut, funcionário da American Cyanamid Co., empresa que produz até hoje os “light sticks”. Rauhut também produziu “cápsulas de aviso contra a infiltração de tropas” para a marinha americana [GUNDERMANN, 1987]. Tais cápsulas foram desenvolvidas contendo um éster oxálico, um ACT e uma fonte de peróxido de hidrogênio, no caso um derivado da antra-hidroquinona, que, em contato com o ar produzia H_2O_2 .

De maneira geral, o sistema peróxi-oxalato é útil na análise quantitativa de H_2O_2 , ou reações que o produzam, de compostos aromáticos fluorescentes com baixos potenciais de oxidação e de compostos que possam suprimir a emissão de luz. Uma vez que o sistema peróxi-oxalato emite luz,

em presença de concentrações muito baixas de H_2O_2 (limite de detecção de 70 nM), ele pode ser usado como método analítico quantitativo para diversas reações que liberem H_2O_2 . Dessa forma, pode-se, por exemplo, medir a concentração de glicose pela reação com glicose oxidase, que produz H_2O_2 [Campbell, 1988].

Uma outra utilidade analítica, detecção de compostos aromáticos fluorescentes com baixos potenciais de oxidação, é feita acoplada com HPLC, através da técnica denominada “pos-column detection”, que possibilita detecção de até 1 fmol, para certos compostos. Através desta técnica, é possível quantificarem-se diversos compostos aromáticos fluorescentes diretamente ou, outras substâncias, após uma reação de derivatização. Um reagente derivatizante bem interessante é o naftaleno-2,3-dialdeído/cianeto (**NDA/CN**) [GIVENS *et al.*, 1990], utilizado na quantificação de aminoácidos e peptídeos. Através da derivatização, o composto **A** passa a atuar como o ACT, que, em presença dos demais reagentes necessários emite luz.

4. Objetivos

Fenômenos quimiluminescentes são relatados desde a antigüidade, na maioria das vezes relacionados com a observação de seres vivos terrestres e marinhos, ou seja, mais especificamente, bioluminescência. Entretanto, somente nas últimas três décadas, começou a ser possível um estudo mais elaborado do mecanismo pelo qual certos sistemas químicos liberam luz. Tal avanço foi fortemente impulsionado pela proposição e síntese de uma classe de compostos envolvidos em grande parte das reações quimiluminescentes, os 1,2-dioxetanos. Desde a síntese do primeiro dioxetano até hoje, muito foi esclarecido com respeito à etapa de quimi-excitação, entretanto, apesar dos dioxetanos serem compostos muito úteis na elucidação de uma boa parte das etapas envolvidas no processo de emissão de luz, eles apresentam baixos rendimentos quânticos de quimiluminescência (Φ_{CL}), devido à formação principal de estados excitados triplete.

Entretanto, existem certos peróxidos que exibem um comportamento diferente. Estes peróxidos, na presença de compostos poli-aromáticos, com baixos potenciais de oxidação e altos rendimentos quânticos de fluorescência (ACT), formam principalmente estados excitados singlete, aumentando assim o Φ_{CL} do processo. Este mecanismo de geração de estados singlete, catalisado pelos ACTs, é denominado “Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence” (CIEEL). O mecanismo CIEEL é utilizado como modelo em diversos sistemas quimiluminescentes e bioluminescentes, com altos Φ_{CL} , para explicar a formação de estados excitados. Porém, houve uma certa dúvida quanto a sua validade, quando foi verificado que o sistema-chave utilizado na sua formulação, difenoil-peróxido, apresentava baixo Φ_{CL} .

Dentre os sistemas quimiluminescentes estudados, o sistema peróxi-oxalato permanece como o único sistema, com comprovado alto Φ_{CL} , que possivelmente segue a seqüência mecanística CIEEL. Entre as aplicações deste sistema destacam-se a produção de sinalizadores luminosos sem calor “light sticks” e a quantificação de compostos fluorescentes por HPLC. Vários trabalhos são publicados todos os anos com respeito às tentativas de elucidação do mecanismo ou comprovação da estrutura do intermediário de alta energia envolvido na etapa de excitação do ativador. Porém, como a maioria destes estudos são sobre a cinética do sistema, obtêm-se somente evidências indiretas à respeito do mecanismo de quimi-excitação, pois as etapas anteriores a este passo são sempre bem mais lentas e, conseqüentemente, as únicas observadas.

Este trabalho tem como objetivos, contribuir para o esclarecimento do mecanismo das reações envolvidas no sistema peróxi-oxalato, através da síntese de intermediários de alta energia postulados, ou derivados protegidos destes. Uma vez sintetizados e caracterizados, os intermediários

de alta energia, serão feitos estudos cinéticos e de quantificação da luz emitida, visando a elucidação do mecanismo envolvido nas etapas possíveis de se observar cineticamente, ou seja, que ocorrem anteriormente à etapa de excitação. Tentaremos também, obter informações sobre a etapa de excitação, através da observação direta da interação entre o ativador e o intermediário de alta energia, ou indiretamente, através da medida do rendimento quântico de quimiluminescência em presença de vários ativadores com diferentes potenciais de oxidação.

Finalmente, através dos resultados obtidos, será verificado o mecanismo CIEEL de maneira mais detalhada, propondo, eventualmente, modificações ou, até mesmo, um novo mecanismo que explique os altos rendimentos quânticos observados.

Dentre os intermediários de alta energia que acreditamos ser os mais prováveis encontram-se a 1,2-dioxetanodiona (I), derivados do perácido II e/ou derivados da dioxetanona IV.

Como primeiro passo, referente à caracterização do intermediário de alta energia, pretendemos obter um derivado do intermediário II, protegido, ou não, por um grupo silil e obter indicações sobre a existência de um intermediário de alta energia meta-estável e volátil, a 1,2-dioxetanodiona (I). Quanto à etapa de quimi-excitação, estudaremos o rendimento quântico dos intermediários de alta energia obtidos, em presença de vários ativadores com diferentes potenciais de oxidação, verificando o envolvimento da transferência de elétron de maneira mais precisa.

5. Resultados

5.1 Preparação de Intermediários do Tipo II

5.1.1 Tentativas de Obtenção de Intermediários do Tipo II Protegidos

Inicialmente julgava-se que intermediários do tipo II seriam muito instáveis para serem sintetizados, dessa forma, tentou-se obter derivados do intermediário II protegidos com silício, o que conferiria maior estabilidade ao composto. Teoricamente, estes derivados protegidos apresentariam o mesmo comportamento que o intermediário II, quando em presença de um ACT, devido a baixa diferença de eletronegatividade entre o silício e o hidrogênio, servindo, desta forma, como ótimos compostos modelo. Vale a pena lembrar que, no mecanismo de formação de estados excitados proposto para o sistema peróxi-oxalato (CIEEL), ocorre uma transferência de elétron. Caso o intermediário II protegido não emitisse luz em presença de um ACT adequado, poder-se-ia desprotegê-lo facilmente, utilizando fluoreto, resultando no percarboxilato correspondente.

Intermediário do Tipo II Protegido

Tentou-se, primeiramente, sintetizar o etil O,O-trimetilsilil monoperoxalato ($\text{R}_1 = \text{etil}$, $\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{metil}$),[§] através da reação de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ [BRANDES & BLASCHETTE, 1973] com monocloreto de oxalila etil éster, entretanto, após diversas tentativas, utilizando dezenas de condições experimentais, durante um período de 1 ano, verificou-se a impossibilidade de se obter o composto. Tendo em vista o insucesso na obtenção do composto inicial, optou-se pela substituição do $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ por hidroperóxidos de silício do tipo $\text{R}_2\text{R}_3\text{R}_4\text{SiOOH}$ (p.e. $\text{R}_2 = t\text{-butil}$, $\text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{fenil}$) que são bem mais solúveis em solventes orgânicos. Como o trimetilsilil hidroperóxido é instável termicamente, decidiu-se mudar o grupo silil, tentando, assim, obter o *t*-butildifenilsilil hidroperóxido e o trifenilsilil hidroperóxido, através do procedimento descrito por DANNLEY & JALICS [1965]. Entretanto, não se conseguiu obter nenhum deles puro e em quantidade suficiente. Uma vez que a obtenção dos derivados sililados do intermediário do tipo II não teve o sucesso esperado, foi tentada a síntese do intermediário do tipo II sem proteção.

[§] Caso desse certo a síntese do composto com o grupo etil (mais estável) seria feito outro derivado com o grupo *p*-clorofenil.

5.1.2 Preparação do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)

A reação de monocloreto de oxalila 4-clorofenil éster [4-clorofenil (cloroformil)formato] com peróxido de hidrogênio em presença de piridina, a $-15\text{ }^\circ\text{C}$, produz um peróxido relativamente estável [$R_f = 0,55$, SiO_2 em CH_2Cl_2 /hexano/acetonitrila (15:3:2), a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, revelado com KI], que foi identificado como 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperoxalato (1) [STEVANI *et al.*, 1996b]. Após o isolamento, um sólido branco foi obtido (pf *ca.* $0\text{ }^\circ\text{C}$). Este produto ainda continha uma quantidade considerável de 4-clorofenil hidrogênio oxalato (2) e 4-clorofenol (3) ($R_f = 0,12$ e $0,85$, respectivamente, nas mesmas condições acima, porém revelado com uma solução de alaranjado de metila), como impurezas. Tentativas de purificar o produto por cromatografia relâmpago em coluna, utilizando sílica, alumina e Florisil, com várias misturas de CH_2Cl_2 /hexano, a $-40\text{ }^\circ\text{C}$, resultaram na completa decomposição do peróxido. Tal fato não é surpreendente, pois, BARTLETT & PINCOCK [1960] também observaram a alta susceptibilidade à decomposição de alquil peroxalatos, quando submetidos a purificação em cromatografia em coluna.

O 4-clorofenil hidrogênio oxalato (2) foi sintetizado como um composto de referência, de maneira análoga, substituindo peróxido de hidrogênio por água, sendo obtido suficientemente puro ($>95\%$), como mostrou uma análise quantitativa de RMN ^{13}C {método INVGATE [Shoolery, 1977]}.

5.1.3 Caracterização do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)

Foram feitos dois espectros de infravermelho do perácido 1 (seção 10.2): o primeiro feito em filme entre duas placas de KBr e o segundo em CCl_4 , utilizando uma cela de IRTRAN-2. O espectro feito em filme mostrou uma banda em 1458 cm^{-1} , que pode corresponder a uma deformação angular O-H no perácido [GIGUÈRE & OLMOS, 1952; SWERN *et al.* 1955], uma banda de carbonila em 1765 cm^{-1} e uma banda em 3567 cm^{-1} , decorrente de um estiramento O-H livre, provavelmente do ácido 4-clorofenil hidrogênio oxalato (2). No espectro feito em solução puderam ser observadas duas carbonilas, uma em 1753 cm^{-1} e outra em 1768 cm^{-1} , uma banda provavelmente decorrente da decomposição de 1, a qual constatou-se ser CO_2 , em 2336 cm^{-1} e uma banda ao redor de 3600 cm^{-1} , a qual supõe-se ser devida a um estiramento O-H livre, devido também a 2.

Por espectrometria de massa/injeção direta (MS/ID) observou-se o aparecimento do pico de massa de **2** (m/z 200/202, M^+), que obedece a abundância natural do ^{35}Cl e do ^{37}Cl (3:1, respectivamente), e um pico com baixa intensidade, também obedecendo a abundância natural do cloro, que corresponde a massa molecular de **1**, com m/z 216/218 (seção 10.2).

Tabela 1: Invgate RMN ^{13}C dados e atribuições para **1** e **2**. Deslocamento em ppm relativo ao TMS e integral relativa entre parênteses, $-10\text{ }^\circ\text{C}$, acetona- d_6 , 50 MHz, **1**: X = -OOH; **2**: X = -OH.

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
1	154,6 (0,90)	156,3 (0,67)	149,3 (1,00)	123,8 (2,03)	130,4 (2,17)	132,4 (1,12)
2	158,5 (1,02)	157,8 (0,91)	149,6 (1,00)	123,9 (1,88)	130,3 (1,95)	132,1 (1,17)

Entretanto, os dados mais satisfatórios para a identificação de **1** vieram dos experimentos feitos com RMN ^{13}C . A análise espectroscópica de uma amostra contendo **1**, feita a $-10\text{ }^\circ\text{C}$, em acetona- d_6 , por RMN ^{13}C Inverse-Gated Decoupling (INVGATE) [STEVANI *et al.*, 1996b], que permite a integração dos picos, mostrou a presença de três produtos (seção 10.2). Dois deles puderam ser prontamente identificados como **2** e 4-clorofenol (**3**), pela comparação com os espectros das amostras autênticas (seção 10.2). Os picos restantes podem ser atribuídos a **1** (Tabela 1) pelas seguintes razões:

- Na região das carboxilas de ácidos e ésteres, quatro picos foram observados, dois deles correspondendo a **2** (158,5 e 157,8 ppm). Os outros dois sinais (156,3 e 154,6 ppm) devem corresponder ao grupo éster e ao grupo percarboxílico do perácido **1**, atribuídos primariamente por exclusão. Entretanto, estas atribuições concordam muito bem com o fato de que, em acetona- d_6 , o grupo percarboxílico do ácido *m*-cloroperbenzóico (MCPBA) apresenta um sinal 2,0 ppm deslocado para campo alto, em comparação com o sinal do grupo carboxílico do ácido correspondente, *m*-clorobenzóico (MCBA). Certamente um efeito de solvente está envolvido, pois, em CDCl_3 , o grupo percarboxílico do MCPBA aparece 2,9 ppm deslocado para campo

baixo em comparação com o grupo carboxílico do MCBA [SADTLER, 1980] (dados não mostrados).

- A adição de KI, que reduz peróxidos, causa o completo desaparecimento dos sinais atribuídos ao perácido **1**, enquanto os picos de **2** e **3** permanecem inalterados (seção 10.2). Além disso, a adição de imidazol, que catalisa a decomposição de **1**, também leva ao completo desaparecimento dos sinais supostamente atribuídos ao perácido **1**, com uma concomitante redução na intensidade dos picos referentes a **2** e um aumento na intensidade dos picos referentes a **3** (dados não mostrados).

- Na região de carbonos aromáticos foram observados pares de picos separados de 0,1 a 0,3 ppm, facilmente diferenciados dos picos referentes ao fenol livre **3**. A atribuição dos picos do ácido e do perácido foi feita mediante a comparação com o espectro autêntico de **2**, pela intensidade relativa das integrais e pelo desaparecimento dos picos com a adição de KI.

Os espectros de RMN ^{13}C INVGATE, juntamente com as demais análises já descritas acima (infravermelho, TLC, espectroscopia de massa) permitem, finalmente, afirmar-se que o produto peroxídico sintetizado é o perácido **1**.

5.2 Experimentos Cinéticos de **1** com Diferentes Bases

O resultado mais importante deste trabalho é o fato de que a reação de **1** com um ACT não leva à emissão de luz, somente ocorrendo emissão na presença de bases adequadas. Uma solução 0,50 mM de **1**, na presença de 1,0 mM de DPA, em éter etílico, foi inserida dentro de um contador de fótons, observando-se emissão insignificante quando comparada com a emissão da mesma solução, porém contendo 1,0 mM de imidazol (houve um acréscimo de **6 ordens de grandeza da intensidade de luz**).

Como somente há emissão de luz em presença de bases, decidiu-se fazer um estudo cinético da reação de **1** com diferentes tipos de bases, tais como, bases oxigenadas [*t*-butóxido de potássio (**TB**) e *p*-clorofenolato de potássio (**CP**)] e bases nitrogenadas [imidazol (**IMI-H**) e 1,8-bis(dimetilamino)naftaleno (**BDN**)], em presença de DPA.

5.2.1 Bases Oxigenadas

Em presença de KOH, TB ou CP e DPA, em THF, é obtida a emissão de luz correspondente a fluorescência do DPA. Curvas típicas podem ser vistas na Figura 2. É necessário comentar primeiramente, que em presença de KOH também há emissão de luz, porém a reação é muito rápida e a solubilidade do KOH no solvente utilizado é baixa, decidindo-se assim pela não utilização desta

base em experimentos quantitativos. Para uma [TB] entre 1,0 e 2,0 mM, obteve-se uma curva de decaimento com baixa intensidade, que apresentava uma constante de decaimento de $k_{\text{obs}} = 0,020 \pm 0,003 \text{ s}^{-1}$, independente da [TB] - levando em conta o erro experimental nesta faixa de concentração. Entretanto, para [TB] entre 2,0 e 3,0 mM, ocorre uma grande aceleração da reação, acompanhada por um aumento na intensidade de emissão. Nestas condições, a constante de decaimento é $k_{\text{obs}} = 0,43 \pm 0,05 \text{ s}^{-1}$, também independente da [TB]. Usando [TB] > 3,0 mM, a cinética é muito rápida para determinar-se as constantes nas condições experimentais utilizadas. Um comportamento similar foi obtido utilizando CP como base catalisadora; para uma [CP] entre 0,10 e 0,90 mM, foram obtidas curvas que indicam cinéticas lentas com constantes de decaimento de $k_{\text{obs}} = 0,028 \pm 0,0004 \text{ s}^{-1}$, independentes da [CP]. Para uma [CP] entre 1,0 e 2,0 mM, observa-se uma aceleração da reação de dez vezes ($k_{\text{obs}} = 0,25 \pm 0,01 \text{ s}^{-1}$).

Figura 2: Decomposição quimiluminescente de **1** (0,50 mM), catalisada por *tert*-butóxido e *p*-clorofenolato, em presença de DPA (1,0 mM), em THF. I - [TB] = 1,2 mM, II - [TB] = 2,9 mM, III - [CP] = 0,70 mM, IV - [CP] = 1,0 mM.

O limiar da concentração de base, onde cinéticas mais rápidas são observadas, dependem, em ambos os casos, da solução estoque do perácido utilizada. Este fato indica que o comportamento apresentado acima pode ser devido a pequenas quantidades de água presentes na solução estoque, as quais não podem ser removidas completamente sem destruir **1**. Na verdade, a adição de água ao sistema aumenta a concentração de base necessária para a obtenção de uma cinética rápida, pois, tanto o TB quanto o CB reagem com água. Deve ser mencionado que, os resultados cinéticos

obtidos com estas bases mostram-se pouco reprodutíveis, portanto, devendo ser considerados apenas de maneira semi-quantitativa.

5.2.2 Bases Nitrogenadas

A reação de **1** com piridina ($pK_a = 5,25$), em presença de DPA, em acetato de etila, não leva à emissão de luz ou decomposição do perácido. Entretanto, com IMI-H ($pK_a = 6,95$) e BDN ($pK_a = 12,34$), são observadas emissões de luz intensas e decomposição de **1** (Figura 3 e Figura 4). Utilizando imidazol como base obteve-se curva cinética que obedece um decaimento mono-exponencial, do tipo $f(x) = a_1 \exp(-k_{obs}x)$, entretanto, no caso da utilização de BDN como base, obteve-se uma curva cinética que obedece uma relação exponencial, do tipo $f(x) = a_1 [\exp(-k_{obs1}x) - \exp(-k_{obs2}x)]$, podendo ser obtidas duas constantes, uma de formação (k_{obs2}) e uma de decaimento (k_{obs1}).

Figura 3: Decomposição quimiluminescente de **1** (0,50 mM), catalisada por IMI-H, em presença de DPA (1,0 mM) em acetato de etila. **Emissão:** **I** - [IMI-H] = 0,10 mM, **II** - [IMI-H] = 1,0 mM, **III** - [IMI-H] = 10 mM; **Absorção (292 nm):** **IV** - [IMI-H] = 1,0 mM.

Figura 4: Decomposição quimiluminescente de **1** (0,50 mM), catalisada por BDN, em presença de DPA (1,0 mM) em acetato de etila. **Emissão:** I - [BDN] = 0,10 mM, II - [BDN] = 0,50 mM, III - [BDN] = 1,0 mM.

5.2.2.1 Cinética de **1** com Imidazol (IMI-H)

Para baixas concentrações de IMI-H {[IMI-H] ≤ 20 mM}, foi observada uma dependência linear de k_{obs} com a [IMI-H] (Figura 5, inset) com uma constante bimolecular de $k_{\text{bim1}} = 0,96 \pm 0,02 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ($r = 0,99$). Em uma faixa de concentração de IMI-H alta {[IMI-H] = 100 - 200 mM}, foi observada uma dependência de segunda ordem na [IMI-H] (Figura 5), sendo os pontos ajustados com uma função do tipo: $k_{\text{obs}} = C + k_{\text{trim1}} [\text{IMI-H}]^2$, onde: $C = 0,040 \pm 0,005 \text{ s}^{-1}$ e $k_{\text{trim1}} = 1,6 \pm 0,2 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (constante trimolecular), $r = 0,999$.

A cinética da reação também foi acompanhada pela liberação de *p*-clorofenol, observada através da variação da absorção em 292 nm (Figura 3 e Tabela 2). Da dependência linear de k_{obs} , na faixa de concentração baixa (Figura 5, inset), obteve-se uma constante de velocidade bimolecular $k_{\text{bim2}} = 1,24 \pm 0,06 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ($r = 0,99$) em boa concordância com a constante obtida, nas mesmas condições experimentais, para o experimento de emissão (k_{bim1}). Na faixa de concentração alta {[IMI-H] > 100 mM}, não puderam ser obtidas constantes confiáveis através do experimento de absorção, pois a solução estoque de **1** contém o ácido **2**, cuja liberação de *p*-clorofenol também é observada para altas [IMI-H]. Medidas independentes confirmaram, entretanto, que **2** reage no mínimo 40 vezes mais lento do que **1** com IMI-H para [IMI-H] abaixo de 100 mM. Por isso, a

liberação de *p*-clorofenol observada em baixas concentrações de IMI-H deve-se exclusivamente a reação com o perácido.

Tabela 2: Resultados cinéticos e de Φ_{CL} obtidos da reação de 1 com IMI-H, em experimentos de emissão e absorção (292 nm).^a

	[IMI-H] (mM)	$k_{obs} \times 10^3 (s^{-1})$ EMISSÃO	$\Phi_{CL} \times 10^4$ (E mol ⁻¹)	$k_{obs} \times 10^3 (s^{-1})$ ABSORÇÃO
1	0,10	0,34 ± 0,2	46 ± 7	0,18 ± 0,04
2	0,40	0,53 ± 0,1	51 ± 2	-
3	0,50	-	-	0,63 ± 0,01
4	0,60	0,72 ± 0,1	41 ± 7	-
5	0,80	0,88 ± 0,1	38 ± 7	-
6	1,0	1,1 ± 0,3	35 ± 3	3,5 ± 0,1
7	2,0	2,1 ± 0,2	20 ± 1	-
8	4,0	3,9 ± 0,2	11 ± 0,6	-
9	4,6	-	-	7,6 ± 0,4
10	6,0	5,7 ± 0,2	7,8 ± 0,1	-
11	8,0	7,6 ± 0,7	6,2 ± 0,02	10,0 ± 0,2
12	10	10 ± 1	5,1 ± 0,1	-
13	11	-	-	14,6 ± 0,3
14	13	-	-	19,0 ± 0,3
15	20	16 ± 1	3,1 ± 0,1	25 ± 2
16	30	25 ± 5	2,3 ± 0,06	27 ± 2
17	40	30 ± 5	1,7 ± 0,05	30,9 ± 0,2
18	50	37 ± 6	1,3 ± 0,08	36,2 ± 0,3
19	60	41 ± 4	1,2 ± 0,02	41,1 ± 0,4
20	70	47 ± 6	1,0 ± 0,03	-
21	80	50 ± 2	0,91 ± 0,05	53 ± 1
22	100	59 ± 1	0,80 ± 0,03	51 ± 1
23	125	72 ± 3	0,70 ± 0,04	-
24	150	83 ± 2	0,52 ± 0,01	-
25	175	98 ± 4	0,56 ± 0,06	-
26	200	115 ± 2	0,50 ± 0,08	-
27	250	155 ± 9	0,38 ± 0,03	-

^a [1] = 0,50 mM, [DPA] = 1,0 mM, em acetato de etila, 25 °C.

Figura 5: Dependência da constante de velocidade observada (k_{obs}) com $[\text{IMI-H}]$ para experimento de emissão. **Inset:** dependência linear em experimento de emissão (I) e absorção (II). $[1] = 0,50$ mM, $[\text{DPA}] = 1,0$ mM, em acetato de etila.

Foram feitos alguns experimentos para verificar como a variação da $[1]$ influia no Φ_{CL} . Para tal foi variada a $[1]$ 100 vezes, utilizando concentração fixa de $[\text{IMI-H}] = 1,0$ mM, em primeira instância, e mantendo a relação entre a $[1]$ e a $[\text{IMI-H}]$ constante. Como pode ser visto na Tabela 3, aumentando-se a $[1]$, com a $[\text{IMI-H}]$ constante (linhas 1-3), Φ_{CL} e k_{obs} diminuem. Já no experimento onde manteve-se a relação entre a $[1]$ e a $[\text{IMI-H}]$ constante (linhas 4-6), Φ_{CL} diminui e k_{obs} aumenta.

Tabela 3: Influência da variação da $[1]$ no Φ_{CL} .^a

	$[1]$ (mM)	$[\text{IMI-H}]$ (mM)	$k_{\text{obs}} \times 10^3$ (s^{-1})	$\Phi_{\text{CL}} \times 10^3$ (E mol^{-1})	Relação Entre os Valores de Φ_{CL}
1	0,050	1,0	1,65	7,1	2,21
2	0,50	1,0	1,15	3,2	1,00
3	5,0	1,0	0,57	0,52	0,16
4	0,050	0,10	0,33	9,6	2,99
5	0,50	1,0	1,15	3,2	1,00
6	5,0	10	3,33	0,25	0,08

^a $[\text{DPA}] = 1,0$ mM, em acetato de etila.

5.2.2.2 Cinética de 1 com 1,8-Bis(dimetilamino)naftaleno (BDN)

Duas constantes são obtidas dos experimentos cinéticos utilizando BDN como base, uma de formação (k_{obs2}) e uma de decaimento (k_{obs1}) - como já foi dito na seção 5.2.2. Ambas constantes mostram pequena variação para uma [BDN] até 1 mM, entretanto, em concentrações de BDN mais elevadas observa-se uma dependência linear (Tabela 4, Figura 6). Da região linear das curvas k_{obs1} vs. [BDN] e k_{obs2} vs. [BDN] foram obtidas as constantes bimoleculares $k_{\text{bim3}} = 37 \pm 1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ($r = 0,99$) e $k_{\text{bim4}} = 140 \pm 20 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ($r = 0,98$), respectivamente. A pequena variação das constantes de velocidade em concentrações de BDN menores do que 1 mM, supostamente devem-se a presença de água na solução estoque de 1 (seção 6.2). Em concordância com esta interpretação, a adição de água ao sistema faz com que a faixa de [BDN], onde não ocorre mudança nas constantes de velocidade, aumente proporcionalmente com a quantidade de água adicionada.

Figura 6: Dependência da constante de decaimento (k_{obs1}) e de formação (k_{obs2} , **inset**) em função da [BDN] em experimento de emissão. [1] = 1,3 mM, [DPA] = 1,0 mM, em acetato de etila, 25 °C.

Deve-se esclarecer brevemente a diminuição do rendimento quântico de quimiluminescência com o aumento da [IMI-H] e [BDN] (Tabela 2 e Tabela 4). Como é mostrado no caso do BDN como base, a diminuição do rendimento quântico é muito menos pronunciada em concentrações altas de DPA (Tabela 4, compare linha 2 vs. 10 com linha 2a vs. 10a). Resultados similares foram obtidos utilizando IMI-H como base (dados não mostrados) e, também, observados em estudos anteriores com o sistema peróxi-oxalato [STEVANI *et al.*, 1996a]. Estes fatos indicam uma interação entre as

bases usadas e o intermediário de alta energia, em concorrência com a interação dele com DPA, que leva à formação de estados excitados.

Finalmente, é importante enfatizar que, todas as constantes de velocidade obtidas, com as diferentes bases, são completamente independentes da [DPA] em qualquer condição experimental utilizada.

Tabela 4: Dependência da constante de decaimento (k_{obs1}) e de formação (k_{obs2}) com a concentração de BDN em experimento de emissão.^a

	[BDN] (mM)	$k_{\text{obs1}} \times 10^3$ (s ⁻¹)	$k_{\text{obs2}} \times 10^2$ (s ⁻¹)	t_{max} (s)	$I_{\text{max}} \times 10^{-3}$ (counts)	$\Phi_{\text{CL}} \times 10^5$ (E mol ⁻¹)
1	0,10	0,40 ± 0,03	1,2 ± 0,2	283	109	212
2	0,20	0,57 ± 0,03	1,6 ± 0,8	320	147	213
2a ^b	0,20	0,55 ± 0,01	2,1 ± 0,2	300	219	277
3	0,30	1,2 ± 0,1	0,49 ± 0,06	428	123	117
4	0,40	1,4 ± 0,1	0,32 ± 0,01	479	93	83
5	0,50	1,2 ± 0,1	0,35 ± 0,02	483	79	76
6	0,60	1,9 ± 0,4	0,27 ± 0,02	463	38	35
7	0,70	4,0 ± 0,1	0,47 ± 0,02	165	12	5,0
8	0,80	5,0 ± 0,1	5,0 ± 0,1	51	8,9	1,49
9	0,90	8,1 ± 0,1	7,1 ± 0,1	34	7,3	0,81
10	1,0	12 ± 2	8,3 ± 0,1	30	6,1	0,53
10a ^b	1,0	15 ± 2	10 ± 1	25	52	33
11	1,5	27 ± 2	12 ± 1	16	3,9	0,15
12	2,0	48 ± 3	18 ± 1	10	2,9	0,068
13	2,5	54 ± 5	31 ± 1	9	0,24	0,043
14	3,0	83 ± 5	-	-	-	-
15	3,5	91 ± 5	-	-	-	-
16	4,0	113 ± 8	-	-	-	-
17	4,5	140 ± 9	-	-	-	-
18	5,0	165 ± 9	-	-	-	-

^a [1] = 1,3 mM, [DPA] = 1,0 mM, em acetato de etila, ^b [DPA] = 10 mM.

5.3 Medidas do Φ_{CL} com Vários Ativadores

Para a determinação dos rendimentos quânticos de quimiluminescência da reação de **1** com imidazol, na presença de diversos ACTs, foram feitas medidas da quantidade de luz emitida, em condições padrão {[IMI-H] = 1,0 mM, [1] = 0,40 - 2,25 mM}, em diversas [ACT]. A quantidade de

luz emitida para cada [ACT] foi determinada através da integral da curva cinética. Devido ao fato de que, fotomultiplicadoras e contadoras de fótons medem a quantidade de luz emitida em volts ou counts por segundo é preciso transformar estas unidades em **Einstein** (**E**, unidade SI de quantidade de luz emitida, correspondente a 1 mol de fótons). Para tal utilizou-se o padrão luminol [LEE *et al.*, 1965] (seção 8.6.1), embora existam outros métodos também amplamente usados (seção 3.2). O valor do fator de correção da fotomultiplicadora (f_{CF}), obtido através da calibração da fotomultiplicadora com o padrão luminol, pouco varia em semanas ou meses [em torno de $(2-3)10^{-18}$ E counts⁻¹], porém foi feita uma calibração preliminar antes de cada série de experimentos semanais. A quantidade de luz emitida (**Q**) também foi corrigida quanto a sensibilidade da fotomultiplicadora com o comprimento de onda (f_{SF}) e rendimento quântico de fluorescência do ACT utilizado. Finalmente, o valor do Φ_{CL} para cada [ACT] foi obtido, após as devidas calibrações e correções, através da expressão, onde **n** é o número de mols de 1 (Equação 2).

$$\Phi_{CL} = \frac{Q f_{CF} f_{SF}}{n \Phi_F}$$

Equação 2

Os resultados obtidos para cada ACT utilizado podem ser vistos nas tabelas presentes no anexo incluso (seção 10.1).

Tabela 5: Fator de correção da sensibilidade da fotomultiplicadora com o λ , f_{SF} , utilizados para o cálculo do Φ_{CL} dos ativadores.

ACT	f_{SF}	Φ_F^a
PPO	1,13	0,70
Antraceno	1,12	0,27
DPA	1,10	0,95
Perileno	1,21	0,87
Rubreno	2,87	0,98
DCNA	1,30	0,87
DMOA	1,11	0,41

^a rendimento quântico de fluorescência do ACT [MUROV *et al.*, 1993].

O rendimento quântico da reação de **1** com imidazol, para concentrações infinitas de ACT (Φ_{∞}), é obtido a partir do coeficiente linear de uma relação duplo recíproco do tipo $1/\Phi_{CL}$ vs. $1/[ACT]$ (Figura 7), utilizando os valores contidos nas tabelas do anexo (seção 10.1). Os valores das constantes relativas de transferência de elétron para cada ACT são obtidos do coeficiente angular da relação $1/\Phi_{CL}$ vs. $1/[ACT]$ (seção 6.3).

Figura 7: Gráfico duplo recíproco dos Φ_{CL} vs. $[ACT]$ utilizados (**PPO:** 2,5-difeniloxazol, **DCNA:** 9,10-dicianoantraceno, **DMOA:** 9,10-dimetóxi-antraceno). $[1] = 0,40 - 2,25$ mM, $[IMI-H] = 1,0$ mM.

É preciso mencionar que, nos experimentos de medida do Φ_{CL} utilizando-se DCNA, foi constatado que a cinética não é tão reprodutível como no caso dos outros ACTs utilizados. Julgando que a causa seria uma possível reação de **1**, ou outra substância presente no sistema, com o DCNA, causando a decomposição deste ACT, foi feito um experimento para se comprovar se havia mesmo diminuição da $[DCNA]$ (Figura 8). Entretanto, constatou-se que, como no caso dos demais ACTs utilizados, não ocorria tal reação, eliminando assim esta possibilidade. Uma outra causa possível pode ser a baixa solubilidade do DCNA em acetato de etila, pois, mesmo utilizando uma solução estoque de $[DCNA] = 1,0$ mM, deixada durante meia hora no sonicador, ainda podia-se notar uma pequena dispersão de luz pela solução.

Figura 8: Experimento para verificação de uma possível decomposição do 9,10-dicianoantraceno (DCNA), durante experimento de medida do Φ_{CL} . **A:** DCNA, **B:** DCNA e IMI-H, **C:** DCNA, IMI-H e **1**, **D:** mesmo que C, após 1 h e 15 min. $[DCNA] = 0,10$ mM, $[IMI-H] = 1,0$ mM, $[1] = 2,5$ mM.

5.3.1 Determinação do Potencial de Oxidação dos Ativadores

Os parâmetros quimiluminescentes determinados através do gráfico duplo recíproco $1/\Phi_{CL}$ vs. $1/[ACT]$ foram correlacionados com o potencial de oxidação (E_{ox}) e a energia singlete (E_s) dos ACTs (seção 6.3). Os potenciais foram obtidos por voltametria cíclica em acetonitrila, utilizando como eletrólito suporte $TEAClO_4$ (perclorato de tetraetilamônio), eletrodos de referência de $Ag/AgNO_3$ e eletrodo trabalho de Pt. Os valores dos potenciais foram convertidos para o eletrodo padrão de calomelano saturado (SCE), somando-se 0,30 V aos valores obtidos com o eletrodo de referência $Ag/AgNO_3$. Para se obter um valor de potencial voltamétrico independente da velocidade de varredura preferiu-se utilizar o potencial de oxidação voltamétrico de meio-pico ($E_{p/2^{ox}}$) (Tabela 7, pg. 52). Os ACTs rubreno, perileno e DPA demonstraram potenciais de oxidação reversíveis, enquanto que os demais, DMOA, antraceno, PPO e DCNA, irreversíveis.

5.4 Tentativa de Seqüestro do Intermediário de Alta Energia

5.4.1 Preparação do 4,5-Dioxo-2,2,2-Trifenil-1,2,3-Dioxastibolano (DTDS)

O dibromotrifenilantimônio foi facilmente preparado através da reação de Br_2 com Ph_3Sb , utilizando ácido acético como solvente [MICHAELIS & REESE, 1886]. O procedimento experimental para síntese do DTDS foi baseado em um trabalho descrito na literatura, onde os autores fizeram a mesma reação porém com ácido glicólico, ao invés de ácido oxálico [MATSUMURA *et al.*, 1971]. O DTDS foi obtido praticamente puro, como foi verificado por RMN ^{13}C e TLC (uma única substância com $R_f = 0,33$). Um espectro de infravermelho do sólido obtido em KBr revelou uma única carbonila em 1660 cm^{-1} (seção 10.2). O espectro de ressonância INVGATE (seção 10.2) do DTDS em DMSO-d_6 , contendo o agente de relaxação ACAC-Cr (Tabela 6), é uma indicação de que o grupo oxalato está ligado ao trifenilantimônio em posição similar à observada por Matsumura *et al.* [1971], ou seja, bipirâmide trigonal distorcida, fazendo com que os três grupos fenila sejam equivalentes.

Tabela 6: Invgate RMN ^{13}C dados e atribuições para DTDS. Deslocamento em ppm relativo ao TMS e integral relativa entre parênteses, 25 °C, DMSO-d_6 , 50 MHz.

C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
$\delta(\text{ppm})$	130,3	128,9	133,6	141,1	160,1
Área relativa	(3,2)	(6,8)	(6,7)	(3,1)	(2,0)

5.4.1.1 Tentativa de Seqüestro da 1,2-Dioxetanodiona com Trifenilantimônio

Tendo preparado, caracterizado e verificado que o DTDS é estável, seguiu-se a tentativa de seqüestro do intermediário volátil descrito na literatura (seção 6.4). O procedimento experimental consistia em gerar o intermediário volátil através da reação de bis(2,4,6-triclorofenil)oxalato (TCPO), com H_2O_2 em presença de imidazol e, através de um fluxo rápido e gelado de N_2 , que

passava pelo recipiente onde ocorria a reação (**balão A**), arrastá-lo para outro recipiente à baixa temperatura (**balão B**), contendo trifenilantimônio (Ph_3Sb). Após constatar-se que o conteúdo de **A** emitia luz quando em presença de um ACT foi iniciado o fluxo. Como o solvente utilizado em **A**, mantido a temperatura ambiente, era diclorometano, com a passagem de um fluxo rápido houve evaporação do solvente, também, para **B**. Deve-se salientar que todos os reagentes utilizados em **A** para geração do IAE volátil, afora talvez o H_2O_2 , não são voláteis, sendo assim, exclui-se a passagem destes compostos devido a volatilização; entretanto, pode ocorrer o arraste de TCPO e/ou imidazol por nebulização. De qualquer forma, após o solvente passar para **B**, foi constatado que a solução emitia luz em presença de DPA durante alguns minutos.

O solvente em **B** foi então evaporado obtendo-se um sólido levemente amarelado apresentando pf 275 °C. Tal ponto de fusão condiz com a presença de poli(trifenilestibinóxido) (pf 280 °C), que pode ser formado pela reação de H_2O_2 com Ph_3Sb [VENEZKY *et al.*, 1972]. Um espectro de infravermelho do composto bruto mostrou haver uma carbonila com baixa intensidade em 1643 cm^{-1} . Uma TLC revelou três compostos com $R_f = 0,0; 0,33$ e $0,56$, que, através de duas cromatografias em coluna (seção 8.7.3), foram separados. Com o composto em $R_f = 0,33$ fez-se uma análise de RMN ^{13}C INVGATE, contendo o agente de relaxação ACAC-Cr [RMN ^{13}C (25 °C, DMSO- d_6 , 50 MHz, ppm): 115,6 (7,8), 128,6 (2,2), 131,6, 131,7 (7,2), 149,7 (2,4), 166,9 (2,0)], no qual constatou-se a presença de uma carbonila em 166,9 ppm (seção 10.2).

5.4.2 Tentativa de Comprovação de um Intermediário Volátil

Utilizando o mesmo procedimento do item 5.4.1.1, entretanto com o balão B somente com diclorometano (sem Ph_3Sb) e utilizando um solvente não volátil (dietilftalato) no balão A, tentou-se verificar a ocorrência de um IAE volátil. Após o início da reação com imidazol fez-se passar, novamente, um fluxo rápido de N_2 gelado. Desta vez não houve evaporação do solvente, constatando-se que o conteúdo de **B** emitia luz (fraca) quando em contato com DPA ou rubreno. Uma análise por cromatografia gasosa do resíduo obtido, após a evaporação do solvente, em **B** revelou, pela comparação com a amostra autêntica, que havia 2,4,6-triclorofenol presente. Tal fato indica que houve passagem de TCPO de **A** para **B**, *via* nebulização, o que poderia, em presença de H_2O_2 , também causar emissão de luz quando em contato com um ACT.

6. Discussão

Dentre as possíveis causas para o insucesso de obtenção de derivados do intermediário tipo **II**, protegidos por grupos silil, pode ser destacada, primeiramente, a baixa solubilidade do $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ nas condições experimentais utilizadas. A reação de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ com $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, a baixa temperatura, em solventes polares ou apolares apróticos, consistia em uma suspensão sólido/líquido, havendo baixa velocidade de reação. Outra causa possível poderia ser um conhecido rearranjo intramolecular que sofrem silil peróxidos, especialmente aqueles que contêm grupos metil, (Esquema 15) [BUNCCEL & DAVIES, 1958, RAZUAVAEV *et al.*, 1978].

Esquema 15

Para resolver os problemas resultantes da utilização de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$, decidiu-se trocar este reagente por silil hidropéroxidos contendo grupos volumosos atados no silício (trifenilsilil e *t*-butildifenilsilil), que solucionariam o problema de insolubilidade e rearranjo intramolecular. Entretanto, não foi possível obter nenhum dos hidropéroxidos puro. Uma possível causa da não obtenção dos hidropéroxidos pode ter sido a utilização de uma solução etérea de H_2O_2 ao invés de H_2O_2 98%, utilizado por

DANNLEY & JALICS [1965]

(obs.: H_2O_2 98%, não é disponível no Brasil, além disso, nesta concentração ele é extremamente explosivo).

Apesar de não ter sido possível

obter o composto desejado a rota escolhida estava certa, como foi comprovado recentemente por HOHMAN *et al.* [1996], que obtiveram o 2,6-difluorofenil O,O-tri-isopropilsilil monoperóxalato (**A**) e o 2,6-difluorofenil O,O-tri-isobutilsilil monoperóxalato (**B**). Além do que, os mesmos autores também verificaram a ocorrência do rearranjo do grupo silil nestes silil perésteres. Entretanto, é necessário salientar que, não foi possível obter os compostos **A** e **B** puros, bem como a caracterização dos mesmos é baseada principalmente nos espectros de infravermelho e de RMN ^1H .

6.1 Preparação do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)

Os resultados obtidos confirmam o sucesso na síntese de 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperoxalato (1) [STEVANI *et al.*, 1996b]. As evidências da estrutura de 1 foram obtidas por TLC, infravermelho e espectrometria de massa, entretanto, a evidência mais importante é baseada na espectroscopia RMN ^{13}C (INVGATE). Os dados espectroscópicos de 1, quando comparados com os do 4-clorofenil hidrogênio oxalato (2), bem como os resultados da decomposição de 1 com adição de iodeto, confirmam a estrutura do perácido 1.

Uma estrutura alternativa para 1 poderia ser o peranidrido $[\text{ClC}_6\text{H}_4\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{C}(\text{O})-\text{O}]_2$ (4), que apresentaria propriedades similares àsquelas de 1. Na verdade, foi detectado um composto peroxídico adicional (TLC, $R_f = 0,75$), quando utilizava-se excesso de monocloreto de oxalila 4-clorofenil éster. Entretanto, usando excesso de H_2O_2 , somente um composto peroxídico ($R_f = 0,55$) foi obtido, que corresponde ao perácido 1. Adicionalmente, um composto como 4, supostamente não daria os mencionados picos moleculares em 216/218, observados na espectrometria de massa.

A atribuição dos picos observados para os carbonos C-1 e C-2 do perácido 1 e do ácido 2 (Tabela 1), merece mais alguns comentários. Mesmo usando um tempo de relaxação de 40 s, não foi possível obter condições plenas de relaxação para os picos em 156,3 ppm e 157,8 ppm (veja integrais na Tabela 1). Empiricamente, pode-se supor que C-1 e C-2 relaxariam, principalmente, por um mecanismo combinado de deslocamento químico anisotrópico e rotação de spin [NEUHAUS & WILLIAMSON, 1989]. Enquanto o primeiro mecanismo produziria relaxação similar em ambos carbonos, o segundo, como depende da rotação interna, mostrar-se-ia mais eficiente nos carbonos terminais (C-1). Dessa forma, foram atribuídos os sinais em 156,3 e 157,8 ppm para o carbono C-2 de 1 e 2, respectivamente. Além disso, estas atribuições resultam na esperada similaridade entre os valores de deslocamento químico para os grupos ésteres (C-2) de 1 e 2.

O resultado mais importante obtido pela síntese de 1 é o fato de que ele não interage diretamente com o ACT (no caso DPA), emitindo luz, mas, ao contrário, é estável em presença de DPA. Este fato claramente exclui intermediários do tipo II como intermediários reativos de alta energia** no sistema peróxi-oxalato, o que é exatamente a conclusão contrária à relatada em um artigo da literatura [CHOKSHI *et al.*, 1990]. Entretanto, na presença de DPA e bases com $\text{pK}_a > 6$, observa-se emissão de luz, o que demonstra que o perácido 1 é capaz de gerar estados excitados.

6.2 Experimentos Cinéticos de 1 com Diferentes Bases

A observação de emissão de luz e decomposição de **1** em presença de bases oxigenadas indica que a desprotonação do perácido é necessária e suficiente para iniciar a reação que formará o IAE, capaz de gerar estados excitados pela interação com ACTs. Entretanto, os valores de Φ_{CL} são consideravelmente mais baixos com estas bases do que com imidazol como catalisador (em torno de 2 ordens de grandeza menor), e a cinética de decaimento é muito mais rápida. Tal fato pode ser devido a um ataque nucleofílico das bases oxigenadas, como *t*-butóxido, à carbonila do grupo éster, levando à uma transformação não quimiluminescente do perácido **1** (Esquema 16).

Esquema 16: Decomposição quimiluminescente e não quimiluminescente do perácido **1** em presença de DPA, catalisada por bases oxigenadas (R = H, *tert*-butil e *p*-clorofenil).

Apesar da reprodutibilidade dos resultados, utilizando estas bases, ser baixa, a constante de decaimento para altas [CP], em torno de $0,25\text{ s}^{-1}$, pode ser considerada como um valor estimado para a constante de velocidade de transformação do perácido no IAE. O fato das constantes de velocidade, obtidas com TB, serem maiores do que as observadas com CP, indica que há uma predominância do ataque nucleofílico do TB à carbonila do grupo éster do perácido.

A dependência linear em baixas [IMI-H] reflete um equilíbrio de desprotonação de **1**, com uma constante bimolecular ($k_{bim} \sim 1,0\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), composta de k_r e dos valores de pK_a do IMI-H e do perácido **1**. Estes valores de pK_a não são conhecidos em acetato de etila, o solvente utilizado, por isso não foi feita uma estimativa dos valores de k_r nestas condições. Ainda mais que, a reação também poderia ser catalisada por IMI-H (catálise ácida geral da extrusão do fenolato).

** Deve-se deixar claro que perácidos do tipo **II** são intermediários no sistema peróxi-oxalato, porém não são intermediários reativos de alta energia que, em presença de ACTs apropriados levam, em última instância, à emissão de luz.

A segunda dependência, em altas [IMI-H], é devida ao ataque nucleofílico do imidazol, catalisado por imidazol, à carbonila do grupo éster [KIRSCH & JENCKS, 1964; JOHNSON, 1967; NEUVONEN, 1987]. Este comportamento é similar ao observado no estudo cinético de TCPO com H_2O_2 , catalisado por imidazol [STEVANI *et al.*, 1996a]. Entretanto, a constante de velocidade trimolecular obtida com **1** ($k_{\text{trim}} = 1,6 \text{ M}^{-2} \text{ s}^{-1}$) é duas ordens de magnitude menor do que a obtida no mesmo passo com TCPO, sob condições similares. Esta diferença reflete a desativação da carbonila do grupo éster pelo grupo perácido, em comparação com o correspondente diéster, frente a um ataque nucleofílico [BRUCE & HOLMQUIST, 1967; OROSZ, 1989; NEUVONEN, 1995]. Adicionalmente, o substituinte triclofenil no TCPO deve contribuir aumentando a reatividade, pois é um melhor grupo abandonador do que o clorofenil. Interessante é o fato que, no estudo da dependência da [IMI-H] no sistema com TCPO, não se observa uma região linear, como no caso do sistema com **1**. Isto se deve à existência de passos anteriores à formação do perácido (k_1 e k_2 , Esquema 14, pg. 21) bem mais lentos do que a abstração do próton do perácido pelo imidazol. Desta forma, esta última etapa não pode ser observada cineticamente no sistema com TCPO, o que faz com que esta comparação entre os dois sistemas (com TCPO e com **1**) contribua para confirmar a validade do Esquema 17.

Esquema 17: Catálise básica geral e nucleofílica na decomposição quimiluminescente de **1** por imidazol, em presença de DPA.

A dependência complexa das constantes de velocidade de decaimento com a [IMI-H] (Figura 5) pode ser racionalizada com base no Esquema 17. A curva obtida de k_{obs} vs. [IMI-H] pode ser decomposta como a somatória de uma curva cinética de saturação (f_1) e uma curva cinética que obedece uma função binomial (f_2), como é mostrado na Figura 9.

Figura 9: Decomposição da curva mostrada na Figura 5 em uma curva de saturação (f_1) e uma curva binomial (f_2).

Utilizando o Esquema 17 pode-se obter uma expressão cinética em função da [IMI-H] para a etapa onde ocorre catálise básica geral (função f_1) e catálise nucleofílica (função f_2). Supondo que não ocorre acúmulo de íons percarboxilato (1^-) em solução, ou seja:

$$\frac{d[1^-]}{dt} = k_1[1][\text{IMI} - \text{H}] - k_{-1}[1^-][\text{IMI} - \text{H}_2^+] - k_r[1^-] = 0 \Rightarrow$$

$$[1^-] = \frac{k_1[1][\text{IMI} - \text{H}]}{k_{-1}[\text{IMI} - \text{H}_2^+] + k_r}$$

Como a velocidade da reação é $v_{\text{reação}} = k_r [1^-]$, tem-se:

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 k_r [\text{IMI} - \text{H}]}{k_{-1}[\text{IMI} - \text{H}_2^+] + k_r}$$

Pode-se simplificar a equação acima, utilizando as constantes de equilíbrio de **1** com IMI-H:

$$K_{a(\text{IMI-H})} = \frac{[\text{IMI} - \text{H}][\text{H}^+]}{[\text{IMI} - \text{H}_2^+]}, \quad K_{a(1)} = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[\text{IMI} - \text{H}_2^+][1^-]}{[\text{IMI} - \text{H}][1]}$$

Obtendo-se o termo para a catálise básica geral, relacionado com a função f_1 :

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 k_r [\text{IMI} - \text{H}]}{\frac{k_1 [\text{H}^+][\text{IMI} - \text{H}]}{K_{a(1)}} + k_r}$$

Equação 3

Para obter-se, finalmente, uma expressão geral para a catálise básica geral e catálise nucleofílica, basta somar o termo referente a função f_2 na Equação 3, ou seja:

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_1 k_r [\text{IMI} - \text{H}]}{\frac{k_1 [\text{H}^+][\text{IMI} - \text{H}]}{K_{a(1)}} + k_r} + k_2 [\text{IMI} - \text{H}]^2$$

Equação 4

A Equação 4, obtida através do modelo mecanístico proposto no Esquema 17, ajusta-se perfeitamente aos valores obtidos de k_{obs} vs. $[\text{IMI}-\text{H}]$ (Figura 5), o que é uma forte indicação de que o mecanismo proposto para a interação de **1** com IMI-H é coerente.

As constantes de velocidade obtidas em baixas $[\text{IMI}-\text{H}]$ são atribuídas à ciclização do ânion do perácido **1**, formando a 1,2-dioxetanodiona (**I**), pois, uma ciclização parece ser a única transformação química possível neste sistema. Um caminho alternativo poderia ser a interação do ânion de **1** com **1** protonado, levando à formação de um peranidrido (**4**) (Esquema 18). Entretanto, se esta reação fosse uma etapa importante para a emissão de luz, as constantes de velocidade, bem como Φ_{CL} , deveriam aumentar com o aumento da $[\text{1}]$. A observação experimental de que Φ_{CL} e k_{obs} diminuem com o aumento da $[\text{1}]$ (Tabela 3, pg. 33) indica que a formação de **4** é certamente de menor importância para o passo quimiluminescente. Além do que, o peranidrido hipotético, não deveria conter energia suficiente para a formação de estados excitados, pela interação com o ACT.

O outro peróxido cíclico, que poderia ser obtido pela ciclização do ânion de **1**, a 1,2-dioxetanona (**IV**), parece ser pouco provável como IAE, primeiramente porque existem dúvidas quanto o Φ_{CL} do processo, formulando **IV** como IAE. Como já foi dito na Introdução o sistema modelo para a proposição do mecanismo CIEEL, o difenoil-peróxido, demonstrou ser três ordens de grandeza menor, como foi demonstrado mais tarde por CATALANI & WILSON [1989]. Sendo assim, existem dúvidas quanto ao valor do rendimento quântico de quimiluminescência da 1,2-dioxetanona

(intermediário do tipo IV), medido por SCHMIDT & SCHUSTER [1978]. Adicionalmente, intermediários tetraédricos são conhecidos por seus tempos de vida extremamente curtos em reações de interconversão de derivados de ácidos carboxílicos, especialmente no caso em que estão presentes excelentes grupos de partida e, mais ainda, quando o catalisador bifuncional imidazol está presente [MENEGHELI *et al.*, 1991; FIFE, 1993; EL SEOUD *et al.*, 1994]. Alternativamente, a ciclização poderia ser um processo rápido e a liberação do fenolato do intermediário tetraédrico o passo observado cineticamente. Entretanto, como as constantes de velocidade não dependem da [ACT], também neste caso, a liberação do fenolato precederia à interação do IAE com o ACT. Por isso, o IAE não contém um substituinte fenólico e a estrutura mais provável para este composto é a 1,2-dioxetanodiona (I). A mesma ciclização poderia estar envolvida para altas [IMI-H], entretanto, neste caso, tem-se como ótimo grupo de partida o imidazol, que é rapidamente substituído, não se observando este passo cineticamente.

Esquema 18: Rotas hipotéticas de reação para formação dos IAE alternativos 4 e IV.

Os resultados cinéticos obtidos com a utilização de BDN como base catalisadora podem ser compreendidos com base no Esquema 19. A constante de decaimento k_{obs1} , que cresce linearmente com a [BDN], corresponde a transferência lenta de próton do perácido 1 para o BDN, uma base forte e altamente impedida. O valor da constante de velocidade bimolecular encontrada ($k_{\text{bim3}} = 37 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) é da mesma ordem de grandeza da constante de velocidade de transferência de próton da água para o BDN ($k_{\text{H}_2\text{O}} \sim 70 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) [HIBBERT, 1974; HIBBERT & AWWAL, 1977]. A observação de uma constante de velocidade de formação (k_{obs2}) nas curvas cinéticas com BDN é surpreendente, quando comparadas com as obtidas com IMI-H, onde o início da cinética é tão rápido que somente o decaimento pode ser observado. Além disso, k_{obs2} mostra uma dependência linear com a [BDN]. Esta

constante é atribuída à ciclização do peróxi-ânion de **1**, que ocorre com concomitante liberação de fenolato - uma reação suscetível a catálise ácida geral pelo BDN protonado. A observada catálise na etapa de ciclização por BDN permite a conclusão de que este passo é acompanhado pela liberação de fenolato (vide explicação acima), o que exclui intermediários do tipo **IV** como IAE e adiciona mais uma evidência em favor da 1,2-dioxetanodiona (**II**).

Finalmente, deve-se ressaltar que os resultados obtidos com IMI-H e BDN não podem ser quantitativamente comparados, pois, as constantes de velocidade em ambos os casos referem-se a eventos diferentes. Além disso, deve ser mencionado também que, os rendimentos quânticos obtidos da reação de **1** com IMI-H, em presença de DPA (Tabela 2) são, pelo menos, dez vezes menores do que aqueles obtidos com a reação de TCPO, em presença do mesmo ACT, também catalisado por IMI-H e em condições experimentais praticamente idênticas [STEVANI *et al.*, 1996a]. Esta diferença provavelmente é causada pela baixa estabilidade de **1**, podendo ainda ser devida a presença de impurezas na solução estoque de **1** [STEVANI *et al.*, 1996b]. Na reação catalisada por BDN, os rendimentos quânticos baixos (Tabela 4) são provavelmente causados por uma interação mais eficiente do BDN com o IAE, do que a interação do ACT com o IAE.

Esquema 19: Decomposição quimiluminescente de **1**, em presença de DPA, catalisada por 1,8-bis(dimetilamino)naftaleno.

Deve ser citado aqui que, os trabalhos de CHOKSHI *et al.* [1990], HOHMAN *et al.* [1996] e STEVANI *et al.* [1996b] são os de maior relevância na literatura com respeito à obtenção de intermediários do tipo II. Entretanto, enquanto os dois primeiros postulam o envolvimento de intermediários do tipo II como IAE no sistema peróxi-oxalato, o último os exclui categoricamente como IAE, embora confirme a participação de intermediários do tipo II como intermediários chave na formação do IAE. Dos três trabalhos o de Chokshi *et al.* é o único que se baseia em observações indiretas, não havendo uma preocupação em isolar e caracterizar o composto preparado, mas sim, observar a cinética de emissão de luz com a ajuda de RMN ^{19}F (seção 3.6.1). Já o trabalho de Hohman *et al.* é baseado na preparação de um derivado do intermediário do tipo II protegido com silício, que aliás, foi tentada sem sucesso também por nós no início deste trabalho. Apesar da caracterização dos compostos preparados não ser muito conclusiva e da impossibilidade de purificá-los, devido a labilidade térmica, ao que parece, após desproteção dos compostos com fluoreto de tetrabutylamônio em presença de DPA, observou-se emissão de luz.

À primeira vista o resultado de Hohman *et al.* é idêntico ao obtido neste trabalho, pois, em ambos os casos ocorre emissão de luz após a liberação do percarboxilato. No caso de Hohman *et al.* reagindo os compostos sililados com fluoreto de tetrabutylamônio e no caso deste trabalho reagindo **1** com uma base. Entretanto, os primeiros especulam, segundo suas próprias palavras, que o IAE é o íon percarboxilato, embora sem nenhuma evidência concreta. Opinião esta que diverge dos resultados obtidos neste trabalho, pois, caso o íon percarboxilato fosse realmente o IAE, observar-se-ia uma dependência das constantes de velocidade com a $[\text{ACT}]$, o que não foi comprovado. Sendo assim, pelo que demonstram os trabalhos referentes à obtenção do intermediário de alta energia no sistema peróxi-oxalato, principalmente no que diz respeito à intermediários do tipo II, este trabalho é o que apresenta resultados mais diretos e conclusivos.

6.3 Medidas do Φ_{CL} e Parâmetros Quimiluminescentes (Φ_{∞} e $k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}}$)

Embora os estudos cinéticos das etapas anteriores à quimi-excitação serem relevantes do ponto de vista analítico, podendo até fornecer informações indiretas quanto à natureza do intermediário de alta energia, a sua interação com o ativador não pode ser observada. Como já foi dito diversas vezes ao longo deste trabalho, estudos cinéticos usuais não ajudam a desvendar algo sobre processos posteriores à etapa lenta da reação. Entretanto, pode-se utilizar de um artefato, no caso de reações quimiluminescentes, que permite obter informações, embora indiretas, da etapa de quimi-excitação; mesmo que esta etapa seja bem mais rápida do que as anteriores. Tal artefato é a medida do rendimento quântico de quimiluminescência (Φ_{CL}). Para poder melhor explicar o modo

pelo qual serão obtidas informações sobre a etapa de quimi-excitação, através de medidas de Φ_{CL} , deve-se considerar um esquema simplificado para a interação do IAE com o ACT (Esquema 20).

Esquema 20: Esquema mecanístico simplificado para a interação do ACT com o IAE.

Utilizando o Esquema 20, podem ser obtidas as equações diferenciais de consumo de IAE e de ACT* (Equação 5 e Equação 6). Como os tempos de vida de ACT* e do IAE são muito curtos, pode-se assumir uma aproximação de estado estacionário para estas duas espécies.

$$-\frac{d[\text{IAE}]}{dt} = k_D[\text{IAE}] + k_{CAT}[\text{IAE}][\text{ACT}] - k_1[1] = 0$$

Equação 5

$$-\frac{d[\text{ACT}^*]}{dt} = k_F[\text{ACT}^*] + k_{D'}[\text{ACT}^*] - k_{CAT}[\text{IAE}][\text{ACT}] = 0$$

Equação 6

Sabendo-se que: $\frac{d(h\nu)}{dt} = k_F[\text{ACT}^*] = I$ e $\Phi_F = \frac{k_F}{k_F + k_{D'}}$, onde **I** é a intensidade de

luz, Φ_∞ é a probabilidade de que ACT* seja formado a partir da interação com o IAE para uma [ACT] infinita, tem-se:

$$I = \frac{\Phi_\infty \Phi_F k_{CAT} k_1 [1][\text{ACT}]}{k_D + k_{CAT}[\text{ACT}]} \Rightarrow \frac{\Phi_F k_1 [1]}{I} = \frac{1}{\Phi_\infty} + \frac{k_D}{\Phi_\infty k_{CAT}[\text{ACT}]}$$

Equação 7

Como $\int_{t=0}^{t=\infty} k_1[1]dt = [1]$, $\int_{t=0}^{t=\infty} Idt = Q$ e $\Phi_{CL} = \frac{Q}{\Phi_F[1]}$, onde Q é a quantidade de luz

emitida pela reação em Einstein mol⁻¹ e Φ_{CL} é o rendimento quântico de quimiluminescência corrigido, da reação estudada, para uma determinada [ACT], finalmente tem-se:

$$\frac{1}{\Phi_{CL}} = \frac{1}{\Phi_{\infty}} + \frac{k_D}{\Phi_{\infty} k_{CAT}[ACT]}$$

Equação 8

Deve-se lembrar que a Equação 8 é deduzida a partir de um esquema mecanístico simples (Esquema 20), onde não foram consideradas as etapas posteriores a transferência de elétron, que não levam à emissão de luz. Outra simplificação é que a constante de velocidade k_{CAT} engloba uma constante de equilíbrio de formação de um complexo de transferência de carga entre o IAE e o ACT (K_{CTC}) e a constante de velocidade de transferência de elétron (k_{et}), de tal forma que, $k_{CAT} = K_{CTC}k_{et}$.

Outra expressão importante, obtida utilizando-se correlações de energia livre [SCANDOLA *et al.*, 1981], pode ser vista na Equação 9; onde **A** e **B**: constantes, α : coeficiente de transferência de elétron, **R**: constante geral dos gases ($8,613 \cdot 10^{-5}$ eV K⁻¹), **T**: temperatura em Kelvin (295 ± 2 K), E_{ox} : potencial de oxidação do ACT, E_{red} : potencial de redução do IAE, que no caso é constante, pois refere-se à um mesmo IAE para todos ACTs, **e**: carga do elétron, **R₀**: distância entre íons no complexo de transferência de carga no ponto de transição, ϵ : constante dielétrica do solvente.

$$k_{CAT} = A \exp \left[\frac{-\alpha}{RT} \left(E_{ox} - E_{red} - \frac{e^2}{R_0 \epsilon} \right) \right] \Rightarrow \ln(k_{CAT}) = \ln A + \alpha B - \left(\frac{\alpha}{RT} \right) E_{ox}$$

Equação 9

$$\text{Onde, } B = \frac{e^2}{R_0 \epsilon RT} + \frac{E_{red}}{RT}.$$

A Equação 9 correlaciona k_{CAT} , um termo cinético, com o potencial de oxidação do ativador, um termo termodinâmico, sendo que a constante de proporcionalidade é o chamado coeficiente de transferência de elétron (α).

Com o auxílio da Equação 8 e da Equação 9 pode-se obter informações à respeito da constante de transferência de elétron e , conseqüentemente, o valor de α , a partir da medida do Φ_{CL}

da reação de **1** com imidazol, em presença de vários ativadores, pois, $\frac{k_{\text{CAT}}}{k_{\text{D}}} = \frac{1}{(\Phi_{\infty}\theta)}$, onde θ é o coeficiente angular da relação $1/\Phi_{\text{CL}}$ vs. $1/[\text{ACT}]$.

Os parâmetros quimiluminescentes medidos, Φ_{∞} e $k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}}$, referem-se a reação do perácido **1** com imidazol, em presença de sete ativadores, no caso: rubreno, perileno, 9,10-dimetóxi-antraceno, 9,10-dicianoantraceno, 9,10-difenilantraceno, antraceno e 2,5-difeniloxazol. Primeiramente é necessário enfatizar que os valores de Φ_{∞} , (Tabela 7) obtidos para os ACTs utilizados, são mais baixos que os comumente encontrados. Como base de comparação, o Φ_{CL} utilizando TCPO [bis(2,4,6-triclorofenil)oxalato] é cerca de dez vezes maior que o encontrado para este sistema, utilizando **1**, nas mesmas condições [STEVANI *et al.*, 1996a]. Tal fato pode ser devido a labilidade térmica de **1**, presença de impurezas e maior dificuldade de liberação do *p*-clorofenolato em comparação com o 2,4,6-triclorofenolato do TCPO. As duas primeiras suposições levam a um favorecimento de k_{D} em detrimento a k_{CAT} . A terceira hipótese, baseada na suposição do envolvimento da 1,2-dioxetanodiona como IAE, supõe que somente ocorre emissão após liberação do fenolato, o que é reforçado pela observação de que não ocorre emissão de luz pelo monocloreto de oxalila etil éster em presença de H_2O_2 e DPA (dados não mostrados).

Tabela 7: Correlação dos parâmetros quimiluminescentes (Φ_{∞} e $k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}}$) da reação de **1** com imidazol em presença de vários ativadores (ACT), com a energia singlete e os potenciais de oxidação voltamétricos de meio-pico ($E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$).

	ACT	$\Phi_{\infty} \times 10^2$ (E mol^{-1})	$k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}} \times 10^{-2}$ (M) ^a	$E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$ (V vs. SCE) ^b	E_{s} (kJ mol^{-1}) ^c
1	Rubreno	16 ± 1	74 ± 3	0,61	221
2	Perileno	$6,1 \pm 0,2$	16 ± 1	0,88	273
3	DMOA	$1,2 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,7$	0,90	296
4	DPA	$1,2 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,7$	1,06	305
5	Antraceno	$0,14 \pm 0,03$	$2,9 \pm 0,8$	1,18	319
6	PPO	$0,046 \pm 0,003$	$0,66 \pm 0,06$	1,46	356
7	DCNA	$(6 \pm 3) 10^{-4}$	28 ± 9	1,80	280

^a $k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}} = 1/(\Phi_{\infty}\theta)$, onde θ é o coeficiente angular da relação $1/\Phi_{\text{CL}}$ vs. $1/[\text{ACT}]$, ^b em acetonitrila, SCE: eletrodo padrão de calomelano, ^c energia singlete [MUROV *et al.*, 1993].

Quanto aos potenciais de oxidação, achou-se conveniente medir-se os potenciais para cada ACT por voltametria cíclica utilizando as mesmas condições experimentais, pois, há uma certa discrepância entre os valores encontrados na literatura. Os dados referem-se ao potencial de oxidação voltamétrico de meio-pico ($E_{p/2}^{ox}$), que independe da velocidade de varredura utilizada. É necessário aqui dizer que, dos ACTs utilizados, somente rubreno, DPA e perileno demonstraram reação redox reversível.

Como pode ser visto na Figura 10, a relação $\ln \Phi_{\infty}$ vs. $E_{p/2}^{ox}$ é linear, com um coeficiente de transferência de elétron de $\alpha = 0,21 \pm 0,02$ ($r = 0,978$). Já a relação $\ln(k_{CAT}/k_D)$ vs. $E_{p/2}^{ox}$ não apresenta boa correlação (Figura 11), onde pode ser visto que o 9,10-dicianoantraceno, sai completamente fora da correlação, $\alpha = 0,13 \pm 0,02$ ($r = 0,942$).

Figura 10: Correlação do $\ln \Phi_{\infty}$ com o $E_{p/2}^{ox}$ dos ACTs utilizados. 1: rubreno, 2: perileno, 3: DMOA, 4: DPA, 5: antraceno, 6: PPO, 7: DCNA.

Figura 11: Correlação do $\ln(k_{CAT}/k_D)$ com o $E_{p/2}^{ox}$ dos ACTs utilizados.

É interessante notar que a correlação do $\ln(k_{CAT}/k_D)$ com $E_{p/2}^{ox}$ (Figura 10) é linear quando se excluem o 9,10-dimetóxi-antraceno (**3**) e o 9,10-diciano-antraceno (**7**). Uma vez que esta correlação é o principal argumento para a proposição do mecanismo CIEEL, a não correlação de dois ativadores que, a princípio, deveriam comportar-se da maneira usual, é um fato muito importante. Os ACTs **1**, **2**, **4**, **5** e **6** são os comumente empregados neste tipo de estudo [SCHMIDT & SCHUSTER, 1978; CATHERALL *et al.*, 1984], sendo assim, a não correlação dos ACTs **3** e, principalmente, **7** pode significar uma falha no mecanismo CIEEL como ele é proposto atualmente. Entretanto, torna-se difícil uma afirmação mais concreta sobre a validade ou não do mecanismo CIEEL, uma vez que os ACTs mencionados nunca foram utilizados por outros grupos de pesquisa, nem com outros compostos onde se postula o envolvimento do mecanismo CIEEL.

É interessante também observar que, à luz dos conceitos básicos de estabilização de carbocátions, **3** consegue estabilizar por mesomeria uma carga positiva gerada pela doação de um elétron e **7**, ao contrário, desestabiliza uma carga positiva eventualmente formada, pois os grupos cianos são fortes atraentes de elétron. Entretanto, deve-se lembrar que, a interação do IAE com o ACT, segundo o mecanismo CIEEL, leva à formação do cátion-radical do ACT e não de um carbocátion. Ora, um cátion-radical tem propriedades completamente diferentes de um carbocátion. Sendo assim, tomando como exemplo o composto **7**, embora não haja uma estabilização por

mesomeria de uma carga positiva formada, pode ocorrer estabilização mesomérica do radical, ou seja, os conceitos comumente utilizados para explicar a estabilização de carbocátions ou carbânions não são úteis no caso de íons-radicais [HOZ, 1992].

Os parâmetros quimiluminescentes, $k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}}$ e Φ_{∞} , correlacionam-se com a E_{S} de forma oposta à correlação com $E_{\text{p/2}}^{\text{ox}}$, como pode ser visto nas Figura 12 e Figura 13. Enquanto a correlação $\ln \Phi_{\infty}$ vs. E_{S} não é linear, com o 9,10-dicianoantraceno visivelmente fora; a correlação $\ln(k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}})$ vs. E_{S} é linear, apesar do composto 7 não apresentar boa correlação ($r = 0,957$, sem 7: $r = 0,990$).

Figura 12: Correlação do $\ln \Phi_{\infty}$ com a E_{S} dos ACTs utilizados.

Figura 13: Correlação do $\ln(k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}})$ com a E_{S} dos ACTs utilizados.

Deve-se mencionar ainda que os valores de $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$, dos ACTs comumente utilizados, apresentam uma correlação linear empírica com os valores de E_{S} (Figura 14), sendo assim, é de se esperar que uma variável que apresente correlação com estes valores de $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$, também se correlacione com E_{S} . Dessa forma, a utilização do DCNA é uma boa forma de testar se realmente existe uma correlação de algum parâmetro quimiluminescente com a E_{S} , ou se o que ocorre é um artefato. Deve-se salientar que **3** e **7** foram escolhidos como ACT pois possuem propriedades diferentes dos ACTs comumente utilizados: enquanto **3** possui E_{S} relativamente alto e $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$ baixo, **7** possui E_{S} relativamente baixo e $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$ alto, o que faz com que os dois não apresentem a correlação empírica (E_{S} vs. $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$) apresentada pelos ACTs comuns.

Sumarizando, os principais resultados encontrados são:

- A correlação $\ln \Phi_{\infty}$ vs. $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$ é, considerando o erro experimental, linear para todos os ACTs utilizados (Figura 10). Já a correlação $\ln \Phi_{\infty}$ vs. E_{S} apresenta uma correlação não linear para todos os ACTs utilizados, com **7** visivelmente fora (Figura 12);
- Os valores de $\ln(k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}})$ dos ACTs comumente utilizados, ou seja, **1**, **2**, **4**, **5** e **6**, correlacionam-se muito bem com os valores de $E_{\text{p}/2}^{\text{ox}}$ (Figura 11) e E_{S} (Figura 13).

Figura 14: Correlação empírica entre os valores de $E_{p/2}^{ox}$ e E_s dos ACTs utilizados.

O Esquema 21 mostra a sequência mecanística mais detalhada para a etapa de quimi-excitação do ACT pelo IAE. Primeiramente, **1** reage com uma base, levando à formação do IAE, possivelmente a 1,2-dioxetanodiona, eventualmente em vários passos. Uma destas etapas é a limitante, sendo observada cineticamente (k_{obs}). O IAE pode, então, simplesmente decompor-se termicamente com uma constante de velocidade k_{D1} , ou interagir com o ACT. Na interação com o ACT ocorre a formação de um complexo de encontro de transferência de carga reversível, cuja constante de equilíbrio é K_{CTC} . Dentro da gaiola de solvente a ligação O-O do IAE começa a alongar-se com a proximidade do ACT, criando uma carga parcial negativa no IAE e uma carga parcial positiva no ACT, que, em última instância, resulta na transferência de um elétron com uma constante de velocidade k_{et1} . O ânion-radical formado pode devolver o elétron recebido do ACT e decompor-se (k_{D2}), ou clivar-se, formando $CO_2^{\bullet-}$, um novo ânion-radical com um conteúdo energético ainda maior. O $CO_2^{\bullet-}$ devolve, então, o elétron ao ACT^{*+} , podendo formar-se o ACT no estado excitado (k_{et2}), ou no estado fundamental (k_{D3}).

Examinando este esquema mais detalhadamente, pode-se perceber que o rendimento quântico de quimiluminescência da reação de **1** com a base, corrigido quanto ao rendimento quântico de fluorescência do ACT e em presença de uma $[ACT]$ infinita deveria ser constante com o E_{ox} do ACT, uma vez que, a $[IAE]$ gerado independe do ACT utilizado. A primeira vista o resultado obtido é contraditório, pois, Φ_{∞} varia com o E_{ox} do ACT, entretanto, como foi mencionado anteriormente, este parâmetro foi obtido através de uma dedução matemática a partir de um esquema simplificado

(Esquema 20), onde não foram consideradas as etapas posteriores à primeira transferência de elétron. Uma solução para esta aparente contradição é que Φ_{∞} contenha um termo referente à probabilidade de formação do IAE a partir de 1 (Φ_{IAE}) e um termo referente à probabilidade de formação de ACT* a partir do par de íons-radicais (Φ_{ACT*}), de tal forma que $\Phi_{\infty} = \Phi_{IAE} \Phi_{ACT*}$. Esta expressão permite compreender que Φ_{IAE} é constante para todos os ACTs, pois o ACT não influencia a formação do IAE, entretanto, Φ_{ACT*} não é constante, pois, como pode-se notar no Esquema 21, o ACT participa das etapas posteriores à primeira transferência de elétron.

Esquema 21: Proposta mecanística para os resultados obtidos, com base no mecanismo CIEEL.

Segundo o mecanismo CIEEL seria de se esperar que $\ln(k_{CAT}/k_D)$ correlacionasse linearmente com o potencial de oxidação dos ACTs, correlação esta que, aliás, foi responsável pela proposição inicial deste mecanismo. Como pode ser visto na Figura 11 esta correlação foi observada para os ACTs comumente utilizados porém, o 9,10-dimetóxi-antraceno (3) e, principalmente, o 9,10-dicianoantraceno (7) mostram um comportamento diferente.

Um dado interessante pode ser obtido através da suposição de que k_{CAT} é controlado por difusão no caso do rubreno, o ACT com maior velocidade de transferência de elétron, ou seja, com o maior valor de k_{CAT}/k_D . Com esta suposição $k_{CAT} = 1,5 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, em acetato de etila ($\eta = 0,441 \text{ cP}$), a 298 K, o que leva a um valor de $k_D = 2,0 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$, resultando em um valor mínimo para o tempo de vida do IAE de $\tau = 0,50 \text{ }\mu\text{s}$. Ou seja, não se deve esperar o acúmulo do IAE neste sistema. Este resultado é idêntico ao obtido por CATHERALL *et al.* [1984], utilizando bis(pentaclorofenil)oxalato.

LECHTKEN & TURRO [1974], em um estudo comparativo sobre a eficiência de emissão de luz utilizando TCPO/ H_2O_2 e tetrametil-1,2-dioxetano, em presença de compostos fluorescentes, que cobriam uma grande faixa de energia singlete, encontraram uma relação empírica não-linear entre o log da intensidade de luz em função da E_s dos ACTs no caso do TCPO. De maneira análoga a este trabalho, também foi observado que a relação $\ln \Phi_\infty$ vs. energia singlete do ACT não é linear, exibindo uma curva similar a observada por LECHTKEN & TURRO. A Figura 12 mostra que esta correlação também foi observada para os ACTs utilizados, como a exceção de 9,10-dicianoantraceno (7).

Pode-se tentar explicar os resultados obtidos, baseando-se ainda no mecanismo CIEEL (Esquema 21). O Φ_∞ de um determinado ACT utilizado, depende, como já foi dito, de Φ_{IAE} , que é constante para todos ACTs, e de Φ_{ACT^*} , que varia com o ACT utilizado. Sendo assim, quanto maior o valor de Φ_∞ maior a probabilidade da formação de ACT^* a partir do par de íons-radicaís inicial. A formação do ACT em seu estado excitado envolve duas transferências de elétron (k_{et1} e k_{et2}), ou seja, para um ACT que possua baixo potencial de oxidação k_{et1} será rápido. Entretanto, não se deve esperar uma correlação entre k_{et2} e o potencial de oxidação do ACT. Por outro lado, a energia singlete do ACT poderia influenciar na eficiência de formação de estados excitados nesta segunda transferência de elétron (k_{et2}). Com isso pode-se esperar que Φ_∞ tenha uma dependência com a E_s do ACT. A formação de estados excitados deve ser favorecida no caso desta reação ser mais mais exotérmica (ou menos endotérmica), ou seja, para ACTs com baixa energia singlete. Porém, 7 mostra um Φ_∞ 3 ordens de grandeza menor do que o esperado da relação com os outros ativadores (Figura 12, Tabela 7). Finalmente, deve-se destacar que a aparente relação $\ln(k_{CAT}/k_D)$ vs. E_s não pode ser racionalizada com base no mecanismo CIEEL e nos conceitos elementares de fotofísica e físico-química orgânicas.

O comportamento observado para o DCNA nas correlações do $\ln(k_{CAT}/k_D)$ vs. $E_{p/2}^{ox}$ e $\ln \Phi_{CL}$ vs. E_s , deve ser considerado de modo mais detalhado (Figura 11 e Figura 12). Conforme discutido

anteriormente, estas correlações devem existir segundo o mecanismo CIEEL, o que faz com que os resultados obtidos, em primeira instância, não sejam coerentes com este mecanismo.

Em uma tentativa de racionalizar estes resultados, ainda com base no mecanismo CIEEL (Esquema 21), poder-se-ia supor que o alto valor de $k_{\text{CAT}}/k_{\text{D}}$ para **7** seria causado por um valor maior da constante de equilíbrio K_{CTC} para **7**, quando comparado com os outros ACTs. Porém, tendo em vista que complexos de transferência de carga são estabilizados pelas interações entre os dipolos formados entre as espécies químicas no complexo, esta suposição faria somente sentido se ocorresse, no caso do DCNA, uma transferência de carga inversa à proposta no Esquema 11. Ou seja, uma transferência de carga do peróxido para o ACT, formando $\text{ACT}^{\delta-} \cdots \text{IAE}^{\delta+}$. Entretanto, não existe nenhuma evidência na literatura da ocorrência de uma interação deste tipo. Na tentativa de verificar esta probabilidade serão efetuados cálculos matemáticos, utilizando programas de modelagem molecular.

Caso realmente ocorra a polarização inversa no complexo de transferência de carga para **7**, seria possível também explicar os baixos valores de Φ_{∞} obtidos para este ACT (na correlação de $\ln \Phi_{\text{CL}}$ vs. E_{S}). A transferência de elétron a partir do complexo $[\text{ACT}^{\delta-} \cdots \text{IAE}^{\delta+}]$ deve levar ao ânion-radical do ACT e ao cátion-radical do IAE. Supondo que as reações subsequentes deste par de íons-radicais, sejam quais forem, não levem à formação de estados excitados, o baixo Φ_{∞} para **7**, apesar da baixa E_{S} , poderia ser explicado. Entretanto, estas tentativas de se explicar os resultados surpreendentes obtidos com DCNA, com base no mecanismo CIEEL, envolvem muitas suposições não comprovadas e, provavelmente, difíceis de serem verificadas. Por isso, estes resultados demonstram que serão necessários mais estudos mecanísticos para uma melhor comprovação (ou formulação) do mecanismo CIEEL, ou para acumular evidências experimentais que permitam a proposta de um mecanismo alternativo.

6.4 Tentativa de Seqüestro do Intermediário de Alta Energia

A síntese e caracterização de um dos intermediários do sistema peróxi-oxalato [STEVANI *et al.*, 1996b], o éster 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperoxalato (**1**), postulado na literatura como intermediário de alta energia [CHOKSHI *et al.*, 1990], bem como o estudo cinético de **1** em presença de várias bases [STEVANI *et al.*, 1997] e em presença de vários ativadores [BAADER *et al.*, 1996], representam um avanço significativo na elucidação do mecanismo e da natureza dos IAE envolvidos no sistema peróxi-oxalato. Com a exclusão de **1** como um dos possíveis IAE [STEVANI *et al.*, 1996b] a 1,2-dioxetanodiona (**I**), como mostram os estudos [CHANDROSS, 1963; RAUHUT *et al.*, 1967; BAADER *et al.*, 1996], é a estrutura mais provável de ser responsável pela quimi-excitação do ACT,

levando à emissão de luz. Como pouco se sabe a respeito da existência e das propriedades de I, devido sua alta instabilidade, qualquer informação neste sentido poderia levar a um entendimento ainda maior do mecanismo de quimi-excitação do ACT pelo IAE.

CHANDROSS [1963] foi o primeiro a observar a ocorrência de um IAE volátil no sistema peróxi-oxalato, constatando que, os vapores emanados da reação de cloreto de oxalila com peróxido de hidrogênio (30%), em dioxano, “...induziam a fluorescência em indicadores apropriados, *i.e.* um papel filtro impregnado com antraceno.” No final da década de 60, RAUHUT *et al.* [1967], comunicaram a observação de um IAE volátil, quando se passava um fluxo rápido de Ar, N₂ ou O₂ através de uma solução de bis(2,4-dinitrofenil)oxalato (DNPO) e H₂O₂, em dimetilftalato, pois o gás que saía do recipiente, onde a reação ocorria, emitia luz em presença de DPA ou rubreno. Entretanto, tentativas de caracterização deste IAE volátil utilizando infravermelho em fase gasosa ou espectrometria de massa [CORDES *et al.*, 1969; DECORPO *et al.*, 1972] não tiveram êxito devido a instabilidade do eventual IAE formado, ou seja, a 1,2-dioxetanodiona.

BAUMSTARK *et al.* [1979] conseguiram sintetizar um produto de adição de tetrametil-1,2-dioxetano (TMD) com Ph₃Sb, o qual demonstrou ser mais estável que o derivado obtido com Ph₃P. Esta reação de adição (AD), dando como produto o 2,2-dihidro-4,4,5,5-tetrametil-2,2,2-trifenil-1,3,2-dioxastibolano (A), demonstrou concorrer com uma reação de decomposição catalítica (DC) de TMD, dando como produto acetona e Ph₃Sb. A competição entre as duas reações depende muito do meio reacional, pois quando feita em

benzeno-d₆ houve 70% DC e 30% AD e, quando feita em CDCl₃, houve 23% DC e 77% AD; sendo que, em condições específicas, com excesso de TMD a reação de adição era praticamente quantitativa.

A primeira vista o trabalho de Chandross e Rauhut *et al.* não correlacionam-se em nada com o de Baumstark *et al.*, entretanto, uma análise mais minuciosa permite concluir que, se fosse possível produzir o IAE (provavelmente a 1,2-dioxetanodiona) isoladamente, o seqüestro deste com Ph₃Sb, nas condições apropriadas, poderia levar a um produto de adição mais estável, passível de caracterização. É necessário ressaltar que o sucesso do seqüestro do IAE, embora teoricamente possível, a) seria extremamente dependente das condições experimentais de produção e seqüestro do IAE, tais como: temperatura, solvente, [IAE], etc., b) do tipo de reação que ocorreria entre o IAE e o Ph₃Sb, *i.e.* oxidação, adição, decomposição catalítica, c) caso houvesse preferência pela reação de adição, seria necessário saber se o produto formado é estável - no caso do IAE ser a 1,2-

dioxetanodiona, o produto de adição seria o 4,5-dioxo-2,2,2-trifenil-1,2,3-dioxastibolano (**DTDS**). Enfim, o seqüestro de um composto extremamente lábil não é um processo trivial.

Os experimentos preliminares para a síntese e identificação do IAE, através da reação do cloreto de oxalila com H_2O_2 , foram bastante animadores (seção 8.7.1). Ao que parece, no experimento feito, um composto volátil formado nessa reação é carregado pelo fluxo de N_2 reagindo com DPA e rubreno na ausência de base. Mais ainda, conseguiu-se recolher a substância a -78°C e comprovar a emissão de luz na presença de DPA.

A suposição de um IAE volátil não é um fato novo, [CHANDROSS, 1963; RAUHUT *et al.*, 1967] porém, o seqüestro deste é algo que nunca foi tentado. Pretendia-se, primeiramente, obter este intermediário volátil em maior quantidade e mais puro pela reação de cloreto de oxalila com Na_2O_2 , em THF, a -50°C , recolhê-lo em isopentano a -78°C , preparar uma amostra na temperatura de N_2 líquido (matriz sólida) e tentar caracterizar a substância por espectroscopia RAMAN. Entretanto, testes preliminares utilizando isopentano a baixa temperatura (sólido), mostraram que havia formação de cristais de gelo, decorrente do congelamento de água ambiente, que causavam um grande espalhamento de luz. A formação destes cristais, experimentalmente impossíveis de se evitar, tornaria difícil a detecção das bandas RAMAN do IAE, presente em concentração muito baixa.

Optou-se então por seqüestrar o intermediário de alta energia volátil através da reação deste com Ph_3Sb . Como já foi dito no começo, BAUMSTARK *et al.* [1979] já haviam utilizado este tipo de procedimento com o intuito de investigar produtos de inserção de dioxetanos com fenil compostos do grupo 5B (N, P, As, Sb e Bi). Como não se sabia se o produto de inserção seria estável ou não, nem qual o melhor método para sua caracterização, seguiu-se a **rota 1** para obtê-lo. As evidências espectroscópicas, infravermelho e RMN ^{13}C (principalmente), permitem concluir que foi obtido o 4,5-dioxo-2,2,2-trifenil-1,2,3-dioxastibolano (**DTDS**).^{††} O DTDS também mostrou ser estável até 150°C (análise termogravimétrica preliminar, dados não mostrados).

^{††} Embora o derivado com ácido glicólico [$\text{Ph}_3\text{Sb}(\text{OCH}_2\text{COO})$] já tenha sido sintetizado, [MATSUMURA *et al.*, 1971] o DTDS é um composto inédito na literatura.

Uma vez sintetizado o DTDS, tentou-se seqüestrar o IAE volátil pela **rota 2** (seções 5.4.1.1 e 8.7.3), que nada mais é do que uma reação de inserção da 1,2-dioxetanodiona no Ph_3Sb . Foram feitas várias tentativas, mudando-se as condições experimentais tais como: temperatura, solvente, reagentes (cloreto de oxalila, TCPO); entretanto os resultados obtidos foram pouco conclusivos. Talvez o resultado mais interessante seja o que foi obtido com a utilização de TCPO e imidazol. Como estes não são voláteis, somente ocorreria formação de um composto de adição carbonílico no balão contendo Ph_3Sb , caso houvesse a formação de um composto carbonílico volátil pela reação do TCPO com H_2O_2 , catalisada por imidazol. É necessário salientar que, no caso da reação de cloreto de oxalila com H_2O_2 , a baixa temperatura (seção 8.7.1), havia passagem do cloreto de ácido para o balão contendo o Ph_3Sb , o que poderia fazer com que se formassem $\text{Ph}_3\text{Sb}(\text{CO})_2$ e/ou DTDS - decorrente da hidrólise do cloreto de oxalila e posterior ataque do ácido oxálico formado ao Ph_3Sb . Deve-se lembrar que, como o solvente utilizado era diclorometano, este evaporou carregando H_2O_2 , durante o fluxo rápido de N_2 que passava pelo balão onde ocorria a reação de formação do IAE.

Três produtos foram formados no balão contendo Ph_3Sb , comprovado por TLC ($R_f = 0,0$; 0,33 e 0,56). A reação de H_2O_2 com Ph_3Sb , em determinadas condições, pode produzir poli(trifenilestibinóxido) [VENEZKY *et al.*, 1972], que seria o produto principal, devido ao excesso de peróxido de hidrogênio utilizado. Este fato, mais o ponto de fusão do sólido obtido (275 °C), permitem supor que o produto em $R_f = 0,0$ seja o poli(trifenilestibinóxido). O produto em $R_f = 0,33$, mesmo R_f que o DTDS, apresentou uma carbonila em 166,9 ppm (evidenciada também pelo espectro infravermelho do produto bruto), entretanto o espectro de RMN ^{13}C - INVGATE é diferente do esperado para o composto de adição da 1,2-dioxetanodiona com o Ph_3Sb : os deslocamentos

químicos e as integrais não conferem com o padrão (seção 10.2). Sendo assim, embora tenha havido a formação de um composto carbonílico a sua estrutura não pode ser desvendada facilmente.

Para finalizar, os experimentos para comprovação da existência de um IAE volátil, utilizando dietilftalato como solvente, mostraram haver arraste de TCPO, por nebulização, o que poderia, em presença de H_2O_2 , também causar emissão de luz quando em contato com um ACT. Tal fato poderia ser uma explicação para a “natureza volátil do IAE” observada por Chandross e Rauhut [CHANDROSS, 1963; RAUHUT *et al.*, 1967].

Concluindo, embora o seqüestro do intermediário de alta energia seja possível, ao que parece este decompõe-se rapidamente nas condições utilizadas para sua preparação, deixando em dúvida, também, se ele é realmente volátil. Torna-se necessário o desenvolvimento de um sistema mais eficiente para produzir o IAE, no qual ele tenha um tempo de vida maior e, também, uma maior concentração. Dessa forma, crê-se que seja possível seqüestrar o IAE envolvido no sistema peróxi-oxalato, possivelmente I, e caracterizá-lo, através do método aqui exposto.

7. Conclusão

O resultado mais importante deste trabalho é a exclusão de intermediários do tipo **II** como intermediário de alta energia no sistema peróxi-oxalato. Como foi verificado, **1** não emite luz quando em presença do ACT unicamente, necessitando de uma base para que ocorra quimiluminescência. Como demonstram os experimentos cinéticos efetuados com diversas bases, uma reação química lenta, provavelmente uma ciclização, deve ocorrer entre **1** e a base utilizada, levando à formação do intermediário de alta energia. Através destes experimentos foram obtidas evidências, embora indiretas, que favorecem a 1,2-dioxetanodiona como IAE. Entretanto, infelizmente, não foi possível seqüestrar o IAE utilizando trifenilantimônio.

Foram obtidas evidências de uma transferência de elétron entre o IAE, formado pela reação de **1** com imidazol, e os ACTs utilizados, o que está previamente de acordo com o mecanismo CIEEL como ele é proposto. Porém, quando em presença de DMOA e, especialmente, DCNA, os quais não são ACTs comumente utilizados em estudos sobre o mecanismo CIEEL, foram observados desvios significativos do comportamento previsto por este mecanismo. Apesar de ser possível racionalizar uma explicação razoável para os desvios observados, este trabalho mostra uma necessidade de estudos adicionais, utilizando um sistema eficiente como o peróxi-oxalato, para poder acumular mais evidências à favor, ou contra, a validade do atraente e controverso mecanismo CIEEL.

8. Experimental

8.1 Materiais e Métodos

8.1.1 Reagentes

4-Clorofenol (98% Merck) foi recristalizado de uma mistura de éter de petróleo/tolueno e seco sob vácuo. Cloreto de oxalila, imidazol, rubreno, DPA, perileno, antraceno, DMOA, DCNA, 1,8-bis(dimetilamino)naftaleno, bis(2,4,6-triclorofenil)oxalato (todos Aldrich 99%), PPO (99% Janssen Chimica), foram usados sem purificação prévia. DABCO, 1,4-diazobiciclo[2.2.2]octano, foi seco em um dessecador à vácuo 4h e sublimado a 60-65 °C/1 mmHg. Piridina (99% Merck) foi refluxada por 4 h sob NaOH e destilada. Monocloreto de oxalila 4-clorofenil éster foi preparado de acordo com o procedimento da literatura [BAKER & SCHUMACHER, 1964]. O produto destilou a 120 °C/10 mmHg {52%, pf 45 °C, pf 44-46 °C [BAKER & SCHUMACHER, 1964]}; RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): 121,9, 129,4, 132,9, 148,2, 153,7, 160,4; MS/injeção direta: 218/220 (M⁺), IV-FT: 1762 cm⁻¹ e 1786 cm⁻¹. Dibromotrifenilantimônio, Ph₃SbBr₂, também foi preparado de acordo com o procedimento da literatura [MICHAELIS & REESE, 1886]. O sólido obtido (90%, pf 210-212 °C) foi caracterizado por microanálise: C(%) 42,12, H(%) 2,95, Br(%) 31,1 [esperado C(%) 42,15, H(%) 2,95, Br(%) 31,2]. O luminol foi sublimado a 200 °C/1-3 mmHg. *t*-BuOK (Merck) foi seco por 5 h a 150 °C/20 mmHg e sublimado a 220 °C/1 mmHg.

8.1.2 Solventes

Acetato de etila, utilizado nos ensaios cinéticos, foi purificado da seguinte forma: deixava-se o solvente por 1 dia sob CaCl₂, 30 min de agitação em presença de NaOH a 0 °C, 1 dia sob peneira molecular de 4 Å, destilação lenta (pe 77 °C) sob N₂, armazenamento sob peneira molecular de 4 Å. THF e éter etílico eram refluxados com sódio metálico, em presença de benzofenona, até observar-se a coloração azulada característica de um meio anidro, o volume necessário para uso foi destilado imediatamente antes. CH₂Cl₂ foi refluxado por 2h com P₂O₅ e destilado. A sílica, alumina e Florisil utilizados na cromatografia em coluna foram ativadas por 2 h a 150 °C, sendo que a alumina foi ajustada a um grau de atividade II (adição de 5% de água). O *t*-BuOH e o etanol foram destilados de sódio metálico (7 g Na para 100 mL de álcool 99%).

8.1.3 Solução de H_2O_2

A solução etérea de H_2O_2 era feita da seguinte forma: extraía-se, com três porções de 15 mL de éter etílico, 20 mL de peróxido de hidrogênio (60%) e secava-se com MgSO_4 , a 5 °C. A concentração das soluções feitas por este método, determinada por espectrofotometria (seção 8.1.4), era entre 5 - 8 M. A solução de H_2O_2 em dietilftalato foi preparada da seguinte forma: a) extração com éter (3 x 15 mL) de uma solução aquosa de H_2O_2 (70%, 20 mL), b) secagem da fase etérea com MgSO_4 , c) adição de 5 mL desta solução etérea de H_2O_2 (5 - 8 M) em 10 mL de dietilftalato, d) evaporação do éter sob pressão reduzida a 0 °C.

8.1.4 Determinação Espectrofotométrica de Peróxidos

Em uma cubeta, contendo 3,0 mL de uma solução 0,05 M de KI, em tampão HOAc/NaOAc (pH 3,8, $\mu=0,01$) adicionava-se 10 μL da solução estoque do perácido 1 diluída de 10 a 1000 vezes em acetato de etila. A absorbância em 353 nm ($\epsilon = 2,55 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), devido ao I_3^- , era medida, calculando-se a concentração da solução estoque. Para determinar a $[\text{H}_2\text{O}_2]$ utilizava-se o mesmo procedimento [COTTON & DUNFORD, 1973], porém, a diluição da solução estoque era feita em água e adicionava-se a enzima HRP (peroxidase de raiz forte) na mesma cubeta, de tal forma que sua concentração final fosse 10^{-8} M .

8.1.5 Aparelhagem

Os experimentos de quimiluminescência foram registrados em um espectrofluorímetro *SPEX-FLUOROLOG 1681* (fenda: 1,00 mm, grade: reflexão total, tensão da fotomultiplicadora: 750 V). Os espectros de fluorescência dos corantes ativadores foram obtidos nas seguintes condições: (a) DPA, antraceno, PPO, perileno, DCNA, DMOA: $\lambda_{\text{exc}} = 300 \text{ nm}$, fenda da fonte: 0,20 mm, fenda da grade: 0,50 mm, fonte: 200 V, fotomultiplicadora: 750 V, (b) rubreno: ídem, porém $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$. Um espectrofotômetro *HITACHI U2000* foi utilizado nos ensaios de liberação de *p*-clorofenol, em um comprimento de onda de 292 nm, interfaciado com um PC 286. As análises de RMN ^{13}C foram feitas em um aparelho *BRUKER AC 200-F* (50 MHz para ^{13}C). Os espectros de infravermelho foram obtidos de um aparelho *FT-IR 1750 PERKIN-ELMER*. As análises por espectrometria de massa foram feitas em um aparelho *FINNIGAN MAT INCOS 50*. Os potenciais de oxidação dos ativadores foram medidos em um potenciostato-galvanostato *EG & G Princeton Applied Research modelo 175* com registrador X-Y, utilizando os eletrodos: Pt (trabalho) e Ag/Ag^+ (referência), eletrólito: perclorato de tetraetilamônio (0,10 M), velocidade de varredura: 100 mV s^{-1} , em acetonitrila. As

constantes cinéticas e as integrais das curvas foram analisadas pelo programa *Origin 3.0*® - *MicroCal 1993*.

8.2 Tentativas de Obtenção do Intermediário do Tipo II Protegido

8.2.1 Preparação do NaOOSi(CH₃)₃

8.2.1.1 Preparação do Complexo DABCO.2H₂O₂

Em um balão contendo uma solução de DABCO (10 g, 89 mmol) em THF (150 mL), a 0 °C, adicionam-se, gota a gota, sob agitação, 10 g (0,19 mol) de H₂O₂ (60%). Após secagem a vácuo obtém-se um sólido branco 12 g (75%). O teor peroxídico encontrado, por iodometria (seção 8.1.4) foi de 65% [TADDEI & RICCI, 1986].

8.2.1.2 Preparação do Me₃SiOOSiMe₃

Em um balão de 500 mL, contendo o complexo DABCO.2H₂O₂ (10 g, 56 mmol) e DABCO (10 g, 89 mmol), secados por 2 h a 30 °C/ 1mmHg. Adicionam-se 300 mL de CH₂Cl₂ para dissolver o sólido e Me₃SiCl (28 mL, 0,22 mol) de uma só vez, a 0 °C. Após três horas de agitação à mesma temperatura, filtra-se a solução e evapora-se o solvente. Adicionam-se, então, 200 mL de pentano para induzir a total precipitação dos resíduos de DABCO. O pentano é cuidadosamente evaporado, obtendo-se o Me₃SiOOSiMe₃ (10 g, 56 mmols, 50%) com cerca de 95% de peróxido ativo [TADDEI & RICCI, 1986].

RMN ¹H (CDCl₃): 0,17 ppm (s).

8.2.1.3 Preparação do NaOOSi(CH₃)₃

A uma suspensão de etóxido de sódio (1,9 g, 28 mmol) em tolueno seco (100 mL), adicionam-se 5,0 g (28 mmol) de Me₃SiOOSiMe₃ e agita-se por 14h à temperatura ambiente, sob atmosfera de nitrogênio. Após filtração em funil de placa sinterizada e secagem a vácuo obtém-se 1,5 g (42%) de NaOOSiMe₃ [BRANDES & BLASCHETTE, 1973]. Foi observado um teor peroxídico de mais de 95%.

8.2.2 Reação de NaOOSi(CH₃)₃ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#1)

A um balão de 50 mL contendo 0,125 g (975 μmols) de NaOOSi(CH₃)₃, em 20 mL de THF, sob atmosfera de nitrogênio, agitação e a -40 °C; adicionam-se 133 mg (109 μL, 975 μmols) de uma solução de monocloreto de oxalila etil éster, em 5 mL de THF, gota a gota durante 5 min. A reação foi monitorada de 30 min em 30 min através de TLC, utilizando como solvente uma mistura de CH₂Cl₂/éter (9:1) e como revelador uma solução de KI. Obteve-se durante até 5 h de reação um composto com o mesmo deslocamento do NaOOSi(CH₃)₃: R_f ~ 0,1, não foram obtidas indicações da formação do produto desejado, ou seja, de um produto peroxídico com R_f ≠ 0,1.

8.2.2.1 Reação de NaOOSi(CH₃)₃ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#2)

Seguiu-se o mesmo procedimento da reação #1 com as seguintes modificações: solvente: CCl₄, temperatura: -20 °C, massa de NaOOSi(CH₃)₃: 172 mg (1,34 mmols) em 15 mL de CCl₄, massa de monocloreto de oxalila etil éster: 183 mg (1,3 mmols, 150 mL).

RMN ¹H (ppm, CDCl₃/CCl₄, 200 MHz): I - 0,05 (s); II - 0,10 (s); III - 0,14 (s); IV - 1,38 (t, 7,1 Hz); V - 4,38 (q, 7,1 Hz).

Uma análise de TLC a -20 °C, utilizando como solvente CH₂Cl₂, revelou três substâncias com R_f = 0,0, R_f = 0,6 e R_f = 0,8. Após seis dias a temperatura ambiente fez-se novamente um RMN ¹H notando-se diminuição do pico III e aumento do pico I. O que denota um rearranjo do composto sililado inicialmente formado.

8.2.2.2 Reação de NaOOSi(CH₃)₃ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#3)

Seguiu-se o procedimento da reação #2, modificando-se: tempo de adição: 30 min; utilização de catalisador de transferência de fase: bissulfato de tetrabutilamônio.

A suspensão de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ foram adicionados 10% em mol do catalisador e seguiu-se o mesmo procedimento da reação # 2. Após 1h do término da adição do monocloreto de oxalila etil éster fez-se um RMN ^1H .

RMN ^1H (ppm, $\text{CDCl}_3/\text{CCl}_4$, 200 MHz): I - 0,05 (s); II - 0,10 (s); III - 0,14 (s); IV - 1,38 (t, 7,1Hz); V - 4,38 (q, 7,1 Hz).

Um TLC a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, utilizando como solvente CH_2Cl_2 revelou três substâncias: $R_f = 0,0$, $R_f = 0,6$ e $R_f = 0,8$. Após 2h de reação filtrou-se e evaporou-se a suspensão. O sólido obtido demonstrou conter íons cloreto e peróxido que não reagiu.

Um RMN ^1H feito após a evaporação do solvente mostrou uma diminuição da intensidade dos três primeiros singletes em relação ao triplete e ao quarteto.

8.2.2.3 Reação de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#4)

Adicionam-se 100 mg (780 μmol s) de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ e 14 mg de bissulfato de tetrabutilamônio (5% em mol do peróxido) à 5 mL de uma solução tampão fosfato 0,1 M (pH = 7), a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Em um balão de 25 mL, contendo 5 mL de CH_2Cl_2 , 85 μL (761 μmol s) de monocloreto de oxalila etil éster, a $0\text{ }^\circ\text{C}$ e sob agitação; adicionam-se 5 mL da solução descrita acima. Agita-se 10min, lava-se a fase orgânica com água gelada (3 x 15 mL), secando-a com Na_2SO_4 a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Após a secagem filtra-se a solução rapidamente em um funil de placa sinterizada e evapora-se o solvente a $-30\text{ }^\circ\text{C}$. Um TLC foi feito, nas mesmas condições da síntese #2, revelando uma substância peroxídica em $R_f = 0,6$ e uma mancha pouco intensa no ponto de aplicação.

RMN ^1H (ppm, $\text{CDCl}_3/\text{CCl}_4$, 200 MHz): I - 0,05 (s); II - 0,10 (s); III - 0,14 (s); IV - 1,38 (t, 7,1Hz); V - 4,38 (q, 7,1 Hz).

Após 6 dias a temperatura ambiente observou-se uma diminuição do pico III e um aumento do pico I. O pico II permaneceu constante. O que denota um rearranjo do composto sililado inicialmente formado.

8.2.2.4 Reação de $\text{NaOOSi}(\text{CH}_3)_3$ com Monocloreto de Oxalila Etil Éster (#5)

Foi utilizado o mesmo procedimento da síntese #4 com as seguintes modificações: após a adição do cloreto de ácido adicionou-se 10 μL (10% em mol da quantidade de peróxido presente) de ácido trifluoracético, gota a gota durante 10min. O resultado foi o mesmo da síntese # 4.

8.2.3 Preparação de Silil Hidroperóxidos

8.2.3.1 Preparação do *t*-Butildifenilsilil Hidroperóxido (#1)

Este procedimento foi baseado no artigo de DANNLEY & JALICS [1965], tendo como única modificação a utilização de uma solução etérea de H_2O_2 ao invés de H_2O_2 98%. Em um balão de três bocas de 100 mL adaptam-se um funil de adição, uma entrada de N_2 seco e uma entrada de NH_3 seca. A 3 g (3 mL, 11 mmols) de *t*-BuPh₂SiCl em 5 mL de éter etílico, a 0 °C, sob agitação e fluxo de N_2 ; passa-se um fluxo de amônia por 3 min, adicionando-se, logo em seguida, 25 mL (0,1 mol) de uma solução 4 M de H_2O_2 em éter.

Após 4 min de reação adicionam-se 15 mL de água e separam-se as fases. Lava-se a fase etérea com quatro porções de 15 mL de água e seca-se com MgSO_4 , a 5 °C. Filtra-se e evaporado-se o solvente. Foi obtido um líquido amarelado viscoso, que após ser cristalizado de *n*-pentano, a -20 °C, não demonstrou a banda característica do estiramento O-O em 890 cm^{-1} , bem como demonstrou baixa quantidade de peróxido, determinado por iodometria (< 10%).

8.2.3.2 Preparação do *t*-Butildifenilsilil Hidroperóxido (#2)

Este procedimento foi baseado no artigo de DANNLEY & JALICS [1965], tendo como única modificação a utilização de uma solução etérea de H_2O_2 ao invés de H_2O_2 98%. Em um balão de 200 mL, contendo 17 mL de uma solução 5,6 M de H_2O_2 em éter (95 mmols), 20 mL de éter, sob atmosfera de nitrogênio, agitação e a 0 °C; adicionam-se 0,55 g (8,0 mmols) de imidazol. Uma solução de *t*-BuPh₂SiCl, 2 g (7,3 mmols), em 13 mL de éter, é então adicionada, gota a gota, lentamente. Após 10min sob agitação, nas mesmas condições, adicionam-se 15 mL de água e separam-se as fases, lavando-se a fase orgânica com quatro porções de 15 mL de água e secando-a com MgSO_4 a 5 °C. Após filtração e evaporação do solvente obteve-se um óleo amarelo viscoso.

Cristalizado de hexano, a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, o sólido branco obtido, também não demonstrou a banda característica do estiramento O-O em 890 cm^{-1} (pf $50\text{-}55\text{ }^{\circ}\text{C}$).

8.2.3.3 Preparação do Trifenilsilil Hidroperóxido

Este procedimento foi baseado no artigo de DANNLEY & JALICS [1965], tendo como única modificação a utilização de uma solução etérea de H_2O_2 ao invés de H_2O_2 98 %. Na aparelhagem descrita e nas mesmas condições da seção 8.2.3.1 adicionam-se 26 mL de uma solução etérea 4,6 M de peróxido de hidrogênio (0,1 mol) e 66 mL de éter etílico. Adicionam-se, então, 40 mL de uma solução etérea de Ph_3SiCl (2,44 g, 8,28 mmol). Após 3min de reação, borbulha-se rapidamente amônia por 1min, adicionando-se 40 mL de água logo em seguida. Lava-se com quatro porções de 20 mL de água e seca-se com MgSO_4 a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após filtração e evaporação do solvente obtém-se um sólido branco, que foi cristalizado de CCl_4 a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e de n-hexano/ CH_2Cl_2 .

Foram obtidos 1,68 g (70%) de um sólido que também não demonstrou a banda característica do estiramento O-O em 890 cm^{-1} , bem como demonstrou baixa quantidade de peróxido por iodometria. O ponto de fusão foi de $148\text{-}150\text{ }^{\circ}\text{C}$, ao invés de $110\text{-}112\text{ }^{\circ}\text{C}$, como descrito na literatura [DANNLEY & JALICS, 1965]. Foi obtido o trifenilsilanol, comprovado pelo pf = $148\text{ }^{\circ}\text{C}$.

8.3 Preparação do 4-Clorofenil O,O-Hidrogênio Monoperoxalato (1)

Uma solução de monocloreto de oxalila 4-clorofenil éster (600 mg, 2,7 mmol), em 10 mL de éter anidro, foi adicionada gota a gota, durante 20min, a uma solução etérea de peróxido de hidrogênio 5 M (5,0 mL, 25 mmol), contendo piridina (0,24 mL, 2,7 mmol), sob atmosfera de N_2 seco. Após 30min de agitação a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, a mistura reacional foi lavada com uma solução saturada e gelada de cloreto de amônio (3 x 15 mL) e a porção etérea seca com sulfato de magnésio por 10min a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. O solvente foi evaporado a uma temperatura abaixo de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, obtendo-se um sólido branco ($\sim 25\%$, pf $\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$). Uma TLC em placa de SiO_2 , a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando CH_2Cl_2 /hexano/acetonitrila

(15:3:2) como eluente mostrou três substâncias com $R_f = 0,12$, $0,55$ e $0,85$, respectivamente. A substância em $R_f = 0,55$ era peroxídica (10% KI aquoso) e as outras duas apareciam como pontos vermelhos quando reveladas com alaranjado de metila 10% (água/etanol, 9:1). Uma coluna cromatográfica utilizando sílica (30-60 mesh) e a mistura de solventes mencionada, a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, foi feita. Do eluído somente constatou-se a presença de *p*-clorofenol. Posterior eluição com éter etílico como solvente não revelou nenhum composto peroxídico. O mesmo procedimento foi repetido para Florisil ou alumina, resultando no mesmo. Deixando-se o composto a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ na presença de sílica, Florisil e alumina constatou-se, visualmente, a diminuição da coloração marrom característica do perácido, quando revelado com KI, comparado com um branco deixado na mesma temperatura.

Os espectros de infravermelho foram obtidos por rápida inserção de uma solução de CCl_4 contendo **1**, dentro de uma cela de IRTRAN-2, seguida da aquisição a temperatura ambiente. Um espectro em filme foi feito mediante a deposição de algumas gotas de solução etérea da amostra entre duas placas de KBr, evaporação do solvente e rápida aquisição.

IV (CCl_4 , cm^{-1}): 1753, 1768 (ν , $\text{C}=\text{O}$), 3607 (ν , O-H); **IV (Filme, cm^{-1}):** 1458 (δ , O-H), 1765 (ν , $\text{C}=\text{O}$), 3567 (ν , O-H) - ν = estiramento, δ = deformação angular.

8.3.1 RMN ^{13}C de **1**

Todos os espectros foram feitos usando o programa padrão INVGATE.AU da *BRUKER* {RD: 40 s, tempo de aquisição: 1,3 s, duração do pulso: $2,0\text{ }\mu\text{s}$ [34 °]; 32 k de dados}. Os dados foram completados com zeros até 64 k e utilizou-se transformada de Fourier sob condições de filtro. A resolução digital era *ca.* 0,4 Hz por ponto. Os dados espectroscópicos para o perácido **1** e o ácido **2** são mostrados na Tabela 1. Os espectros do ácido *m*-clorobenzóico e do ácido *m*-cloroperbenzóico foram feitos para efeito de comparação do deslocamento entre as carbonilas de ácidos e perácido.

4-Clorofenol ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, acetona- d_6 , 50 MHz, ppm): 117,5 (C-2), 124,0 (C-3), 129,8 (C-4), 157,0 (C-1).

Ácido *m*-clorobenzóico ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, acetona- d_6 , 50 MHz, ppm): 128,8 (C-6), 129,9 (C-5), 131,2 (C-2), 133,5 (C-4), 133,5 (C-1), 134,6 (C-3), 166,7 (C(O)OH).

Ácido *m*-cloroperbenzóico ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, acetona- d_6 , 50 MHz, ppm): 128,2 (C-6), 129,3 (C-5), 131,6 (C-2), 134,3 (C-4), 134,3 (C-1), 135,0 (C-3), 164,7 (C(O)OOH).

8.4 Preparação do 4-Clorofenil Hidrogênio Oxalato (2)

Uma solução de monocloreto de oxalila 4-clorofenil éster (300 mg, 1,4 mmol), em 10 mL de éter anidro, foi adicionada gota a gota, durante 20 min, a uma solução etérea contendo água (0,40 mL, 22,2 mmol) e piridina (0,11 mL, 1,4 mmol), sob atmosfera de N₂ seco. Após 30 min de agitação entre -20 e -15 °C, a mistura reacional foi lavada com uma solução saturada e gelada de cloreto de amônio (3 x 15 mL) e a porção etérea seca com sulfato de magnésio por 10 min a 0 °C. O solvente foi evaporado a uma temperatura abaixo de -10 °C, obtendo-se um sólido branco. Uma TLC em placa de SiO₂, a -20 °C, utilizando CH₂Cl₂/hexano/acetonitrila (15:3:2) como eluente mostrou uma única substância com R_f = 0,12. O RMN ¹³C foi feito da mesma forma que em 8.3.1 (Tabela 1).

8.5 Experimentos Cinéticos de 1 com Diferentes Bases

Todos os experimentos cinéticos foram feitos a 25 ± 2 °C, em cubetas de quartzo de 1,00 cm de largura e volume total de 3,0 mL.

8.5.1 Cinética de 1 com Imidazol

Em uma cubeta de contendo imidazol (0,10 - 250 mM) e DPA (1,0 mM) em acetato de etila adicionava-se, sob agitação magnética, 13 µL de uma solução estoque (240 mM) contendo 1 {[1] = 1,0 mM}.

8.5.2 Cinética de 1 com 1,8-Bis(dimetilamino)naftaleno

O ensaio cinético foi feito utilizando acetato de etila como solvente e uma cubeta tampada com septo. A cubeta inicialmente continha DPA (1,0 mM) e a base acima citada em uma faixa de concentração de 0,10 mM a 5,0 mM, sendo adicionado o perácido 20 µL {190 mM, [1]_{final} = 1,3 mM}, sob agitação, com o auxílio de uma seringa Hamilton.

Um experimento variando-se a concentração de DPA foi feito da mesma forma acima, nas seguintes condições: [DPA] = 1,0 e 10 mM, [1,8-bis(dimetilamino)naftaleno] = 0,20 mM e 1,0 mM, [1] = 1,3 mM. Para comprovar o efeito da [H₂O] no sistema foi feito um experimento adicionando de 0 a 1,0 mM de água, mantendo-se as demais concentrações fixas em [DPA] = 1,0 mM, [1,8-bis(dimetilamino)naftaleno] = 1,0 mM e 1,0 mM, [1] = 1,3 mM.

8.5.3 Cinética de 1 com *t*-Butóxido de Potássio (TB)

A solução estoque de TB foi preparada da seguinte forma: foi adicionado vagarosamente, sob agitação e fluxo de N₂, 4,0 g (0,10 M) de potássio a um balão de três bocas (250 mL), contendo 100 mL de THF anidro. Introduziu-se cautelosamente, com o auxílio de uma seringa, 9,8 mL (0,10 mol) de *t*-BuOH. A solução foi então refluxada até completa reação do potássio (± 4 h), esperou-se atingir a temperatura ambiente e as bocas do recipiente foram vedadas através de septos. Para determinar-se a concentração de *t*-BuOK na solução titulou-se uma alíquota, diluída em água, com solução padronizada de HCl, utilizando fenolftaleína como indicador.

Um ensaio cinético típico consistia na adição de 3,0 mL de solução de DPA (1,0 mM, em THF), 20 μ L (80-90 mM) de uma solução contendo 1, seguida de uma rápida adição do volume desejado da solução estoque de *t*-BuOK (0,80 M) e inserção no aparelho. Todos os frascos, inclusive a cubeta, foram tampados com septos, sendo a adição dos reagentes feita com o auxílio de micro-seringas.

8.5.4 Cinética de 1 com *p*-Clorofenolato de Potássio (CP)

A solução estoque de CP foi preparada da seguinte forma: a 50 mL de etanol seco, contendo 1,70 g (30,4 mmol) de KOH, adicionou-se uma solução alcoólica (10 mL), contendo 3,90 g (30,3 mmol) de *p*-clorofenol, sob fluxo de N₂ e agitação. O etanol foi totalmente evaporado, obtendo-se um sólido levemente castanho. Parte do sólido foi transferido para um outro frasco, onde adicionou-se THF. A concentração da solução de CP foi determinada da mesma forma utilizada para a solução de TB. Os experimentos cinéticos seguiram o mesmo procedimento utilizado na cinética com TB, porém usando-se a solução de CP (0,50 M).

8.6 Medida do Φ_{CL} da Reação de 1 com Imidazol em Presença de Vários ACTs

O procedimento padrão para obtenção das curvas cinéticas era adicionar, sob agitação, x μ L de uma solução estoque de 1 (240 mM) em acetato de etila, em uma cubeta contendo 3,0 mL de uma solução de acetato de etila com o ACT {[ACT] abaixo} e imidazol (1,0 mM). As curvas cinéticas foram observadas por 3 tempos de meia-vida, sendo obtidos cerca de 300 pontos de Intensidade vs. tempo por curva. Graficou-se então o ln dos pontos da Intensidade de cada curva, seguida da determinação da equação da reta que melhor se ajustava aos pontos graficados.^{††} Com base nos parâmetros provenientes da reta {intensidade inicial para cada [ACT] e valor médio das

^{††} No caso da reação de 1 com IMI-H obtém-se uma curva ajustável com uma função mono-exponencial (seção 5.2.2, pg. 30).

constantes de decaimento}, extrapolou-se a intensidade de luz até 0,00 counts e integrou-se a quantidade de luz (Q) com o auxílio do programa *Origin 3.0*® - *MicroCal 1993*. Através da Equação 2 (pg. 36) pode-se calcular o rendimento quântico de quimiluminescência para cada [ACT].

8.6.1 Padronização com Luminol

Uma solução estoque de luminol foi preparada dissolvendo-se 45 mg de luminol em 25 mL de tampão fosfato pH = 11,6 (0,05 M). A concentração determinada a 347 nm ($\epsilon = 7600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [LEE & SELIGER, 1965] foi de 13,6 mM, sendo a solução diluída para 0,110 mM (absorção de 0,834). Usou-se uma solução trabalho de H_2O_2 0,30% em água (v/v). Esta solução foi preparada na hora do experimento pela diluição de uma solução 60%. São necessárias duas soluções de hemina (catalisador), uma cuja absorção em 414 nm (ponto isosbético) seja 0,6 e outra 0,2. As soluções foram preparadas pela diluição de hemina em pH básico até que se conseguisse o valor de absorção desejado. As soluções assim preparadas podem ser usadas no máximo por uma semana e devem ser mantidas sob refrigeração.

O procedimento padrão é: adicionam-se rapidamente 100 μL de H_2O_2 (0,30%) a uma cubeta contendo 3,0 mL de solução 10 μM de luminol em tampão fosfato (pH = 11,6 - 0,05 M), sob forte agitação e, logo em seguida, adicionam-se 100 μL da solução diluída de hemina (absorção 0,2). Antes que a emissão caia a zero (em torno de 10.000 counts), adicionam-se 100 μL da solução concentrada de hemina (absorção 0,6). O processo todo dura 200 s.

A calibração da fotomultiplicadora foi feita conforme o procedimento descrito na literatura [LEE *et al.*, 1965], utilizando o padrão luminol. A calibração é necessária, pois, a intensidade de luz medida é um valor arbitrário, que pode ser transformado em um valor em **Einstein (E)**, unidade SI de quantidade de luz emitida, através do fator de correção da fotomultiplicadora, f_{CF} . O f_{CF} pode ser definido como o número que se deve multiplicar a quantidade de luz emitida, em unidades arbitrárias (Q), proveniente da reação de n mols de luminol, para que se obtenha o rendimento quântico, muito bem estabelecido [LEE & SELIGER, 1965], do luminol: $\Phi_{\text{luminol}} = 0,0114 \pm 0,0006 \text{ E mol}^{-1}$.

$$\Phi_{\text{luminol}} = \frac{Q f_{\text{CF}}}{n}$$

Q é obtido integrando-se a curva de emissão (Figura 15) e o número de mols de luminol pode ser determinado por espectrofotometria. O f_{CF} pode ser usado por algumas semanas, sendo necessária nova calibração após este prazo.

Figura 15: Curva cinética típica para o experimento de calibração da fotomultiplicadora com luminol. A integral da curva fornece Q . $[\text{luminol}] = 10 \mu\text{M}$, $\text{H}_2\text{O}_2 = 0,30\%$.

Outro fator de correção necessário é o da sensibilidade da fotomultiplicadora com o comprimento de onda, f_{SF} , pois, em geral, as fotomultiplicadoras possuem maior sensibilidade na região do azul. Uma vez que o aparelho utilizado já possui um programa de correção, com uma curva de correção do tipo: fator de correção *vs.* λ (Figura 16), pode-se calcular o f_{SF} do seguinte modo: (a) fazem-se os espectros de fluorescência do ACT com a correção do aparelho e sem correção, (b) integram-se as áreas abaixo das duas curvas, (c) a relação entre as integrais das curvas obtidas dá o valor de f_{SF} . Dessa forma foram calculados os f_{SF} dos ACTs utilizados nos experimentos de determinação do rendimento quântico de quimiluminescência (Tabela 5). Para determinar-se o fator de correção da fotomultiplicadora com o λ , f_{SF} , (seção 5.3) foram feitos os espectros de fluorescência para cada um dos corantes em acetato de etila nas seguintes concentrações: $[\text{DPA}] = 10 \mu\text{M}$, $[\text{rubreno}] = [\text{perileno}] = 10 \mu\text{M}$, $[\text{antraceno}] = 0,10 \text{ mM}$, $[\text{PPO}] = [\text{DCNA}] = [\text{DMOA}] = 1,0 \text{ mM}$.

ACT	Faixa de Concentração	x (μL)	[1] (mM)
rubreno	10 μM - 0,50 mM	5,0	0,40
perileno	50 μM - 1,0 mM	13	1,0
DPA	0,10 - 5,0 mM	13	1,0
DMOA	50 μM - 5,0 mM	20	1,25
DCNA	10 μM - 0,50 mM	40	2,25
antraceno	0,25 - 15 mM	25	2,0
PPO	0,50 - 100 mM	13	1,0

Figura 16: Curva do fator de correção da fotomultiplicadora com o λ de emissão, para o espectrofluorímetro SPEX-Fluorolog 1681.

8.7 Tentativa de Seqüestro do Intermediário de Alta Energia

8.7.1 Reação de H_2O_2 com Cloreto de Oxalila

Em um balão de três bocas de 50 mL adaptou-se um funil de adição na boca central, uma entrada de N_2 seco e gelado e um pequeno cano na saída. No balão foram introduzidos 20 mL de uma solução etérea de cloreto de oxalila (1,0 mL - 10 mmol) e no funil de adição 5 mL de uma solução etérea de H_2O_2 (5 M - 25 mmol), juntamente com 2 mL de piridina (25 mmol). Adicionou-se, então, a solução contida no funil, gota a gota, no cloreto de oxalila, a $-50\text{ }^\circ\text{C}$, sob agitação magnética e fluxo de N_2 . Uma solução contendo DPA e uma outra contendo rubreno, em acetato de etila, demonstraram emissão de luz de intensidade visível em uma sala escura, quando borbulhava-se o gás que saía da aparelhagem supra mencionada. A reação foi feita mais uma vez, porém, adaptando-se na saída um frasco recolhedor com éter a $-78\text{ }^\circ\text{C}$. Após a adição vagarosa do peróxido, a solução contida no frasco recolhedor também demonstrou emissão de luz (fraca) com a adição de DPA.

8.7.2 Preparação do 4,5-Dioxo-2,2,2-Trifenil-1,2,3-dioxastibolano (DTDS)

Uma solução de dibromotrifenilantimônio (1,0 g, 1,95 mmol), em 10 mL de benzeno, foi adicionada a uma solução de metóxido de sódio (90 mg de sódio metálico dissolvido em 2 mL de metanol), a temperatura ambiente [adaptado de MATSUMURA *et al.*, 1971]. Após agitar 30min o precipitado branco (NaBr) foi filtrado e, à solução filtrada, foram adicionados 10 mL de uma solução etérea de ácido oxálico anidro [CLARKE & DAVIS, 1941] (0,20 g, 2,22 mmol), a 0 °C. Após 30min de agitação deixou-se a temperatura subir até a ambiente, agitando-se por mais 30 min. O solvente foi então evaporado e o sólido branco amorfo obtido (0,80 g, 93%, pf 185-6 °C - decomposição) foi seco a 100 °C/1,0 mmHg por 3 h. Uma amostra do composto foi diluído em éter/acetonitrila (3:1, respectivamente), sonificado por 30 min, fazendo-se uma TLC em placa de SiO₂ utilizando éter como eluente. Uma única substância com R_f = 0,33 foi revelada, utilizando câmara de I₂.

IV (KBr, cm⁻¹): 1660 (v, C=O).

8.7.2.1 RMN ¹³C do DTDS

Os espectros foram adquiridos nas mesmas condições utilizadas para o perácido **1**, porém com RD = 5 s e utilizando agente de relaxação ACAC-Cr. O resultado obtido está resumido abaixo (o dado entre parênteses significa o valor relativo da integral do pico). Os espectros foram feitos em DMSO-d₆, entretanto, algumas gotas de CDCl₃ de uma solução de ACAC-Cr concentrada foram adicionadas também.

RMN ¹³C(25 °C, DMSO-d₆, 50 MHz, ppm): 128,9 (6,8), 130,3 (3,2), 133,6 (6,7), 141,1 (3,1), 160,1 (2,0).

8.7.3 Tentativa de Seqüestro da 1,2-Dioxetanodiona com Trifenilantimônio

A aparelhagem empregada consistia em dois balões de três bocas (**A** e **B**), de 125 e 50 mL, respectivamente, ligados por um cano de teflon de 17 cm de comprimento e 0,50 cm de diâmetro. No balão **A** foi inserido um outro cano de teflon similar, que ficava mergulhado na solução, pelo qual podia-se passar um fluxo de N₂ gelado (serpentina em gelo seco), tampando-se a boca restante com um septo. O cano de teflon que saía próximo da tampa do balão **A** ficava imerso dentro da solução do balão **B**, sendo que, das duas bocas restantes do balão **B**, uma estava fechada e a outra tinha um condensador acoplado (com um contador de bolhas na ponta).

Ao balão **A**, contendo bis(2,4,6-triclorofenil)oxalato (198 mg, 0,44 mmol) em 20 mL de diclorometano, foi adicionado, com o auxílio de uma seringa, 10 mL de uma solução etérea contendo imidazol (3,4 mg, 50 μ mol) e H_2O_2 (25 mmol), sob agitação e fluxo rápido de N_2 gelado. O balão **B** continha trifenilantimônio (300 mg, 0,85 mmol) em 20 mL de diclorometano, a -60°C . Uma alíquota retirada do balão **A**, em presença de DPA, emitia luz. Após algum tempo, sob forte fluxo de N_2 gelado, todo o solvente havia evaporado para o balão **B**, não se constatando projeção de sólido. Após este fato, durante alguns minutos, uma alíquota do balão **B** em presença de DPA também emitia luz. O fluxo de N_2 foi então interrompido e acoplou-se ao balão **B** um agitador magnético, agitando-se por cerca de 20 min. O solvente do balão **B** foi evaporado, obtendo-se um sólido levemente amarelado (pf 275°C). Um infravermelho do produto bruto, feito em pastilha de KBr, indicou a presença de uma carbonila com baixa intensidade em: **IV** (KBr, cm^{-1}): 1643 (ν , C=O).

Uma TLC do sólido obtido na reação foi feita nas mesmas condições utilizadas para o DTDS. Foram reveladas três substâncias com $R_f = 0,0$; 0,33 e 0,56. Purificou-se o produto através de duas cromatografias em coluna feitas nas seguintes condições: a) SiO_2 , éter/hexano (3:1) e b) SiO_2 , CHCl_3 /éter (10:1). Após a primeira cromatografia constatou-se, através de TLC, que não havia mais o produto com $R_f = 0,0$ e, após a segunda cromatografia, que não havia o produto com $R_f = 0,56$. Fez-se um RMN ^{13}C do produto purificado, nas mesmas condições do RMN feito para o DTDS. O resultado obtido está resumido abaixo (o dado entre parênteses significa o valor relativo da integral do pico).

RMN ^{13}C (25°C , DMSO-d_6 , 50 MHz, ppm): 115,6 (7,8), 128,6 (2,2), 131,6, 131,7 (7,2), 149,7 (2,4), 166,9 (2,0).

8.7.4 Tentativa de Comprovação de um Intermediário Volátil

Utilizando a mesma aparelhagem descrita em 8.7.3, porém com um dedo-frio com gelo seco/acetona no lugar do condensador, fez-se a mesma reação, desta vez usando como solvente dietilftalato. Ao balão **A**, contendo bis(2,4,6-triclorofenil)oxalato (207 mg, 0,46 mmol) em 20 mL de dietilftalato, foi adicionado, com o auxílio de uma seringa, 10 mL de uma solução de imidazol (50 mg, 0,73 mmol) e H_2O_2 (25 mmol) em dietilftalato, sob agitação e fluxo rápido de N_2 gelado. O balão **B** continha 30 mL de diclorometano, a -70°C . Uma alíquota retirada do balão **A** em presença de DPA emitia luz. Após alguns minutos de reação constatou-se que o balão **B** continha uma substância peroxídica e que, em presença de DPA ou rubreno, emitia luz. O solvente do balão **B** foi evaporado, observando-se a formação de um filme polimérico. Adicionou-se então 2 mL de

diclorometano e fez-se uma TLC em placa de SiO_2 , diclorometano/hexano (1:1), que demonstrou haver um composto peroxídico na origem ($R_f = 0,0$) e outro não peroxídico com $R_f = 0,19$. Injetando-se 1 μL desta solução (diluída 50 vezes) em um cromatógrafo a gás foi constatada a presença de 2,4,6-triclorofenol através da comparação com a amostra autêntica.

9. Referências

- ADAM, W. & Cilento, G., *Chemical & Biological Generation of Excited States*, Academic Press, New York (1982). Adam, W. & Cilento, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **22**, 529 (1983).
- ALVAREZ, F.J., Parekh, N.J., Matuszewski, B., Givens, R.S., Higuchi, T. & Schowen, R.L., *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 6435 (1986).
- BAADER, W.J., Lima, D.F. & Stevani, C.V., em *Bioluminescence and Chemiluminescence*, ed. por J.W. Hastings, L.J. Kricka & P.E. Stanley, John Wiley & Sons, pg. 16 (1996).
- BAKER, J.W. & Schumacher, I., *J. Am. Chem. Eng. Data*, **9**, 584 (1964).
- BARTLETT, P.D. & Pincock, R. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 1769 (1960).
- BAUMSTARK, A. L., Landis, M.E. & Brooks P., *J. Org. Chem.*, **44** (24), 4251 (1979).
- BRANDES, D. & Blaschette, A., *J. Organomet. Chem.*, **49**, C6-C8 (1973).
- BRUCE, T.C. & Holmquist, B., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 4028 (1967).
- BUNCLE, E. & Davis, A.G., *J. Chem Soc.*, 1550 (1958).
- CAMPBELL, A.K., *Chemiluminescence: Principles and Applications in Biology and Medicine*, Weinheim; Deerfield Beach, FL: VCH; Chichester: Horwood (1988).
- CATALANI, L.H. & Wilson, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **111** (7), 2633 (1989).
- CATHERALL, C.L.R., Palmer, T.F. & Cundall, R.B., *J. Chem. Soc. Faraday II*, **80**, 823, 836 (1984).
- Catherall, C.L.R., Palmer, T.F. & Cundall, R.B., *J. Biolumin. Chemilumin.*, **3**, 147 (1989).
- CHANDROSS, E.A., *Tetrahedron Lett.*, 761 (1963).
- CHANG, M.-M., Saji, T. & Bard, A.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 5399 (1977).
- CHOKSHI, H.P., Barbush, M., Carlson, R.G., Givens R.S., Kuwana, T. & Showen, R.L., *Biomed. Chromatog.*, **4**, 96 (1990).
- CLARKE, H.T. & Davis, A.W., *Org. Synth., coll. vol.*, 421 (1941).
- CORDES, H.F., Richter, H.P. & Heller, C.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 7209 (1969).
- COTTON, M.L. & Dunford, H.B., *Can. J. Chem.*, **51**, 582 (1973).
- DANNLEY, R.L. & Jalics, G., *J. Org. Chem.*, **40**, 2417 (1965).
- DECORPO, J.J., Baronavski, A., McDowell, M.V. & Saafeld, F.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 2879 (1972).
- DUNN, D.K., Michaliszyn, G.A., Bogacki, I.G. & Meighen, E.A., *Biochemistry*, **12**, 4911 (1973).
- EL SEOUD, O.A., Menegheli, P., Pires, P.A.R., & Kiyam, N.Z., *J. Phys. Org. Chem.*, **7**, 431 (1994).

- FAULKNER, L.R. & Glass, R.S., *em Chemical & Biological Generation of Excited States*, eds. Adam, W. & Cilento, G., Academic Press, New York, pg 197 (1982).
- FIFE, T.H., *Acc. Chem. Res.*, **26**, 325 (1993).
- GIGUÈRE, P.A. & Olmos, W., *Can. J. Chem.*, **30**, 821 (1952).
- GIVENS, R.S., Jencen, D.A., Riley, C.M., Stobaugh, J.F., Chokshi, H. & Hanaoka, N., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8** (6), 477 (1990).
- GMELIN, *Handbook of Inorganic Chemistry*, **16 P**, 24 (1966).
- GUNDERMANN, K.D., *Chemiluminescence in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (1987). Gundermann, K.D. & Steinfatt, M.F.D., *Angew. Chem.*, **87**, 546 (1975).
- HADD, A.G. & Birks, J.W., *J. Org. Chem.*, **61**, 2657 (1996).
- HASTINGS, J.W. & Weber, G., *Photochem. Photobiol.*, **4**, 1049 (1965). Hastings, J.W. & Weber, G., *J. Opt. Soc. Amer.*, **53**, 1410 (1963). Hasting, J.W. & Wilson, T., *Photochem. Photobiol.*, **23**, 461 (1976). Hastings, J.W. & Reynolds, G.T., *em Bioluminescence in Progress*, Princeton University Press, pg 45 (1966).
- HERCULES, D.M., *Acc. Chem. Res.*, **2**, 301 (1969).
- HIBBERT, F., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1862 (1974). Hibbert, F. & Awwal, A., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1598 (1977).
- HOHMAN, J.R., Givens, R.S., Carlson, R.G. & Orosz, G., *Tetrahedron Lett.*, **37** (46), 8273 (1996).
- HOZ, S., *Acta Chem. Scan.*, **46**, 503 (1992).
- JOHNSON, S.L., *Adv. Phys. Org. Chem.*, **5**, 237 (1967).
- KIRSCH, J.F. & Jencks, W.P., *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 833, 837 (1964).
- KOO, J-y & Schuster, G.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4496 (1978). Koo, J-y, Schmidt, S.P. & Schuster, G.B., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 30 (1978).
- KOPECKY, K.R. & Mumford, C., *Abstracts, 51st Annual Conference of the Chemical Institute of Canada, Vancouver - B.C.*, pg 41 (1968). Kopecky, K.R., Van de Sande, J.H. & Mumford C., *Can. J. Chem.*, **47**, 709 (1969).
- LEE, J. & Seliger, H.H., *Photochem. Photobiol.*, **4**, 1015 (1965). Lee, J., Wesley, A.S., Ferguson III, J.F. & Seliger, H.H., *em Bioluminescence in Progress*, Princeton University Press, pg 35 (1965).
- LECHTKEN, P. & Turro, N.J., *Mol. Photochem.*, **6** (1), 95 (1974).
- MARCUS, R.A., *J. Chem. Phys.*, **43**, 2654 (1965).
- MATSUMURA, Y, Shindo, M. & Okawara R., *J. Organomet. Chem.*, **27**, 357 (1971).

- MCCAPRA, F., *Chem. Commun.*, 155 (1968).
- MCELROY, W.D., Seliger, H.H. & White, E.H., *Photochem. Photobiol.*, **10**, 153 (1969).
- MENEGHELI, P., Farah, J.P.S. & El Seoud, O.A., *Ber. Bunseges. Phys. Chem.*, **95**, 1610 (1991).
- MICHAELIS, A. & Reese, A., *Ann. Chem.*, **233**, 39 (1886).
- MUROV, S.L., Carmichael, I. & Hug, G.L., *Handbook of Photochemistry*, Dekker, 2ª edição (1992).
- NEUHAUS, D. & Williamson, M., *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformation Analysis*, VCH, New York, p. 81, 1989.
- NEUVONEN, H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 159 (1987). Neuvonen, H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 945, 951 (1995).
- ORLOVIC, M., Schowen, R.L., Givens, R.S., Alvarez, F., Matszewski, B. & Nikhil, P., *J. Org. Chem.*, **54**, 3606 (1989).
- OROSZ, G., *Tetrahedron*, **45**, 3493 (1989).
- RADZISZEWSKI, Br., *Ber. Chem. Ges.*, **10**, 70 (1877).
- RAUHUT, M.M., Sheehan, D., Clarke, R.A. & Semsel, A.M., *Photochem. Photobiol.*, **4**, 1097 (1965). Rauhut, M.M., Bollyky, L.J., Roberts, B.G., Loy, M., Whitman, R.H., Iannotta, A.V., Semsel, A.M. & Clarke, R.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 6515 (1967). Rauhut, M.M., *Acc. Chem. Res.*, **2**, 80 (1969). Rauhut, M.M., Roberts, B.G., Maulding, D.R., Bergmark, W. & Coleman, R., *J. Org. Chem.*, **40**, 330 (1975).
- RAZUAVAEV, G.A., Dodonov, V.A., Mysyn, N.I. & Starostina, T.I., *J. Gen. Chem. U.S.S.R.*, **42**, 147 (1978).
- SADTLER ¹³C NMR Standard Spectra, Philadelphia, Sadtler Research Lab., Inc.; espectro nº 9018. Sadtler Standard Infrared Spectra, Midget Edition, Philadelphia-USA, 35544 (1969).
- SCANDOLA, F., Balzani, V. & Schuster, G.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2519 (1981).
- SCHUSTER, G.B., *Acc. Chem. Res.*, **12**, 366 (1979a). Schuster, G.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 5851 (1979b). Schuster, G.B. & Horn, K.A., *em Chemiluminescence in Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pg 229 (1987).
- SCHMIDT, S.P. & Schuster, G.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 1966 (1978).
- SHOOLERY, J.N., *Prog. NMR Spectrosc.*, **11**, 79 (1977).
- STAUDINGER, H., *Chem. Ber.*, **58**, 1075 (1925). Staudinger, H., Dyckerhoff, K., Klever, H.W. & Ruzicka, L., *Chem. Ber.*, **58**, 1079 (1925).
- STEINFATT, M.F.D., *J. Chem. Research*, **111**, 1040, 1930 (1984). Steinfatt, M.F.D., *J. Chem. Res.*, 1673 (1985).

- STEVANI, C.V., Lima, D.F., Toscano, V.G. & Baader, W.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 989 (1996a). Stevani, C.V., Campos, I.P de A. & Baader, W.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1645 (1996b). Stevani, C.V. & Baader, W.J., *J. Phys. Org. Chem.*, (1997), no prelo.
- SWERN, D., Witnauer, L.P., Eddy, C.R. & Parker, W.E., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 5537 (1955).
- TADDEI, M. & Ricci, A., *Synthesis*, **8**, 634 (1986).
- TOBY, S. & Ullrich, E., *Int. J. Chem. Kinet.*, **12** (8), 535 (1980). Toby, S., Sheth, S. & Toby, F.S., *Int. J. Chem. Kinet.*, **16** (2), 149 (1984).
- VENEZKY, D.L., Sink, C.W., Nevett, B.A. & Fortescue, W.F., *J. Organomet. Chem.*, **35**, 131 (1972).
- WHITE, E.H., Wildes, P.D., Wiecka, J., Doshan, H. & Wei, C.C., *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 7050 (1973).
- WIEDEMANN, E., *Ann. Phys. Chem.*, **34**, 446 (1888).
- WILSON, T., *Photochem. Photobiol.*, **62** (4), 601 (1995).
- ZUPANCIC, J.J., Horn, K.A. & Schuster, G.B., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5279 (1980).

10. Anexos

10.1 Variação do Φ_{CL} com a $[ACT]^{\#}$

[Rubreno] ^a (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^2$ (E mol ⁻¹)	[Perileno] ^b (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^2$ (E mol ⁻¹)	[DPA] ^b (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^3$ (E mol ⁻¹)
0,010	1,1	*0,050	0,23	0,10	0,35
0,025	2,5	*0,10	0,43	0,25	0,80
0,050	4,3	*0,20	0,82	0,50	1,5
0,075	5,6	0,25	1,7	0,75	2,2
0,10	6,8	0,50	2,6	1,0	3,0
0,25	9,7	0,75	3,3	2,5	5,8
*0,50	10	1,0	3,8	5,0	8,8

^a [1] = 0,40 mM, ^b [1] = 1,0 mM.

[DMOA] ^c (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^3$ (E mol ⁻¹)	[Antraceno] ^d (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^4$ (E mol ⁻¹)	[PPO] ^b (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^4$ (E mol ⁻¹)
0,050	0,30	0,25	0,98	*0,50	0,18
0,10	0,68	0,50	1,8	1,0	0,29
0,25	1,1	0,75	2,5	5,0	1,1
0,50	1,9	1,0	3,1	10	1,9
1,0	3,7	5,0	10,9	25	3,2
*2,5	6,3	*10	11,3	50	3,5
*5,0	7,6	*15	11	100	4,4

^c [1] = 1,25 mM, ^d [1] = 2,0 mM.

[DCNA] ^e (mM)	$\Phi_{CL} \times 10^6$ (E mol ⁻¹)
5,0 μ M	0,43
0,010	0,50
0,025	0,74
0,050	1,3
0,10	3,8
*0,25	4,1
*0,50	6,4

^e [1] = 2,50 mM.

[#] o valor médio da constante de decaimento é de $k_{obs} = (1,3 \pm 0,4)10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $N = 40$, $[IMI-H] = 1,0 \text{ mM}$.

* valores não utilizados na regressão linear de $1/\Phi_{CL}$ vs. $1/[ACT]$.

10.2 Espectros

Espectro 1: Infravermelho de uma amostra contendo o 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperóxalato, feita entre placas de KBr.

Espectro 2: Infravermelho de uma amostra contendo 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperóxalato, feita em solução de CCl₄, em cela de IRTRAN-2.

Espectro 3: Mesma amostra do Espectro 2 diluída 5 vezes.

Espectro 4: Espectrometria de massa por injeção direta de uma amostra de 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperoxalato.

Espectro 5: Espectro de RMN ^{13}C INVGATE (50 MHz, -10°C , acetona- d_6) do 4-clorofenil O,O-hidrogênio monoperoxalato (P), contendo como impurezas o ácido 4-clorofenil hidrogênio oxalato (A) e 4-clorofenol (F). Região dos carbonos aromáticos.

Espectro 6: Ídem ao Espectro 5 região das carbonilas.

Espectro 7: Ídem Espectro 5, após adição de KI.

Espectro 8: Ídem Espectro 6, após adição de KI.

Espectro 9: Espectro de RMN ^{13}C INVGATE (50 MHz, -10°C , acetona- d_6) do ácido 4-clorofenil hidrogênio oxalato. Ácido Oxálico (O).

Espectro 10: Infravermelho de uma amostra contendo 4,5-dioxo-2,2,2-trifenil-1,2,3-dioxastibolano (DTDS), feita em pastilha de KBr.

Espectro 11: Espectro de RMN ^{13}C INVGATE (50 MHz, 25 °C, DMSO-d_6) do DTDS. Com agente de relaxação ACAC-Cr.

Espectro 12: Espectro de RMN ^{13}C INVGATE (50 MHz, 25 °C, DMSO-d_6) do composto com $R_f = 0,33$, obtido no experimento 6.6.3 (parte Experimental). Com agente de relaxação ACAC-Cr.

10.3 Curriculum Vitae

DADOS PESSOAIS

CASSIUS VINICIUS STEVANI

Idade: 26

Estado civil: Solteiro

Nacionalidade: Brasileiro (São Paulo)

✉ R. Paraguaçu, 404 - A^{pto} 806,
05006-011 São Paulo - SP

☎ (011) 818-3814 - contato

💻 cvstevan@quim.iq.usp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA

GRADUAÇÃO

Bacharel em Química: Instituto de Química - USP, mar 1989 - jun 1992.

PÓS-GRADUAÇÃO

Doutorado: Fotoquímica Orgânica, IQ-USP, ago 1992 - set 1997.

PUBLICAÇÕES

- *Studies on the Mechanism of Peroxyoxalate Chemiluminescence*, C.V. Stevani, V. G. Toscano & W. J. Baader, *Atual. Fis. - Quim. Org.*, 441 (1995).
- *Kinetic Studies on the Peroxyoxalate Chemiluminescent Reaction: Imidazole as a Nucleophilic Catalyst*, C.V. Stevani, D.F. Lima, V.G. Toscano & W.J. Baader, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 989 (1996).
- *Synthesis and Characterisation of an Intermediate in the Peroxyoxalate Chemiluminescence: 4-Chlorophenyl O,O-Hydrogen Monoperoxyoxalate*, C.V. Stevani, I.P. de A. Campos & W.J. Baader, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1645 (1996).
- *On the Mechanism of the Peroxyoxalate Reaction: Synthesis and Chemiluminescence Characteristics of an Intermediate*, W.J. Baader, D.F. Lima & C.V. Stevani, *em Chemiluminescence and Bioluminescence*, eds. J.W. Hastings, L.J. Kricka & P.E. Stanley, John Wiley & Sons, pg 16 (1996).
- *Kinetic Studies on the Chemiluminescence Decomposition of an Isolated Intermediate in the Peroxyoxalate Reaction*, C.V. Stevani & W.J. Baader, *J. Phys. Org. Chem.*, (1997) no prelo.

ATIVIDADES DE ENSINO

- Monitoria no curso de graduação “Mecanismos de Reações Orgânicas”, IQ-USP, 1994.
- Monitoria no curso de graduação “Química Orgânica Experimental”, IQ-USP, 1995.
- Membro da banca corretora das provas do vestibular da PUC-SP, 1993 - 1997.

PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS

Nacionais

- Baader, W.J.; Stevani, C.V.; Toscano, V.G. & Schneider, F.W., *Estudos Cinéticos da Reação de Peróxi-Oxalato*. XV Reunião Anual da SBQ, Caxambu - MG, maio 1992. Financiamento: CNPq.
- Stevani, C.V.; Toscano, V.G. & Baader, W.J., *Tentativas de Síntese e Estudo de Intermediários Quimiluminescentes do Sistema Peróxi-oxalato*. XVII Reunião Anual da SBQ, Caxambu - MG, maio 1994. Financiamento: CNPq.
- Lima, D.F.; Stevani, C.V.; Carvalho, M.A.de; Baader, W.J. & Toscano, V.G., *Um Esquema Cinético Simplificado para a Reação Quimiluminescente de Peróxi-Oxalato*. XVIII Reunião Anual da SBQ, Caxambu - MG, maio 1995. Financiamento: CNPq.
- Stevani, C.V.; Toscano, V.G. & Baader, W.J., *Síntese, Caracterização e Estudo Cinético de um Intermediário da Reação do Sistema Peróxi-Oxalato*. XVIII Reunião Anual da SBQ, Caxambu - MG, maio 1995. Financiamento: CNPq.
- Baader, W.J. & Stevani, C.V., *Estudos Sobre o Envolvimento do Mecanismo CIEEL na Quimiluminescência da Reação Peróxi-Oxalato*. XX Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas - MG, maio 1997. Sem financiamento.
- da Silva, S.M.; Stevani, C.V. & Baader, W.J., *Estudos Cinéticos da Reação Peróxi-Oxalato*. XX Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas - MG, maio 1997. Sem financiamento.

Internacionais

- Baader, W.J. & Stevani, C.V. - Apresentação Oral, *Studies on the Mechanism of the Peroxyoxalate Chemiluminescence*, 3ª Conferência Latinoamericana de Físico-Química Orgânica, Florianópolis - SC, abril 1995. Financiamento: CNPq.
- Stevani, C.V., Toscano V. G. & Baader, W. J., *Studies on the Mechanism of Peroxyoxalate Chemiluminescence*, *Atual. Fis. - Quim. Org.*, 441 (1995). Anais da 3ª Conferência Latino-Americana de Físico-Química Orgânica, Florianópolis - SC.
- Baader, W.J.; Casallanovo Jr.; F., Lima, D.F. & Stevani, C.V., *Kinetics Studies on the Peroxyoxalate Chemiluminescence: Estimated Cyclization Rate Constant from the Hydrogen Peroxide Dependence*, Eighth Inter-American Photochemical Society Conference, Foz do Iguaçu - PR, maio 1996. Sem auxílio.
- Stevani, C.V. & Baader, W.J. - Apresentação Oral, *Chemiluminescence Properties of Monoperoxyoxalic Acid Mono(4-Chlorophenyl) Ester: An Intermediate in the Peroxyoxalate Reaction*, Eighth Inter-American Photochemical Society Conference, Foz do Iguaçu - PR, maio 1996. Sem auxílio.
- Baader, W.J., Lima, D.F. & Stevani, C.V. - Apresentação Oral, *On the Mechanism of the Peroxyoxalate Reaction: Synthesis and Chemiluminescence Characteristics of an Intermediate*. 9th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence, Woods Hole - MA, USA, outubro 1996. Financiamento: FAPESP.
- Baader, W.J., Nery, A.L.P., da Silva, S.M. & Stevani, C.V., *Studies on the Mechanism of Chemiexcitation: The Question of Electron Transfer in Chemiluminescence*, Dresdner Chemilumineszenz-Tage, Dresden - Sachsen, Deutschland, outubro 1997 (aceito).
- Baader, W.J., Albertini, R., Arribas, M.A.G., Röpke, S., Sakai, P.N., Sanches, A.M.M., Stevani, C.V., Umezu, I.S. & Yu, J., *Elaboration of Classroom Chemiluminescence Demonstrations in a Undergraduate Winter Course*, Dresdner Chemilumineszenz-Tage, Dresden - Sachsen, Deutschland, outubro 1997 (aceito).