UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Estudo da Termólise de
Dioxetanos Catalisada por
Transferência Intramolecular
de Elétron**

Ana Luiza Petillo Nery

TESE DE DOUTORADO

ORIENTADOR: *Prof. Dr. Josef Wilhelm Baader*

São Paulo

1997

“Estudo da Termólise de Dioxetanos Catalisada por Transferência Intramolecular de Elétron”.

ANA LUIZA PETILLO NERY

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)

Prof. Dr. ETELVINO JOSE HENRIQUES BECHARA
IQ - USP

Profa. Dra. HELENA MARIA CARVALHO FERRAZ
IQ - USP

Prof. Dr. NELSON EDUARDO DURÁN CABALLERO
IQ - UNICAMP

Prof. Dr. ANTONIO EDUARDO DA HORA MACHADO
UFU

SÃO PAULO
01 DE OUTUBRO DE 1997

Aos meus pais, pelo incentivo permanente.

***Ao Marcos, pela paciência, incentivo, amor e compreensão
durante toda esta caminhada.***

Agradecimentos

Ao Willi, pelo jeito acessível e próximo de ensinar e principalmente, pela confiança, liberdade, amizade e dedicação ao longo desses anos de convivência.

Ao Lique, que sempre se mostrou aberto a discussões.

À Daisy, por ter-se dado ao trabalho de ler a tese, pelas sugestões e pela correção do português. Ao Ivan, pelo interesse constante, pelas dicas e pelas longas discussões, científicas ou não.

Ao Xud's, ao Prof. Toscano e à Prof. Maria Eunice, pelo apoio em geral.

Ao pessoal do nosso laboratório: Pat, pela amizade, Décio e L.G., pela assessoria em informática, Sascha e Cassius, pela ajuda para que eu conseguisse corrigir a tese, Carlão, Valdecir, Ângela, Carminha, T.C., Luiz Gustavo, Tina e Jane, Magali, Edivaldo, Sandra e Jussara, Silvinha e também aqueles que eu, injustamente simplesmente esqueci. Às alunas da graduação, Sandrinha, Eliane e Yae, que contribuíram para a execução deste trabalho, praticando o verbo que o Willi melhor sabe conjugar em português: repetir.

Aos técnicos: Zé Mário, Miguel, Agda, Joaquim, Ênio, Nílza, Nê, Laerte e principalmente, à Adriana, pela disponibilidade, paciência e bom-humor.

Às indispensáveis secretárias: Sílvia e Magna.

Aos funcionários do IQ que, de alguma forma, também participaram deste trabalho: Chico e Jaílton do xerox, Roque, pelos espectros de RMN com hora marcada, e todo o pessoal da Central Analítica, ao pessoal da Biblioteca e das Secretarias de Graduação e Pós-Graduação.

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Índice

ABSTRACT.....	3
RESUMO.....	5
1. INTRODUÇÃO	7
1.1. PRINCÍPIOS FOTOFÍSICOS E FOTOQUÍMICOS DA QUIMILUMINESCÊNCIA	10
1.2. QUIMILUMINESCÊNCIA DE 1,2-DIOXETANOS	18
1.3. MECANISMOS DE DECOMPOSIÇÃO DE PERÓXIDOS CÍCLICOS	22
1.3.1. <i>Decomposição Unimolecular de 1,2-Dioxetanos</i>	22
1.3.2. <i>Decomposição Catalisada por Transferência de Elétron</i>	23
1.3.3. <i>Decomposição de 1,2-Dioxetanos via CIEEL Intramolecular</i>	29
1.4. TÉCNICAS UTILIZADAS NO ESTUDO DE 1,2-DIOXETANOS	37
1.4.1. <i>Preparação de 1,2-Dioxetanos</i>	37
1.4.2. <i>Determinação de Rendimentos Quânticos de Quimiluminescência</i>	39
1.4.3. <i>Determinação dos Parâmetros de Ativação</i>	52
2. OBJETIVOS.....	55
3. RESULTADOS.....	58
3.1. SÍNTESE DOS DIOXETANOS	58
3.1.1. <i>Síntese dos Dioxetanos I-IV</i>	58
3.1.2. <i>Síntese dos Precursores dos Dioxetanos V e VI</i>	62
3.1.3. <i>Preparação do 3-t-Butildimetilsililoxiacetaldeído (35)</i>	65
3.2. ESTUDOS FÍSICO-QUÍMICOS	66
3.2.1. <i>Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV</i>	66
3.2.2. <i>Decomposição dos Dioxetanos II e IV Catalisada por Íons Fluoreto</i>	72
4. DISCUSSÃO.....	78
4.1. SÍNTESE DOS DIOXETANOS I-IV	78
4.2. ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUIMILUMINESCENTES DOS DIOXETANOS I-IV	79
4.2.1. <i>Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV</i>	79
4.2.2. <i>Decomposição Catalisada por Fluoreto dos Dioxetanos II e IV</i>	81
5. CONCLUSÕES	90
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	91
6.1. SÍNTESE DOS DIOXETANOS	92
6.1.1. <i>Síntese do Dioxetano I</i>	92
6.1.2. <i>Síntese do Dioxetano II</i>	96
6.1.3. <i>Síntese do Dioxetano III</i>	100
6.1.4. <i>Síntese do Dioxetano IV</i>	104
6.1.5. <i>Obtenção do 3-t-Butildimetilsililoxiacetaldeído (35)</i>	108
6.1.6. <i>Tentativa de Obtenção do Dioxetano V</i>	111
6.1.7. <i>Tentativa de Obtenção do Dioxetano VI</i>	113
6.2. ESTUDOS FÍSICO-QUÍMICOS	115
6.2.1. <i>Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV</i>	116
6.2.2. <i>Determinação dos Rendimentos Quânticos de Quimiluminescência na Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV</i>	117
6.2.3. <i>Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto</i>	118
7. ANEXO 1.....	122
ESPECTROS.....	122

8. ANEXO 2.....	152
GRÁFICOS OBTIDOS NAS DETERMINAÇÕES DOS PARÂMETROS DE ATIVAÇÃO NAS DECOMPOSIÇÕES UNIMOLECULAR E CATALISADA POR FLUORETO DOS DIOXETANOS I-IV	152
8.1. DIOXETANO <u>I</u>	153
8.1.1. <i>Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular de <u>I</u></i>	153
8.1.2. <i>Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de <u>I</u></i>	154
8.2. DIOXETANO <u>II</u>	154
8.2.1. <i>Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular de <u>II</u></i>	154
8.2.2. <i>Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de <u>II</u></i>	155
8.2.3. <i>Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano <u>II</u> ([F]=1,3 mM)</i>	156
8.2.4. <i>Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano <u>II</u> ([F]=13 mM)</i>	157
8.2.5. <i>Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano <u>II</u> ([F]=32 mM)</i>	158
8.3. DIOXETANO <u>III</u>	159
8.3.1. <i>Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular do Dioxetano <u>III</u></i>	159
8.3.2. <i>Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de <u>III</u></i>	160
8.4. DIOXETANO <u>IV</u>	160
8.4.1. <i>Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular do Dioxetano <u>IV</u></i>	160
8.4.2. <i>Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de <u>IV</u></i>	161
8.4.3. <i>Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano <u>IV</u> ([F]=32 mM)</i>	162
9. BIBLIOGRAFIA.....	163

ABSTRACT

The generation of visible light by a living organism or by a chemical reaction is a sufficiently rare and unusual event to attract the interest of biologists, biochemists and chemists. The chemiluminescent reaction most extensively investigated over the past 25 years, is the thermolysis of 1,2-dioxetanes. These high energy molecules generate mainly triplet excited carbonyl compounds on thermal decomposition, except when the dioxetane ring bears electron-donating substituents. In the latter case, such labile dioxetanes follow an intramolecular electron transfer mechanism, probably via the CIEEL (Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence) pathway.

This work reports our results on the synthesis and the chemiluminescence properties of the dioxetanes **I** to **IV**. These compounds serve as models to distinguish between resonance electron transfer (dioxetane **II**) and through space electron transfer (dioxetane **IV**) in their fluoride-catalyzed decomposition.

The classical Kopecky method for the preparation of dioxetanes from the corresponding alkenes *via* β -bromohydroperoxides was the route used for the synthesis of **I** to **IV**. The dioxetanes were purified by low-temperature silica gel chromatography and characterized on the basis of their spectral data ($^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$).

Thermal decomposition of **I-IV** gave the expected cleavage products, the corresponding carbonyl compounds. For **I** and **II**, direct emission was observed with a maximum at 412 nm, while for **III** and **IV** it was necessary to use sensitizers for the detection and quantification of the electronically excited carbonyl compounds. Upon unimolecular decomposition, the dioxetanes **I-IV** show activation parameters and excited state yields expected for trisubstituted 1,2-dioxetanes; relatively high stability ($\Delta G^\ddagger \approx 25 \text{ kcal.mol}^{-1}$) and preferential formation of triplet excited states are observed. The excitation yields were determined by the well-established methods, in which 9,10-diphenylanthracene (DPA) is employed for singlet and 9,10-dibromoanthracene (DBA) for triplet state counting.

In the presence of tetrabutylammonium fluoride, which causes the deprotection of the phenol group to the corresponding phenolate, the decomposition rates of **II** and **IV** are increased drastically. The

deprotected derivatives decompose about 10^4 times faster than the protected ones, and a strong direct emission with a maximum at 560 nm is observed. The singlet quantum yields for the catalyzed decomposition of **II** and **IV** were 100 and 1,0 % respectively. The activation parameters for the fluoride catalyzed decomposition are considerably lower than that for the unimolecular one.

These facts indicate the occurrence of an intramolecular "Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence" (CIEEL) mechanism, leading to the preferential formation of singlet excited states.

The proposed mechanism, based on the CIEEL scheme, involves removal of the silyl protecting group, promoted by fluoride, to generate the phenoxy-anion, which subsequently acts as an electron donor to the dioxetane moiety, leading to dioxetane cleavage and excited states formation. The first electron transfer from the phenolate to the peroxide ring occurs with the same rate in both cases. Therefore, the observed difference between the singlet quantum yields indicate that the back electron transfer occurs with lower efficiency in the case of **IV**.

The observation of fluoride catalysis in the decomposition of dioxetane **IV** constitutes the first example of an intramolecular CIEEL mechanism in 1,2-dioxetanes initiated by electron transfer from a donor which is *not* directly bond to the peroxide ring ("through space electron transfer"). Moreover, as the chemiluminescence parameters, specifically the quantum yields of **II** and **IV**, can be explained based on the proposed pathways for the CIEEL mechanism, this work supplies additional evidence for the validity of this widely cited but still polemic mechanism.

Resumo

A química de 1,2-dioxetanos tem sido alvo de estudos intensivos desde sua primeira síntese há aproximadamente 25 anos atrás. Tais moléculas de alto conteúdo energético, quando termolisadas, geram dois compostos carbonílicos, um deles podendo ser formado em um estado eletronicamente excitado. Na termólise de dioxetanos contendo substituintes "simples" são formadas principalmente espécies excitadas triplete. Entretanto, quando o anel peroxidico contém substituintes doadores de elétrons, tais compostos tornam-se mais lábeis, sofrendo decomposição segundo o mecanismo de transferência de elétron denominado "Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence" (CIEEL).

Este trabalho relata a síntese e as propriedades quimiluminescentes dos dioxetanos **I** a **IV**. O estudo da decomposição em presença de íons fluoreto nos permite distinguir entre catálise por transferência de elétron através da ligação (dioxetano **II**) e através do espaço (dioxetano **IV**).

Na síntese de **I** a **IV** foi utilizado o clássico método de Kopecky para a obtenção de dioxetanos a partir das respectivas olefinas, *via* β -bromo-hidroperóxidos. Os 1,2-dioxetanos foram purificados através de cromatografia em coluna a baixas temperaturas e caracterizados pelos dados espectroscópicos (^1H -RMN e ^{13}C -RMN).

A decomposição unimolecular de **I-IV** forneceu apenas os produtos de clivagem esperados, os correspondentes compostos carbonílicos. Para **I** e **II**, foi observada emissão direta com um máximo em 412 nm, enquanto para **III** e **IV** foi necessária a utilização de sensibilizadores para a detecção e a quantificação de compostos carbonílicos eletronicamente excitados. Os parâmetros de ativação para a termólise de **I-IV**, determinados em tolueno a partir de gráficos de Eyring e de Arrhenius numa faixa de temperaturas de 65 a 80 °C, apresentaram valores muito semelhantes aos normalmente observados na decomposição unimolecular de dioxetanos trissubstituídos. Além disso, foram observados altos rendimentos quânticos de produtos carbonílicos excitados triplete, similar aqueles obtidos para 1,2-dioxetanos trissubstituídos contendo substituintes alquila e arila. Para a

determinação de rendimentos quânticos utilizou-se 9,10-difenilantraceno (DPA), para estados excitados singlete e 9,10-dibromoantraceno (DBA), no caso dos tripletes.

Em presença de íons fluoreto, as constantes de velocidade para a decomposição de **II** e **IV** são aproximadamente quatro ordens de grandeza superiores às observadas para a decomposição unimolecular à temperatura ambiente: os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) destes dioxetanos (81 e 24h, respectivamente), são reduzidos a aproximadamente 15s. Além disso, observa-se forte emissão em 560 nm devido à formação preferencial de estados excitados singlete. Os rendimentos quânticos singlete para a decomposição catalisada de **II** e **IV**, determinados através de medidas de emissão direta, foram 100 e 1,0 %, respectivamente. Os parâmetros de ativação determinados para as reações de decomposição catalisadas por fluoreto são consideravelmente mais baixos do que aqueles obtidos para as de decomposição unimolecular.

Para explicar os resultados obtidos, propusemos um mecanismo detalhado, baseado no esquema mecanístico CIEEL. A primeira transferência de elétron do fenolato gerado para o anel peroxídico ocorre com a mesma eficiência no caso de **II** e **IV**. Porém, a diferença observada entre os rendimentos quânticos singlete (ϕ^S) indica que, no caso de **IV**, a segunda transferência de elétron ocorre com eficiência consideravelmente mais baixa.

A observação de catálise na decomposição de **IV** constitui o primeiro exemplo de mecanismo CIEEL intramolecular em 1,2-dioxetanos iniciado pela transferência de elétron de um doador que não está diretamente ligado ao anel peroxídico (transferência de elétrons através do espaço). Além disso, como os parâmetros de quimiluminescência, especificamente os rendimentos quânticos obtidos para **II** e **IV**, podem ser explicados com base na proposta mecanística CIEEL, este trabalho pode ser considerado como mais uma evidência para a validade deste polêmico mecanismo.

1. Introdução

A geração de luz visível por um organismo vivo ou através de uma reação química é um evento tão peculiar a ponto de atrair o interesse de biólogos, bioquímicos e químicos. Eilhard Wiedemann foi o primeiro pesquisador a utilizar o termo “QUIMILUMINESCÊNCIA” para descrever reações químicas que emitem luz.¹

“Das bei chemischen Processen auftretende Leuchten würde Chemiluminescenz genannt”

(“A emissão de luz associada a processos químicos seria denominada quimiluminescência”).

Eilhard Wiedemann, 1888

Ao contrário de muitos processos naturais, é difícil atribuir a uma única pessoa a descoberta da quimiluminescência, entretanto, é possível identificar certas observações e experimentos responsáveis por esta primeira definição. No início do século XX, com o avanço científico e tecnológico levando a descobertas e teorias como a unidade de energia (“quanta”), teoria quântica do efeito fotoelétrico, quantização do átomo, visão de transferência de energia, princípio de exclusão de Pauli (spin do elétron), princípio da incerteza de Heisenberg, entre outras, foi possível associar quimiluminescência a reações químicas que produzem estados eletronicamente excitados, em quantidade necessária e com rapidez suficiente, permitindo a ocorrência de emissão de luz.

Da Sibéria ao Novo México, da Europa à China, os primeiros escritos da civilização humana contêm referências e mitologias sobre animais luminosos, tais como vaga-lumes ou pirilampos, e sobre fenômenos tais como corpos brilhantes e florestas incandescentes. Entretanto, foram os gregos os primeiros a relatar suas características peculiares. Aristóteles (384-322 AC) parece ser um dos primeiros escritores a relatar a “luz fria”. Os pirilampos foram denominados pelos gregos lamparinas porque brilham no escuro como uma faísca de fogo.¹

Hennig Brandt (ou Brand) era um físico que pretendia fazer fortuna através da alquimia. Em 1669, ele produziu um material, a partir da redução de sólidos obtidos de urina destilada, que possuía a propriedade marcante de brilhar no escuro produzindo uma luz azul. Esta primeira descoberta de quimiluminescência artificial, denominada apropriadamente de “phosphorous mirabilis”, luz milagrosa, é hoje uma conhecida propriedade do fósforo quando exposto ao oxigênio do ar.¹

Em analogia à quimiluminescência produzida pelo fósforo em contato com o oxigênio do ar, Boyle sugeriu a participação do oxigênio, ou derivados, em reações bioluminescentes, o que posteriormente pôde ser confirmado.

Nas últimas décadas, talvez estimulado pela mera peculiaridade e singularidade de tais eventos, o interesse em reações bio e quimiluminescentes tem crescido e se diversificado significativamente. Entretanto, até meados dos anos 70, artigos de revisão sobre quimiluminescência em solução podiam ser descritos como belos catálogos contendo uma série complexa de reações e alguns comentários mecanísticos ilustrados com exemplos em fase gasosa. Hoje, alguma ordem pode ser discernida no caos: três modelos extremamente simples de quimiluminescência em fase líquida representam um protótipo muito bem entendido de toda uma classe de reações. Tais modelos seriam: (i) a clivagem unimolecular de anéis peroxídicos de 4 membros, denominados 1,2-dioxetanos, (ii) a transferência de um elétron de um poderoso redutor para um oxidante e (iii) um mecanismo para quimiluminescência de certos peróxidos orgânicos em presença de hidrocarbonetos aromáticos policondensados, denominado “Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence” (CIEEL).²

No primeiro modelo descrito (Esquema 1), uma molécula de alto conteúdo energético sofre uma reação exotérmica, rearranjo ou fragmentação, gerando a molécula de produto num estado eletronicamente excitado. Se o estado excitado gerado é emissivo, observa-se emissão direta de quimiluminescência, caso contrário pode ocorrer a transferência de energia do estado excitado formado para uma molécula aceptora apropriada, resultando na emissão indireta de quimiluminescência. Entre os exemplos de reações quimiluminescentes incluídos neste esquema geral podemos citar a fragmentação unimolecular de 1,2-dioxetanos, o rearranjo do benzeno de Dewar e as clássicas reações quimiluminescentes do luminol.²

Esquema 1. Estados excitados de moléculas orgânicas gerados direta ou indiretamente através de uma reação exotérmica.

O segundo modelo geral para a produção de luz através de processos químicos, mostrado esquematicamente em termos de orbitais moleculares no Esquema 2, é conhecido sob a denominação de quimiluminescência gerada eletroquimicamente (“Electrogenerated Chemiluminescence”-

ECL).^{2,3} Segundo este mecanismo, uma molécula é reduzida no cátodo formando um ânion-radical e, num passo subsequente ou simultâneo, uma segunda molécula é oxidada no ânodo formando um cátion-radical. Após formação, os íons-radicais difundem-se através da solução e podem sofrer aniquilação. Considerações simples de orbitais moleculares predizem que esta aniquilação pode resultar na geração de um estado eletronicamente excitado, ou seja, pode ocorrer a transferência de um elétron do LUMO do ânion-radical ($A^{\cdot-}$) para o LUMO do cátion-radical ($B^{+\cdot}$), processo este responsável pela geração do estado eletronicamente excitado de B. Da mesma forma, pode ocorrer a transferência de elétron do HOMO de $A^{\cdot-}$ para o HOMO do cátion-radical ($B^{+\cdot}$), o que resulta na formação de A^* . A eficiência da formação do estado eletronicamente excitado depende, entre outros fatores, da energética da transformação.

Esquema 2. Quimiluminescência Gerada Eletroquimicamente pela Aniquilação de um Ânion-Radical e um Cátion-Radical.

O terceiro mecanismo geral proposto para a geração de estados eletronicamente excitados, denominado CIEEL (Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence),^{4,5} é uma combinação dos dois previamente descritos (Esquema 3). Em resumo, a sequência é iniciada pela transferência de um elétron de uma molécula doadora apropriada (ativador, ACT) para uma molécula orgânica de alto conteúdo energético (peróxido). Num passo subsequente, ocorre um rearranjo ou perda de um fragmento neutro, por exemplo dióxido de carbono, transformando o peróxido reduzido numa

espécie altamente redutora (ânion-radical). A aniquilação de carga gera o ativador (ACT) num estado eletronicamente excitado. Como no caso da quimiluminescência gerada eletroquimicamente (ECL), o processo de aniquilação dos íons-radicais é o verdadeiro responsável pelo passo da quimioexcitação, entretanto, no mecanismo CIEEL tais radicais são gerados quimicamente e não eletroquimicamente.

Esquema 3. Luminescência Iniciada Quimicamente pela Transferência de Elétrons (Mecanismo CIEEL).

Recentemente, a bio e quimiluminescência têm provocado grande impacto em análises bioquímicas, biologia celular, medicina e biotecnologia. A identificação de diversas funções biológicas, a classificação de reações bioluminescentes de diferentes organismos, a elucidação detalhada de um passo reacional, entre outros, são algumas das principais motivações para o estudo da bioluminescência.² O interesse em quimiluminescência deve-se à marcante sensibilidade e freqüente seletividade como ferramenta analítica. Como resultado, a quimiluminescência tem encontrado extensiva aplicação na detecção de traços de metais em solução⁶, de metabólitos e de uma série de substratos.^{7, 8} O desenvolvimento de uma fonte portátil e comercial de “luz fria” é também um dos motivos pelo interesse em reações quimiluminescentes.

1.1. Princípios Fotofísicos e Fotoquímicos da Quimiluminescência

O primeiro passo de um processo fotoquímico envolve a absorção de um quanta de luz (fóton) por uma molécula e, conseqüentemente, a produção de um estado eletronicamente excitado. A molécula não pode permanecer indefinidamente neste estado excitado, por ser este termodinamicamente instável em comparação ao estado fundamental. A Figura 1 ilustra de forma

simplificada os vários passos através dos quais um estado eletronicamente excitado (AB^*) pode dissipar seu excesso de energia.

Figura 1. Rotas Possíveis para a Desativação de Estados Eletronicamente Excitados.

Luminescência é conceituada primariamente como emissão de luz visível ou próxima do visível (300-800 nm), onde elétrons em orbitais superiores decaem para o estado fundamental.

Transições envolvendo a emissão de radiação são denominadas radiativas, sendo tais processos a base do estudo da fotofísica. A energia da radiação emitida é normalmente menor (comprimento de onda maior) do que aquela utilizada para gerar o estado eletronicamente excitado. A radiação emitida é denominada fluorescência, caso a multiplicidade de spin do estado eletronicamente excitado seja a mesma da do estado fundamental. Como a maioria das moléculas orgânicas possui estado fundamental singlete, a emissão de fluorescência é normalmente observada do estado excitado S_1 . No processo denominado fosforescência, a multiplicidade do spin do estado excitado é diferente daquela no estado fundamental (por ex. $T_1 \rightarrow S_0$). O diagrama da Figura 2, denominado Diagrama de Jablonski, indica todas as transições possíveis entre diferentes níveis de energia. Transições radiativas são “verticais” e envolvem uma variação na energia total da molécula devido à absorção ou emissão de um fóton. Conversões entre estados de mesma multiplicidade são denominadas conversões internas (IC) e para estados com diferentes multiplicidades de spin, o termo utilizado é cruzamento inter-sistemas (ISC). O cruzamento inter-sistemas do estado S_1 para T_1 , por

exemplo, deixa a molécula com algum excesso de energia vibracional, o qual é rapidamente dissipado através de colisões com moléculas do solvente, tal processo é denominado de relaxação vibracional (VR).

Figura 2. Diagrama de Jablonski.

Num processo **quimiluminescente**, o estado eletronicamente excitado é gerado através de uma reação química. A questão fundamental a respeito deste processo, o porquê de algumas reações gerarem produtos eletronicamente excitados, quando poderiam gerar as mesmas espécies no estado fundamental, continua até hoje, de certa forma, mal respondida, apesar de certos requisitos básicos serem facilmente identificados. Entretanto, antes de iniciarmos tal discussão, tentaremos expor sucintamente as características fundamentais de três tipos de reações, a saber, reação térmica exotérmica, reação fotoquímica (foto-energizada) e reação quimiluminescente (químio-energizada).

Numa reação térmica convencional (exotérmica), o calor absorvido pelo reagente, R₀, é utilizado para modificar ligações nas moléculas envolvidas e o excesso de energia é dissipado em forma de calor. O mecanismo proposto envolve a formação de um complexo ativado (≠) através do aquecimento, ocorrendo posteriormente a formação da molécula do produto num estado vibracionalmente excitado, o qual dissipa seu excesso de energia através da liberação de calor (Figura 3 - A).⁹

Além da ativação térmica, as moléculas podem ser induzidas a reagir através de irradiação num comprimento de onda apropriado. Conforme ilustrado na Figura 3 - B, numa reação fotoquímica (foto-energizada), a molécula do reagente, R_0 , absorve um fóton resultando num estado eletronicamente excitado R^* , o qual utiliza a energia eletrônica adquirida para promover uma reação química. O produto, gerado num estado vibracionalmente excitado (P^*), ao dissipar seu excesso de energia libera calor.⁹

Numa reação quimiluminescente (Figura 3 - C), a molécula excitada gerada possui uma estrutura diferente daquela do substrato inicial. O processo pode ser esquematizado da seguinte forma: o reagente no estado fundamental, R_0 , adquire energia térmica suficiente para originar o complexo ativado ($\ddagger$), o qual transforma-se no produto eletronicamente excitado (P^*). Neste caso, a exotermicidade favorável do processo quimio-energizado é uma condição necessária, mas não suficiente, para a formação do produto num estado eletronicamente excitado (P^*).⁹

Figura 3. Diagramas de Níveis Energéticos para: **A.** Reação Térmica Exotérmica, **B.** Reação Fotoquímica (foto-energizada) e **C.** Reação Quimiluminescente (quimio-energizada).

Apesar dos processos fotoquímico e quimiluminescente apresentarem características comuns, é importante salientar que, no primeiro caso, utiliza-se luz para gerar estados eletronicamente excitados, enquanto no segundo, estes são gerados através de energia liberada em uma reação química.

Basicamente, todas as seqüências de reações quimiluminescentes podem ser reduzidas a dois passos-chave: a excitação química e a emissão (eq. 1).

Um pré-requisito óbvio é que a molécula de produto seja capaz de receber a energia de excitação química e formar um estado eletronicamente excitado. Normalmente, para reações quimiluminescentes de moléculas orgânicas em solução, os estados excitados energeticamente acessíveis são os de hidrocarbonetos aromáticos e compostos carbonílicos. Para que a quimiluminescência seja observada, também é necessário que os produtos eletronicamente excitados sejam capazes de exibir luminescência nas condições reacionais.

Com certeza, o requisito mais estrito para a ocorrência da quimioexcitação é o fator energético, ou seja, a reação química deve fornecer a energia mínima necessária para que o produto seja formado em um estado eletronicamente excitado. Normalmente, a energia necessária para excitar cromóforos orgânicos está na faixa de 50-100 kcal.mol⁻¹, portanto, a energia requerida (ΔE^*) para povoar tais estados quimicamente deve ser fornecida pela reação. Além disso, numa sequência reacional contendo vários passos, tal energia deve ser proveniente de um único passo, devido à natureza essencialmente instantânea da excitação química. Numa sequência reacional, onde as etapas individuais são incapazes de fornecer a energia mínima necessária para a excitação, a energia liberada num passo anterior será dissipada em solução através de relaxação vibracional, não podendo estar disponível para suprir energeticamente o passo seguinte.² Desta forma, uma das mais importantes condições para que uma molécula sofra decomposição, sob a ação do calor, gerando produtos num estado eletronicamente excitado é que a soma da entalpia de ativação ($\Delta H^\ddagger$) e da entalpia de reação (ΔH_0) seja maior que a energia necessária para a excitação do produto formado (eq. 2).

$$-\Delta H_0 + \Delta H^\ddagger \geq \Delta E^* \quad (\text{eq. 2})$$

Apesar de necessária, a expressão (eq. 2) não representa uma condição suficiente para a ocorrência de quimiluminescência,² pois há outros fatores importantes a serem considerados. O Princípio de Frank Condon apresenta argumentos significativos, os quais atuam como base para a identificação de fatores que favorecem a formação de produtos no estado excitado. Em resumo, este princípio considera que a conversão entre estados eletrônicos ocorre sem que haja variações na geometria molecular. Movimentos nucleares ocorrem muito mais lentamente do que mudanças de estados e transferências de elétrons, os quais são processos instantâneos.

Tal princípio apresenta implicações importantes com respeito à geometria molecular, a qual afetará o rendimento quântico de uma reação quimiluminescente. Como a transformação do estado

fundamental para o estado excitado deve ocorrer sem mudanças na geometria, será mais fácil se a geometria do estado de transição da reação for similar à do estado excitado do cromóforo. Portanto, se a geometria do estado de transição da reação e a geometria do estado excitado do produto forem similares, a formação deste último num estado eletronicamente excitado será preferencial ao estado fundamental, pois será necessária uma menor re-estruturação geométrica.

O rearranjo quimiluminescente do benzeno de Dewar (**DB**) (eq. 3) e da acetofenona de Dewar (**DA**) (eq. 4) estão entre os exemplos que ilustram a importância da coincidência entre as geometrias do estado de transição e do estado excitado.¹⁰

A eficiência de formação de estados eletronicamente excitados, apesar de muito baixa, é aproximadamente a mesma em ambos os sistemas. Entretanto, como o estado excitado da acetofenona é *ca.* de 10 kcal.mol⁻¹ mais baixo que o do benzeno, deveríamos esperar, caso as considerações energéticas possuissem plena importância, rendimentos de estados excitados substancialmente superiores para **DA**, com relação a **DB**. Uma possível explicação para os resultados obtidos baseia-se nos fatores geométricos impostos pelo Princípio de Frank-Condon. Em **DA**, os processos-chave de quebra e formação de ligação ocorrem no anel benzênico, isolados da localização final da energia de excitação na região carbonílica. A energia do estado excitado de menor conteúdo energético da acetofenona, o qual possui caráter n-π*, é caracterizada por uma ligação carbonílica mais alongada. A geometria do estado de transição desta reação (eq. 4), entretanto, é provavelmente, caracterizada por uma ligação 3-6 carbono-carbono alongada e uma

ligação carbono-oxigênio de comprimento normal, não havendo portanto, coincidência razoável entre as geometrias do estado de transição e do produto no estado excitado.

Um outro exemplo da congruência entre as geometrias do estado de transição e do estado excitado é a decomposição quimiluminescente de 1,2-dioxetanos (eq. 6). O estado excitado de compostos carbonílicos excitados é tensionado, com o oxigênio *ca.* de 20° acima do plano formado pelo carbono e seus dois substituintes (R-C-R). A decomposição térmica de 1,2-dioxetanos gera produtos carbonílicos no estado excitado com altos rendimentos quânticos, tendo sido observado que as geometrias do reagente e do produto excitado são muito semelhantes.^{2, 11}

Os fatores geométricos impostos pelo Princípio de Frank-Condon impõem uma re-avaliação dos parâmetros da equação apresentada (eq. 2). Há necessidade de se adicionar um termo que leve em consideração a incongruência entre as geometrias do estado de transição e do estado excitado, pois ΔE^* (eq. 2) representa a energia do estado excitado com uma geometria relaxada. Se não há uma congruência geométrica, o estado excitado com uma geometria relaxada não é acessível. Neste caso, o cruzamento entre os estados fundamental e excitado deve ocorrer com uma geometria não-relaxada, de maior conteúdo energético. Desta forma, um fator geométrico $\Delta E'$ deve ser adicionado à expressão previamente descrita (eq. 2), para a determinação da energia requerida no processo quimiluminescente (eq. 5). Apesar das dificuldades para a determinação de $\Delta E'$, devido à necessidade de se preverem as superfícies de energia potencial, este parâmetro pode ser significativo e não deve ser negligenciado.

$$-\Delta H_0 + \Delta H^\ddagger \geq \Delta E^* + \Delta E' \quad (\text{eq. 5})$$

Uma condição alternativa, ainda que equivalente ao Princípio de Franck-Condon é a de que a molécula não pode aceitar uma grande quantidade de energia cinética, tornando-se mecanicamente excitada. Isso significa que, caso a energia de uma reação altamente exotérmica seja liberada em um intervalo de tempo da mesma ordem, ou inferior ao período de uma vibração, a formação de estados eletronicamente excitados é favorecida sobre a daqueles vibracionalmente excitados. Por isso, reações de transferência de elétron apresentam uma vantagem adicional com relação à formação de estados eletronicamente excitados. A transferência de elétron ocorre rapidamente, sem mudanças na geometria, e o processo, relativamente mais lento da dissipação de energia através da vibração da ligação, não é competitivo.

Um tratamento teórico, proposto por Marcus^{12, 13} para reações de transferência de elétron, quando apropriadamente modificado pode ser aplicado a reações quimiluminescentes. A importância da Teoria de Marcus reside no fato de se demonstrar que, outros fatores, além do energético, os

quais poderiam ser negligentemente denominados geométricos, são importantes para a determinação da ocorrência, ou não, de um processo quimiluminescente.

Marcus considera a probabilidade de formação de produtos no estado excitado em relação àquela no estado fundamental, numa reação de transferência de elétron, em termos da acessibilidade dos pontos que se cruzam na superfície de energia livre. A acessibilidade, ou energia livre de ativação, $\Delta G^\ddagger$, é relacionada à energia livre da reação, ΔG_0 . Para uma reação anterior a um determinado estado eletrônico, a barreira de $\Delta G^\ddagger$, inicialmente diminui à medida que ΔG_0 torna-se cada vez mais negativo. A seguir, começa a aumentar significativamente enquanto ΔG_0 continua a variar de forma negativa. Para reações altamente exergônicas, a barreira para a formação do estado fundamental, pode, na verdade, ser maior do que aquela para a formação do estado excitado. Na **Figura 4-A** está ilustrada uma situação onde a formação da espécie C em um estado eletronicamente excitado (C^*) é endotérmica, enquanto no estado fundamental é exotérmica, não havendo portanto qualquer outro caminho senão a formação do produto no estado fundamental. Na **Figura 4-B**, a curva dos reagentes $A+B$, e a de ambos os produtos, $C+D$ e C^*+D , cruzam-se, de modo que a formação de produtos tanto no estado fundamental quanto no excitado é exotérmica. Neste caso, é importante considerar a probabilidade de formação direta de produtos no estado fundamental em relação à de se gerar num estado eletronicamente excitado. Segundo a Teoria de Marcus, a probabilidade pode ser diretamente correlacionada às energias livres relativas de ativação ($\Delta G^\ddagger$ e $\Delta G^{\ddagger*}$) e às energias livres de reação (ΔG_0 e ΔG_0^*). Se a diferença entre as energias livres (ΔG_0 e ΔG_0^*) for grande, a variação entre as energias de ativação ($\Delta G^\ddagger$ e $\Delta G^{\ddagger*}$) também será. Negligenciando efeitos de entropia, a **Figura 4-B** ilustra uma situação onde a formação de produtos eletronicamente excitados é mais provável que o retorno ao estado fundamental, pois a variação de energia livre envolvida na formação do estado excitado é menor, $\Delta H^{\ddagger*} < \Delta H^\ddagger$. As curvas $A+B$ e C^*+D não se cruzam muito acima de seus mínimos, o que implica em haver apenas pequenas variações configuracionais entre o estado fundamental dos reagentes e o estado excitado dos produtos. A situação pode, entretanto, tornar-se complicada se houver acentuadas diferenças configuracionais entre os estados fundamental e excitado do produto. Tais diferenças podem resultar na diminuição da acessibilidade do estado excitado e, como consequência, numa acentuada redução nos rendimentos de quimioexcitação. A **Figura 4-C** ilustra uma situação onde a formação de produtos eletronicamente excitados é levemente endotérmica. Entretanto, à temperatura ambiente, o valor de kT é $0,52 \text{ kcal.mol}^{-1}$ o que significa que pequenas quantidades de energia podem ser fornecidas à reação química através de ativação térmica, permitindo assim a formação de estados

excitados a partir de uma reação endotérmica. Neste caso, a reação quimiluminescente pode ser observada, porém os produtos eletronicamente excitados são formados com baixos rendimentos quânticos.¹⁴

Figura 4. Diagramas de Coordenadas de Reação para Reações Químicas.

Apesar das dificuldades encontradas para se avaliarem os vários parâmetros propostos na Teoria de Marcus, especialmente aqueles influenciados por diferenças configuracionais, este tratamento apresenta uma descrição muito útil, contendo um sólido embasamento teórico.

Outros fatores podem influenciar a ocorrência de processos quimiluminescentes, como por exemplo o acoplamento spin-órbita, o qual poderia representar um papel significativo na determinação de rendimentos quânticos tripleto, especificamente em reações onde apenas o estado excitado tripleto é energeticamente acessível.

1.2. Quimiluminescência de 1,2-Dioxetanos

1,2-Dioxetanos são moléculas bastante intrigantes, alguns são extremamente instáveis, enquanto outros são estáveis por dias, meses ou até mesmo anos à temperatura ambiente. Além disso, quando aquecidos em solução, sofrem decomposição gerando dois compostos carbonílicos, um deles com boas chances de ser formado em um estado eletronicamente excitado (eq. 6).¹¹

No início do século, mesmo antes de serem preparados e isolados, 1,2-dioxetanos (A) e α -peróxilactonas (B) foram propostos como intermediários de reação.¹⁵ A estrutura, ainda hipotética, deste composto de alta energia, proposto novamente em 1966, como intermediário-chave em muitos sistemas bio e quimiluminescentes^{11, 16}, baseava-se nos seguintes fatos:

- a. A clivagem térmica em dois fragmentos carbonílicos deveria ser muito exotérmica, considerando o relaxamento da tensão anelar e a formação de duas ligações fortes carbonílicas, às custas da quebra de uma ligação fraca O—O e uma ligação C—C.
- b. Na estrutura do dioxetano, o grupo C—O está fora do plano de R₁—C—R₂, como nos estados excitados de aldeídos e cetonas, o que deveria favorecer a formação compostos carbonílicos excitados, sendo o conteúdo energético a ser dissipado na excitação vibracional menor.
- c. Normalmente, observam-se dois fragmentos carbonílicos entre os produtos de reações bio e quimiluminescentes.

O primeiro dioxetano a ser isolado e caracterizado, o 3,3,4-trimetil-1,2-dioxetano (TMD), foi preparado por Kopecky e Mumford em 1969.¹⁷ Ao contrário das expectativas, este dioxetano apresentava certa estabilidade. Quando aquecido, em solução a aproximadamente 50°C, sofria decomposição gerando acetona e acetaldeído como produtos, sendo observada uma fraca emissão de luz azulada.^{11,17}

Apesar de passados mais de 25 anos desde a preparação do primeiro 1,2-dioxetano, estes peróxidos cíclicos de 4 membros, ricos em energia, ainda continuam a despertar a atenção de pesquisadores. Centenas de dioxetanos já foram sintetizados e estudados em solventes orgânicos na esperança de se entender porquê um dos fragmentos carbonílicos é formado num estado eletronicamente excitado, com rendimentos quânticos que variam entre 1 e 60%.¹⁸ A termólise de 1,2-dioxetanos contendo substituintes simples, alquila, arila, alcoila, leva à formação preferencial de produtos carbonílicos excitados triplete. Estados excitados singlete também são observados, porém com rendimentos quânticos muito baixos, provavelmente devido a questões energéticas.¹⁹

Normalmente, em soluções, não se observa emissão de fosforescência, pois espécies excitadas triplete possuem tempos de vida longos, podendo ser desativadas antes que emitam. Portanto, em soluções contendo dioxetanos observa-se uma fraca emissão de luz, emissão esta devida à fluorescência dos poucos produtos carbonílicos excitados gerados no estado singlete. Partindo-se deste ponto de vista, dioxetanos podem ser considerados modelos inadequados para a elucidação de processos bioluminescentes intensos, onde ocorre a formação de espécies excitadas singlete com altos rendimentos quânticos. São entretanto, excelentes fontes de estados excitados.

A quimiluminescência de α -peroxilactonas (1,2-dioxetanona, **B**), entretanto, permite uma maior aproximação do processo de bioluminescência, pois tais compostos são propostos como precursores de espécies emissoras na reação bioluminescente de vários sistemas.²⁰ A síntese da primeira α -peroxilactona contendo um substituinte *t*-Bu (**TBL**) foi realizada em 1972.²¹ Desde então, apenas algumas α -peroxilactonas foram isoladas e estudadas. Tais estudos têm sido limitados pelas dificuldades sintéticas devido à labilidade térmica e catalítica desses compostos.²² A 3,3-dimetil-1,2-dioxetanona (**DDO**), por exemplo, é menos estável que um dioxetano comum, sendo observada em sua decomposição, a formação de acetona em estado eletronicamente excitado, principalmente triplete, com baixos rendimentos quânticos (eq. 7). Os rendimentos quânticos de espécies excitadas triplete e singlete formadas na termólise de **DDO** são 1,5% e 0,1%, respectivamente, mostrando que este modelo também falha no que diz respeito à compreensão de processos bioluminescentes.⁵

Entretanto, foi observado que alguns hidrocarbonetos aromáticos, com baixos potenciais de oxidação (ACT), podiam alterar o curso desta reação, acelerando a velocidade de decomposição e aumentando os rendimentos quânticos dos produtos excitados formados. Além disso, também foi constatado que a velocidade de decomposição de **DDO** dependia do potencial de oxidação e da concentração do ativador (ACT), e que a emissão observada era devida à fluorescência do mesmo ($^1\text{ACT}^*$) (eq. 8).^{5, 23, 24}

O conjunto de dados mostrava estar envolvido um caminho de reação no qual um processo de transferência de elétron, ou de carga, desempenhava um papel crítico. O mecanismo CIEEL (Chemically Initiated Electron Exchange Luminescence), proposto por Schuster^{4, 5} no final da década de 70, oferece uma boa explicação para as propriedades observadas.

Dioxetanos contendo substituintes “simples”, tais como: grupos alquila, alcoxila, acila ou arila, sofrem termólise segundo o mecanismo unimolecular (eq. 6), não existindo dados na literatura sobre a ocorrência de um mecanismo CIEEL intermolecular nestes casos. Entretanto,

quando o anel peroxidico contém substituintes doadores de elétron, tais compostos tornam-se mais lábeis, sofrendo decomposição segundo o mecanismo CIEEL intramolecular. Alguns exemplos de CIEEL intramolecular incluem o estudo de uma série de dioxetanos derivados de 9-alkilideno-10-metilacridinas (NMAD)^{25, 26} e de 1,6-diaril-2,5,7,8-tetraoxabicyclo-[2,4,0]-octanos (DTO).^{27, 28}

Como extensão deste fenômeno podemos citar a síntese e o comportamento de derivados de 1,2-dioxetanos contendo como substituintes os grupos espiroadamantila e *t*-butildimetilsililoxiarila (AMFPD).²⁹ A quimiluminescência

induzida por fluoreto destes 1,2-dioxetanos contendo o substituinte *t*-butildimetilsililoxifenila, gera estados excitados singlete com rendimentos na faixa de 30-50%,

além de se observar um aumento significativo na velocidade de decomposição (*ca.* 10^7 vezes), com relação à decomposição unimolecular.

1.3. Mecanismos de Decomposição de Peróxidos Cíclicos

1.3.1. Decomposição Unimolecular de 1,2-Dioxetanos

Até hoje não foi totalmente esclarecido o mecanismo operante na decomposição unimolecular de 1,2-dioxetanos, contendo substituintes simples e, por isso esses compostos continuam sendo alvo de investigações teóricas e experimentais.³⁰ A explicação para a formação preferencial de produtos excitados triplete e a influência de substituintes sobre a estabilidade do anel peroxidado são questões intimamente correlacionadas ao mecanismo de decomposição. Portanto, não é surpreendente que a elucidação deste complexo problema mecanístico tenha sido considerada uma meta de extrema importância desde a preparação do primeiro 1,2-dioxetano.

Três mecanismos: **concertado**, **concertado não-sincronizado** e **birradicalar**, cada um deles baseado em dados experimentais convincentes, foram postulados para explicar a decomposição unimolecular destes compostos.

Esquema 4. Mecanismos Propostos para a Decomposição Unimolecular de 1,2-Dioxetanos.

O mecanismo **concertado**, proposto por McCapra em 1968,³¹ sugere que as clivagens das ligações O-O e C-C e a formação das ligações C=O ocorram simultaneamente, levando à formação de produtos eletronicamente excitados. Embora este mecanismo fosse capaz de explicar os altos rendimentos de produtos excitados, a forma simples de sua concepção não fornecia ferramentas adequadas para explicar as altas relações triplete/singlete (Φ^T/Φ^S) observadas. Para solucionar a questão, Turro e Lechtken³² sugeriram que a mudança de multiplicidade de spin ocorria

simultaneamente à quebra da ligação O-O, através de um mecanismo de acoplamento spin-órbita, intensificado pela rotação da carga eletrônica em um átomo de oxigênio a 90° do eixo C-O.

Segundo o outro extremo mecanístico, o **birradicalar**, a clivagem da ligação fraca O-O deve gerar um intermediário birradicalar com tempo de vida curto, o qual num segundo passo, sofre clivagem dando origem aos produtos carbonílicos.³³ Esta hipótese baseava-se em cálculos termocinéticos e fornecia uma explicação razoável para a geração de estados excitados triplete, porém não explicava a formação preferencial de estados excitados $n-\pi^*$.^{34, 35} Se a reação ocorresse *via* um intermediário birradicalar com um tempo de vida apreciável, a preferência por um estado anti-simétrico $n-\pi^*$ do produto carbonílico com relação ao plano original do anel seria perdida, o que impede a explicação para tal seletividade de estado.

Uma prova inequívoca do envolvimento de um birradical no mecanismo de decomposição poderia ser obtida caso um experimento simples de seqüestro fosse realizado com sucesso. Tais experimentos, inicialmente apresentados como conclusivos,³⁶ na realidade não foram confirmados. Estudos posteriores indicaram que os produtos isolados provavelmente seriam provenientes da decomposição induzida do dioxetano pelo seqüestrador e não de um seqüestro propriamente dito.^{37, 38}

Turro e Devaquet³⁹ propuseram o mecanismo **concertado não-sincronizado**, segundo o qual a ligação fraca O-O cliva-se primeiro sendo entretanto, o processo geral concertado. Adam e Baader⁴⁰ usaram este mecanismo concertado não-sincronizado (com o nome de “merged mechanism”) para explicar a cinética e os rendimentos de excitação de uma série de dioxetanos substituídos por grupos metila. Esta proposta mecanística prediz que os produtos carbonílicos $n-\pi^*$ triplete devem ser favorecidos sobre os $\pi-\pi^*$, com base no acoplamento spin-órbita do primeiro.

Em suma, embora todas as propostas sejam bem fundamentadas, nenhuma delas é conclusiva.

1.3.2. Decomposição Catalisada por Transferência de Elétron

A emissão fraca de luz, observada na decomposição de 1,2-dioxetanos, pode ser realçada através da utilização de sensibilizadores: compostos com bons rendimentos quânticos de fluorescência, especialmente na região do visível.^{2, 11} Esta intensificação de emissão de luz ocorre devido a um processo de transferência de energia. Se os produtos eletronicamente excitados de uma reação possuem baixos rendimentos quânticos de fluorescência ou fosforescência, a transferência de energia entre esses produtos excitados, agindo como doadores, e o sensibilizador (Flu), agindo como

aceptor, pode resultar numa amplificação da intensidade de emissão de várias ordens de grandeza (eq. 9).

Tais processos constituem provas mecanísticas muito úteis, especialmente no caso de 1,2-dioxetanos com substituintes alifáticos, pois os fragmentos carbonílicos excitados correspondentes possuem baixos rendimentos quânticos de fluorescência. No papel de aceptores de energia, tais sensibilizadores não participam da reação de decomposição em si e, conseqüentemente, não alteram sua velocidade.

Em contraste com este comportamento, Schuster, em 1979,^{4,5} demonstrou que alguns peróxidos podiam reagir com determinados sensibilizadores, através de uma reação direta bimolecular, levando à formação do sensibilizador num estado excitado singlete, sem que houvesse a intervenção de um passo de transferência de energia. Neste caso, foi constatado que, tanto a velocidade de decomposição do peróxido quanto a intensidade de emissão aumentavam em presença do sensibilizador, o qual não era consumido durante o processo.

Segundo a nomenclatura adotada por Schuster, três tipos diferentes de quimiluminescência devem ser considerados no caso de peróxidos: (1) *quimiluminescência direta* - quando o emissor é um produto da reação (eq. 6), (2) *quimiluminescência indireta* - quando o emissor é excitado *via* transferência de energia por um produto excitado (eq. 9), (3) *quimiluminescência ativada* - quando uma reação direta bimolecular entre um peróxido rico em energia e um sensibilizador (o qual passa a ser chamado, neste caso, ativador: ACT, pois, como o próprio nome diz, ativa a decomposição do peróxido) leva à formação deste último num estado eletronicamente excitado *via* um novo caminho de reação (eq. 8).⁴¹

O primeiro exemplo de quimiluminescência ativada, o qual levou Schuster a postular o mecanismo de luminescência induzida quimicamente pela transferência de elétron (CIEEL), foi o da decomposição de um diacilperóxido, o difenoilperóxido (DPP), cuja termólise apresenta como produtos principais benzocumarina (BZ) e CO₂ (eq. 10).⁴

A decomposição de **DPP** formando **BZ** e CO_2 é exotérmica ($\Delta H = -70 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e a energia de ativação para esta reação é cerca de 24 kcal.mol^{-1} . Desta forma, no estado de transição, há aproximadamente 94 kcal.mol^{-1} disponíveis para a formação de produtos num estado eletronicamente excitado. A energia singlete da benzocumarina (**BZ**) é estimada em 88 kcal.mol^{-1} , portanto, a formação de **BZ** num estado excitado singlete é termodinamicamente permitida.⁴ Entretanto, foi observado que benzocumarina (**BZ**) foto-excitada não fluoresce, portanto, durante a termólise do difenoilperóxido (**DPP**) não se espera, nem se observa, a ocorrência de quimiluminescência. Caso benzocumarina (**BZ**) fosse formada em um estado eletronicamente excitado durante a reação, sua presença poderia ser facilmente comprovada por um sensibilizador apropriado, para o qual a energia do estado excitado seria transferida. Tanto biacetila, que possui estados emissivos singlete e triplete acessíveis, quanto DBA (9,10-dibromoantraceno), o qual pode submeter-se ao processo de transferência de energia singlete-singlete e triplete-singlete, foram testados como sensibilizadores na decomposição do **DPP**, sem que qualquer quimiluminescência indireta fosse observada. Tais sensibilizadores são padrões para a detecção de estados excitados triplete na decomposição de 1,2-dioxetanos. Entretanto, quando alguns hidrocarbonetos aromáticos facilmente oxidáveis foram adicionados às soluções de **DPP**, foi observada uma intensa quimiluminescência, cujo espectro de emissão coincidia com a fluorescência do “ativador” (ACT) utilizado.^{4,5,23} Contudo, os altos rendimentos quânticos de quimiluminescência relatados por Schuster, $\Phi_{\text{CHL}} = 0,1 \text{ E.mol}^{-1}$, infelizmente não foram confirmados.⁴ Na verdade, os rendimentos quânticos, posteriormente re-determinados, eram bastante desapontadores, com valores da ordem de $10^{-4} \text{ E.mol}^{-1}$.⁴²

Duas observações levaram Schuster a postular o mecanismo CIEEL: (i) a constante de velocidade de primeira ordem observada (k_{obs}) e a intensidade de emissão para a decomposição de **DPP** dependiam linearmente da concentração do ativador (eq. 11).

$$k_{\text{obs}} = k_1 + k_2[\text{ACT}] \quad (\text{eq. 11})$$

(ii) a constante de velocidade bimolecular (k_2) correlacionava-se inversamente com o potencial de oxidação de um elétron do ativador, ou seja, quanto mais baixo o potencial de oxidação do ativador, maior k_2 . Experimentos com seis ativadores aromáticos (rubreno, naftaceno, perileno, DPA coroneno e pireno) com potenciais de oxidação (E_{ox}) variando de 0,82 a 1,36 V vs. SCE (eletrodo padrão de calomelano) apresentaram uma correlação linear entre $\ln k_2$ e o E_{ox} (Figura 5).^{4, 5}

Figura 5: Correlação entre a magnitude de k_2 e o potencial de oxidação (E_{oxid}) dos ativadores na decomposição do difenoilperóxido (DPP).^{4, 5}

Logo após tais estudos com **DPP**, foi verificado que as mesmas regras empíricas pareciam governar a decomposição da 3,3-dimetil-1,2-dioxetanona (**DDO**) em presença de vários ativadores.²⁴ A termólise de **DDO**, em diclorometano ou benzeno, apresentava como produtos acetona, em rendimento quantitativo, CO_2 e luz (eq. 7, pág.20). A acetona era formada nos estados excitados triplete e singlete, com rendimentos de 1,5 e 0,1%, respectivamente.²⁴ Entretanto, foi observado que em presença de ativadores facilmente oxidáveis, a reação tomava uma nova rota. Na ausência de um ativador, a 25°C, em solução benzênica, **DDO** apresentava um tempo de meia-vida de aproximadamente 1000 s. Porém, quando DMAC (*N,N*-dimetildi-hidroibenzo[a,c]fenazina) em concentração $1 \times 10^{-3} M$ era adicionado a esta solução, o tempo de meia-vida era reduzido a menos de 5s, formava-se acetona quantitativamente e a reação seguia uma cinética de primeira ordem, tanto na ausência quanto na presença do ativador.²³ Outros ativadores também foram testados apresentando comportamento similar. A aceleração da velocidade de decomposição era proporcional à concentração do ativador. Além disso, a magnitude da constante de velocidade bimolecular (k_2) e a intensidade inicial de quimiluminescência dependiam do potencial de oxidação (E_{ox}) do ativador utilizado.

O mecanismo CIEEL, observado no processo de quimiluminescência ativada de **DDO** é análogo àquele inicialmente proposto para a decomposição de **DPP**, sendo este último composto mais estável do que o primeiro e, portanto, mais fácil de se estudar.^{4, 5} A sequência proposta para a formação de estados eletronicamente excitados é mostrada no Esquema 5. Num primeiro passo, o ativador (ACT) e **DDO** formam um complexo de encontro. Quando **DDO** é ativada termicamente, a ligação fraca O-O é alongada, a energia do orbital anti-ligante mais baixo decresce e, como resultado, a afinidade eletrônica aumenta até o ponto onde a transferência de um elétron do ativador para o peróxido torna-se energeticamente viável. A energia requerida para se atingir este ponto é menor do que aquela envolvida na quebra da ligação O-O ou na formação do cátion-radical do ativador isolado. A transferência de um elétron do ativador para o peróxido ocorre, provavelmente, simultaneamente à quebra total da ligação O-O. Esse processo dispara uma série de eventos em cascata: a ruptura da ligação C-C e liberação de CO₂, ocorrendo a formação de um par de íons-radicais (cátion-radical de ACT e ânion-radical da acetona) em contato dentro da gaiola de solvente. A finalização da sequência ocorre no momento em que as cargas desses dois íons-radicais sofrem aniquilação, processo este que libera energia suficiente para gerar ACT no primeiro estado excitado singlete. Como todos esses eventos são extremamente rápidos, sendo o passo final uma retro-transferência de um elétron para ACT, a idéia é que não haja chance para a ocorrência de uma inversão de spin, daí o fato de ACT ser formado no estado excitado singlete.

Esquema 5: Mecanismo CIEEL para a Decomposição da 3,3-Dimetil-1,2-Dioxetanona (**DDO**) (ACT=Ativador)

Uma outra evidência de que os ativadores realmente catalisam a formação de estados excitados singlete pode ser obtida a partir da dependência entre a intensidade instantânea de quimiluminescência e a temperatura. Este experimento fornece a energia de ativação para aquela fração da reação que conduz à fluorescência do ativador (E_{chl}). Enquanto na ausência de um ativador, a energia de ativação para a formação de acetona singlete, E_{chl} , é de $(24,8 \pm 0,4)$ kcal.mol⁻¹, na decomposição ativada de **DDO** em CH₂Cl₂, para a formação de pireno excitado, por exemplo, $E_{chl} = (16,1 \pm 0,6)$ kcal.mol⁻¹.²⁴ É importante salientar que no caso de **DDO** a decomposição unimolecular (eq. 7) compete com a reação ativada (Esquema 5).

A quimiluminescência de peróxi-ésteres acíclicos também é controlada por uma competição entre os caminhos unimolecular e bimolecular.⁴¹ A termólise de 1-feniletilperoxiacetato (**PPA**), em solução benzênica a 95°C, resulta em ácido acético e acetofenona (eq. 12). Na presença de biacetila, utilizado comoceptor de energia, foi detectada uma quimiluminescência fraca, resultante da conversão unimolecular de **PPA** a acetofenona.²³ Entretanto, quando a esta solução benzênica de peróxido, adiciona-se pequena quantidade de uma substância facilmente oxidável, a termólise toma um novo rumo, isto é, os ativadores aceleram a reação de decomposição sem que sejam consumidos.

Os produtos da reação, ácido acético e acetofenona, são formados quantitativamente, como na decomposição não-catalisada. Porém, os estados excitados formados foram detectados como sendo devidos à emissão de fluorescência do ativador utilizado. O mecanismo CIEEL, proposto para a decomposição catalisada de **PPA**, é idêntico ao descrito para **DDO** (Esquema 5).²³

Apesar das evidências em seu favor, pode ainda ser cedo para se afirmar que o esquema proposto para o mecanismo CIEEL esteja totalmente comprovado e não simplesmente abordado como uma hipótese provável. Muitas reações simples em fase gasosa, até hoje, não tiveram seu mecanismo totalmente esclarecido, portanto, não é surpreendente que um processo tão complexo como o proposto por Schuster, envolvendo duas transferências sucessivas de elétrons, clivagens de ligações e mudanças na superfície de potencial eletrônico, ainda não esteja totalmente estabelecido.

1.3.3. Decomposição de 1,2-Dioxetanos via CIEEL Intramolecular

Se identificar a ocorrência de transferência de elétron é difícil no caso das reações intermoleculares, a obtenção de provas de uma transferência intramolecular total de um elétron é uma tarefa ainda mais árdua e complexa. Exatamente nestes casos a extensão da hipótese CIEEL torna-se ainda mais excitante, pois fornece uma explicação imediata para os altos rendimentos de produtos excitados singlete em muitos sistemas bioluminescentes, onde um anel peroxídico de 4 membros é proposto como intermediário.

Segundo a terminologia utilizada para bioluminescência, as enzimas são denominadas luciferases e os substratos luciferinas. Estes são termos genéricos que não implicam na identidade de enzimas e substratos entre os diferentes organismos bioluminescentes.

A luciferina do vaga-lume (**LVL**) possui um núcleo constituído pelo grupo benzotiazol e é um dos exemplos de processos bioluminescentes mais intensamente estudados. Há fortes evidências de que a oxidação catalisada por luciferase deste substrato (**LVL**) ocorre através da formação do intermediário α -peroxilactona (**APL**). Em 1966, White⁴³ descreveu o efeito de vários substituintes no processo de bioluminescência “in vitro” da luciferina do vaga-lume. Foi observado que, apesar de **LVL****a-e** sofrerem oxidação gerando as correspondentes oxiluciferinas (**OLCa-e**), apenas no caso da luciferina natural (**LVL****a**) e da aminossustituída (**LVL****c**) ocorria o processo de bioluminescência (Esquema 6). Tais observações foram atribuídas a uma transferência “interna” de elétrons dos substituintes doadores (O^- e NH_2) para o anel dioxetânico, gerando, após descarboxilação, as respectivas oxiluciferinas (**OLC**) com altos rendimentos de espécies excitadas singlete.

Esquema 6. Mecanismo Proposto para o Processo de Bioluminescência do Vaga-Lume.

Anos mais tarde, Lee & Singer,²⁶ utilizando **NMAD** contendo diferentes substituintes, reforçaram a proposta de que a decomposição ocorria via íons-radicais, sendo o processo de excitação resultado de uma transferência intramolecular de elétron (CIEEL Intramolecular).

Os estudos das propriedades do 1-(1-metil-3-indolil)-6-fenil-2,5,7,8-tetraoxabicyclo[2,4,0]-1,2-dioxetano (**BID**), composto este muito instável, revelaram mais um exemplo de CIEEL intramolecular.⁴⁶ Neste caso, o substituinte β -indolila apresenta duas propriedades fundamentais para ocorrência e observação do mecanismo CIEEL intramolecular: é bom doador de elétron e

fortemente fluorescente. Em solventes apolares, o espectro de quimiluminescência mostrava apenas um pico (320 nm), coincidente com o espectro de fluorescência do produto (diéster). Entretanto, em solventes polares, um segundo pico de emissão aparecia em um comprimento de onda mais longo (400 nm), o que foi atribuído à formação de um exciplex (complexo de transferência de carga no estado excitado) estabilizado pelo solvente.

Idéias muito similares foram propostas por Schaap e colaboradores para explicar a instabilidade de dioxetanos derivados de 1,6-diaril-2,5,7,8-tetraoxabicyclo-[2,4,0]-octanos (**DTOX**), quando substituídos por grupos facilmente oxidáveis tais como NH_2 .²⁷ Foi observado que a facilidade de oxidação do substituinte aromático influenciava fortemente tanto a estabilidade quanto os rendimentos de quimiluminescência de **DTOX**. Quando $\text{X}=\text{H}$ ou

$\text{X}=\text{OMe}$, a estabilidade dos compostos era comparável à de 1,2-dioxetanos simples e as espécies excitadas formadas eram predominantemente tripletes. Entretanto, quando X era substituído por um grupo facilmente oxidável, **DTOX** tornava-se substancialmente desestabilizado e sua decomposição gerava estados excitados singlete com altos rendimentos. O comportamento de **DTOX** era bastante semelhante ao de alguns sistemas bioluminescentes conhecidos e o mecanismo proposto para explicar tais observações envolvia a transferência intramolecular de elétron.

Utilizando um padrão de substituição muito semelhante a **DTOX**, o estudo de dioxetanos derivados de 1,6-diaril-2,5,7,8-tetraoxabicyclo-[2,4,0]-octanos (**DTO**) contribuiu como mais um exemplo ilustrativo deste comportamento peculiar (eq. 13).²⁸

- a. X=H
- b. X=OMe
- c. X=OH
- d. X=O⁻

Este exemplo, em particular, foi de relevante importância para a elucidação do processo de bioluminescência do vaga-lume. Os dioxetanos **DTOa-c** apresentavam comportamento semelhante a dioxetanos simples: eram relativamente estáveis ($t_{1/2} \approx 2-3$ dias, 25°C) e, quando decompostos sob aquecimento, davam origem a produtos carbonílicos excitados triplete. Entretanto, quando **DTOc** era desprotonado, resultando no dioxetano fenoxissubstituído **DTOd**, suas propriedades mudavam drasticamente. O comportamento então observado era análogo ao do intermediário proposto no mecanismo de bioluminescência do vaga-lume (**APLa**). Enquanto **DTOc** possuía um tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) de aproximadamente 17 anos a -30 °C, ao ser tratado com base a esta temperatura, gerando **DTOd**, podia-se observar imediatamente um relâmpago de luz brilhante azulada.²⁸

No final da década de 80, Schaap divulgou os resultados obtidos a partir do estudo das propriedades de um composto termicamente estável, cuja decomposição podia ser iniciada instantaneamente através de uma reação química.^{29, 47, 48} Entre os compostos preparados e estudados, 1,2-dioxetanos contendo como substituintes os grupos espiroadamantila e *t*-butildimetilsililoxiarila (**AMFPD**), por exemplo, apresentavam alta estabilidade térmica ($t_{1/2} \approx 3$ anos, 25°C) devido à presença do substituinte adamantila, estericamente impedido. Todavia, se o grupo protetor era removido, a decomposição tornava-se extremamente rápida e os rendimentos de quimiluminescência muito altos (*ca.* de 20%), o que corresponde a um rendimento de espécies excitadas singlete de aproximadamente 50%.²⁹

Com base nestas propriedades, a substituição do grupo protetor silila, por outro que pudesse ser enzimaticamente removido, tornava infinito o número de aplicações analíticas associadas a tais compostos. O dioxetano **AMPPD**, contendo o substituinte fosfato, o qual pode ser removido através da ação da fosfatase alcalina (**AP**), foi responsável pelos excepcionais avanços científicos alcançados no desenvolvimento de uma nova geração de métodos simples, rápidos e ultra-sensíveis de análises de DNA.

A detecção e quantificação de seqüências específicas de DNA e RNA pode ser realizada utilizando-se o procedimento originalmente desenvolvido por Southern,⁴⁹ denominado “Southern

blotting”. A técnica envolve a transferência de fragmentos de DNA, eletroforéticamente separados, de um gel para uma membrana suporte, seguida de hibridização com uma sonda marcada. A membrana é, então, lavada e a sequência de interesse detectada através de auto-radiografia. A detecção normalmente é realizada através da utilização de nuclídeos radioativos, tais como ^{32}P ou ^{35}S , entretanto vários marcadores não-isotópicos, entre eles enzimas (fosfatase ácida, fosfatase alcalina, peroxidase de raiz forte), podem ser usados como alternativa aos nuclídeos radioativos. O uso de marcadores enzimáticos, combinado a um método de detecção luminescente ultra-sensível constitui a base da utilização de **AMPPD** como substrato no sistema de detecção de DNA desenvolvido pela Tropic Inc., denominado “Southern Light” (Figura 6), apresentado como alternativa à utilização de nuclídeos radioativos.⁵⁰

O **AMPPD** incorpora várias funções importantes, entre elas, a estabilidade térmica ($t_{1/2} \approx 1,2$ anos, 30°C , $\text{pH}=12$), facilidade de obtenção e a presença de um sítio de ativação devido ao substituinte fosfato, o qual pode ser clivado através da ação de uma enzima apropriada. O mecanismo proposto para a decomposição quimiluminescente de **AMPPD** envolve, em um primeiro passo, a desfosforilação provocada pela ação da fosfatase alcalina, gerando um ânion instável (**AMPD**). A seguir, ocorre a transferência de elétron do fenolato gerado para o anel peroxídico e a clivagem deste último. Finalmente ocorre a retro-transferência de elétron, processo este responsável pela formação de espécies eletronicamente excitadas.

O procedimento para a execução do “Southern Light” é relativamente simples e não requer equipamentos especiais (Figura 6). Inicialmente, o fragmento de DNA a ser estudado é clivado por uma endonuclease. Os fragmentos clivados são então separados eletroforéticamente através de uma membrana gelatinosa. Em seguida, após desnaturação, as fitas simples de DNA são transferidas para uma superfície de náilon. A seguir, uma fita simples de DNA marcada com biotina, de sequência conhecida, é adicionada à membrana e incubada, com a finalidade de permitir a re-hibridização. Após incubação, a membrana é lavada para retirar os fragmentos que não sofreram hibridização. Sobre a membrana é então adicionado um reagente denominado AVIDX-AP (proteína avidina conjugada à enzima fosfatase), a avidina é uma proteína com forte afinidade pela biotina, marcador do DNA. Finalmente, adiciona-se solução de **AMPPD**. Caso tenha ocorrido re-hibridização, a fosfatase deve desencadear o processo de decomposição deste último e a emissão de luz observada pode ser projetada num filme fotográfico.⁵⁰ A emissão é intensa e pode durar até 30 minutos, pois o $t_{1/2}$ do ânion **AMPD** varia de 2 a 30 min, dependendo das condições utilizadas.

Além da detecção e quantificação de sequências específicas de DNA e RNA, o teste também pode ser utilizado para a detecção de fosfatase alcalina, sondas de ácidos nucleicos e outros ligantes.

O método é extremamente sensível, podem-se detectar até 10^{-20} mols de fosfatase na membrana.⁵¹ Além disso, através desta técnica, foi possível o desenvolvimento de métodos de detecção de vários organismos como o Vírus I da Herpes simplex,⁵² o Vírus da Hepatite B,⁵³ a *Chlamydia trachomatis*,⁵⁴ além de testes imunológicos do tipo ELISA. A tirotropina,⁵⁵ um hormônio estimulante da tireóide, a α -fetoproteína,⁵⁶ monitorada em diagnósticos de pré-natal, e a β -galactosidase⁵⁷ podem ser quantificadas através destes imunoensaios.

Figura 6. Teste “Southern Light” Utilizado no Seqüenciamento de DNA.

A busca por novas estruturas de “estados eletronicamente excitados mascarados” em forma de compostos relativamente estáveis, não parou, aliás continua sendo intensa.^{58, 59} As abordagens visam principalmente altos rendimentos quânticos e especificidades enzimáticas.^{60, 61}

Dentre as tentativas de obtenção de compostos com propriedades semelhantes a **AMPPD**, podemos citar 1,2-dioxetanos contendo como substituinte o grupo benzofurano (**BZSD**).^{62,63} Os estudos das propriedades quimiluminescentes revelaram a ocorrência do mecanismo CIEEL na decomposição induzida por base de **BZSDa**⁶² e por fluoreto de **BZSDb**⁶³. Além disso, foi observado que os isômeros *meta*-substituídos apresentavam maiores rendimentos quânticos de quimiluminescência (Φ_{CIEEL}), quando comparados aos *para*- e *orto*-substituídos. Todavia, a eficiência de emissão de luz era significativamente inferior àquela observada para a decomposição catalisada de **AMPPD**, $\Phi_{\text{CIEEL}} \cong 10^{-7} \text{ E.mol}^{-1}$, o que instigava a procura por compostos que desempenhassem um papel mais efetivo quanto ao “disparo” do mecanismo CIEEL.

Nesta mesma linha de pesquisa, Adam e colaboradores⁶⁴ relataram a preparação e as propriedades quimiluminescentes de 1,2-dioxetanos contendo como substituinte o grupo indolina N-acetilado (**INAD**). Em contraste com os 1,2-dioxetanos contendo o substituinte indolina “desprotegido” (grupo NH livre), os quais são bastante lábeis, tais compostos são bem mais estáveis, pois o substituinte N-alcoxycarbonila reduz a densidade eletrônica sobre o átomo de nitrogênio, podendo ser isolados em coluna cromatográfica a baixas temperaturas. Os autores tinham como objetivo preparar compostos relativamente estáveis, cuja decomposição pudesse ser facilmente “disparada” através da desproteção do substituinte indolina, para investigar o mecanismo CIEEL. A entalpia de ativação determinada para a termólise de **INAD** (19,3 kcal.mol⁻¹) é aproximadamente 4 kcal.mol⁻¹ inferior aos valores normalmente obtidos para a decomposição unimolecular de 1,2-dioxetanos, o que mostra a baixa estabilidade térmica de tais compostos, mesmo em presença do grupo protetor. Entretanto, como normalmente observado, os rendimentos quânticos triplete são significativamente superiores aos singlete ($\Phi^T/\Phi^S \cong 40$). A presença de íons fluoreto induz à rápida decomposição de **INAD** com apreciável emissão de luz, consideravelmente superior àquela observada na decomposição térmica. O mecanismo proposto envolve, em uma primeira etapa, a remoção do grupo protetor N-silila, através da ação de íons fluoreto, gerando o ânion derivado da indolina, o qual age como um doador interno de elétron para o anel dioxetânico. Após a transferência de elétron, a quebra da ligação O-O com formação de um radical cetila e retro-transferência de elétron, ocorre a formação do estado eletronicamente excitado.

Esquema 8. Mecanismo Proposto para a Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de INMA.

Infelizmente, em analogia aos resultados obtidos para **BZSD**, os rendimentos quânticos da decomposição catalisada por íons fluoreto de **INAD** foram extremamente baixos ($\Phi_{\text{CHL}} = 3 \times 10^{-9} \text{ E.mol}^{-1}$) o que, aliado à baixa estabilidade do composto protegido (acilado) limita sua utilização em imunoenaios quimiluminescentes.

Num trabalho recente, Trofimov e colaboradores⁶⁵ investigaram a cinética e a formação de estados eletronicamente excitados na decomposição induzida por fluoreto dos dioxetanos termicamente estáveis, **AMPFD**. Foi observado que o substituinte cloreto não alterava o passo de desproteção (k_2), mas aumentava cerca de cinco vezes a constante de velocidade de clivagem (k_3) do dioxetano desprotegido (**AMPD**) (Esquema 9). Os rendimentos de quimioexcitação determinados foram os mesmos para ambos os dioxetanos. Foram estimadas as energias dos estados excitados triplete e singlete do fenolato emissor (**PhO**⁻). Tais cálculos indicaram que, tanto estados excitados singlete quanto triplete, de caráter $\pi-\pi^*$, poderiam ser formados, embora apenas os primeiros fossem de fato observados.

Esquema 9. Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de **AMPFD**.

A cinética e o efeito do pH na decomposição catalisada por fosfatase alcalina de 1,2-dioxetanos com estruturas semelhantes a **AMPFD**, contendo como grupo protetor o substituinte

fostato, compostos estes extensamente utilizados em imunoenaios quimiluminescentes, também foram estudados com a finalidade de se entender melhor o processo enzimático.⁶⁶

Em todos os exemplos aqui descritos, não há dúvida de que uma transferência de elétron ou de carga deva desempenhar um papel importante no processo de quimiluminescência e que as reações com altos rendimentos quânticos são claramente excelentes modelos para o estudo de processos bioluminescentes. Contudo, como tais reações são intramoleculares e muito rápidas, os passos reacionais são mais difíceis de serem tratados, o que leva alguns cientistas, ainda incrédulos, a questionar severamente o mecanismo postulado.^{20, 67}

1.4. Técnicas Utilizadas no Estudo de 1,2-Dioxetanos

1.4.1. Preparação de 1,2-Dioxetanos

O isolamento do primeiro 1,2-dioxetano, o 3,3,4-trimetil-1,2-dioxetano (TMD), preparado através da clássica rota de Kopecky (eq. 14), foi publicado em 1969.¹⁷ Este método, ciclização do β -bromo-hidroperóxido através da ação de uma base, tem sido utilizado na preparação de inúmeros dioxetanos di e trissubstituídos, entretanto falha quando as olefinas precursoras são tetrassubstituídas. Neste último caso, ao invés de base, utiliza-se um sal de prata para a reação de ciclização.

A preparação do β -bromo-hidroperóxido é o ponto crítico da rota de Kopecky, pois tais compostos são explosivos e devem ser manuseados com extremo cuidado. A purificação pode ser feita através de recristalização de pentano a -78°C , ou então, quando os compostos não cristalizam, através de coluna cromatográfica contendo sílica-gel a baixas temperaturas. Entretanto, devido à instabilidade, para evitar reduções drásticas nos rendimentos obtidos, na maioria das vezes os β -bromo-hidroperóxidos são utilizados sem qualquer tratamento prévio para a obtenção dos

respectivos 1,2-dioxetanos. O isolamento de 1,2-dioxetanos da mistura reacional também não é uma tarefa trivial. Dioxetanos são muito sensíveis à decomposição catalítica por traços de impurezas (traços de íons metálicos, por ex.) e termicamente lábeis. A preparação é ainda complicada pela necessidade de se trabalhar em pequena escala devido ao risco permanente de explosões durante o manuseio de peróxidos.⁶⁸

1,2-Dioxetanos também podem ser preparados através da cicloadição de oxigênio singlete a certas olefinas ricas em elétrons. A cicloadição de oxigênio singlete a éteres enólicos, enaminas e outras olefinas ricas em elétrons constitui uma metodologia sintética fácil e adequada para a obtenção de anéis peroxidicos de quatro membros (eq. 15). A fotooxigenação do alceno desejado pode ser realizada a baixas temperaturas (-78°C), num solvente adequado, através da irradiação de um sensibilizador na presença de O_2 com uma lâmpada de sódio de alta pressão. No decorrer da reação, é necessário manter uma alta concentração de oxigênio dissolvido, a fim de se minimizar a possibilidade de reação entre o sensibilizador excitado e o dioxetano.^{11, 68}

Em 1970, Bartlett e Schaap demonstraram que *cis*-3,4-dietóxi-1,2-dioxetano podia ser preparado com altos rendimentos *via* fotooxigenação do *cis*-dietoxietileno.⁶⁹ A partir de então surgiram numerosos exemplos desta reação.⁷⁰ Entretanto, alcenos contendo hidrogênios alílicos facilmente abstraíveis, sofrem a reação tipo ene, apresentando como produtos hidroperóxidos alílicos, ao invés de 1,2-dioxetanos.

As vantagens da fotooxigenação sobre a clássica rota de Kopecky são: a obtenção de rendimentos normalmente mais altos, condições reacionais brandas e baixas temperaturas. Além disso, utilizando-se um sensibilizador apropriado (tetrafenilporfina, rosa-bengala polimérica, etc.) e solventes deuterados (clorofórmio, diclorometano, acetona, etc.), dioxetanos muito lábeis e α -peroxilactonas podem ser detectados espectroscopicamente através de ^1H - ou ^{13}C -RMN, sem isolamento.²²

Métodos mais restritos de preparação incluem peroximercuração,⁷¹ peróxi-halogenação,⁷² rearranjo de endo-peróxidos catalisado por sílica-gel,⁷³ oxigenações eletroquímicas⁷⁴ e ozonólise de vinilsilanos.⁷⁵ Um método, cujo potencial sintético é bastante promissor, apresenta como metodologia a abertura de epóxidos catalisada por base, levando à formação de dioxetanos com substituintes hidroxílicos (eq. 16).⁷⁶

As metodologias aqui descritas constituem um apanhado sucinto dos procedimentos sintéticos utilizados para a obtenção de 1,2-dioxetanos e α -peroxilactonas. Todavia, apesar de já citado, é importante salientar que, nestas reações, os rendimentos são baixos e os métodos limitados. Além disso, estes compostos “ricos em energia” são bastante lábeis, podendo sofrer decomposição catalisada por ácido e base, ataque nucleofílico e eletrofílico e dissociação em presença de íons metálicos.²²

Conseqüentemente, o aperfeiçoamento de tais condições desfavoráveis parece ser um grande desafio a ser vencido pelos químicos sintéticos, especialmente no caso da síntese de anéis peroxídicos de quatro membros biologicamente relevantes.

1.4.2. Determinação de Rendimentos Quânticos de Quimiluminescência

Já pudemos constatar que a característica de anéis peroxídicos de quatro membros é sua capacidade de gerar produtos carbonílicos num estado eletronicamente excitado. Tais estados excitados podem apresentar quimiluminescência direta, em forma de fluorescência (estados singlete) ou fosforescência (estados tripleto), ou submeter-se à quimiluminescência por transferência de energia para um fotoceptor luminescente, o qual subseqüentemente fluoresce ou fosforesce. O produto no estado excitado pode também sofrer transformações fotoquímicas tais como: rearranjos, fragmentações ou cicloadições, mas também pode sensibilizar tais transformações fotoquímicas *via* transferência de energia para um fotoceptor apropriado (Figura 7).²²

Um dos problemas analíticos centrais diz respeito à determinação dos parâmetros de excitação, ou seja, dos rendimentos quânticos singlete (ϕ^S) e tripleto (ϕ^T), na decomposição de 1,2-dioxetanos.

O rendimento quântico global de uma reação quimiluminescente, Φ_{CHL} , definido como o número de einsteins de luz produzido por mol de reagente, pode ser expresso em termos do rendimento quântico de quimioexcitação, Φ_{CE} , e do rendimento de emissão, Φ_{EM} , da espécie excitada gerada (eq. 17).

$$\phi_{\text{CHL}} = \phi_{\text{CE}} \times \phi_{\text{EM}} \quad (\text{eq. 17})$$

Se o rendimento quântico de emissão, Φ_{EM} , da espécie excitada gerada, for baixo, como ocorre normalmente no caso de compostos carbonílicos cromóforos e estados excitados triplete, o rendimento quântico de quimiluminescência, Φ_{CHL} , será baixo, independente do rendimento de quimioexcitação, Φ_{CE} . Em tais casos, este problema pode ser contornado pela adição de uma molécula aceptora apropriada, a qual é excitada através da transferência de energia e emite luz. Neste caso, um termo adicional para a eficiência de transferência de energia, Φ_{ET} , deve ser computado à expressão do rendimento quântico de quimiluminescência (eq. 17).

Figura 7. Processos Fotofísicos e Fotoquímicos na Decomposição de 1,2-Dioxetanos.

1.4.2.1. Quimiluminescência Direta dos Produtos

No caso da quimiluminescência direta, o principal pré-requisito é que a identidade do composto carbonílico excitado formado seja conhecida, o que não é um problema trivial, principalmente para dioxetanos assimétricos. Se, entretanto, a identidade do composto carbonílico excitado é conhecida com precisão, então pode-se determinar o rendimento quântico de

químioexcitação (ϕ_{CE}) do produto excitado formado, medindo-se o rendimento de quimiluminescência direta (ϕ_{CHL}) através dos métodos usuais (eq. 17).^{19, 22}

Como, sob condições normais, a emissão observada é devida à fluorescência, pois apenas sob determinadas condições observa-se emissão de fosforescência, os rendimentos de químioexcitação determinados (eq. 17) correspondem às espécies excitadas singlete (ϕ^S) geradas. Portanto, a expressão utilizada para determinação dos rendimentos quânticos através de quimiluminescência direta (Φ_{DC}), pode ser rescrita em termos de ϕ^S e do rendimento quântico de fluorescência do composto carbonílico excitado formado (Φ_f) (eq. 18).

$$\phi_{DC} = \phi^S \times \phi_f \quad (\text{eq. 18})$$

Para a determinação experimental de Φ_{DC} , é necessário quantificar a produção de luz do processo de quimiluminescência direta. O rendimento quântico de quimiluminescência direta também pode ser expresso como a relação entre a velocidade inicial de produção de fótons (I_0^{DC}) e a velocidade inicial de decomposição do dioxetano ($k \times [D]$) (eq. 19). De forma análoga, a expressão pode ser escrita como a intensidade de luz integrada ou luz total, dividida pelo número de mols de dioxetano decomposto. Para obtenção do valor absoluto da intensidade inicial de emissão ou da intensidade de luz total, é necessário calibrar a fotomultiplicadora contra um padrão de luz apropriado (pág. 49). Caso as intensidades de emissão do processo quimiluminescente e do padrão de luz sejam determinadas em diferentes comprimentos de onda, é necessário calibrar a aparelhagem com relação à resposta dos comprimentos de onda.

$$\phi_{DC} = \frac{I_0^{DC}}{k \times [D]} \quad (\text{eq. 19})$$

O termo $k \times [D]$ pode ser facilmente obtido a partir da cinética de decaimento de quimiluminescência do dioxetano, a qual normalmente é de primeira ordem. Desta forma, a constante de velocidade de decomposição (k) é determinada a partir de um gráfico semi-logarítmico da intensidade de emissão *versus* o tempo (I *versus* t). A concentração inicial do dioxetano ($[D]$) pode ser determinada através de medidas espectroscópicas quantitativas, espectrofotometria ou titulação iodométrica.

Uma vez determinado experimentalmente Φ_{DC} (eq. 19), os rendimentos quânticos singlete (Φ^S) podem ser facilmente calculados (eq. 18). Entretanto, é necessário que o rendimento quântico de fluorescência do composto carbonílico excitado gerado (Φ_f) seja determinado sob as mesmas condições experimentais utilizadas para Φ_{DC} .

Em geral pode-se dizer que a quimiluminescência direta é um método conveniente, porém limitado. As mais sérias desvantagens são: raramente rendimentos de espécies excitadas triplete podem ser determinados, a identidade do composto carbonílico excitado deve ser conhecida e os rendimentos quânticos de fluorescência e fosforescência devem ser conhecidos e grandes o suficiente a fim de permitir uma determinação quantitativa.

1.4.2.2. Quimiluminescência por Transferência de Energia

A quimiluminescência por transferência de energia é a técnica mais utilizada na determinação de rendimentos quânticos. A escola russa foi a pioneira nesta técnica.⁷⁷ Através da escolha adequada do sensibilizador, para o qual a energia do composto carbonílico excitado é transferida, os rendimentos quânticos podem ser obtidos fotometricamente.

Normalmente, para a determinação dos rendimentos quânticos singlete (Φ^S) e triplete (Φ^T) na decomposição unimolecular de 1,2-dioxetanos, são utilizados como aceptores de energia DPA (9,10-difenilantraceno) e DBA (9,10-dibromoantraceno), respectivamente. No primeiro caso, trata-se de uma transferência de energia singlete-singlete (SS) e no segundo, triplete-singlete (TS).

O DPA (9,10-difenilantraceno) é escolhido como aceptor de energia singlete por ser disponível comercialmente, facilmente purificável e ter um rendimento de fluorescência essencialmente unitário e pouco sensível à variações de solvente e temperatura.^{19, 22} A Figura 8 ilustra um Diagrama de Jablonski simplificado para a transferência de energia do composto carbonílico excitado singlete para a molécula de DPA (transferência de energia SS).

Figura 8: Diagrama de Jablonski Simplificado para a Transferência de Energia de um Composto Carbonílico Excitado Singlete para o 9,10-Difenilantraceno (DPA).

Os passos da reação responsáveis pela fluorescência do DPA encontram-se esquematizados nas equações i-viii.¹⁹

Esquema 10: Processos Envolvidos na Clivagem de Dioxetanos e a Transferência de Energia Singlete para DPA. (D: dioxetano, K: composto carbonílico).

O passo-chave nesta sequência é a equação (v), onde o produto carbonílico excitado singlete (${}^S K^*$) gera o sensibilizador no estado excitado singlete (${}^S DPA^*$) através de uma transferência de

energia SS. O último passo (viii) pode ser negligenciado no caso do DPA, pois a transferência de energia triplete-singlete para gerar $^3\text{DPA}^*$ é ineficiente a menos que haja átomos pesados. A contribuição para a intensidade total de emissão pelos produtos carbonílicos no estado excitado singlete $^1\text{K}^*$ (ii) é também negligenciável porque o rendimento quântico de fluorescência do DPA é muito maior que o de K. A partir da aplicação do estado estacionário para esta série de reações, exceto viii, chegamos à equação que fornece a intensidade de quimiluminescência sensibilizada por DPA ($I_{\text{DPA}}^{\text{EC}}$), expressa em termos do rendimento singlete de excitação (ϕ^{S}), do rendimento da transferência de energia singlete-singlete ($\phi_{\text{ET}}^{\text{SS}}$), do rendimento quântico de fluorescência do DPA ($\phi_{\text{DPA}}^{\text{fl}}$) e da velocidade de decomposição do dioxetano ($k_{\text{d}}[\text{D}]$) (eq. 20).

$$I_{\text{DPA}}^{\text{EC}} = \phi^{\text{S}} \times \phi_{\text{ET}}^{\text{SS}} \times \phi_{\text{fl}}^{\text{DPA}} \times k_{\text{d}} \times [\text{D}] \quad (\text{eq. 20})$$

Segundo o Esquema 10, a eficiência da transferência de energia singlete-singlete do composto carbonílico excitado para a molécula de DPA, pode ser expressa em termos da (eq. 21). Esta expressão mostra que, a concentrações “infinitas” de DPA $\phi_{\text{ET}}^{\text{SS}} = 1$.

$$\phi_{\text{ET}}^{\text{SS}} = \frac{k_{\text{ET}}^{\text{SS}} \times [\text{DPA}]}{k_{\text{ET}}^{\text{SS}} \times [\text{DPA}] + k_{\text{d}}^{\text{S}}} \quad (\text{eq. 21})$$

k_{d}^{S} - constante de velocidade de desativação do composto carbonílico excitado singlete.

$k_{\text{ET}}^{\text{SS}}$ - constante de velocidade para a transferência de energia SS do composto carbonílico excitado para o DPA.

Substituindo a (eq. 21) na (eq. 20) e rearranjando devidamente as expressões matemáticas, chegamos à (eq. 22). Neste caso, percebe-se que, traçando-se um gráfico duplo-recíproco da intensidade de emissão em presença de DPA ($I_{\text{DPA}}^{\text{EC}}$) *versus* $[\text{DPA}]$, obtém-se uma reta, cujo coeficiente linear fornece a intensidade de emissão à concentração infinita de sensibilizador ($I_{[\text{DPA}]_{\infty}}^{\text{EC}}$).

$$\frac{1}{I_{\text{DPA}}^{\text{EC}}} = \frac{1}{I_{[\text{DPA}]_{\infty}}^{\text{EC}}} \times \left[1 + \frac{k_{\text{d}}^{\text{S}}}{k_{\text{ET}}^{\text{SS}} \times [\text{DPA}]} \right] \quad (\text{eq. 22})$$

Na prática mede-se a intensidade inicial de quimiluminescência em presença de DPA (I_{DPA}^{EC}) como função da concentração deste último e constrói-se um gráfico duplo-recíproco, tipo Stern-Volmer, $1/I_{DPA}^{EC}$ versus $1/[DPA]$. Para a determinação do valor absoluto da intensidade de quimiluminescência à concentração infinita de DPA, $I_{[DPA]_{\infty}}^{EC}$, é necessário a calibração da fotomultiplicadora (pág.49).

O rendimento quântico de quimiluminescência ($\phi_{[DPA]_{\infty}}^{EC}$) calculado a partir de $I_{[DPA]_{\infty}}^{EC}$, representa a transferência completa de energia do composto carbonílico excitado singlete para o acceptor, $\phi_{ET}^{ss}=1$ (eq. 23).

$$\phi_{[DPA]_{\infty}}^{EC} = \frac{I_{[DPA]_{\infty}}^{EC}}{k \times [D]} \quad (\text{eq. 23})$$

Além disso, $\phi_{[DPA]_{\infty}}^{EC}$ pode ser expresso através da (eq. 24), o que permite a determinação dos rendimentos quânticos singlete.

$$\phi_{[DPA]_{\infty}}^{EC} = \phi^s \times \phi_{ET}^{ss} \times \phi_{DPA}^{fl} \quad (\text{eq. 24})$$

Como estados excitados triplete normalmente não são emissivos, seja através de quimiluminescência direta ou sensibilizada via transferência de energia triplete-triplete, estas técnicas não podem ser utilizadas na determinação de rendimentos quânticos triplete. Entretanto, moléculas com átomos pesados como o DBA (9,10-dibromoantraceno) são capazes de aceitar a energia de excitação de um composto carbonílico no estado excitado triplete (${}^1K^*$) e liberá-la na forma de fluorescência. O mecanismo desta transferência de energia global triplete-singlete parece incluir primeiramente uma transferência de energia triplete-triplete, permitida por spin, do estado ${}^1K^*$ para o estado T_2 do DBA. Em seguida o segundo estado excitado triplete do DBA submete-se ao cruzamento inter-sistemas para o seu primeiro estado excitado singlete, o que é promovido pelo acoplamento spin-órbita dos átomos pesados da molécula (Figura 9).¹⁹

Figura 9. Diagrama de Jablonski Simplificado para a Transferência de Energia de um Composto Carbonílico Excitado Triplete para o 9,10-Dibromoantraceno (DBA).

Apesar dos detalhes mecânicos desta transferência de energia parecerem complexos (Esquema 11), para o fim a que se destina, pode-se considerar o processo como uma transferência global triplete-singlete.

Esquema 11. Processos Envolvidos na Clivagem de Dioxetanos Sensibilizada por DBA. (D: dioxetano, K: composto carbonílico).

Num esquema tão complexo a utilização do estado estacionário fica complicada, o maior problema vem do cruzamento inter-sistemas (equação xi) que também gera ${}^T K^*$. Entretanto, para a

maioria dos dioxetanos, Φ^T é muito maior que Φ^S , $\Phi^T/\Phi^S > 100$ e, portanto os estados excitados triplete ($^T\text{K}^*$) gerados através do cruzamento inter-sistemas podem ser desprezados.¹⁹ Da mesma forma, a contribuição da fluorescência de $^*K^S$ (equação x) e de $^S\text{DBA}^*$, gerado via transferência de energia SS (equação xiii), pode ser desprezada devido ao baixo rendimento de produtos excitados singlete ($^S\text{K}^*$) com relação às espécies excitadas triplete ($^T\text{K}^*$).

Com estas simplificações, a expressão para determinação da intensidade de quimiluminescência sensibilizada por DBA ($I_{\text{DBA}}^{\text{EC}}$) pode ser facilmente determinada através da cinética do estado estacionário.

$$I_{\text{DBA}}^{\text{EC}} = \phi^T \times \phi_{\text{ET}}^{\text{TS}} \times \phi_{\text{DBA}}^{\text{II}} \times k \times [\text{D}] \quad (\text{eq. 25})$$

A (eq. 26) fornece a expressão para a determinação da eficiência de transferência de energia triplete-singlete.

$$\phi_{\text{ET}}^{\text{TS}} = \frac{k_{\text{ET}}^{\text{TS}} \times [\text{DBA}]}{k_{\text{ET}}^{\text{TS}} \times [\text{DBA}] + k_d^T + k_{\text{ET}}^{\text{TT}} \times [\text{DBA}]} \quad (\text{eq. 26})$$

k_d^T - constante de velocidade de desativação do composto carbonílico excitado triplete.

$k_{\text{ET}}^{\text{TS}}$ - constante de velocidade para a transferência de energia TS do composto carbonílico excitado para o DBA.

$k_{\text{ET}}^{\text{TT}}$ - constante de velocidade para a transferência de energia TT do composto carbonílico excitado para o DBA.

Quando a concentração de DBA tende ao infinito, este parâmetro de transferência de energia triplete-singlete ($\phi_{\text{ET}\infty}^{\text{TS}}$) pode, entretanto, ser expresso em termos da (eq. 27).

$$\phi_{\text{ET}\infty}^{\text{TS}} = \frac{k_{\text{ET}}^{\text{TS}}}{k_{\text{ET}}^{\text{TS}} + k_{\text{ET}}^{\text{TT}}} \quad (\text{eq. 27})$$

De forma análoga ao descrito para a emissão sensibilizada por DPA, através de uma série de deduções matemáticas, chegamos à (eq. 28).

$$\frac{1}{I_{[DBA]}^{EC}} = \frac{1}{I_{[DBA]\infty}^{EC}} \times \left[1 + \frac{k_d^T \times \phi_{ET\infty}^{TS}}{k_{ET}^{TS} \times [DBA]} \right] \quad (\text{eq. 28})$$

O procedimento adotado para determinação dos rendimentos quânticos triplete é o mesmo descrito para o DPA, determinação da intensidade de quimiluminescência sensibilizada por DBA à concentração infinita deste último ($I_{[DBA]\infty}^{EC}$), através da extrapolação do gráfico duplo-recíproco $1/I_{DBA}^{EC}$ versus $1/[DBA]$. O parâmetro de transferência de energia triplete-singlete do composto carbonílico excitado triplete ($^T K^*$) para DBA (ϕ_{ET}^{TS}) é o termo crítico desta equação. A transferência de energia pode ocorrer de $^T K^*$ para o primeiro estado excitado triplete do DBA ($^{T1}DBA^*$), o qual, apesar de quimio-energizado, não exibe luminescência nas condições experimentais, além disso o cruzamento inter-sistemas de $^{T2}DBA^*$ para $^{S1}DBA^*$ apresenta uma eficiência menor que 1. Entretanto, em condições de 100% de transferência de energia, ϕ_{ET}^{TS} toma valores entre 0,2 e 0,3.¹⁹

Os rendimentos quânticos triplete podem ser determinados utilizando-se basicamente as mesmas equações descritas para os rendimentos singlete (eq. 29) e (eq. 30).

$$\phi_{[DBA]\infty}^{EC} = \frac{I_{[DBA]\infty}^{EC}}{k \times [D]} \quad (\text{eq. 29})$$

$$\phi_{[DBA]\infty}^{EC} = \phi^T \times \phi_{ET\infty}^{TS} \times \phi_{DBA}^{fl} \quad (\text{eq. 30})$$

É importante enfatizar que esta expressão (eq. 30) só é válida quando Φ^T/Φ^S é maior que 10, pois para sua dedução foi desprezada a formação de espécies excitadas triplete $^T K^*$ via cruzamento inter-sistemas (ISC) a partir de produtos excitados singlete $^S K^*$ (equação xi). Quando $\Phi^T/\Phi^S < 10$, a formação de $^T K^*$ a partir de $^S K^*$ via ISC deve ser considerada, o que pode ser feito experimentalmente determinando-se $I_{[DBA]\infty}^{EC}$ em presença e na ausência de sequestradores de estados excitados triplete.

Como já mencionado, os rendimentos obtidos devem ser calibrados contra um padrão de luz e, caso necessário, corrigidos para os comprimentos de onda utilizados.

Como o DPA, o DBA também é disponível comercialmente, entretanto possui rendimento quântico de fluorescência relativamente menor e dependente da temperatura e do solvente.¹⁹ O rendimento quântico de fluorescência do DBA ($\phi_{\text{DBA}}^{\text{fl}}$) a uma dada temperatura pode ser facilmente determinado (eq. 31), admitindo-se um valor de energia de ativação de -4kcal/mol e $\phi_{\text{DBA}}^{\text{fl}}=0,1$ a 20°C.⁷⁸

$$\ln \phi_{\text{DBA}}^{\text{fl}} (T_2) = \frac{E_a}{R} \times \frac{(T_2 - T_1)}{T_2 \times T_1} + \ln \phi_{\text{DBA}}^{\text{fl}} (T_1) \quad (\text{eq. 31})$$

Obviamente, para ser eficiente, a energia de excitação do sensibilizador deve ser suficientemente baixa para permitir uma transferência exotérmica de energia. Para estados excitados carbonílicos simples, tais como: acetona, benzaldeído, benzoato de metila, etc., a escolha de um sensibilizador apropriado não é difícil, pois todas estas moléculas possuem energias de excitação relativamente altas, tanto DBA quanto DPA possuem energias de excitação singlete de *ca.* de 70 kcal.mol⁻¹.¹⁹ Entretanto para estados excitados carbonílicos conjugados, cuja energia de excitação singlete fica abaixo de 50 kcal.mol⁻¹ e a triplete abaixo de 30kcal.mol⁻¹, a escolha de um sensibilizador apropriado torna-se mais problemática.

1.4.2.2.1. Calibração das Intensidades de Luz - Uso do Luminol como Padrão de Emissão de Luz

Baixos níveis de quimiluminescência, normalmente observados nos estudos de 1,2-dioxetanos, não podem ser medidos diretamente por elementos termófilos ou actinometria química.¹¹ Para evitar a tediosa calibração de tubos fotomultiplicadores contra lâmpadas-padrão (do National Bureau of Standards por ex.) e a freqüente dificuldade de avaliação da simetria do sistema, dois padrões líquidos secundários foram desenvolvidos, o padrão de luminol de Lee e Seliger⁷⁹ e o padrão radioativo de Hastings e Weber.⁸⁰ Devido à extrema conveniência, a maioria das determinações mais recentes de rendimentos quânticos em soluções baseia-se em um destes padrões. Infelizmente esses dois padrões secundários não apresentam resultados consistentes entre si, os rendimentos quânticos determinados diferem por um fator de 2,5, com o método do luminol apresentando resultados mais

baixos.¹¹ Com reações quimiluminescentes de baixos rendimentos quânticos, tais como a auto-oxidação de aldeídos ou hidrocarbonetos, onde os rendimentos quânticos são da ordem de 10^{-8} a 10^{-10} Einstein por mol (E.mol^{-1}), esse fator não é muito significativo. Porém, a situação é completamente diferente com 1,2-dioxetanos, onde são esperados rendimentos de estados excitados entre 10 e 50% e um fator de 2,5 poderia ser mecanisticamente significativo. Desta forma deve-se ter em mente a existência desta fonte potencial de erro sistemático e os rendimentos quânticos devem ser expressos com referência ao padrão utilizado.¹¹

Os rendimentos quânticos determinados neste trabalho foram obtidos utilizando-se como referência o padrão de luminol. A oxidação do luminol (3-aminofthalhidrazida, **LUM**) é uma das reações quimiluminescentes mais utilizadas.^{79a, 81} Segundo dados da literatura,⁸² o luminol (**LUM**), num meio tamponado ($\text{pH}=11,6$), sofre oxidação em presença de hemina e peróxido de hidrogênio, sendo que a reação apresenta um rendimento quântico (ϕ) bem definido e reprodutivo, igual à $(1,14 \pm 0,06) \times 10^{-2} \text{ E.mol}^{-1}$ (eq. 32).

Tal rendimento é independente da concentração de luminol numa faixa de 10^{-9} a $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ e também da concentração inicial de peróxido de hidrogênio, o qual deve ser utilizado em excesso de aproximadamente 100 vezes com relação ao primeiro, com concentrações variando entre 10^{-5} a 10^{-1} M .^{79a} Desta forma, medindo-se a quantidade de luz (Q) emitida por uma dada quantidade de luminol, expressa em número de mols (n), pode-se calcular o fator de correção (f), o que permite transformar a unidade arbitrária do aparelho (counts) em Einstein (eq. 33).^{79b}

$$\phi = \frac{Q \times f}{n} \quad \text{(eq. 33)}$$

A intensidade de luz total pode ser determinada através da integração do gráfico intensidade de emissão *versus* tempo, obtido no acompanhamento da reação quimiluminescente de oxidação do luminol.

1.4.2.3. Titulações Químicas

Conforme representado na Figura 7, neste tipo de sistema de detecção, o estado eletronicamente excitado sofre uma transformação fotoquímica conhecida. O composto foto-reativo pode submeter-se diretamente a uma transformação fotoquímica, ou então transferir sua energia para um acceptor fotoquimicamente ativo que, posteriormente, sofre uma transformação química. Em analogia à determinação dos rendimentos quânticos através de métodos fotofísicos (eq. 17), o rendimento de quimioexcitação (Φ_{EXC}) pode ser expresso em termos do rendimento de foto-produto (Φ_{foto}) e do rendimento da reação química (Φ_{CHEM}) para uma transformação fotoquímica direta (eq. 34). Entretanto, no caso de haver um acceptor fotoquimicamente ativo, um termo adicional, correspondente à transferência de energia (Φ_{ET}) deve ser computado a esta expressão (eq. 35), em analogia ao exposto na utilização de DPA (eq. 24) e DBA (eq. 30) como sensibilizadores.

$$\Phi_{\text{CHEM}} = \Phi_{\text{EXC}} \times \Phi_{\text{foto}} \quad (\text{eq. 34})$$

$$\Phi_{\text{CHEM}} = \Phi_{\text{EXC}} \times \Phi_{\text{foto}} \times \Phi_{\text{ET}} \quad (\text{eq. 35})$$

Na prática o rendimento químico de foto-produto (Φ_{CHEM}) pode ser determinado *via* cromatografia ou espectroscopia, o rendimento fotoquímico, rendimento do foto-produto fotoenergizado (Φ_{foto}), é normalmente conhecido ou pode ser facilmente determinado através de técnicas fotoquímicas usuais. Para reações fotoquímicas sensibilizadas, o rendimento de transferência de energia (Φ_{ET}) é determinado a concentrações infinitas do fotoacceptor através do Método de Stern-Volmer. Se a transformação fotoquímica, direta (eq. 34) ou sensibilizada (eq. 35), é específica para estados excitados singlete, então serão determinados rendimentos quânticos singlete, entretanto se há especificidade de estados triplete, então Φ_{EXC} corresponde aos rendimentos triplete.

Um exemplo clássico de titulação química sensibilizada por transferência de energia é mostrado na Figura 10. Os estados singlete e triplete da acetona interagem de maneira distinta com maleonitrila (CCE), dando respectivamente oxetano (DCO) e fumaronitrila (TCE).⁸³ Portanto, num único experimento, quantificando-se os rendimentos de foto-produtos (Φ_{foto}), tanto Φ^{S} quanto Φ^{T} podem ser determinados (eq. 35).

Figura 10. Determinação de Rendimentos Quânticos através de Titulação Química com Maleonitrila.

A maior vantagem destas titulações é que nenhum equipamento fotométrico é necessário para medir rendimentos quânticos. Além disso, tem-se à disposição uma vasta gama de transformações fotoquímicas. Titulações químicas sensibilizadas são mais convenientes que transformações diretas dos foto-produtos, pois no primeiro caso, é necessário conhecer a exata natureza do estado excitado quimio-energizado formado. Além disso, nas titulações químicas diretas, para cada caso específico, um determinado dioxetano ou α -peroxilactona, precisa ser sintetizado como um estado excitado equivalente. Em contrapartida, nas titulações químicas sensibilizadas, é necessário apenas um acceptor adequado, cuja energia de excitação seja menor que a do produto quimio-energizado formado.

1.4.3. Determinação dos Parâmetros de Ativação

Os parâmetros de ativação podem ser obtidos através da determinação da velocidade de desaparecimento do dioxetano ou formação do produto à diferentes temperaturas. As curvas isotérmicas de decaimento de primeira ordem são obtidas através de medidas da quimiluminescência direta ou utilizando-se agentes aceptores de energia como 9,10-difenilantraceno (DPA) e 9,10-dibromoantraceno (DBA).

Na quimiluminescência direta é possível medir diretamente a emissão de luz do produto carbonílico excitado formado.⁸⁴ Um número suficiente de estados excitados singlete deve ser produzido na decomposição do peróxido e o rendimento quântico de fluorescência do produto carbonílico excitado deve ser alto o suficiente para permitir a observação. No método de fluorescência sensibilizada, um acceptor de energia é usado para intensificar a emissão do produto carbonílico excitado formado. Em ambos os métodos a intensidade de luz é proporcional à

concentração do dioxetano. Experimentalmente as constantes de velocidade são determinadas através da curva de intensidade de quimiluminescência em função do tempo a temperaturas constantes.¹⁹

O gráfico de Arrhenius ($\ln k$ versus $1/T$) permite o cálculo da energia de ativação (E_a) como o coeficiente angular e o fator de frequência $\ln A$ como o intercepto da reta (eq. 36).

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (\text{eq. 36})$$

A entalpia de ativação ($\Delta H^\ddagger$) e a entropia de ativação ($\Delta S^\ddagger$) podem ser determinadas através do gráfico de Eyring ($\ln(k/T)$ versus $1/T$), (eq. 37).

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln \frac{k'}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} \quad (\text{eq. 37})$$

k - constante de velocidade de decomposição unimolecular do dioxetano

k' - constante de Boltzmann ($1,381 \times 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$)

h - constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34} \text{ J.s}$)

R - constante universal dos gases ideais ($8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)

Da mesma forma, traçando-se o gráfico de $\ln I_0$ (I_0 : intensidade inicial de quimiluminescência) versus $1/T$ pode-se determinar a energia de ativação da reação quimiluminescente (E_{chl}) através da equação de Arrhenius (eq. 38).

$$\ln I_0 = \ln A' - \frac{E_{chl}}{RT} \quad (\text{eq. 38})$$

Pela equação de Eyring, traçando-se o gráfico $\ln I_0/T$ versus $1/T$, determina-se a entalpia de ativação da reação quimiluminescente ($\Delta H_{chl}^\ddagger$) (eq. 39).

$$\ln(I_0/T) = \ln \frac{k'}{h} + C - \frac{\Delta H_{chl}^\ddagger}{RT} \quad (\text{eq. 39})$$

Isso é possível devido ao fato de I_0 ser proporcional à constante de velocidade da reação emissiva para um dioxetano à concentração constante.^{19, 22} Porém, como um parâmetro proporcional à constante de velocidade e não o próprio valor de k , está sendo utilizado, não se pode obter o fator de frequência $\ln A$ e a entropia de ativação da reação quimiluminescente. Pode-se entretanto determinar a entropia de ativação de quimiluminescência (ΔS_{chl}^*) a partir da (eq. 40), a qual correlaciona ΔH_{chl}^* e a constante de velocidade de decomposição observada (k_{obs}) a uma dada temperatura.

$$\Delta S_{chl}^* = R \times \ln \left(\frac{h}{k' \times T} \right) + \frac{\Delta H_{chl}^*}{T} + R \ln k_{obs} \quad (\text{eq. 40})$$

Os parâmetros de ativação de quimiluminescência (E_a e ΔH_{chl}^*) correspondem à fração da reação que leva à formação de estados eletronicamente excitados. A determinação de tais parâmetros pode ser utilizada como um método de detecção de catálise escura na decomposição de 1,2-dioxetanos.

2. Objetivos

Nos últimos 30 anos, a comunidade científica mundial tem testemunhado espetaculares desenvolvimentos na área de quimiluminescência. Com base na mais simples das reações quimiluminescentes, a mera transferência de um elétron, foi estabelecida uma ponte mecanística entre reações bioluminescentes e a luminescência de peróxidos. A bio e a quimiluminescência tornaram-se ferramentas preciosas para uma série de métodos analíticos, como a determinação de Ca^{2+} , ATP, hormônios, enzimas, etc., os quais têm sua sensibilidade estimada na ordem de femtomols, ultrapassando a de ensaios que utilizam materiais radioativos.⁸⁵

Devido à peculiar propriedade de 1,2-dioxetanos de gerar estados eletronicamente excitados quando termolisados, tais compostos têm recebido atenção especial, tanto na elucidação de processos bio e quimiluminescentes, quanto no desenvolvimento de produtos comerciais para análises bioquímicas. O fenômeno da bioluminescência do vaga-lume, até hoje o mais eficiente sistema de produção de luz, tem sido utilizado como um excelente exemplo no desenvolvimento de sondas quimiluminescentes para bioanálises. A elucidação dos detalhes mecanísticos deste processo bioluminescente contribuiu para o desenvolvimento de uma série de 1,2-dioxetanos, os quais têm sido utilizados com sucesso na prescrição de diagnósticos clínicos, devido ao fato da emissão poder ser “disparada” enzimaticamente. A utilização de tais compostos em análises clínicas é apenas o início de uma longa trilha de desenvolvimento científico. Já se podem contabilizar ganhos significativos com a substituição de radioisótopos por marcadores quimiluminescentes, tanto do ponto de vista ecológico, com a ausência de resíduos radioativos, quanto na diminuição do custo das análises.

Com base nos dados obtidos por Schaap²⁹ para a decomposição de dioxetanos substituídos por grupos $\text{ArOSi}(\text{Me})_2t\text{-Bu}$ (AMFPD), este trabalho propõe a síntese e o estudo das propriedades quimiluminescentes dos dioxetanos I a IV.

Entre as metas propostas estão a determinação dos parâmetros de ativação e dos rendimentos quânticos de quimiluminescência tanto na decomposição unimolecular dos dioxetanos I-IV, quanto na catalisada por fluoreto de II e IV. Os compostos I e III foram escolhidos como padrão de comparação para a análise dos parâmetros de ativação e rendimentos quânticos obtidos na decomposição unimolecular de II e IV, respectivamente, uma vez que ambos os substituintes do anel aromático, metoxila ou sililoxila, devem exercer efeitos

semelhantes sobre a decomposição do anel peroxidico. A decomposição unimolecular dos dioxetanos **I-IV** leva à formação dos produtos de clivagem do anel de 4 membros (retro-cicloadição [2+2]), os correspondentes compostos carbonílicos.

Todavia, o objetivo principal do projeto é a verificação da ocorrência do mecanismo **CIEEL intramolecular** na decomposição catalisada de **II** e **IV**. Em presença de íons fluoreto, em um primeiro passo deve ocorrer a desproteção do silil éter, gerando o respectivo 1,2-dioxetano contendo o substituinte fenolato (ótimo doador de elétron), ora diretamente ligado ao anel peroxidico (**II**), ora distante deste anel através de 1 átomo de carbono (**IV**). Portanto, enquanto no caso de **II** a transferência de elétron do substituinte aromático para o anel peroxidico deve ocorrer através da ligação, para **IV** tal transferência deve se dar "através do espaço". A ocorrência de transferência de elétron através da ligação (dioxetano **II**) é um processo para o qual há vários exemplos, entre eles o próprio **AMFPD**. Entretanto, não há dados na literatura relatando a ocorrência de transferência de elétron quando o substituinte doador não se encontra diretamente ligado ao anel peroxidico (dioxetano **IV**).

Os compostos são *meta*-substituídos o que, de certa forma, dificulta a execução da síntese, pois, em geral, intermediários sintéticos *para*-substituídos são adquiridos e preparados com maior facilidade. Esta escolha deve-se ao fato de os rendimentos de quimiluminescência observados na decomposição catalisada por fluoreto de dioxetanos tipo **AMFPD**, contendo um padrão de substituição *para*, serem significativamente mais baixos do que os dos análogos *meta*-substituídos.²⁹ Dados da literatura mostram que um padrão de substituição *meta* nos sistemas aromáticos aumenta a estabilidade do dioxetano e altera os parâmetros de quimiluminescência.⁸⁶ Para os casos onde o substituinte aromático encontra-se diretamente ligado ao anel peroxidico, os diferentes rendimentos observados poderiam ser atribuídos à menor estabilidade do dioxetano *para*-substituído devido à possibilidade de conjugação de carga do fenolato gerado com o anel peroxidico, o que pode levar à formação preferencial de produtos de clivagem no estado fundamental.

No início do projeto, foram propostos como compostos a serem sintetizados e analisados, os dioxetanos **V** e **VI**. Tal proposta baseava-se na alta similaridade estrutural entre **V** e **VI**, o que deveria permitir comparar a estabilidade dos compostos livre de efeitos espúrios. Entretanto, como as rotas sintéticas utilizadas para a obtenção de tais dioxetanos são bastante complexas, optamos pela preparação de **I-IV**, os quais devem fornecer resultados semelhantes.

Deve-se destacar aqui que o mecanismo CIEEL, proposto por Schuster^{4, 5} no final da década de 70 e recebido com entusiasmo pela comunidade científica, foi utilizado, desde então, para explicar a geração de estados excitados singlete na decomposição de um grande número de peróxidos. Porém, este mecanismo, apesar de muito citado, até hoje não pode ser considerado como totalmente esclarecido. Os esforços dispendidos até o momento, na tentativa de elucidá-lo, parecem fornecer apenas regras gerais para explicar fatos experimentais, ou seja, a preocupação em se saber “onde” e “quando” tem adquirido prioridade sobre responder “como” ocorre. Sendo assim, a busca de alguns pesquisadores por informações mais precisas com relação a estrutura de intermediários e/ou estados de transição, assim como quanto à magnitude dos fluxos de cargas envolvidos, têm semeado um vasto campo de pesquisa a ser explorado. Entre as hipóteses sobre o mecanismo discute-se, por exemplo, a ocorrência da transferência integral de um elétron, fato este considerado por vários especialistas na área como ceticismo.²⁰

Para que possamos contribuir de forma significativa para a elucidação do mecanismo CIEEL, as comparações entre os parâmetros de ativação e entre os rendimentos quânticos de quimiluminescência, obtidos nas decomposições, unimolecular e catalisada por íons fluoreto, de **II** e **IV**, constituem o ponto chave deste projeto. Através de tais comparações, acreditamos poder adquirir novos conhecimentos com respeito ao processo de geração de estados eletronicamente excitados através de transferência de elétron e, até mesmo, chegar a conclusões importantes com relação a este polêmico mecanismo.^{20, 67}

3. Resultados

3.1. Síntese dos Dioxetanos

No início do trabalho tentamos determinar a melhor rota sintética a ser adotada para obtenção dos compostos V e VI, inicialmente propostos. A síntese contava com muitos passos o que resultava em rendimentos globais consideravelmente baixos, dificultando a obtenção dos produtos finais. Além disso, como a preparação de dioxetanos não é um procedimento trivial, pois tais compostos são extremamente instáveis, o que requer cuidados especiais,⁶⁸ optamos por trabalhar com estruturas menos complexas, dioxetanos I-IV. Apesar da maior “simplicidade” estrutural, os resultados esperados devem ser semelhantes. Entretanto, é importante ressaltar que, embora não executadas totalmente, as rotas sintéticas para a obtenção de V e VI foram elaboradas e alguns intermediários já preparados.

3.1.1. Síntese dos Dioxetanos I-IV

As rotas sintéticas utilizadas para a obtenção dos dioxetanos I a IV encontram-se esquematizadas a seguir. Tais rotas apresentam como ponto fundamental o aumento da cadeia carbônica através de reações de acoplamento de Wittig⁸⁷ (I e II) e de Grignard^{88, 89} (III e IV). Os dioxetanos foram preparados a partir das respectivas olefinas através do clássico procedimento de Kopecky: adição de uma fonte eletrofílica de bromo à dupla ligação em meio a peróxido de hidrogênio e posterior ciclização do β-bromo-hidroperóxido formado através da ação de uma base.^{68,78, 90}

Esquema 12. Síntese do 4-etil-4-metil-3-(3-metoxifenil)-1,2-dioxetano (I).

Esquema 13. Síntese do 4-etil-4-metil-3-(3-*t*-butildimetilsiloxifenil)-1,2-dioxetano (II).*

As olefinas 4 e 8 foram obtidas com rendimentos de 59 e 47%, respectivamente, através do acoplamento de Wittig entre o brometo de 2-butiltrifenilfosfônio (2) e um benzaldeído *m*-substituído, utilizando-se $n\text{-BuLi}$ como base. A análise dos alcenos indicou a presença do composto 18, resultado este, a princípio, bastante surpreendente, pois a reação de Wittig foi escolhida para se evitarem problemas de formação de isômeros. Entretanto, uma explicação seria a reação entre o benzaldeído e $n\text{-BuLi}$ seguida da desidratação do álcool formado (eq. 41).

O composto 18, presente em *ca.* de 20% do produto destilado, impossibilitou a completa purificação da olefina trissubstituída desejada. Os espectros de LRMS e RMN- ^1H das olefinas 4 e 8 indicavam a acentuada presença do isômero 18. Inúmeras tentativas de separação cromatográfica foram testadas sem qualquer sucesso. Mesmo assim, a síntese foi prosseguida até a obtenção de I e II, pois os dioxetanos formados a partir de 18 devem sofrer decomposição facilmente. Dioxetanos dissustituídos são bem mais instáveis que trissubstituídos.

Os β -bromo-hidroperóxidos 5 e 9, obtidos a partir das respectivas olefinas, foram isolados porém não purificados devido à sua alta instabilidade. Os dioxetanos I e II foram preparados a partir da ciclização de 5 e 9 pela ação de base, através de catálise por transferência de fase num sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{KOH}/\text{éter coroa}$ (18-crown-6). Os produtos brutos foram purificados por eluição com

* DBH: 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína.

diclorometano/hexano através de uma coluna cromatográfica contendo sílica-gel, a -30°C . Para evitar decomposição do produto na coluna cromatográfica, o processo foi realizado no menor tempo possível, aproximadamente 1h. Os dioxetanos **I** e **II** foram obtidos puros, com rendimentos na faixa de 20%, a partir dos respectivos β -bromo-hidroperóxidos.

Esquema 14. Síntese do 4,4-dimetil-3-(3-metoxibenzil)-1,2-dioxetano (**III**).[†]

Esquema 15. Síntese do 4,4-dimetil-3-(3-*t*-butildimetilsililoxibenzil)-1,2-dioxetano (**IV**).[†]

As olefinas **11** e **15** foram preparadas em um único passo, através de uma reação de substituição nucleofílica entre um carbânion obtido a partir do bromobenzênio *m*-substituído e o brometo de 3,3-dimetilalila. A olefina **11** foi obtida com um rendimento de 52%, utilizando-se o brometo de *m*-metoxifenilmagnésio como nucleófilo. Já a reação análoga com o reagente contendo o substituinte sililado, além de apresentar um rendimento bastante inferior, *ca.* 30%, levou à formação do composto **19** em igual proporção a **15** (eq. 42), sendo praticamente impossível uma condição eficiente de separação dos isômeros.

[†] DBH: 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína.

Foi realizada então a preparação de um composto organo-lítio, obtido através da reação entre o haleto **14** e *n*-BuLi (solução 2,5M, em hexano) em éter seco a -60°C e posterior adição do brometo de 3,3-dimetilalila à mistura reacional.⁹¹ Diversas condições experimentais foram testadas visando a obtenção do melhor rendimento possível do composto **15**. Entre os diversos procedimentos experimentais testados, a adição de quantidades equimolares de *n*-BuLi ao haleto **2**, em éter etílico a -60°C e posterior adição do brometo de 3,3-dimetilalila a 10°C , foi o que resultou no maior rendimento obtido, 38%. Um fato bastante surpreendente foi a obtenção do isômero **19** em proporção cinco vezes superior à olefina **15** quando o éter etílico, utilizado como solvente, foi substituído por tetra-hidrofurano (THF). As olefinas **11** e **15** foram destiladas, purificadas através de cromatografia de coluna e caracterizadas através dos espectros de LRMS, RMN- ^1H , RMN- ^{13}C e DEPT 135 (Anexo 1, p. 130, 131, 135 e 136).

Em ambos os casos, os β -bromo-hidroperóxidos **12** e **16**, obtidos com *ca.* de 80% de rendimento bruto a partir das olefinas **11** e **15**, respectivamente, não foram purificados para a preparação dos dioxetanos correspondentes. Entretanto, uma pequena porção foi reservada para purificação, em coluna cromatográfica contendo sílica-gel a -30°C , utilizando-se como eluente diclorometano/hexano 1:1. Os rendimentos obtidos para a purificação foram *ca.* de 10%, podendo-se observar claramente a decomposição do material na coluna cromatográfica. Os produtos purificados foram caracterizados através de espectroscopia de RMN- ^1H a -5°C (Anexo 1, p. 132 e 137).

Os dioxetanos **III** e **IV**, preparados da mesma maneira que **I** e **II**, foram obtidos com rendimentos extremamente baixos, 3,5 e 0,3%, respectivamente, valores estes muito inferiores aos obtidos para **I** e **II** e aqueles normalmente relatados para a síntese de 1,2-dioxetanos pelo método de Kopecky, que variam entre 10 e 30%.^{19, 22} Tais resultados podem ser atribuídos à formação do hidroperóxido alílico **20** (eq. 43).

A reação de ciclização normalmente é monitorada por cromatografia em camada delgada comparativa, tlc (thin layer chromatography), utilizando-se uma mistura 1:1 diclorometano/hexano como eluente. A revelação é feita com uma lâmpada de UV, detectando-se a função peroxídica com

solução aquosa 10% de iodeto de potássio (eq. 44), teste bastante sensível, no qual a reação é instantânea para dioxetanos e relativamente lenta para β -bromo-hidroperóxidos.

No decorrer da reação de ciclização de **12** e **16**, apesar da formação dos dioxetanos ser detectada, não foi possível observar por tlc o consumo dos correspondentes β -bromo-hidroperóxidos, pois estes últimos apresentavam valores de R_f coincidentes com aqueles dos respectivos hidroperóxidos alílicos. A reação de ciclização, gerando **III** e **IV**, aparece como secundária, pois a eliminação de HBr gera uma olefina bastante estável conjugada ao anel aromático (eq. 43). O excessivo tempo reacional deve ter contribuído para a redução do rendimento obtido, pois devido à coincidência nos valores de R_f , a reação foi mantida sob agitação durante 4h, enquanto, provavelmente, um período de 1,5h seria suficiente para a ciclização. A purificação foi realizada como descrito para **I** e **II**, coluna cromatográfica a baixas temperaturas. Para obtenção de uma fração totalmente pura foram necessárias 2 separações utilizando-se exatamente as mesmas condições. A caracterização de **I-IV** foi realizada através de espectroscopia de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C a -5°C (Anexo 1, p. 123-139).

Para a caracterização dos produtos de termólise, o tubo de ressonância foi mantido a 50°C durante 5h, sendo detectada a presença dos produtos esperados na decomposição unimolecular, i.e., benzaldeído *m*-substituído e 2-butanona (**I** e **II**), e fenilacetaldeído *m*-substituído e acetona (**III** e **IV**). No caso do dioxetano **IV**, foi detectada a presença de ácido fenilacético, decorrente da oxidação do aldeído formado. A análise dos produtos de termólise foi realizada através dos espectros de LRMS e RMN- ^1H (Anexo 1, p. 125, 128, 129, 134, 140 e 141).

3.1.2. Síntese dos Precursores dos Dioxetanos **V** e **VI**

Na síntese do dioxetano **V** (Esquema 16, 63) foram preparados e caracterizados os intermediários **14**, **21**, **22** e **24**. O composto **14**, utilizado como intermediário na preparação do dioxetano **IV**, foi obtido com rendimentos na faixa de 70%, a partir do tratamento do fenol correspondente com imidazol e cloreto de *t*-butildimetilsilano (TBDMS) em tetra-hidrofurano anidro.⁹² Um segundo método de preparação, o qual utiliza piridina como base e benzeno como solvente,⁹³ também foi testado, porém os rendimentos obtidos eram significativamente mais baixos,

ca. de 30%. Além disso o precipitado formado, cloreto de piridínio, dificultava o isolamento e purificação do produto. Os rendimentos obtidos na preparação do álcool **21** foram aumentados devido à adição de cianeto de cobre I ao brometo de alquilmagnésio. Em presença de íons Cu(I), o produto foi obtido com rendimentos na faixa de 55%, enquanto na ausência, tais rendimentos eram reduzidos a valores inferiores a 20%. A cetona **22** foi obtida com 40% de rendimento, através da oxidação do álcool correspondente, utilizando-se clorocromato de piridínio (PCC) como agente oxidante.⁹⁴ O sal de fosfônio foi facilmente preparado, com 90% de rendimento, através do procedimento descrito para reações de Wittig.⁸⁷ Para a obtenção da olefina **25**, precursora do dioxetano V, falta apenas o acoplamento, através de uma reação de Wittig entre os compostos **22** e **24**.

Esquema 16. Síntese do Dioxetano V.[‡]

Para a obtenção do dioxetano VI (Esquema 17), os intermediários sintéticos **28**, **29** e **30** foram preparados e caracterizados. As transformações químicas são basicamente as mesmas utilizadas na síntese do composto V, silação de um fenol (**27**→**28**),⁹² aumento da cadeia carbônica através do acoplamento de Grignard (**10**→**29**)⁸⁸ e finalmente uma reação de acoplamento de Wittig,⁸⁷ gerando a olefina precursora do dioxetano correspondente. A transformação do álcool **29** no haleto **30** foi realizada através da utilização do método de geração “in situ” do dibrometo de

[‡] DBH: 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína.

trifenilfosfina.⁹⁵ Este método é bastante eficiente, o produto foi isolado com rendimentos na faixa de 55%, não ocorrendo a formação do produto de rearranjo 1-(*m*-metoxifenil)-1-bromoetano, ou seja, o carbocátion arílico estável não é formado como intermediário da reação. Já não se pode dizer o mesmo com relação ao procedimento descrito para a transformação de álcoois em haletos, utilizando-se tribrometo de fósforo (PBr₃).⁹⁶ Neste caso, os rendimentos obtidos foram inferiores e a proporção de produtos de rearranjo chegava a 40%. Não suficientes tais fatos, também foi observada a formação do produto de desidratação do álcool (3-metoxifenilestireno), o tempo reacional necessário era muito superior e a purificação do produto praticamente impossível.

Para a obtenção de VI é necessária a preparação do sal de fosfônio 31, que deve reagir com o composto 28 fornecendo a olefina 32, precursora do dioxetano.

Esquema 17. Síntese do Dioxetano VI.[§]

[§] DBH: 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína.

3.1.3. Preparação do 3-*t*-Butildimetilsililoxiacetaldeído (35)

O aldeído **35** foi sintetizado para a determinação direta dos rendimentos quânticos de quimiluminescência na decomposição catalisada por íons fluoreto do dioxetano **IV**. Este composto foi preparado através da oxidação do álcool primário a aldeído, utilizando-se clorocromato de piridínio (PCC) como agente oxidante.⁹²

Esquema 18. Preparação do Aldeído **35** Gerado na Decomposição do Dioxetano **IV**.

A reação de oxidação do álcool **34** não é um procedimento trivial, pois é difícil estabelecer um controle para evitar a formação do ácido carboxílico correspondente. Para obtenção do aldeído **35** puro, condições anidras e atmosfera de nitrogênio são indispensáveis. Além disso, o produto não deve ser destilado. Nas primeiras tentativas de preparação, recorremos à destilação para purificação do produto, o que acabou resultando em um resíduo preto no balão. A separação em coluna cromatográfica mostrou-se o procedimento mais adequado para a purificação. Ainda assim, os rendimentos obtidos foram baixos, 27%.

3.2. Estudos Físico-Químicos

3.2.1. Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV

3.2.1.1. Determinação das Concentrações dos 1,2-Dioxetanos

Devido à alta instabilidade, após preparação e caracterização, os dioxetanos foram estocados em tolueno a -80°C . Para o estudo das propriedades quimiluminescentes, as concentrações peroxídicas foram determinadas espectrofotometricamente. Segundo o método utilizado, o produto formado na reação de oxidação de iodeto de potássio pelo peróxido é monitorado quantitativamente através de medidas de absorbância a um determinado comprimento de onda ($\lambda=353\text{ nm}$), onde o coeficiente de absorvidade molar (E) é conhecido ($E=2,55\times 10^4\text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).⁹⁷ Como o procedimento experimental sugerido para as determinações utiliza soluções aquosas, foi necessária uma pré-diluição das soluções dos dioxetanos, armazenados em tolueno, em acetato de etila (1:10). Este procedimento foi adotado devido à baixa solubilidade de tolueno em água.

As concentrações de **I** e **III**, dioxetanos metoxissubstituídos, foram determinadas de forma reprodutível, seguindo o procedimento descrito na literatura. Entretanto, no caso de **II** e **IV**, dioxetanos sililsubstituídos, a baixa solubilidade de tais compostos impedia a obtenção de resultados reprodutíveis, mesmo frente à pré-diluição com acetato de etila. Os valores, inicialmente obtidos, diferiam entre si de, até mesmo, 100%. Na determinação dos parâmetros de ativação, isso, a princípio, não deve ser considerado um fator relevante, pois os cálculos são realizados a partir de medidas relativas, mantendo-se constante a concentração peroxídica. Entretanto, para a determinação dos rendimento quânticos, é imprescindível a determinação da concentração do dioxetano. Diversas condições experimentais foram testadas, a fim de se otimizar as condições de medida. Os melhores resultados foram obtidos diluindo-se a solução-estoque do dioxetano em metanol (1:50), mantendo-se a mistura reacional em um sonificador durante 5 min à temperatura ambiente e finalmente determinando-se a absorbância da solução obtida. Mesmo adotando-se este procedimento, os valores obtidos nas determinações diferiam de aproximadamente 20%. Durante o estudo das propriedades quimiluminescentes dos dioxetanos, a determinação das concentrações era realizada, em média, 2 vezes por semana.

3.2.1.2. Determinação dos Parâmetros de Ativação

Foram realizados alguns testes preliminares, para verificação das propriedades quimiluminescentes dos compostos sintetizados. Foi observado que, na decomposição de **I** e **II**, ocorria emissão direta com um máximo em 412 nm (Figura 11), enquanto para **III** e **IV** era necessária a utilização de sensibilizadores, DPA ou DBA, para a detecção dos produtos excitados formados.

Figura 11. Emissão Direta dos Dioxetanos **I** e **II** à 80°C em Tolueno ($[I]=(6,7\pm0,8)\times10^{-5}M$, $[II]=(4,7\pm1,0)\times10^{-5}M$).

Para a determinação dos parâmetros de ativação, a termólise dos dioxetanos foi monitorada através da intensidade do decaimento de quimiluminescência em função do tempo. Foram traçadas curvas isotérmicas numa faixa de temperaturas entre 65 e 85°C, mantendo-se constantes as concentrações do dioxetano e do sensibilizador (dioxetanos **III** e **IV**). As curvas cinéticas obtidas eram claramente de primeira ordem e, no caso de **III** e **IV**, não apresentavam qualquer dependência com a quantidade de sensibilizador adicionada. A Figura 12 mostra as curvas isotérmicas obtidas em diferentes temperaturas na decomposição do dioxetano **III** em tolueno, utilizando-se DPA como sensibilizador. Para cada temperatura foram traçadas pelo menos 3 curvas e os valores determinados para k (constante de velocidade observada) e I_0 (intensidade inicial de quimiluminescência), numa determinada temperatura, correspondem à média dos valores obtidos.

Figura 12. Perfis Cinéticos na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **III** em Presença de DPA a 65 (1), 70 (2), 75 (3), 80 (4) e 85°C (5). ($[III]=(8,3\pm0,3)\times10^{-5}$ M, $[DPA]=1\times10^{-2}$ M).

Deve-se salientar que as curvas obtidas para **I** e **II** foram determinadas através da emissão direta de fluorescência dos dioxetanos, a 412 nm. Para **III** e **IV** foi utilizado DPA para a detecção dos produtos carbonílicos excitados formados ($[DPA]=1,0\times10^{-2}$ M, em tolueno) sendo a leitura feita a 438 nm, máximo de emissão do sensibilizador.

Os parâmetros de ativação, E_a , $\Delta H^\ddagger$ e $\Delta S^\ddagger$, foram determinados através dos gráficos de Arrhenius ($\ln k$ versus $1/T$, Figura 13) e de Eyring ($\ln(k/T)$ versus $1/T$, Figura 14).

Figura 13. Gráfico para a Determinação da Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **I**.

$[I]=(6,7\pm0,8)\times10^{-5}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm

Figura 14. Gráfico para a Determinação da Entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e Entropia ($\Delta S^\ddagger$) de Ativação na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **II**.

$[II]=(1,0\pm0,2)\times10^{-5}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm

O efeito da temperatura sobre a intensidade inicial de quimiluminescência foi utilizado na determinação dos parâmetros de ativação (E_{chl} e ΔH^*_{chl}) para a fração da reação que conduz a estados eletronicamente excitados. A metodologia consiste na determinação da intensidade inicial de quimiluminescência, numa determinada temperatura e concentração de dioxetano. A seguir, a partir dos gráficos de Arrhenius ($\ln I_0$ vs. $1/T$, Figura 15) e de Eyring ($\ln(I_0/T)$ vs. $1/T$, Figura 16) são calculadas a energia (E_{chl}) e a entalpia (ΔH^*_{chl}) de quimiluminescência, respectivamente.

Figura 15. Gráfico para a Determinação da Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **III** ($[III]=(8,3\pm 0,3)\times 10^{-5}M$, $[DPA]=1\times 10^{-2}M$, $\lambda_{em}=438\text{ nm}$).

Figura 16. Gráfico para a Determinação da Entalpia de Quimiluminescência (ΔH^*_{chl}) na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **IV**. ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}M$, $[DPA]=1,0\times 10^{-2}M$, $\lambda_{em}=438\text{ nm}$).

A Tabela 1 resume os resultados obtidos na determinação dos parâmetros de ativação dos dioxetanos **I-IV**.

Tabela 1. Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV

dioxetano	E_a^a	$\Delta H^{\ddagger a}$	$\Delta S^{\ddagger a}$	$\Delta G^{\ddagger a}$ (25°C)	E_{chl}^a	$\Delta H_{chl}^{\ddagger a}$
I ^b	24,3 (0,4)	23,6 (0,4)	-3,8 (0,10)	24,7 (0,6)	22,9 (0,3)	22,2 (0,3)
II ^b	25,6 (0,7)	24,9 (0,6)	-0,54 (0,02)	25,1 (0,6)	22,0 (0,4)	21,3 (0,4)
III ^c	23,3 (0,2)	22,6 (0,2)	-6,1 (0,1)	24,4 (0,2)	27,3 (0,4)	26,2 (0,4)
IV ^c	23,4 (0,9)	22,6 (0,9)	-5,8 (0,7)	24,1 (1,1)	25,2 (1,0)	24,5 (1,0)

a. E_a , $\Delta H^{\ddagger}$, E_{chl} , $\Delta H_{chl}^{\ddagger}$ e $\Delta G^{\ddagger}$ em kcal.mol⁻¹; $\Delta S^{\ddagger}$ em cal.mol⁻¹.K⁻¹, b. [I]=(6,7±0,8)x10⁻⁵M, [II]=(1,0±0,2)x10⁻⁴M, tolueno, 412 nm; c. [III]=(8,3±0,33)x10⁻⁵M, [IV]=(2,1±0,4)x10⁻⁵M, 10mM de DPA em tolueno, 438 nm.

No estudo do dioxetano III, os experimentos cinéticos para a determinação dos parâmetros de ativação também foram realizados variando-se tanto o solvente quanto o sensibilizador para que pudéssemos avaliar as influências destas variáveis sobre os resultados. Além de tolueno e DPA, também foram utilizados anisol como solvente e DBA como sensibilizador. Não foram observadas variações significativas entre os parâmetros obtidos nas diversas condições testadas.

3.2.1.3. Determinação dos Rendimentos Quânticos

A emissão sensibilizada por DBA e DPA foi utilizada para a determinação dos rendimentos quânticos triplete e singlete, respectivamente. Foram traçadas curvas cinéticas da decomposição unimolecular dos dioxetanos, a diferentes concentrações de DBA e DPA, em tolueno, a 80 °C e determinadas as intensidades iniciais de quimiluminescência para cada concentração. Os gráficos duplo-recíprocos 1/I₀ versus 1/[sensibilizador] forneceram os valores das intensidades de quimiluminescência à concentração infinita de sensibilizador (I_{[SENSIB]∞}). Na termólise do dioxetano IV, por exemplo, para a determinação dos rendimentos quânticos triplete e singlete foram construídos os gráficos duplo-recíprocos 1/I₀ versus 1/[DBA] (Figura 17) e 1/I₀ versus 1/[DPA] (Figura 18), respectivamente.

Figura 17. Gráfico Duplo-Recíproco da Intensidade de Emissão Inicial (I_0) versus [DBA] na Decomposição Unimolecular de IV ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}M$, $t=80^\circ C$)

Figura 18. Gráfico Duplo-Recíproco da Intensidade de Emissão Inicial (I_0) versus [DPA] na Decomposição Unimolecular de IV ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}M$, $t=80^\circ C$)

Para a determinação dos valores absolutos de intensidade de emissão, foi necessária a transformação dos valores arbitrários de intensidade de luz determinados, medidos em **counts** pelo espectrofluorímetro em **quantum de luz**, ou seja, em **Einstein**. Para a calibração do aparelho foi utilizado o padrão secundário de luminol o qual, conforme já citado, possui um rendimento quântico de quimiluminescência bem definido e reproduzível em determinadas condições (p.49). O procedimento para a calibração consiste na determinação de um fator de correção f , obtido através do monitoramento da reação de decomposição do luminol em condições onde seu rendimento quântico de quimiluminescência seja precisamente determinado. As condições do aparelho foram as mesmas utilizadas na termólise dos dioxetanos, entretanto nos estudo do dioxetano **III**, todos os experimentos foram realizados a 438 nm, correspondente ao máximo de emissão dos sensibilizadores, enquanto a emissão do luminol foi monitorada utilizando-se grade de difração na posição espelho. Nesta posição toda a luz incidente é refletida na fotomultiplicadora. A correção desta variação foi feita através do monitoramento da termólise de **III** a 438 nm e com a grade de difração na posição espelho, calculando-se um fator de correção para a variável comprimento de onda (f_λ).

Após calibração do aparelho e determinação da intensidade de emissão à concentração infinita de DPA, os rendimentos quânticos singlete (Φ^S) foram determinados através da (eq. 45).

$$\phi^S = \frac{I_{[DPA]^\infty}^{EC}}{k \times n_D} \quad (\text{eq. 45})$$

De forma análoga, os rendimentos quânticos triplete (Φ^T) foram determinados da utilização da (eq. 46).

$$\phi^T = \frac{I_{[DBA]\infty}^{EC}}{k \times n_D \times \phi_{DBA}^{fl} \times \phi_{DBA}^{TS}}$$

(eq. 46)

- k - constante de velocidade de decomposição do dioxetano a 80°C.
- $\phi_{DBA}^{fl}=0,031$ - rendimento quântico de fluorescência do DBA a 80°C.
- $\phi_{DBA}^{TS}=0,2$ - eficiência de transferência de energia triplete-singlete.
- n_D - números de mols de dioxetano utilizado.

A Tabela 2 resume os resultados obtidos para os rendimentos quânticos triplete e singlete e a relação entre eles na decomposição unimolecular dos dioxetanos I-IV.

Tabela 2. Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV.

DIOXETANO	Φ^T $\times 10^2$	Φ^S $\times 10^2$	Φ^T/Φ^S
I	5,2 (0,8)	0,23 (0,06)	23
II	6,8 (1,8)	0,36 (0,10)	19
III	4,5 (0,8)	0,016 (0,002)	280
IV	6,6 (0,6)	0,022 (0,009)	307

[I]=(6,0±0,7)×10⁻⁶M, [II]=(4,7±1,0)×10⁻⁵M, [III]=(8,3±0,3)×10⁻⁵M, [IV]=(2,1±0,4)×10⁻⁵M, tolueno, 80°C. [DPA] e [DBA] de 1,7 à 10 mM, Φ^T e Φ^S em E.mol⁻¹.

3.2.2. Decomposição dos Dioxetanos II e IV Catalisada por Íons Fluoreto

Foram realizados experimentos de decomposição de II e IV em presença de fluoreto de tetrabutilamônio em THF. Em presença de íons fluoreto pode-se observar significativo aumento nas constantes de velocidade de decomposição e nas intensidades de emissão, cujo máximo, tanto para II quanto para IV, foi observado a aproximadamente 560nm (Figura 19). A decomposição quimiluminescente pode ser observada a olho nu, numa sala escura, como um relâmpago de luz amarela, cuja emissão é significativamente mais intensa para o dioxetano II.

Para o sucesso destes experimentos foi imprescindível a utilização de condições anidras, a fim de se evitar a solvatação do catalisador. As curvas cinéticas foram traçadas em THF anidro 99,9% e o catalisador utilizado foi o fluoreto de tetrabutilamônio (solução 1,0M em THF), mantidos sob atmosfera de nitrogênio. As celas de absorção foram tampadas com um septo de borracha e a adição das soluções de dioxetano e do catalisador foram realizadas através de micro-seringa. Para os estudos realizados com o dioxetano **II**, o monocromador foi centralizado em 560 nm, já com **IV** foi utilizada grade de difração em posição espelho. Esta condição onde toda a luz incidente é refletida na fotomultiplicadora, para efeitos de simplificação, será indicada como λ =ESP.

Figura 19. Espectro de Emissão Direta na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto dos Dioxetanos **II** e **IV**. (vide Parte Experimental, p. 118).

Os estudos inicialmente realizados tinham como objetivo verificar a dependência da constante de velocidade de decomposição (k_{obs}) de **II** e **IV** com a concentração de íons fluoreto. Foram traçadas curvas cinéticas de decomposição a diferentes concentrações de fluoreto à temperatura ambiente (25°C). A Figura 20 mostra o comportamento de k_{obs} frente à variação na concentração do catalisador para **II** e **IV**. Observa-se uma curva de saturação com dependência linear entre k_{obs} e $[\text{F}^-]$ para concentrações de catalisador inferiores a 5 mM. À direita, pode-se observar a citada dependência linear entre k_{obs} e $[\text{F}^-]$ na decomposição dos dioxetanos. Isto significa que, a baixas concentrações de fluoreto, a velocidade de decomposição do peróxido é determinada pela reação bimolecular entre este último e o catalisador. Desta forma, o coeficiente angular no intervalo de dependência linear entre k_{obs} e $[\text{F}^-]$ representa a constante de velocidade da reação bimolecular (k_2) entre o dioxetano e o catalisador. Os valores de k_2 obtidos para a reação bimolecular entre fluoreto e os dioxetanos **II** e **IV** foram $(11,7 \pm 0,3) \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ e $(7,98 \pm 0,67) \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente.

Figura 20. Dependência da constante de velocidade observada (k_{obs}) com a $[F^-]$ na decomposição de **II** e **IV** em THF à 25 °C, $[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5} \text{ M}$, $\lambda=560 \text{ nm}$ $[IV]=(4,1\pm0,8)\times10^{-5} \text{ M}$, $\lambda=\text{ESP}$.

Os parâmetros de ativação foram determinados através do monitoramento das curvas de decaimento de emissão direta dos dioxetanos em presença de íons fluoreto em THF. Foram traçadas curvas isotérmicas numa faixa de temperaturas entre 0 e 25°C, mantendo-se constantes as concentrações do dioxetano e do catalisador.

Na decomposição catalisada do dioxetano **II**, os parâmetros de ativação foram determinados em três concentrações distintas de fluoreto: a primeira determinação foi feita no intervalo onde é observada dependência linear entre k_{obs} e $[F^-]$ ($[F^-]=1,3\text{mM}$), as demais determinações foram realizadas no intervalo de saturação observado na Figura 20 ($[F^-]=13\text{mM}$ e 32mM). Os parâmetros determinados nas duas últimas concentrações citadas apresentam praticamente os mesmos valores, como era de se esperar. Embora no ponto onde a variação da $[F^-]$ altera k_{obs} (intervalo com dependência linear) os resultados determinados sejam um pouco inferiores (*ca.* de 1kcal) aos demais, ainda assim foi observado um aumento significativo na constante de velocidade de decomposição com relação à decomposição unimolecular (Tabela 3).

Face aos resultados obtidos para a decomposição catalisada do dioxetano **II**, para o estudo de **IV**, os parâmetros foram determinados apenas no intervalo de saturação observado na Figura 20, para uma única concentração de catalisador, $[F^-]=32 \text{ mM}$ (Tabela 3).

Os parâmetros de ativação foram determinados, como na decomposição unimolecular, através dos gráficos de Arrhenius e de Eyring. Na Figura 21 está apresentado o gráfico obtido para a determinação da energia de ativação na decomposição catalisada do dioxetano **IV**. A Figura 22

mostra um exemplo típico da curva obtida para a determinação da entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e entropia ($\Delta S^\ddagger$) de ativação na decomposição catalisada por íons fluoreto do dioxetano **II**.

Figura 21. Gráfico para a Determinação da Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de **IV** ($[\text{IV}] = (4,2 \pm 0,8) \times 10^{-5}$ M, $[\text{F}^-] = 32\text{mM}$, $\lambda = \text{ESP.}$).

Figura 22. Gráfico para a Determinação da Entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e Entropia ($\Delta S^\ddagger$) de Ativação na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de **II** ($[\text{II}] = (2,0 \pm 0,4) \times 10^{-5}$ M, $[\text{F}^-] = 32\text{mM}$, $\lambda = 560$ nm).

De forma análoga, os parâmetros de quimiluminescência na decomposição catalisada foram determinados conforme descrito para a decomposição unimolecular. Na Figura 23 pode-se observar o gráfico de Arrhenius para a determinação da energia de quimiluminescência (E_{chl}) na decomposição catalisada de **II**. Já na Figura 24 está ilustrado o gráfico de Eyring para a determinação da entalpia de ativação de quimiluminescência ($\Delta H^\ddagger_{\text{chl}}$) na decomposição de **IV** em presença de íons fluoreto.

Figura 23. Gráfico para a Determinação da Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de **II** ($[\text{II}] = (2,0 \pm 0,4) \times 10^{-5}$ M, $[\text{F}^-] = 32\text{mM}$, $\lambda = 560$ nm).

Figura 24. Gráfico para a Determinação da Entalpia de Quimiluminescência ($\Delta H^\ddagger_{\text{chl}}$) na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de **IV**. ($[\text{IV}] = (4,2 \pm 0,8) \times 10^{-5}$ M, $[\text{F}^-] = 32\text{mM}$, $\lambda = \text{ESP.}$).

Tabela 3. Parâmetros de Ativação na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de II e IV

dioxetano	[F ⁻] (mM)	E _a	ΔH [‡]	ΔS [‡]	ΔG [‡] (25 °C)	E _{chl}	ΔH [‡] _{chl}	k x10 ² (25°C)
II	1,3	22,6	22,1	8,9	19,4	19,2	18,7	3,7
		(0,3)	(0,1)	(0,2)	(0,4)	(0,4)	(0,4)	
	13	22,2	20,6	5,2	19,0	17,2	16,6	6,7
		(0,3)	(0,3)	(0,1)	(0,3)	(0,5)	(0,5)	
	32	21,1	20,6	5,0	19,1	16,7	16,2	6,3
		(0,2)	(0,2)	(0,1)	(0,2)	(0,4)	(0,4)	
IV	32	18,1	17,6	-5,9	19,4	19,8	19,3	4,3
		(0,8)	(0,8)	(0,4)	(1,0)	(1,3)	(1,3)	

E_a , $\Delta H^\ddagger$, E_{chl} , $\Delta H^\ddagger_{chl}$ e $\Delta G^\ddagger$ em kcal.mol⁻¹; $\Delta S^\ddagger$ em cal.mol⁻¹.K⁻¹, k em s⁻¹
 $[III] = (2,0 \pm 0,4) \times 10^{-5} M$, $\lambda = 560 nm$, $[IV] = (4,2 \pm 0,8) \times 10^{-5} M$, THF, $\lambda = ESP$, Temperatura: 0-25°C.

3.2.2.1. Determinação dos Rendimentos Quânticos de Espécies Excitadas Singlete na Decomposição Catalisada de II e IV

Os rendimentos de espécies excitadas singlete (Φ^S) geradas na decomposição catalisada de **II** e **IV** foram determinados através de quimiluminescência direta. Foi observado que os espectros de quimiluminescência das reações catalisadas de **II** e **IV** coincidiam com os espectros de fluorescência dos respectivos fenolatos gerados a partir da adição de fluoreto de tetrabutilamônio aos compostos carbonílicos correspondentes contendo o substituinte silila (eq. 47).

Para a determinação de Φ_{DC} , como na emissão sensibilizada, a fotomultiplicadora foi calibrada contra o padrão secundário de luminol. Entretanto, para a determinação de Φ^S , conforme já citado, é essencial a determinação dos rendimentos quânticos de fluorescência das espécies emissoras geradas (Φ_f) (eq. 18, p.40). Infelizmente, tais valores não estão descritos na literatura, sendo necessários consideráveis esforços para determiná-los. Neste caso, a geração do fenolato foi realizada “in situ”, na própria cela de fluorescência, simulando as mesmas condições utilizadas para o monitoramento da termólise (eq. 47).

Para a determinação de Φ_f dos fenolatos gerados na decomposição catalisada de **II** e **IV**, foi utilizado um padrão, cujo rendimento quântico de fluorescência é bem definido, e cuja distribuição espectral coincide com a dos produtos analisados. A fluoresceína possui um espectro de emissão com máximo em 560 nm e, em solução 0,1 M de NaOH, apresenta um rendimento de fluorescência de 0,91.⁹⁸

A Tabela 4 resume os resultados obtidos na determinação dos rendimentos quânticos para a decomposição catalisada por íons fluoreto dos dioxetanos **II** e **IV**.

Tabela 4. Rendimentos Quânticos na Decomposição Catalisada de **II** e **IV**.

Dioxetano	$\Phi_{CHL} \times 10^2$	$\Phi_f \times 10^2$	Φ^S
II	3,7 (0,8)	3,6 (0,2)	1,0 (0,3)
IV	0,0074 (0,0018)	0,73 (0,04)	0,010 (0,003)

Φ_{CHL} e Φ_f em E.mol⁻¹, [F⁻]=32mM, [II]=(2,0±0,4)×10⁻⁵ M, [IV]=(4,1±0,8)×10⁻⁵ M, 25^oC, THF.

O método de transferência de energia para a determinação de rendimentos quânticos não pôde ser utilizado devido à emissão das espécies excitadas geradas na decomposição catalisada de **II** e **IV** ocorrer a aproximadamente 560 nm. O comprimento de onda de emissão mais longo das espécies excitadas geradas, dificulta a transferência de energia para os aceptores convencionais, DPA e DBA. Testamos o rubreno, cujo máximo de emissão ocorre em *ca.* de 570 nm, comoceptor porém em presença do sensibilizador, utilizando-se a maior concentração possível (solubilidade), a intensidade de emissão observada era apenas o dobro da detectada para a emissão direta da espécie excitada gerada, o que inviabiliza totalmente a utilização do método. Para a adequada utilização do método de transferência de energia, é necessário garantir que a emissão proveniente do sensibilizador seja muito maior que a emissão direta, caso contrário, não podem ser obtidos resultados quantitativos.

4. Discussão

4.1. Síntese dos Dioxetanos I-IV

O estabelecimento das rotas sintéticas para a obtenção dos dioxetanos **V** e **VI** foi resultado de um trabalho intenso desenvolvido durante um longo período de tempo. Vários caminhos alternativos, alguns viáveis, outros não, às vezes devido ao não funcionamento de um simples passo reacional, foram minuciosamente testados e analisados. Entretanto, não houve tempo hábil para a síntese completa de tais compostos. No decorrer das atividades, devido às dificuldades encontradas na execução da síntese, propusemo-nos a estudar os dioxetanos **I-IV**, os quais, em termos de propriedades quimiluminescentes, devem revelar resultados semelhantes aos esperados para **V** e **VI**, mais complexos.

Os compostos **I-IV** foram obtidos através de seqüências reacionais contendo apenas quatro passos. Estes dioxetanos foram preparados a partir das respectivas olefinas, através do método de Kopecky.¹⁷ Os dioxetanos **I** e **II** foram obtidos com rendimentos globais de aproximadamente 10%. Em ambos os casos foi detectada, através de RMN de ¹H e de ¹³C, a formação dos isômeros *Z/E*, os quais não foram separados. A síntese de **III** e **IV** pode ser considerada insatisfatória em termos de rendimentos globais (1,0 e 0,1% respectivamente), fato este bastante preocupante para uma série de preparações com apenas três passos e que pode ser atribuído à formação do hidroperóxido alílico **20** como produto principal da reação entre o β-bromo-hidroperóxido e a base (eq. 43, p. 61). Não houve necessidade de se otimizar tais resultados, pois as quantidades obtidas foram suficientes para que fosse atingido o objetivo proposto, o de estudar as propriedades quimiluminescentes destes compostos.

A caracterização de **I-IV** foi feita através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear a -5°C. Os produtos de termólise, analisados através de RMN e espectrometria de massa (LRMS), foram aqueles esperados para a decomposição unimolecular de 1,2-dioxetanos, o que também confirmou as estruturas propostas.

4.2. Estudo das Propriedades Quimiluminescentes dos Dioxetanos I-IV

4.2.1. Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV

Na decomposição unimolecular dos dioxetanos **I** e **II**, foi observada emissão direta em 412 nm. Já no caso de **III** e **IV**, foi necessária a utilização de sensibilizadores para a detecção dos produtos eletronicamente excitados. Os parâmetros de ativação, determinados na decomposição unimolecular de I-IV, foram aqueles normalmente esperados para 1,2-dioxetanos trissubstituídos. Para **III** e **IV**, tais parâmetros apresentam valores muito próximos entre si, valores estes relativamente inferiores àqueles obtidos para **I** e **II** (Tabela 1, p. 70). Isso pode ser explicado devido à maior interação estérica 3,3 no anel peroxídico,⁹⁹ pois os dioxetanos **I** e **II** contêm um substituinte metila e um etila na posição 3 enquanto, **III** e **IV** possuem dois grupos metila na mesma posição. Como **I** e **II** possuem um substituinte de maior volume, sofrem uma maior interação estérica e um conseqüente aumento de estabilidade. A comparação entre os valores de $\Delta H^\ddagger$ obtidos para **I** e **II** indica a possível ocorrência de decomposição por catálise escura no caso de **I**, fato este, constatado pelo valor negativo de $\Delta S^\ddagger$ (Tabela 1, p. 70).

Um ponto a ser comentado é o fato dos valores obtidos para os parâmetros de quimiluminescência na decomposição de **I** e **II** (Tabela 1) serem inferiores aos determinados para os parâmetros de ativação ($\Delta H_{\text{ch}}^\ddagger < \Delta H^\ddagger$ e $E_{\text{chl}} < E_a$), fato este também observado para a decomposição catalisada de **II** (Tabela 3). A princípio, isso poderia ser considerado bastante surpreendente, pois os parâmetros de ativação de quimiluminescência devem corresponder à parte da reação que leva à emissão, eliminando assim a participação de catálise escura, a qual, por sua vez, deve provocar uma redução na energia de ativação. Uma possível explicação para esse fato seria uma energia de ativação negativa para a fluorescência do produto de clivagem do dioxetano. Um exemplo de composto com energia de ativação de fluorescência negativa é o DBA, cuja energia de ativação de fluorescência é de $-4,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$.¹⁰⁰ Na decomposição térmica de **III** e **IV** não se observou tal fenômeno (Tabela 1) pois, como já citado, as reações de decomposição foram monitoradas através da utilização de DPA, cujo rendimento quântico de fluorescência independe da temperatura. Aliás, no caso de **III** e **IV**, os parâmetros de ativação determinados apresentaram valores inferiores aos de quimiluminescência ($\Delta H_{\text{ch}}^\ddagger > \Delta H^\ddagger$ e $E_{\text{chl}} > E_a$). Na decomposição de **III**, observamos que os parâmetros de ativação apresentavam valores *ca.* de 4kcal mais baixos do que aqueles obtidos para os parâmetros de quimiluminescência. Esta variação, relativamente alta, pode ser atribuída à acentuada ocorrência de catálise escura, um problema bastante difícil de ser evitado quando se

trabalha com compostos tão lábeis como 1,2-dioxetanos.¹¹ O valor negativo determinado para a entropia de ativação (ΔS^*) reforça esta hipótese.

Os rendimentos quânticos, determinados através do método DBA/DPA, mostram a formação preferencial de estados excitados triplete. Para **I** e **II**, as relações ϕ^T/ϕ^S obtidas, 23 e 19, respectivamente, são inferiores àquelas esperadas, em geral, observa-se uma relação $\phi^T/\phi^S > 100$ para a termólise de 1,2-dioxetanos. Estas relações relativamente baixas podem ser devidas ao valor atribuído à eficiência quântica de transferência de energia triplete-singlete, $\Phi_{DBA}^{TS} = 0,2$, na decomposição sensibilizada por DBA de dioxetanos contendo substituintes simples.^{19,78} Não efetuamos qualquer experimento para a determinação deste valor, para o caso dos compostos carbonílicos excitados gerados na decomposição de **I-IV**. Caso as energias triplete dos compostos carbonílicos aromáticos excitados, gerados na decomposição de **I** e **II**, sejam inferiores à do estado T_2 do DBA, a transferência de energia TS deve ser bem menos eficiente, o que subestima o valor do rendimento quântico triplete determinado. Não obstante, é bom lembrar que os valores absolutos determinados para os rendimentos quânticos triplete de **I-IV** são muito próximos (Tabela 2, p.72) e, portanto, os resultados obtidos para as relações Φ^T/Φ^S de **I** e **II**, podem simplesmente ser intrínsecos de tais dioxetanos.

Em suma, os resultados obtidos na decomposição unimolecular de **I-IV** demonstram que tais anéis peroxídicos apresentam características típicas de 1,2-dioxetanos “simples”, isto é, estabilidade razoável ($\Delta G^* \approx 25 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e formação preferencial de espécies excitadas triplete.

Um ponto muito importante a ser comentado, é a similaridade dos valores determinados para os parâmetros de ativação e para os rendimentos quânticos dos pares de dioxetanos **I/II** e **III/IV**, respectivamente. Os dioxetanos **I** e **III** foram preparados apenas como padrão de comparação para o estudos das propriedades quimiluminescentes de **II** e **IV**, respectivamente. Tais resultados indicam que ambos os substituintes do anel aromático, metoxila ou sililoxila, exercem efeitos semelhantes sobre a decomposição unimolecular de 1,2-dioxetanos.

4.2.2. Decomposição Catalisada por Fluoreto dos Dioxetanos **II** e **IV**

A decomposição induzida por fluoreto foi realizada através do tratamento dos dioxetanos sililsubstituídos, **II** e **IV**, com fluoreto de tetrabutylamônio (Bu_4NF) em THF anidro. Esta reação provoca a desproteção do substituinte fenol sililado, gerando o íon fenolato, espécie esta, considerada responsável pela doação de elétron para o anel peroxídico, iniciando o processo de decomposição do dioxetano através de uma sequência de eventos análoga ao mecanismo CIEEL.

O mecanismo CIEEL, o qual envolve, num primeiro passo, a transferência de elétron de uma espécie doadora apropriada para o anel peroxídico, tem sido amplamente utilizado para explicar a formação eficiente de estados excitados singlete na decomposição de certos tipos de peróxidos. A decomposição de dioxetanos, induzida quimicamente através da geração de íons fenolato, foi verificada através de vários exemplos descritos na literatura (vide Introdução, p.29), entre eles dioxetanos contendo como substituintes os grupos espiroadamantila e *t*-butildimetilsililoxifenila (**AMFPD**), os quais apresentam os mais altos rendimentos de espécies excitadas singlete, 30-50%, até o momento relatados.

Em contraste com a decomposição unimolecular de **II** e **IV**, na qual se observa uma emissão fraca e contínua durante aproximadamente 30 min a 80°C, em presença de íons fluoreto, a 25°C, obtém-se um relâmpago de luz amarelo, que dura apenas alguns segundos, e a completa decomposição dos dioxetanos. A constante de velocidade, determinada para a decomposição unimolecular de **II** a 25°C (k_{25}) a partir da extrapolação do gráfico de Arrhenius, foi $2,38 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, o que equivale a um tempo de meia vida ($t_{1/2}$) de aproximadamente 81h. Em presença de íons fluoreto, a reação torna-se significativamente mais rápida e o $t_{1/2}$ do composto peroxídico é reduzido a 11s. O dioxetano **IV** apresenta comportamento análogo, a constante de velocidade determinada para a decomposição unimolecular foi de $7,99 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, passando a $4,28 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, na presença do catalisador. Em suma, em presença de íons fluoreto, as constantes de velocidade de decomposição de **II** e **IV** sofrem um drástico aumento (*ca.* 1×10^4), ocorrendo, em ambos os casos, uma forte emissão com máximo em 560nm. Além disso, os espectros de quimiluminescência das reações catalisadas de **II** e **IV** coincidiam com os espectros de fluorescência dos respectivos fenolatos, gerados a partir da adição de Bu_4NF aos correspondentes compostos carbonílicos contendo o substituinte silila. Tais fatos indicam que o fenolato gerado é responsável pela iniciação do processo de decomposição do dioxetano, o qual leva à formação preferencial de estados excitados singlete.

Foi verificado que os gráficos de intensidade de emissão *versus* tempo, para a decomposição catalisada de **II** e **IV**, apresentavam cinética de primeira ordem. A constante de velocidade observada

(k_{obs}) é independente da concentração de catalisador adicionado, para valores de concentração deste último superiores a 5 mM. Para concentrações de catalisador inferiores a este valor, k_{obs} e a $[\text{F}^-]$ correlacionam-se linearmente. A explicação para tal comportamento baseia-se no fato de, a baixas concentrações do agente catalisador, a velocidade de decomposição do dioxetano ser determinada pela reação bimolecular entre este último e os íons fluoreto presentes no sistema, ou seja, a reação de desproteção. Os valores obtidos para k_2 (constante de velocidade bimolecular) no caso de **II** e **IV** foram $(11,7 \pm 0,3)$ e $(7,98 \pm 0,67) \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente, o que indica, como era de se esperar, que a reação de “de-sililação” ocorre praticamente com a mesma velocidade em ambos os casos. Quando a constante de velocidade observada (k_{obs}), passa a ser independente da concentração de fluoreto, esta deve corresponder à transferência de elétron do fenolato gerado para o anel peroxídico, passo lento no mecanismo CIEEL (Figura 20, p.74). Para concentrações de fluoreto superiores a 5mM, os valores determinados para k_{obs} (25°C), nas decomposições de **II** e **IV** foram $6,3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ e $4,3 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente.

Com base nestas observações, seguindo o esquema mecanístico CIEEL, o mecanismo que propomos para a decomposição catalisada de **II** (Esquema 19) e **IV** (Esquema 20) envolve, num primeiro passo, a desproteção do grupamento silício através da ação de fluoreto, gerando o fenolato correspondente que, a seguir, age como doador interno de elétron para o anel dioxetânico. Após a transferência intramolecular de elétron, ocorre a fragmentação do anel peroxídico, gerando dois compostos carbonílicos. No caso do dioxetano **II**, o ânion-radical, formalmente gerado após fragmentação, representa nada mais que um estado eletrônico do fenolato, seja este excitado ou fundamental. No caso do dioxetano **IV**, seria necessária a retro-transferência de elétron para gerar o fenolato, quer no estado excitado ou fundamental.

Esquema 19. Mecanismo Proposto para a Decomposição Catalisada do Dioxetano **II**.

Esquema 20. Mecanismo Proposto para a Decomposição Catalisada do Dioxetano IV.

A Tabela 5 resume os resultados obtidos nas decomposições térmica e catalisada por fluoreto dos dioxetanos II e IV.

Tabela 5. Decomposição Unimolecular e Catalisada por Fluoreto dos Dioxetanos II e IV.

Dioxetano	Decomposição	$\Delta H^{\ddagger a}$	$\Delta S^{\ddagger a}$	$\Delta G^{\ddagger a}$ (25°C)	$t_{1/2}$ (25°C)	$\Phi^{T d}$ $\times 10^2$	$\Phi^{S d}$ $\times 10^2$
(II)	unimolecular ^b	24,9 (0,7)	-0,54 (0,02)	25,1 (0,6)	$2,9 \times 10^5$ s 81 h	6,8 (1,8)	0,36 (0,10)
	catalisada ^c por F^-	20,6 (0,2)	5,0 (0,07)	19,2 (0,2)	11 s	—	100 (30)
(IV)	unimolecular ^b	22,6 (0,9)	-5,8 (0,1)	24,1 (1,1)	$8,7 \times 10^4$ s 24 h	6,6 (0,6)	0,022 (0,01)
	catalisada ^c por F^-	17,6 (0,8)	-5,9 (0,4)	19,4 (1,0)	16 s	—	1,0 (0,3)

a. $\Delta H^{\ddagger}$ e $\Delta G^{\ddagger}$ em kcal.mol⁻¹; $\Delta S^{\ddagger}$ em cal.mol⁻¹.K⁻¹. b. [II]=(1,0±0,2)×10⁻⁴M, [IV]=(2,1±0,4)×10⁻⁵M, tolueno, 65 - 85°C, c. [II]=(2,0±0,4)×10⁻⁵M - 560 nm, [IV]=(4,2±0,8)×10⁻⁵M - λ =ESP., THF, [F⁻]=32 mM, 0-25°C, d. Φ^T e Φ^S em E.mol⁻¹.

A adição de íons fluoreto provoca uma redução significativa nos parâmetros de ativação, em relação ao observado para a decomposição unimolecular de **II** e **IV**. Apesar dos valores de $\Delta H^\ddagger$ e $\Delta S^\ddagger$, na decomposição em presença de Bu_4NF , serem substancialmente diferentes para **II** e **IV**, os valores de $\Delta G^\ddagger$ (25 °C) são praticamente idênticos. As diferenças observadas quanto à entropia de ativação, positiva para **II** e negativa para **IV**, podem ser atribuídas a uma maior distribuição de carga no estado de transição provocando uma perda na solvatação, no caso de **II**, e à necessidade de uma conformação específica no estado de transição, para a ocorrência da transferência de elétron, no caso de **IV**. Entretanto, como na decomposição catalisada, $\Delta H^\ddagger_{\text{chl}}$ é aproximadamente 2 kcal.mol⁻¹ maior que $\Delta H^\ddagger$ (Tabela 3, p. 76), um valor negativo de $\Delta S^\ddagger$ poderia simplesmente indicar a ocorrência de catálise escura, ou seja, um caminho de reação que leva à formação do produto no estado fundamental. A determinação da entropia de ativação de quimiluminescência através da (eq. 40) (vide Introdução, p. 54), na decomposição catalisada de **IV**, reforça a hipótese de catálise escura, pois $\Delta S^\ddagger_{\text{chl}} \approx -0,014 \text{ cal.mol}^{-1}\text{K}^{-1}$. No caso de **II**, não se pode calcular tal parâmetro, pois, conforme já mencionado, a decomposição deste composto envolve uma energia de ativação de fluorescência negativa, a qual não foi determinada.

Os rendimentos quânticos singlete para a decomposição catalisada de **II** e **IV**, obtidos através de medidas diretas de quimiluminescência, são muito distintos, 100 e 1,0%, respectivamente. A explicação para tal fenômeno, apesar de tocar num ponto extremamente obscuro e contestado por muitos especialistas na área, pode ser atribuída ao mecanismo que propomos para a decomposição catalisada de **II** (Esquema 19, p. 82) e **IV** (Esquema 20, p. 83). Uma das propostas baseia-se na natureza das espécies carbonílicas carregadas, geradas após a fragmentação. Na decomposição de **II**, devido ao substituinte aromático diretamente ligado ao anel, após a fragmentação seriam gerados formalmente um ânion-radical de um composto carbonílico aromático e um fragmento neutro (2-butanona, Esquema 19). Já no caso de **IV**, poderia ser formado o ânion-radical derivado da acetona (Esquema 20→A), pois não existe mais a estabilização do ânion-radical devido à conjugação com o substituinte aromático. Portanto, no caso de **II**, o ânion-radical gerado representaria o próprio estado excitado do produto^{**}, ao contrário do que ocorreria com **IV**, onde um processo de retro-transferência de elétron intermolecular seria necessário para gerar o fenolato excitado. Neste caso, os rendimentos quânticos inferiores observados poderiam ser atribuídos ao escape do par radicalar

^{**} O fato de Φ^S , obtido na decomposição catalisada de **II**, ser igual a 1,00 indica que a estrutura eletrônica de transferência de carga, formulada no Esquema 20, realmente corresponde a um estado eletronicamente excitado do 3-fenoxibenzaldeído.

gerado da gaiola do solvente, cuja aniquilação é responsável pela formação de estados eletronicamente excitados. Entretanto, seriam necessários mais dados para que pudéssemos sustentar esta suposição. Por exemplo, o estudo da influência do solvente sobre os rendimentos quânticos deve fornecer dados que contribuam para a elucidação deste mecanismo. Um solvente mais viscoso deve reduzir o escape da gaiola do solvente, aumentando assim os rendimentos observados na decomposição de **IV**, porém não deve exercer qualquer influência sobre os rendimentos observados na decomposição de **II**, pois a retro-transferência, neste caso, segundo o esquema proposto, é intramolecular.

Uma segunda possibilidade de explicação para os diferentes rendimentos quânticos singlete observados, seria a geração de um ânion-radical derivado do composto carbonílico não-conjugado e um fragmento neutro (Esquema 20→B), após a fragmentação. Neste caso, o processo de retro-transferência seria dificultado, devido à impossibilidade de conjugação eletrônica entre as espécies doadora e receptora de elétron, reduzindo assim a eficiência quântica.

Esta última hipótese pode ser reforçada com base no chamado efeito meta, efeito este proposto por Zimmerman e Sandel em 1963,¹⁰¹ para explicar a reatividade dos isômeros *meta*- e *para*-substituídos no processo de foto-clivagem de acetato de benzila, também utilizado posteriormente para elucidar alguns mecanismos de fotólise de compostos aromáticos.¹⁰² Segundo esta proposta, em contraste com a química de estado fundamental, no estado excitado de compostos aromáticos contendo substituintes doadores de elétrons há uma maior densidade eletrônica na posição *meta* com relação à posição *para*. Isso significa que um substituinte em *meta* deve estabilizar o estado excitado e/ou fornecer um caminho reacional não disponível para o composto análogo *para*-substituído.

Aplicando este modelo ao estudo da decomposição catalisada de **II** e **IV**, podemos dizer que, no caso de **II**, a espécie excitada gerada, o 3-fenoxibenzaldeído, pode ser estabilizado através de “estruturas de ressonância” (Figura 25). Como consequência desta estabilização, o estado excitado torna-se energeticamente mais favorável, facilitando assim a retro-transferência de elétron.

Figura 25. “Estruturas de Ressonância” do 3-Fenoxibenzaldeído Eletronicamente Excitado.

No caso do dioxetano **IV**, não ocorre a estabilização do composto excitado formado pelo substituinte doador de elétron através de “estruturas canônicas”, pois não existe possibilidade de conjugação eletrônica da função carbonílica com o sistema aromático. Desta forma, há uma menor estabilização do estado eletronicamente excitado, gerado na decomposição de **IV** e o processo para a geração deste estado, torna-se menos favorável, quando comparado ao dioxetano **II** (Figura 26).

Figura 26. “Estruturas de Ressonância” do 3-fenoxiacetaldeído Eletronicamente Excitado.

Contudo, é importante ressaltar que seriam necessários dados adicionais para confirmar esta hipótese a qual, entretanto, é bastante adequada para explicar o conjunto de dados de que dispomos no momento.

O efeito *meta* também pode ser utilizado para explicar a menor estabilidade e os baixos rendimentos quânticos de dioxetanos tipo AMPPD contendo um padrão de substituição *para* no anel aromático. No caso de um padrão de substituição *para*, não há estabilização do estado eletronicamente excitado gerado pelo substituinte doador de elétron. Em compensação, existe a possibilidade de conjugação de carga no estado fundamental do fenolato gerado com o anel aromático, favorecendo um novo caminho de reação, o qual levará à formação direta de produtos no estado fundamental.⁸⁶

Utilizando esta mesma linha de raciocínio, podemos fornecer uma explicação coerente para o fato de termos trabalhado com compostos *m*-substituídos. Caso tivéssemos sintetizado o dioxetano **VII**, em analogia à sequência proposta para a decomposição *via* CIEEL intramolecular de **II**, o ânion-radical gerado após a perda do fragmento neutro (Esquema 19) poderia ser escrito como uma das estruturas canônicas do *p*-fenoxibenzaldeído, ou seja, haveria um caminho de reação levando ao produto no estado fundamental (Figura 27).

Figura 27. Estruturas Canônicas^{††} do Ânion-Radical Proposto como Intermediário na Decomposição *via* CIEEL Intramolecular do Dioxetano VII.

Entretanto, quando a espécie carbonílica encontra-se distante do anel aromático, esta explicação falha, pois não há possibilidade de conjugação direta no estado fundamental. Portanto, caso o mecanismo CIEEL seja realmente operante, não deveriam haver diferenças significativas entre os rendimentos quânticos observados para estes dois padrões de substituição, dioxetanos **IV** e **VIII**, por exemplo. Infelizmente não houve tempo hábil para que pudessemos realizar tais estudos.

Na realidade, são poucos os trabalhos desenvolvidos na elucidação dos baixos rendimentos quânticos obtidos na decomposição *via* CIEEL de alguns peróxidos. Até o momento, na maioria dos trabalhos publicados, a procura por sistemas eficientes de produção de luz tem adquirido prioridade sobre a elucidação dos passos reacionais responsáveis pela geração de estados eletronicamente excitados. Não há explicações razoáveis na literatura para as baixas eficiências quânticas observadas em muitos sistemas quimiluminescentes, nos quais é sugerida a ocorrência do mecanismo CIEEL. Aliás, tem-se notado uma preocupação intensa com relação à procura de sistemas que apresentem propriedades similares a **AMPPD** e um certo “descaso” quanto à questão mecanística.

Analisando-se do ponto de vista da eficiência quântica, o dioxetano **II** apresenta resultados excelentes: $\phi^S=100\%$ sendo todavia, pouco estável à temperatura ambiente ($t_{1/2}\cong 3$ dias; 25°C , tolueno), o que limita sua utilização em imunoensaios, além de não ser o objetivo deste trabalho.

Contudo, nosso objetivo principal era o de verificar a ocorrência do mecanismo CIEEL na decomposição catalisada de **IV**, um exemplo ainda não estudado, onde o substituinte doador de elétron não se encontra diretamente ligado ao anel peroxídico, havendo um grupo CH_2 separando as espécies doadora e receptora de elétron. A observação de **catálise na decomposição de IV** constitui o **primeiro exemplo de um mecanismo CIEEL intramolecular** em 1,2-dioxetanos iniciado pela

^{††} As estruturas **b** e **c** não representam realmente estruturas canônicas, pois diferem quanto ao número de elétrons não emparelhados.

transferência de elétron de um doador que não está diretamente ligado ao anel peroxidico (*transferência de elétrons através do espaço*).

Neste trabalho, propõe-se que o mecanismo CIEEL intramolecular envolva transferências "totais" de elétrons. Entretanto, deve-se mencionar que não existe qualquer prova direta da ocorrência de tais transferências, principalmente a retro-transferência, que leva à formação de estados eletronicamente excitados. No caso do CIEEL intramolecular, evidências concretas de tais transferência são ainda mais difíceis de serem observadas, do que no caso do mecanismo intermolecular. Porém, na falta de um modelo melhor, utilizamos esta proposta mecanística para discutir os resultados obtidos, pois, não há dúvida de que os fenolatos gerados desempenham um papel fundamental no mecanismo de decomposição de **II** e **IV**.

Apesar da eficiência de formação de estados excitados singlete (ϕ^S) ser significativamente inferior para a decomposição de **IV**, quando comparado a **II**, o valor de ϕ^S obtido ($\phi^S=0,01 \text{ E.mol}^{-1}$) é significativamente superior àqueles observados em muitos sistemas que sofrem decomposição segundo o mecanismo CIEEL intramolecular.^{63, 64}

Este trabalho pode ser o início de uma longa trilha de investigações, as quais devem esclarecer muitos pontos, ainda obscuros e por isso intensamente criticados, da sequência proposta. A própria síntese e estudo das propriedades quimiluminescentes dos dioxetanos **V** e **VI** pode fornecer resultados interessantes a serem explorados. O aumento da cadeia carbônica que separa o substituinte doador de elétron do anel peroxidico para permitir a verificação do efeito de catálise constitui uma linha interessante a ser seguida como extensão deste trabalho, a qual deve nos fornecer ferramentas valiosas para a elucidação dos passos reacionais envolvidos neste mecanismo. Além disso, o padrão de substituição do anel aromático é um ponto ainda pouco explorado no mecanismo CIEEL. A utilização de um padrão de substituição *para* no substituinte aromático, nos casos onde existe uma ponte alquílica de ligação entre o anel dioxetânico e o resíduo fenolato gerado, deve nos aproximar da comprovação do mecanismo proposto.

Em resumo, este trabalho apresenta os primeiros resultados sobre a ocorrência de um processo de quimiluminescência iniciada quimicamente pela transferência de elétron "através do espaço". Verificamos que o dioxetano **IV** sofre catálise em presença de íons fluoreto com rendimentos quânticos apreciáveis. Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que, nos casos de **II** e **IV** a primeira transferência de elétron ocorre com velocidade comparável, gerando diretamente, após fragmentação do anel dioxetânico, o fenolato excitado no caso de **II**. Porém, no caso de **IV**, a retro-transferência deve ser responsável pela formação de estados excitados, os quais

são formados com menor eficiência. Os resultados obtidos são coerentes com a ocorrência de uma transferência de elétron como passo inicial da decomposição catalisada. Além disso, os rendimentos quânticos singlete, obtidos para **II** e **IV**, podem ser explicados em termos de um modelo de retro-transferência de elétron para a formação de estados excitados. Estes dados constituem evidências a favor dos passos reacionais, propostos por Schuster^{4, 5} para o mecanismo CIEEL e tão severamente criticados por alguns especialistas na área.^{20, 67} Com nossos resultados, acreditamos ter avançado alguns passos, contribuindo para a elucidação mecanística deste processo, restando, entretanto, muito a ser feito para comprová-lo de maneira inequívoca.

5. Conclusões

Foram sintetizados e caracterizados, através de suas propriedades espectroscópicas e quimiluminescentes, os dioxetanos **I-IV**.

Os parâmetros de ativação e rendimentos de estados excitados determinados para a decomposição unimolecular são aqueles normalmente obtidos para 1,2-dioxetanos trissubstituídos. Os compostos estudados são relativamente estáveis ($\Delta G^* \cong 25 \text{ kcal.mol}^{-1}$) e, quando termolisados, ocorre a preferencial formação de estados excitados tripleto.

Em presença de íons fluoreto, os dioxetanos **II** e **IV** tornam-se extremamente instáveis, emitindo um relâmpago de luz amarela (560nm), emissão esta, devida à preferencial formação de estados excitados singleto. Os rendimentos quânticos singleto (Φ^S), para a decomposição catalisada de **II** e **IV**, são excepcionalmente altos, 100 e 1,0%, respectivamente. As constantes de velocidade são aproximadamente quatro ordens de grandeza superiores às aquelas observadas para a decomposição unimolecular. Os parâmetros de ativação para as reações catalisadas apresentam valores consideravelmente mais baixos que aqueles obtidos para as decomposições unimoleculares.

Os resultados obtidos, principalmente com **IV**, podem ser explicados com base no esquema mecanístico CIEEL intramolecular, fornecendo portanto, evidências a favor da proposta de Schuster.^{4, 5}

A observação de um **mecanismo CIEEL intramolecular** na decomposição catalisada de **IV** representa o primeiro exemplo da literatura da ocorrência deste mecanismo, onde o substituinte doador de elétron **não** está diretamente ligado ao anel peroxídico.

6. Parte Experimental

Toda aparelhagem foi previamente secada em estufa e resfriada num dessecador contendo sílica-gel granulada. Para concentrar as soluções orgânicas foi utilizado um evaporador rotativo operando à pressão reduzida (aproximadamente 30 mmHg). No caso em que os compostos foram isolados por evaporação de suas soluções, os resíduos foram submetidos a vácuo, produzido por uma bomba a óleo, até obter-se peso constante.

Os solventes foram previamente secados segundo os métodos usuais.¹⁰³ O tetra-hidrofurano (THF) e o éter utilizados foram destilados de sódio e benzofenona sob atmosfera de nitrogênio imediatamente antes do uso. O éter de petróleo utilizado corresponde à fração 30-60°C. Os solventes utilizados para purificação dos dioxetanos e dos β -bromo-hidroperóxidos, em coluna cromatográfica, diclorometano e hexano, foram tratados previamente com CaCl_2 , a seguir destilados de CaH_2 , mantidos em repouso sob EDTA durante 24h e finalmente filtrados.

O acompanhamento das reações através do consumo de reagentes e/ou aparecimento dos produtos foi feito, sempre que possível, através de cromatografia gasosa utilizando-se coluna apolar megabore CBP1 W25 100 (0,53mm de diâmetro, espessura do filme= 1,0 μm , comprimento=25m) em um aparelho Shimadzu modelo CG 14A, com detector de ionização de chama.

Os espectros de RMN (RMN- ^1H e RMN- ^{13}C) foram registrados em um espectrômetro Brucker AC-200-F. Os deslocamentos químicos estão relatados em partes por milhão em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno. No caso de compostos sililados, ao invés de TMS como padrão interno, foi utilizado o CDCl_3 .

Os espectros de massa (LRMS) foram obtidos a 70 eV em um aparelho CG-MS Hewlett Packard formado pelos modelos 5988A (massa) e 5890 (cromatógrafo) pertencentes ao IQ-USP.

Precauções:

Dioxetanos, soluções concentradas de peróxido de hidrogênio e β -bromo-hidroperóxidos são potencialmente explosivos, portanto é necessário extremo cuidado ao se trabalhar com tais compostos. O uso de equipamentos de segurança, tais como vidros de proteção, máscaras e luvas, é obrigatório durante a preparação e o manuseio de compostos peroxidicos. Quando manuseados pela primeira vez, o procedimento experimental deve ser cuidadosamente supervisionado e a quantidade, não deve exceder 2-3 g para β -bromo-hidroperóxidos e 500 mg para dioxetanos.⁶⁸ Os β -bromo-hidroperóxidos são substâncias extremamente corrosivas, mesmo soluções diluídas podem provocar severas manchas brancas sobre a pele.

Os dioxetanos e β -bromo-hidroperóxidos preparados neste trabalho não apresentam grau de periculosidade extremamente alto, ainda assim foram manuseados a temperaturas sub-ambiente e as purificações foram realizadas através de colunas cromatográficas contendo sílica-gel a baixas temperaturas.

Os sensibilizadores utilizados nas determinações dos rendimentos quânticos, 9,10-difenilantraceno (DPA) e 9,10-dibromoantraceno (DBA) são cancerígenos e devem ser manuseados com luvas.

6.1. Síntese dos Dioxetanos

6.1.1. Síntese do Dioxetano I

6.1.1.1. Preparação do Brometo de 2-Butiltrifenilfosfônio (2)⁸⁷

Numa ampola de vidro resistente foram colocados 6,85 g (0,050 mols) de 2-bromobutano (1) e 13,1 g (0,050 mols) de trifenilfosfina dissolvidos em 20 mL de xileno anidro. A ampola foi selada e colocada em estufa a 160°C durante 90h. O tempo reacional foi determinado através da observação da quantidade de sólido branco formado. Após o término da reação lavou-se o sólido cristalino com pequenas porções de xileno a frio e secou-se durante 2 h a vácuo (100°C/2mmHg).

Rendimento: 16,5 g (83%)

Ponto de Fusão: 198-203 °C

6.1.1.2. Preparação do 1-(3-metoxifenil)-2-metil-1-butenos (4)⁸⁷

O sal de fosfônio 2 (16,5 g; 0,041 mols) foi dissolvido em 30 mL de THF, ocorrendo a formação de uma emulsão branca. A seguir adicionaram-se 18mL (0,041 mols) de solução 2,3N de n-BuLi em THF, observando-se imediatamente uma coloração vermelha intensa. Após 2 h de agitação foram adicionados 5,56 g (0,041 mols) de 3-metoxibenzaldeído (3). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e deixada em repouso para decantação do precipitado amarelo pálido formado, o qual foi separado da mistura reacional através de filtração. O filtrado foi lavado com água, secado sob sulfato de magnésio anidro e o solvente foi eliminado através de evaporação. O resíduo amarelo foi destilado à pressão reduzida. O destilado obtido foi submetido à separação em

coluna cromatográfica, utilizando-se como eluentes CH_2Cl_2 e C_6H_{14} na proporção 2:1. Não conseguimos isolar o produto puro, havia ca. 20% do isômero correspondente (**18**).

Rendimento: 4,27 g (59%)

P.E.: $130^\circ\text{C}/2\text{mmHg}$

Dados Analíticos:

LRMS **m/z (% intensidade)**

176 (M^+ ; 94,3), 161 ($\text{M}^+ - 15$; 100), 145 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CH}_3$; 53,3), 131 ($\text{CH}_3\text{OPhC}\equiv\text{C}$; 20,1), 121 ($\text{CH}_3\text{OPhCH}_2$; 38,6)

RMN- ^1H - δ (ppm)

7,15 (m, 4H); 6,16 (s, 1H); 3,73 (s, 3H); 2,12 (m, 2H); 1,79 (s, 3H); 1,05 (m, 3H)

6.1.1.2.1. Titulação do n-BuLi¹⁰⁴

A solução de n-BuLi em hexano, de concentração nominal 2,5 M foi titulado com *t*-butanol, utilizando-se 1,10-fenantrolina como indicador.

Num balão de 2 bocas contendo um condensador de refluxo e um septo de borracha, sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados aproximadamente 20 mL de hexano anidro e alguns cristais de 1,10-fenantrolina. A seguir foram adicionados 2,0 mL de solução de n-BuLi, resultando numa solução de coloração alaranjada, correspondente à forma desprotonada da fenantrolina. O *t*-butanol foi adicionado gota a gota, através de uma seringa de 1 mL, até que a solução adquirisse a coloração amarela (forma protonada da fenantrolina). A quantidade de *t*-butanol utilizada foi determinada através da diferença de massa da seringa, antes e após a titulação e a concentração determinada através da estequiometria *t*-BuOH:n-BuLi (1:1).

O primeiro resultado deve ser desprezado para eliminar erros devido à presença de umidade no solvente, as demais titulações são realizadas na mesma aparelhagem, uma após a outra, não sendo aconselhável a lavagem do material para cada experimento.

6.1.1.3. Preparação do 1-(3-metoxifenil)-2-bromo-2-metil-1-hidroperoxibutano (**5**)⁷⁸

Preparação da solução de H₂O₂ anidro em éter - 20 mL de uma solução aquosa 60% de peróxido de hidrogênio foram extraídos com éter etílico (3 x 15 mL). A fase etérea foi secada sob MgSO₄ durante aproximadamente 24 h em geladeira. Após este período, foi filtrado do secante e a concentração peroxidica determinada espectrofotometricamente.

Determinação da [H₂O₂]⁹⁷ - A uma cubeta de 3 mL, contendo solução 0,05 M de iodeto de potássio em tampão de ácido acético/acetato (pH=3,8, μ =0,01), adicionaram-se aproximadamente 10 μ L de uma solução 0,01 mM de HRP (peroxidase de raiz forte, concentração final $\approx 10^{-8}$ M). A seguir, foi determinada a variação da absorbância após a adição de 10 μ L da solução de H₂O₂/éter, previamente diluída 1000 vezes em água destilada. A concentração peroxidica foi calculada, determinando-se valor da absorbância (A) em 353 nm, utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar (E) de $2,55 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Preparação de **5** - Num balão com capacidade de 50 mL foram colocados 3,52 g (0,020 mols) da olefina **4**, este foi resfriado a -20°C e 15mL (0,12 mols) de uma solução etérea 7,8M de peróxido de hidrogênio foram adicionados. A temperatura da mistura reacional foi baixada para -40°C e 2,88 g (0,01 mol) de 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína (DBH) foram adicionados em pequenas porções. A mistura reacional, inicialmente límpida, a cada porção de DBH adicionada, adquire inicialmente o aspecto de uma emulsão, e após um determinado intervalo de tempo sob agitação torna-se novamente límpida, indicando que o DBH reagiu e uma nova adição pode ser realizada. O processo de adição de DBH levou 4 h.^{††}

Após término da adição, a mistura foi agitada até que atingisse 0°C, aproximadamente 1,5 h. Ao término deste período, a mistura foi lavada com soluções saturadas geladas de Na₂CO₃ (2x30mL), NaHCO₃ (2x30mL), (NH₄)₂SO₄ (2x30mL) e finalmente com 30mL de água gelada. A fase etérea foi secada durante 1 h em geladeira sob MgSO₄, filtrada e o solvente evaporado.

Rendimento Produto Bruto: 4,43 g (76,6%)

Não foi possível analisar os espectros de RMN-¹H, pois o produto não foi purificado devido à instabilidade.

^{††} Conforme observado em experimentos posteriores. caso tivéssemos utilizado uma proporção de H₂O₂:olefina de 20:1, o tempo de adição seria reduzido a ca. 1,5 h.

6.1.1.4. Preparação do 4-etil-4-metil-3-(3-metoxifenil)-1,2-dioxetano (**1**)⁷⁸

Num balão de 3 bocas munido de agitador mecânico e funil de adição foram colocados 4,43 g (0,0015 mols) do β -bromo-hidroperóxido **5** dissolvidos em diclorometano. Durante um período de *ca.* de 20 min, foram adicionados 38 mL de uma solução aquosa 2,0 M de KOH (0,076 mols), sob forte agitação. A adição foi feita a 0°C e ao abrigo da luz. Ao término da adição foi adicionada quantidade catalítica de 18-crown-6. Após toda a adição, a mistura reacional adquiriu a tonalidade amarelo claro.

O acompanhamento da reação foi feito através de cromatografia de camada delgada (tlc) utilizando-se como eluente diclorometano/hexano (2:1). A revelação das placas era feita através de uma lâmpada de ultravioleta e a função peroxidica detectada utilizando-se solução de iodeto de potássio 10%. Após 1,5h de reação, as análises via tlc indicaram o total consumo do β -bromo-hidroperóxido (**5**).

A mistura reacional foi lavada sucessivamente com solução saturada gelada de NaCl (2x20mL) e com água gelada (2x10mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ durante 10min a 0°C, filtrada e o solvente evaporado.

A purificação do produto bruto foi feita em coluna contendo sílica-gel a -20°C e a mistura 2:1 diclorometano/hexano como eluente. Foram utilizados 25g sílica/1 g dioxetano e o tempo de coluna foi de 1 h. Foi obtida uma mistura dos isômeros Z/E na proporção 1:1,3.

Rendimento: 0,91 g (28%)

Dados Analíticos^{§§}:

RMN-¹H δ (ppm) (Espectro 1, p.123)

Isômero Z: 7,68-7,08 (m, 4H, Har); 6,38 (s, 1H, H-5); 4,05 (s, 3H, H-12); 2,01-1,93 (m, 1H, H-2); 1,71-1,67 (m, 1H, H-2); 1,94 (s, 3H, H-3); 0,85 (t, 3H, H-1, J=7,5 Hz).

Isômero E: 7,68-7,08 (m, 4H, Har); 6,33 (s, 1H, H-5); 4,05 (s, 3H, H-12); 2,36-2,28 (m, 2H, H-2); 1,36 (s, 3H, H-3); 1,28 (t, 3H, H-1, J=7,5 Hz).

^{§§} Os 2 deslocamentos observados nos espectros de ¹H e ¹³C-RMN devem-se à presença de ambos os isômeros Z e E.

RMN-¹³C δ (ppm) (Espectro 2, p. 124)

Isômero Z

C-1 (6,29)	C-2 (28,09)	C-3 (24,41)	C-4 (90,93)
C-5 (91,52)	C-6 (138,11)	C-7 (114,23)	C-8 (159,61)
C-9 (111,18)	C-10 (129,60)	C-11 (118,13)	C-12 (55,44)

Isômero E

C-1 (7,39)	C-2 (33,78)	C-3 (20,18)	C-4 (91,25)
C-5 (89,81)	C-6 (137,43)	C-7 (114,08)	C-8 (159,52)
C-9 (111,14)	C-10 (129,47)	C-11 (118,00)	C-12 (55,27)

6.1.1.4.1.Termólise do Dioxetano I

O tubo de ressonância contendo o dioxetano foi mantido a 60^oC durante 4h. Ao término do período, os produtos de termólise foram analisados via RMN-¹H indicando apenas a presença dos compostos carbonílicos de clivagem esperados, 2-butanona e 3-metoxibenzaldeído.

RMN-¹H - (CDCl₃) - δ (ppm) (Espectro 3, p. 125)

3-metoxibenzaldeído - 9,98 (s, 1H); 7,47-7,15 (m, 4H); 3,87 (s, 3H).

2-butanona - 2,45 (q, 2H, J=7,3Hz); 2,14 (s, 3H); 1,05 (m, 3H).

6.1.2. Síntese do Dioxetano II

6.1.2.1. Preparação do 3-*t*-butildimetilsililoxibenzaldeído (*Z*)⁹²

Num balão de 100 mL, munido de condensador de refluxo, funil de adição e agitação magnética, foram adicionados 15,1 g (0,10 mols) de cloreto de *t*-butildimetilsilano. Esse reagente foi manuseado sob atmosfera de nitrogênio. Foram preparadas soluções de 3-hidroxibenzaldeído (12,2 g - 0,10 mols) e de imidazol (9,14 g-0,13 mols) em THF anidro. As soluções foram juntadas e a mistura resultante foi adicionada ao cloreto de *t*-butildimetilsilano, à temperatura ambiente e sob agitação. A agitação foi mantida durante 10 h.^{***} Ao término deste período a mistura reacional foi

^{***} Segundo a literatura, em DMF, o tempo reacional é de 8h. Entretanto, na fase final de nossos experimentos, verificamos que, em THF, após 4h de reação, todo material de partida já havia sido consumido.

filtrada em papel pregueado, o filtrado foi lavado com água gelada, a fase orgânica secada sob MgSO_4 e solvente evaporado. O resíduo amarelo foi destilado à pressão reduzida.

Rendimento: 16,0 g (67,6%)

P.E.: $130^\circ\text{C}/2\text{mmHg}$

Dados Analíticos:

LRMS - m/z (% intensidade)

236 (M^+ ; 9), 179 ($\text{M}^+ - t\text{-Bu}$; 100); 151 ($\text{M}^+ - t\text{-Bu}(\text{Me})_2$, 41), 135 ($\text{PhOSi}(\text{Me})$; 7); 91 (C_7H_7 ; 9).

RMN- ^1H - δ (ppm)

9,99 (s, 1H, H-1); 7,65-6,99 (m, 4H, Har); 0,90 (s, 9H, H-10); 0,12 (s, 6H, H-8).

RMN- ^{13}C δ (ppm)

C-1 (192,17)	C-2 (137,87)
C-3 (119,85)	C-4 ($\cong 158$)*
C-5 (126,56)	C-6 (130,07)
C-7 (123,55)	C-8 (-4,46)
C-9 (18,16)	C-10 (25,58)

*o exato valor não foi listado no espectro

6.1.2.2. Preparação do 1-(3-TBDMS-fenil)-2-metil-1-buten-3-ol (8)⁸⁷

O procedimento utilizado, acoplamento de Wittig, foi o mesmo descrito para a olefina 4, partindo-se de 14,4 g (0,036 mols) do sal de fosfônio 2, 16,5 mL de solução 2,18M de $n\text{-BuLi}$ (0,036 mols) em hexano e 7,40 g (0,031 mols) de 3-*t*-butildimetilsiloxibenzaldeído (7)

P.E.: $130^\circ\text{C}/3\text{mmHg}$

Rendimento: 4,04 g (47%)

Obs.: o produto destilado continha *ca.* 15% do isômero 18.

Dados Analíticos

LRMS m/z (% intensidade)

276 (M^+ ; 21), 219 ($M^+ - 57$; 100); 163 (219-($C(CH_3)C_2H_5$); 34), 145 ($M^+ - OSi(Me)_2t-Bu$; 3).

RMN- 1H - δ (ppm)

6,9 (m, 4H); 6,2 (s, 2H); 2,19 (m, 2H), 1,86 (s, 3H); 1,85 (s, 3H), 1,12 (m, 3H), 0,94 (s, 9H); 0,21 (s, 6H)

6.1.2.3. Preparação do 1-bromo-1-(3-TBDMS-fenil)-2-metil-2-hidroperoxibutano (**9**)⁷⁸

A preparação foi feita seguindo o mesmo procedimento descrito para o β -bromo-hidroperóxido **5**, partindo-se de 2,15 g (0,0078 mols) da olefina **8**, 1,12 g (0,0039 mols) de 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína (DBH) e 30 mL de solução 7,7 M de peróxido de hidrogênio em éter (0,23 mols). A verificação da presença da função peroxídica foi feita em placas de tlc utilizando-se a mistura 2:1 CH_2Cl_2/C_6H_{14} como eluente. O tempo para adição de todo o DBH foi de aproximadamente 60 min.

Rendimento (produto bruto): 2,03 g (66,8%)

Obs.: Não foi possível analisar os espectros de RMN- 1H , pois o produto não foi purificado devido à instabilidade.

6.1.2.4. Preparação do 4-etil-4-metil-3-(3-TBDMS-fenil)-1,2-dioxetano (**II**)⁷⁸

O procedimento utilizado foi o mesmo descrito para o dioxetano **I**, partindo-se de 2,03 g (0,0052 mols) do β -bromo-hidroperóxido **9**, 50 mL de solução 2,0 M de KOH (0,1 mol) e quantidade catalítica de éter coroa.

A purificação do produto bruto foi feita em coluna contendo sílica-gel a $-35^\circ C$ e a mistura 1:1 diclorometano/hexano como eluente. Foram necessárias 2 separações cromatográficas para isolamento do produto. Foi obtida uma mistura dos isômeros Z/E na proporção 1:1,5.

Rendimento : 0,30 g (18,7%)

Dados Analíticos^{†††}:

RMN-¹H δ (ppm) (Espectro 4, p.126)

Isômero Z: 7,66-7,40 (m, 4H, Har); 6,10 (s, 1H, H-5); 1,72-1,45 (m, 1H, H-2); 1,42-1,23 (m, 1H, H-2); 1,64 (s, 3H, H-3); 0,54 (t, 3H, H-1, J=7,6Hz); 0,90 (s, 9H, H-14); 0,14 (s, 6H, H-12).

Isômero E: 7,66-7,40 (m, 4H, Har); 6,04 (s, 1H, H-5); 2,08-1,94 (m, 2H, H-2); 1,08 (s, 3H, H-3); 0,97 (t, 3H, H-1); 0,90 (s, 18H, H-14); 0,14 (s, 12H, H-12).

RMN-¹³C δ (ppm) (Espectro 5, p. 127)

Isômero Z

C-1 (6,32)	C-2 (28,07)	C-3 (24,41)	C-4 (91,2)	C-5 (91,40)
C-6 (138,0)	C-7 (118,98)	C-8 (155,81)	C-9 (117,88)	C-10 (129,56)
C-11 (120,45)	C-12 (-4,48)	C-13 (19,21)	C-14 (25,58)	

Isômero E

C-1 (7,37)	C-2 (33,78)	C-3 (20,14)	C-4 (90,9)	C-5 (89,72)
C-6 (137,40)	C-7 (118,82)	C-8 (155,81)	C-9 (117,83)	C-10 (129,43)
C-11 (120,32)	C-12 (-4,48)	C-13 (19,21)	C-14 (25,58)	

6.1.2.4.1. Termólise do Dioxetano II

O tubo de ressonância contendo o dioxetano **II** foi mantido a 60°C durante 4h. Ao término do período, os produtos de termólise foram analisados via RMN-¹H, RMN-¹³C e DEPT135 indicando apenas a presença dos compostos carbonílicos de clivagem esperados, 2-butanona e 3-TBDMSbenzaldeído.

^{†††} Os 2 deslocamentos observados nos espectros de ¹H e ¹³C-RMN devem-se à presença de ambos os isômeros Z e E.

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 6, p. 128)

9,88 (s, 1H, H-5); 7,42-7,00 (m, 4H, Har);
2,38 (q, 2H, H-2, $J=7,3\text{Hz}$); 2,07 (s, 3H, H-3);
0,94 (t, 3H, H-1), 0,90 (s, 9H, H-14);
0,12 (s, 6H, H-12)

RMN-¹³C δ (ppm) (Espectro 7, p.129)

C-1 (7,80)	C-2 (36,83)	C-3 (29,45)	C-4 (*)
C-5 (192,11)	C-6 (137,83)	C-7 (119,80)	C-8 (156,33)
C-9 (128,52)	C-10 (130,04)	C-11 (123,54)	C-12 (-4,50)
C-13 (18,13)	C-14 (25,55)		

* não foi observado

6.1.3. Síntese do Dioxetano **III**

6.1.3.1. Preparação do 2-metil-4-(3-metoxifenil)-2-butenol (**11**)⁸⁹

Num balão de 2 bocas com capacidade de 50 mL, munido de funil de adição e condensador de refluxo foram colocados 3,6 g (0,15 mols) de magnésio e 0,50 mL de brometo de etila. Foram adicionados, sob agitação magnética, 9,35 g (0,050 mols) de 3-bromoanisol (**10**) dissolvidos em *ca.* de 20 mL de THF seco. Após a adição de todo o haleto ainda não havia sido iniciada a reação. Um leve aquecimento foi suficiente para dar início à reação exotérmica que durou *ca.* de 20 min. A mistura foi refluxada durante 1,5 h. Ao término do refluxo esta foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada através de um funil de adição contendo lã de vidro, sob um cone de nitrogênio seco, para um outro balão reacional.

Foram adicionados, sob agitação, 7,38 g (0,050 mols) de brometo de dimetilalila, dissolvidos em *ca.* de 10 mL de THF, ao balão contendo o brometo de fenilmagnésio filtrado. No início foi observada reação levemente exotérmica, esta tornou-se bastante violenta ao término da adição. A mistura reacional, inicialmente cinza escura, adquiriu uma tonalidade bem mais clara, quase transparente. Após término da reação exotérmica, a mistura foi submetida a refluxo durante 3 h e

mantida em repouso "overnight". No dia seguinte observou-se a formação de quantidade significativa de cristais com formato de agulhas brancas.

A mistura foi lavada com água, o que provocou a dissolução dos cristais e extraída com acetato de etila (2x50mL). Os extratos orgânicos foram juntados, secados sob MgSO_4 e o solvente evaporado, obtendo-se um óleo amarelo que foi destilado à pressão reduzida. Foram obtidos 6,53 g (74,1%) de produto que destilou a $125^\circ\text{C}/3\text{mmHg}$.

Foi feita a purificação em coluna de sílica-gel contendo a mistura hexano/diclorometano 20:1 como eluente. Foram utilizados 30g sílica/1g de olefina. O rendimento da separação cromatográfica foi de 70%.

Rendimento: 4,57 g (52%)

Dados Analíticos:

RMN- ^1H - δ (ppm) (Espectro 8, p.130)

6,99-6,46 (m, 4H, Har);
 5,12-5,04 (m, 1H, H-4); 3,54 (s, 3H, H-12);
 3,07 (d, 2H, $J=7,35\text{Hz}$, H-5);
 1,50 (s, 3H, H-2); 1,47 (s, 3H, H-1)

RMN- ^{13}C δ (ppm) (Espectro 9, p.131)

C-1 (17,19)	C-2 (25,73)	C-3 (132,62)	C-4 (122,97)
C-5 (34,35)	C-6 (143,47)	C-7 (114,10)	C-8 (159,65)
C-9 (110,86)	C-10 (129,26)	C-11 (120,72)	C-12 (55,08)

LRMS - m/z (% intensidade)

176 (M^+ , 100), 161 (M^+-15 , 93,2), 147 ($\text{OPhCH}_2\text{CHCH}(\text{CH}_3)$, 10,3),
 131 ($\text{PhCH}_2\text{CHCH}(\text{CH}_3)$, 9,9), 121 (MeOPhCH_2 , 22,4), 107 (MeOPh , 8,14),
 91 (C_7H_7 , 53,1), 77 (C_6H_5 , 22,4)

6.1.3.2. Preparação do 2-metil-3-bromo-4-(3-metoxifenil)-2-hidroperoxibutano (12)⁷⁸

A preparação foi feita seguindo o mesmo procedimento descrito para o β -bromo-hidroperóxido **5**, partindo-se de 3,50 g (0,020 mols) da olefina **11**, 2,84 g (0,010 mols) de 1,3-dibromo-5,5-dimetil-hidantoína (DBH) e 37,5 mL de uma solução 6,5 M de peróxido de hidrogênio em éter (0,024 mols). Tempo de adição do DBH: 1,5 h.

Rendimento: 4,01 g (69,4%) - produto bruto

Uma pequena porção (0,42 g) de **12** foi reservada a fim de tentarmos uma purificação *via* cromatografia em coluna cromatográfica, contendo sílica-gel e a mistura diclorometano/hexano 4:1 como eluente, a -25°C. Para 0,40 g de produto bruto foram utilizados 15g de sílica e o tempo de coluna foi cerca de 1 h. Podia-se observar claramente a retenção de um composto de tonalidade amarela no topo da coluna, mancha esta que não era observada nas placas de tlc, utilizadas para a determinação da melhor mistura eluente. O rendimento de produto puro, obtido após cromatografia de coluna foi de 50 mg (12%).

Dados Analíticos:

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 10, p.132)

7,63 (s, 1H), 7,38-6,61 (m, 4H), 4,53 (dd, 1H, J=2Hz), 3,73 (s, 3H), 3,42 (dd, J=2Hz, 1H), 2,90-2,11 (m, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,40 (s, 3H)

6.1.3.3. Preparação do 4,4-dimetil-3-(3-metoxibenzil)-1,2-dioxetano (III)⁷⁸

Num balão de 3 bocas, munido de agitador mecânico e funil de adição, foram colocados 4,01 g (0,014 mols) do β -bromo-hidroperóxido **12**, dissolvidos em diclorometano. Durante um período de *ca.* de 20 min, foram adicionados 35 mL de uma solução aquosa 2,0 M de KOH (0,07 mols). A adição foi feita a 0°C e ao abrigo da luz. Ao término da adição foi adicionada quantidade catalítica de 18-crown-6. Após toda a adição, a mistura reacional adquiriu a tonalidade amarelo claro.

O acompanhamento da reação foi feito através de placas de tlc utilizando-se diclorometano como eluente, o β -bromo-hidroperóxido apresentava R_f=0,27 e o dioxetano 0,50. Confundimos

produtos secundários com o β -bromo-hidroperóxido devido ao valor de R_f , isso fez com que a reação fosse processada durante 4 h, tempo excessivo, provocando redução no rendimento. O tempo reacional para a reação de ciclização deve ser de 1,5 h aproximadamente. A mistura reacional foi lavada sucessivamente com solução saturada gelada de NaCl (2x20mL) e com água gelada (2x10mL). A fase orgânica foi secada com $MgSO_4$ durante 10 min a $0^\circ C$, filtrada e o solvente evaporado.

A purificação do produto bruto foi feita em coluna contendo sílica-gel a $-25^\circ C$ e a mistura 5:1 diclorometano/hexano como eluente. Foram utilizados 20g sílica/1g dioxetano e o tempo de coluna foi de 1,5h.

Rendimento: 0,10 g (3,5%)

Dados Analíticos:

RMN- 1H - δ (ppm) (Espectro 11, p.133)
 6,94-6,45 (m, 4H, Har), 5,17-5,03 (m, 1H, H-4),
 3,52 (s, 3H, H-12), 3,05-2,93 (m, 1H, H-5),
 2,74-2,64 (m, 1H, H-5), 1,34 (s, 3H, H-2), 1,29 (s, 3H, H-1).

Obs.: Não foi feito o espectro de ^{13}C -RMN pois o aparelho não estava em pleno funcionamento.

6.1.3.3.1.Termólise do Dioxetano III

O tubo de ressonância contendo o dioxetano foi mantido a $60^\circ C$ durante 4 h. Ao término do período não foi detectada a presença da função peroxídica.

A análise dos produtos de termólise via RMN- 1H e LRMS indicaram apenas a presença dos compostos carbonílicos de clivagem esperados, acetona e 3-metoxifenilacetaldeído.

RMN- 1H - δ (ppm) (Espectro 12, p.134)

acetona - 2,1 (s, 6H).

3-metoxifenilacetaldeído - 9,68 (t, 1H, $J=2,5$ Hz); 7,27-6,68 (m, 4H); 3,73 (s, 3H); 3,59 (d, 2H, $J=2,4$ Hz).

6.1.4. Síntese do Dioxetano IV

6.1.4.1. Preparação do 3-*t*-butildimetilssililoxibromobenzeno (14)⁹²

Num balão de 100 mL, munido de condensador de refluxo, funil de adição e agitação magnética, foram adicionados 15,1 g (0,10 mols) de cloreto de *t*-butildimetilsilano. Esse reagente foi manuseado sob atmosfera de nitrogênio. Foram preparadas soluções de 3-bromofenol (17,3 g - 0,10 mols) e de imidazol (9,14 g - 0,13 mols) em THF anidro. As soluções foram juntadas e a mistura adicionada ao cloreto de *t*-butildimetilsilano, à temperatura ambiente e sob agitação. A agitação foi mantida durante 10 h.^{†††} Ao término deste período a mistura reacional foi filtrada em papel pregueado. O filtrado foi lavado com água gelada, a fase orgânica secada sob MgSO₄ e solvente evaporado. O resíduo amarelo foi destilado à pressão reduzida.

Rendimento: 13,88g (50,4%)

P.E.: 125 °C/2mmHg

Dados Analíticos:

RMN-¹H - δ (ppm)

7,61-7,34 (m, 4H); 1,52 (s, 9H); 1,01 (s, 6H).

LRMS - m/z (% intensidade)

286 (M⁺; 28,02), 271 (M⁺-CH₃; 7,56), 229 (M⁺-C(CH₃)₃; 5,15), 207 (M⁺-Br; 2,09), 155 (C₆H₄Br; 2,90), 155 (t-Bu(Me)₂Si; 54,8), 91 (C₇H₇; 12,9).

6.1.4.2. Preparação do 2-metil-4-(3-*t*-butildimetilsililoxifenil)-2-butenol (15)⁹¹

Num balão de 3 bocas com capacidade de 50 mL, munido de condensador de refluxo, funil de adição e agitador magnético, foram colocados 2,87 g (0,01 mol) de 3-*t*-butildimetilsililoxibromobenzeno (14) dissolvidos em 15 mL de éter seco. A mistura reacional foi resfriada a -60°C e 4mL (0,01 mol) de solução 2,5M de n-BuLi em hexano foram adicionados lentamente. A seguir manteve-se a agitação até que fosse atingida a temperatura ambiente. A

^{†††} Segundo a literatura, em DMF, o tempo reacional é de 8h. Entretanto, na fase final de nossos experimentos, verificamos que, em THF, após 4h de reação, todo material de partida já havia sido consumido.

agitação à temperatura ambiente foi mantida por mais 30 min. Ao final deste período, a temperatura foi novamente baixada para 10°C e 1,49 g (0,01 mol) de brometo de 3,3-dimetilalila, dissolvidos em 5mL de éter seco, foram adicionados lentamente. Após a adição, a mistura reacional foi aquecida até que atingisse a temperatura ambiente e a agitação mantida durante 2 h. A seguir, a mistura foi lavada com água gelada (2x30mL), a fase orgânica foi separada e secada sob MgSO₄. Após filtração do secante, o solvente foi evaporado e o óleo amarelo destilado à pressão reduzida. O produto destilado foi submetido à purificação em coluna cromatográfica, utilizando-se 1:1 CH₂Cl₂ /C₆H₁₄ como eluente.

Rendimento: 1,05 g (38,0%)

Ponto Ebulição: 130°C/3mmHg

Dados Analíticos:

RMN-¹H (Espectro 13, p. 135)

6,96-6,43 (m, 4H, Har); 5,13-5,12 (m, 1H, H-4);
3,09 (d, 2H, H-5, J=7,5Hz); 1,56 (s, 3H, H-2);
1,52 (s, 3H, H-2); 0,82 (s, 9H, H-14);
0,06 (s, 6H, H-12).

RMN-¹³C δ (ppm) (Espectro 14, p.136)

C-1 (17,9)	C-2 (25,7)	C-3 (132,4)	C-4 (123,1)
C-5 (34,2)	C-6 (143,3)	C-7 (120,1)	C-8 (155,6)
C-9 (117,2)	C-10 (129,1)	C-11 (121,3)	C-12 (-4,4)
C-13 (18,2)	C-14 (25,8)		

LRMS - m/z (% , intensidade)

276 (M⁺ - t-Bu; 96,4), 219 (M⁺-t-Bu; 84,9), 204 (M⁺-t-Bu(Me); 30,9), 161 (M⁺-t-Bu(Me)₂; 84,7).

6.1.4.3. Preparação do 2-metil-3-bromo-4-(3-TBDMS-benzil)-2-hidroperoxibutano (**16**)⁷⁸

A preparação foi feita seguindo o procedimento utilizado para o β -bromo-hidroperóxido **5**, partindo-se de 3,14 g (0,011 mols) da olefina **16**, 1,63 g (0,0057 mols) de 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína (DBH) e 35 mL de solução 6,5 M de peróxido de hidrogênio em éter (0,22 mols). Tempo de adição do DBH: 1,5 h.

Rendimento (produto bruto) : 3,42 g (79,9%)

Uma pequena porção (1,14 g) de **16** foi reservada a fim de tentarmos uma purificação via cromatografia em coluna contendo sílica-gel a -30 °C. Foi utilizada como eluente a mistura 5:1 diclorometano/hexano. Para 1,4 g de produto bruto foram utilizados 15g de sílica e o tempo de coluna foi cerca de 1 h. Podia-se observar claramente a retenção de um composto de tonalidade amarela no topo da coluna, mancha esta que não era observada nas placas de tlc utilizadas para a determinação da melhor mistura de solventes. O rendimento de produto puro obtido foi 150 mg (13%).

Dados Analíticos :

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro **15**, p.137)

7,81 (s, 1H); 7,20-6,53 (m, 4H); 4,23 (dd, 1H); 3,23-3,14 (m, 1H); 2,62-2,49 (m, 1H); 1,29 (s, 3H); 1,27 (s, 3H); 0,78 (s, 9H); 0,00 (s, 6H).

6.1.4.4. Preparação do 4,4-dimetil-3-(3-TBDMS-benzil)-1,2-dioxetano (**IV**)⁷⁸

Num balão de 3 bocas munido de agitador mecânico e funil de adição foram colocados 3,42 g (0,0088 mols) do β -bromo-hidroperóxido **16** dissolvidos em diclorometano. Durante um período de *ca.* de 20 min, foram adicionados 15 mL de uma solução aquosa 1,7 M de KOH (0,025 mols). A adição foi feita a 0°C e ao abrigo da luz. A seguir foi adicionada quantidade catalítica de 18-crown-6.

O acompanhamento da reação foi feito através de placas de tlc utilizando-se como eluente a mistura diclorometano/hexano (2:1). O β -bromo-hidroperóxido apresentava $R_f=0,36$ e o dioxetano 0,60. Uma mancha cujo R_f era coincidente com o do β -bromo-hidroperóxido **16** apresentou-se como

principal constituinte da mistura reacional. Tal mancha, quando revelada com solução aquosa de iodeto de potássio indicava função peroxidica.

Após 1,5 h de reação, devido à inalterações na quantidade de dioxetano formada, a mistura reacional foi lavada sucessivamente com solução saturada gelada de NaCl (2x20mL) e com água gelada (2x10mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄ durante 10min a 0°C, filtrada e o solvente evaporado.

A purificação do produto bruto foi feita em coluna contendo sílica-gel a -30°C e a mistura diclorometano/hexano 2:1 como eluente. Foram utilizados 20g sílica/1g dioxetano e o tempo de coluna foi de 1h.

Rendimento: 0,0081 g (0,30%)

Dados Analíticos:

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 16, p.138)

7,09-6,48 (m, 4H, H-ar); 5,26-5,19 (m, 1H, H-4)
3,11-3,19 (m, 1H, H-5); 2,81-2,71 (m, 1H, H-5);
1,42 (s, 3H, H-2); 1,18 (s, 3H, H-1);
0,77 (s, 9H, H-14); 0,01 (s, 6H, H-12).

RMN-¹³C δ (ppm) (Espectro 17, p.139)

C-1 (21,8)	C-2 (27,7)	C-3 (87,4)	C-4 (90,6)
C-5 (36,8)	C-6 (136,7)	C-7 (120,7)	C-8 (155,6)
C-9 (118,5)	C-10 (129,5)	C-11 (121,8)	C-12 (-4,5)
C-13 (18,1)	C-14 (25,5)		

6.1.4.4.1. Termólise do Dioxetano IV

O tubo de ressonância contendo o dioxetano foi mantido a 60°C durante 4 h. Ao término do período não foi detectada a presença da função peroxidica.

A análise dos produtos de termólise via RMN-¹H e LRMS indicaram além da presença dos compostos carbonílicos de clivagem esperados, acetona e *m*-TBDMS-acetaldeído, ácido *m*-TBDMS-fenilacético, decorrente da oxidação do aldeído correspondente.

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 18, p.140)
 9,60 (t, 1H, H-4, J=2,5 Hz); 7,25-6,60 (m, 4H, Har);
 3,51 (d, 2H, H-5, J=2,9 Hz);
 0,87 (s, 9H, H-14); 0,089 (s, 6H, H-12).
 2,06 (s, 6H, acetona)

RMN- ¹³ C	δ (ppm)	(Espectro 19, p. 141)	
C-1 (30,8)	C-2 (207,0)	C-3 (30,8)	C-4 (199,4)
C-5 (50,5)	C-6 (133,1)	C-7 (121,1)	C-8 (156,1)
C-9 (118,7)	C-10 (129,9)	C-11 (122,5)	C-12 (-4,48)
C-13 (18,1)	C-14 (25,6)		

6.1.5. Obtenção do 3-*t*-Butildimetilsiloxiacetaldeído (35)

6.1.5.1. Preparação do 2-(3-TBDMS-fenil)-1-etanol (34)⁸⁸

Num balão de 3 bocas, munido de condensador de refluxo, funil de adição e agitador mecânico, foram colocados 4,24g (0,18 mols) de magnésio e 0,50 mL de brometo de etila. Foram adicionados 12,7 g (0,044mols) de 3-TBDMS-bromobenzeno (14) dissolvidos em THF. Para iniciar a reação exotérmica, que durou cerca de 20 min, foi necessário um leve aquecimento. Ao término da reação exotérmica, a mistura reacional foi mantida sob refluxo durante 2h. Ao final deste período, a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, quantidade catalítica de CuCN foi adicionada e o condensador de refluxo foi substituído por um dedo frio contendo gelo-seco e acetona.

A mistura reacional foi resfriada a *ca.* de -25⁰C (temperatura do banho etanol+gelo seco) e *ca.* de 50 mL de óxido de etileno dissolvidos em THF gelado foram adicionados de uma só vez. O óxido de etileno adicionado foi previamente condensado a *ca.* de -50 °C (banho gelo-seco e

acetona), este foi utilizado em excesso para evitar possíveis perdas. Houve reação exotérmica. A mistura foi mantida sob agitação até que atingisse a temperatura ambiente e a seguir em repouso "overnight".

Para a extração do produto da reação, a mistura foi lavada com saturada gelada de NH_4Cl e filtrada em funil Büchner. O filtrado foi extraído várias vezes com éter (3x25mL) e os extratos orgânicos lavados com água gelada.

A fase orgânica foi secada sob Na_2SO_4 , filtrada e o solvente evaporado. O óleo amarelo obtido foi submetido à destilação sob pressão reduzida. O destilado foi cromatografado em coluna utilizando-se como eluente $\text{C}_6\text{H}_{14}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:1.

Rendimento: 4,60 g (42%)

P.E.: 150 °C/3mmHg

Dados Analíticos:

LRMS - m/z (% intensidade)

252 (M^+ ; 23), 195 ($\text{M}^+ - t\text{-Bu}$, 35); 177 ($\text{M}^+ - t\text{-Bu} - \text{H}_2\text{O}$; 100), 120 ($\text{HOPhCH}_2\text{CH}_2$, 5).

RMN- ^1H - δ (ppm) (Espectro 20, p.142)

7,1-6,63 (m, 4H, Har); 3,76 (t, 2H, $J=6,5\text{Hz}$, H-1);
2,74 (t, 2H, $J=6,5\text{Hz}$, H-2); 1,60 (br.s, 1H);
0,92 (s, 9H, H-11); 0,13 (s, 6H, H-9).

RMN- ^{13}C δ (ppm) (Espectro 21, p.143)

C-1 (65,6)	C-2 (39,1)	C-3 (139,3)	C-4 (120,8)
C-5 (155,8)	C-6 (119,1)	C-7 (129,4)	C-8 (121,9)
C-9 (-4,43)	C-10 (13,5)	C-11 (25,7)	

6.1.5.2. Preparação do 3-*t*-Butildimetilsiloxifenilacetaldeído (35)⁹⁴

Num balão de 2 bocas com capacidade de 100 mL, munido de agitador magnético, funil de adição e condensador de refluxo, foi colocada uma suspensão contendo 5,17 g (24 mmols) de clorocromato de pirídínio (PCC) em 35 mL de diclorometano e adicionaram-se rapidamente 3,86 g (15 mmols) do álcool 2-(3-TBDMS-fenil)-1-etanol (34), dissolvidos em 25 mL de diclorometano. A mistura reacional tornou-se momentaneamente homogênea, antes do depósito do produto reduzido preto insolúvel. Após 2 h de agitação à temperatura ambiente, sob atmosfera de nitrogênio, a mistura reacional foi diluída com 5 volumes de éter anidro. O sólido preto granular decantado foi lavado com éter anidro (3x50 mL). Os extratos orgânicos foram filtrados numa coluna contendo sílica-gel. A mistura amarela recolhida foi submetida à evaporação, obtendo-se um óleo de coloração escura. O resíduo foi então submetido à separação em coluna cromatográfica, utilizando-se como eluente a mistura 6:1 C₆H₁₄/(C₂H₅)₂O. Para uma purificação eficiente foram necessárias 2 colunas.

Rendimento: 0,65 g (27%)

Dados Analíticos:

LRMS - m/z (% intensidade)

250 (M⁺; 17), 193 (M⁺-*t*-Bu; 83), 175 (M⁺-*t*-Bu -18; 44); 149 (175-(CH₂)₂; 24), 91 (C₇H₇; 22).

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 22, p. 144)

9,64 (t, 1H, H-1, J=2,4 Hz); 7,19-6,63 (m, 4H, Har);
3,55 (d, 2H, H-2, J=2,6 Hz);
0,92 (s, 9H, H-11); 0,11 (s, 6H, H-9).

RMN-¹³C δ (ppm) (Espectro 23, p. 145)

C-1 (199,3)	C-2 (50,3)	C-3 (139,6)	C-4 (121,4)
C-5 (156,1)	C-6 (120,0)	C-7 (129,5)	C-8 (122,5)
C-9 (-4,47)	C-10 (13,4)	C-11 (25,7)	

6.1.6. Tentativa de Obtenção do Dioxetano V

6.1.6.1. Preparação do 1-(3-TBDMS-fenil)-2-propanol (**21**)⁸⁸

Num balão de 3 bocas, munido de condensador de refluxo, funil de adição e agitador mecânico, foram colocados 4,1g (0,17 mols) de magnésio e 5,0 mL de brometo de etila. Foram adicionados 12,4g (0,043 mols) de 3-TBDMS-bromobenzeno (**14**) dissolvidos em THF. Ao término da reação exotérmica, a mistura reacional foi mantida sob refluxo durante 2 h. Ao final deste período, esta foi resfriada à temperatura ambiente, sendo adicionada quantidade catalítica de CuCN. A mistura reacional foi então resfriada a *ca.* de -15°C (temperatura do banho etanol+gelo seco) e 9,9 g (0,17 mols) de óxido de propileno, dissolvidos em *ca.* de 30 mL de THF, foram lentamente adicionados, de forma a manter um leve refluxo. A mistura foi mantida sob agitação até que atingisse a temperatura ambiente e a seguir foi mantida sob refluxo durante 3h.

Para a extração do produto da reação, a mistura foi lavada com solução saturada gelada de NH₄Cl e filtrada em funil Büchner. O filtrado foi extraído várias vezes com éter (3x25mL) e os extratos orgânicos lavados com água gelada. A fase orgânica foi secada sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O óleo amarelo obtido foi submetido à destilação sob pressão reduzida.

Rendimento: 4,34 g (38%)

P.E.: 140°C/2mmHg

Dados Analíticos:

LRMS - m/z (% intensidade)

266 (M⁺; 34,6), 249 (M⁺-H₂O; 68), 233 (249-CH₃; 6,42), 222 (M⁺-CH(OH)CH₃; 15,6), 209 (M⁺-*t*-Bu; 15,6), 191 (M⁺-*t*-Bu-H₂O; 100).

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 24, p. 146)

7,19-6,70 (m, 4H, Har); 4,01-3,85 (m, 1H, H-2);

2,49-2,72 (m, 2H, H-3); 1,47 (br.s., 1H); 1,1 (d, 3H, J=6,2Hz, H-1);

0,90 (s, 9H, H-12); 0,13 (s, 6H, H-10).

RMN- ¹³ C	δ (ppm)	(Espectro 25, p.147)	
C-1 (22,7)	C-2 (68,8)	C-3 (45,7)	C-4 (140,0)
C-5 (121,2)	C-6 (155,8)	C-7 (118,2)	C-8 (129,4)
C-9 (122,3)	C-10 (-4,41)	C-11 (16,2)	C-12 (25,7)

6.1.6.2. *Preparação do 1-(3-TBDMS-fenil)-propanona (22)*⁹⁴

Foi utilizado o procedimento descrito para a oxidação do álcool **34** ao aldeído **35**, partindo-se de 4,34 g (0,016 mols) do álcool **21** e 5,17 g (0,024 mols) de PCC. A reação se processou em 2,5 h. Após filtração do resíduo preto, a mistura foi purificada através de coluna cromatográfica utilizando-se C₆H₁₄ e (C₂H₅)₂O na proporção 6:1.

Rendimento: 2,12 g (50%)

Dados Analíticos:

LRMS - m/z (% intensidade)

264 (M⁺; 14), 207 (M⁺ - *t*-Bu; 100), 189 (M⁺- *t*-Bu-H₂O; 9), 149 (M⁺- *t*-Bu(Me)₂Si, 19).

RMN-¹H - δ (ppm) (Espectro 26, p.148)

7,21-6,65 (m, 4H, Har); 3,56 (s, 2H, H-3);
 2,07 (s, 3H, H-1); 0,93 (s, 9H, H-12);
 0,14 (s, 6H, -10).

RMN- ¹³ C	δ (ppm)	(Espectro 27, p.149)	
C-1 (29,0)	C-2 (206,3)	C-3 (50,0)	C-4 (135,6)
C-5 (121,2)	C-6 (155,9)	C-7 (118,7)	C-8 (129,6)
C-9 (122,3)	C-10 (-4,46)	C-11 (18,1)	C-12 (25,6)

6.1.6.3. Preparação do Cloreto de 3-metoxibenziltrifenilfosfônio (24)⁸⁷

Foi utilizado o procedimento descrito para a preparação do sal de fosfônio **2**, partindo-se de 4,70 g (0,030 mols) de cloreto de 3-metoxibenzila (**23**) e 6,29 g (0,024 mols) de trifenilfosfina. O tempo reacional foi de aproximadamente 20 h.

Rendimento: 8,83 g (88%)

P.F.: 278-280°C

6.1.7. Tentativa de Obtenção do Dioxetano **VI**

6.1.7.1. Preparação do 2-(3-metoxifenil)-1-etanol (27)⁸⁸

Num balão de 3 bocas, munido de condensador de refluxo, funil de adição e agitador mecânico, foram colocados 4,8g (0,20 mols) de magnésio e 5,0 mL de brometo de etila. Foram adicionados 18,7g (0,10 mols) de 3-bromoanisol (**10**) dissolvidos em THF. A adição deste último foi feita mantendo-se um leve refluxo, primeiramente adicionou-se solução mais diluída do reagente em THF e, à medida que a exotermicidade da reação diminuía, a concentração adicionada era aumentada. Após o término da reação exotérmica, a mistura reacional foi agitada durante 2 h, sob refluxo. Ao final deste período, a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, quantidade catalítica de CuCN foi adicionada e o condensador de refluxo foi substituído por um dedo frio contendo gelo-seco e acetona. A mistura reacional foi resfriada a *ca.* de -25 °C (temperatura do banho etanol+gelo seco) e aproximadamente 30 mL de óxido de etileno, dissolvidos em THF gelado, foram adicionados de uma só vez. O óxido de etileno adicionado foi previamente condensado à *ca.* de -50 °C (banho gelo-seco e acetona), o excesso foi mantido para evitar possíveis perdas. Houve reação exotérmica. A mistura foi mantida sob agitação até que atingisse a temperatura ambiente e a seguir em repouso "overnight".

Foi adicionada à mistura reacional, solução saturada de NH₄Cl e, a seguir, esta foi filtrada em Büchner. O filtrado foi extraído várias vezes com éter (3x25mL) e os extratos orgânicos lavados com água. A fase orgânica foi secada sob Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado. O óleo amarelo obtido foi submetido à destilação sob pressão reduzida.

Rendimento : 6,71g (44%)

Ponto de Ebulição: 125-130 °C/3mmHg

Dados Analíticos

LRMS - m/z (% intensidade)

152 (M^+ , 83,7); 134 ($M^+ - H_2O$, 11,22); 121 (MeOPhCH₂, 100); 107 (MeOPh, 27,6); 91 (C₇H₇, 78,0); 77 (C₆H₇, 54,1)

RMN-¹H (Espectro 28, p.150)

7,18-6,68 (m, 4H), 3,78 (t, 2H), 3,71 (s, 3H), 2,76 (t, 2H, J=6,6Hz), 1,8 (br.s, 1H).

6.1.7.2. Preparação do 2-(3-metoxifenil)-1-bromoetano (28)⁹⁵

A uma solução contendo 18,3 g (0,070 mols) de trifenilfosfina em *ca.* de 20 mL de clorofórmio, adicionaram-se 11,2 g (0,070 mols) de bromo em 50 mL de clorofórmio, a 0°C sob agitação. À medida que a adição era feita, desaparecia a coloração do bromo, dando lugar a uma emulsão de tonalidade branco amarelado. Adicionaram-se lentamente 8,9 g (0,060 mols) do álcool **27** a 0°C. A mistura reacional foi mantida sob agitação a esta temperatura durante mais 1h e, a seguir deixou-se que atingisse a temperatura ambiente. O produto bruto foi lavado com soluções saturadas de carbonato de potássio (1x10mL) e bissulfito de sódio (1x10mL). A fase orgânica foi extraída, secada sob Na₂SO₄ e o solvente evaporado. O resíduo amarelo obtido foi destilado à pressão reduzida.

Rendimento: 6,65 g (55%)

P.E.: 110°C/3mmHg

Dados Analíticos

LRMS - m/z (% intensidade)

216 (M⁺; 100), 135 (M⁺ - HBr; 82), 121 (MeOC₆H₄CH₂; 49), 91 (C₇H₇; 35).

RMN-¹H (Espectro 29, p. 151)

7,20-6,67 (m, 4H); 3,72 (s, 3H); 3,49 (t, 2H); 3,06 (t, 2H, J=7,6 Hz).

6.2. Estudos Físico-Químicos

Os espectros de absorção para a determinação da concentração das soluções etéreas de H_2O_2 e dos dioxetanos foram registrados num espectrofotômetro de feixe duplo Hitachi, modelo U-2000. As medidas de quimiluminescência foram obtidas num espectrofluorímetro SPEX-FLUOROLOG 1681, utilizando-se a fotomultiplicadora a uma tensão de 950 V e abertura da fenda de 8mm para os dioxetanos **I**, **II** e **III**, e 6mm para **IV**. O tolueno utilizado nos experimentos de decomposição unimolecular foi secado sob CaCl_2 , deixado em repouso sob EDTA durante 24 h, filtrado e destilado. Para o estudo das decomposições catalisadas foram utilizados como solvente THF anidro 99,9% e como catalisador fluoreto de tetrabutylamônio (solução 1,0 M em THF), ambos de procedência Aldrich Chemical Company Inc., mantidos sob atmosfera de nitrogênio, sem que qualquer tratamento prévio fosse realizado. Para a determinação dos parâmetros de ativação foram traçadas curvas isotérmicas a várias temperaturas em tolueno. Os rendimentos quânticos da decomposição unimolecular foram determinados traçando-se curvas a 80°C , utilizando-se diferentes concentrações de DPA e DBA, respectivamente. A influência da concentração de íons fluoreto nas constantes de velocidade de decomposição de **II** e **IV** foi verificada traçando-se curvas a 25°C em presença de diferentes concentrações do agente catalisador. Para a decomposição catalisada de **II** e **IV**, os parâmetros de ativação foram determinados em presença de fluoreto de tetrabutylamônio, traçando-se curvas isotérmicas em diferentes temperaturas. Os rendimentos quânticos na decomposição catalisada de **II** e **IV** foram determinados através de medidas diretas de quimiluminescência, utilizando-se o padrão secundário de fluoresceína. Cada curva foi traçada no mínimo 3 vezes, possibilitando a determinação de um valor médio da constante de velocidade de primeira ordem (k) e da intensidade inicial de quimiluminescência (I_0). As cinéticas de decomposição dos dioxetanos **I-IV** foram analisadas através do software MicroCal Origin, versões 1.28 e 3.0, através da regressão linear de gráficos semi-logarítmicos da intensidade de luz emitida *versus* tempo. Os mesmos softwares foram utilizados para a obtenção dos coeficientes (angular e linear) dos gráficos de Eyring, Arrhenius e duplo-recíproco, bem como para a determinação dos desvios padrões. A progressão de erros foi realizada a partir das derivações das funções matemáticas utilizadas.

6.2.1. Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos **I-IV**

No caso de **I** e **II**, foi observada emissão direta dos produtos excitados formados em 412 nm, entretanto para o estudo cinético de **III** e **IV** foi necessária a utilização de DPA como sensibilizador para o acompanhamento do consumo de reagentes. Em todos os casos o solvente utilizado foi tolueno. Na decomposição de **III**, além de DPA e tolueno como sensibilizador e solvente, respectivamente, também foram realizados alguns experimentos com DBA e anisol.

Procedimento:

- **Dioxetanos **I** e **II**:**

Numa cela de fluorescência, pré-termostatizada à temperatura desejada, contendo 3 mL de tolueno, foram adicionados, sob agitação magnética, entre 10 a 20 μL de solução de dioxetano e traçadas as curvas isotérmicas de decaimento exponencial a 412 nm, correspondente ao máximo de emissão observado. Foram traçadas curvas isotérmicas à 60, 65, 70, 75, 80 e 85°C.

- **Dioxetanos **III**, **IV**:**

O mesmo procedimento acima descrito foi executado, entretanto a cela pré-termostatizada continha 3 mL de solução 1×10^{-2} M de sensibilizador (DPA) em tolueno. As medidas foram tomadas a 438nm, correspondente ao máximo de emissão do sensibilizador.

O mesmo procedimento foi realizado para a decomposição de **III** em solução 1×10^{-2} M de DBA em tolueno e em anisol.

Concentrações: **[I]**=($6,7 \pm 0,8$) $\times 10^{-5}$ M, **[II]**=($1,0 \pm 0,2$) $\times 10^{-4}$ M, **[III]**=($8,3 \pm 0,3$) $\times 10^{-5}$ M,
[IV]=($2,1 \pm 0,4$) $\times 10^{-5}$ M

Determinação das Concentrações das Soluções-Estoque dos Dioxetanos

A concentrações das soluções-estoque dos dioxetanos foram determinadas espectrofotometricamente, adotando-se a mesma metodologia descrita para a solução etérea de peróxido de hidrogênio (p.94). No caso de **I**, **III**, as soluções-estoque dos dioxetanos foram previamente diluídas em acetato de etila (1:10) e as concentrações facilmente determinadas segundo os procedimento descrito na literatura.⁹⁷ Entretanto, no caso de **II** e **IV**, devido à baixa solubilidade, as soluções-estoque foram previamente diluídas em metanol (1:50). A seguir, a solução diluída de

dioxetano foi adicionada à cela contendo a solução de iodeto de potássio e HRP, a mistura reacional mantida num sonicador durante 5 min à temperatura ambiente, e finalmente determinada a variação da absorbância a 353 nm.

6.2.2. Determinação dos Rendimentos Quânticos de Quimiluminescência na Decomposição Unimolecular dos Dioxetanos I-IV.

Numa cubeta de 3 mL, contendo solução de sensibilizador pré-termostatizada a 80°C, foram adicionados, sob agitação magnética, entre 10 a 20 µL de solução de dioxetano em tolueno e traçadas as curvas cinéticas de decomposição a diferentes concentrações de sensibilizador. Foram tomadas medidas utilizando-se as seguintes concentrações de DBA e DPA: 1,7; 3,3; 5,0; 6,7; 8,3 e 10 mM.

Para cada concentração de sensibilizador foram traçadas no mínimo 3 curvas cinéticas, sendo utilizado o valor médio da intensidade inicial de quimiluminescência (I_0) para traçar o gráfico duplo-recíproco $1/I_0$ versus $1/[SENSIBILIZADOR]$. Para o dioxetano III, os experimentos foram realizados a 438 nm, já nos demais casos, a grade de difração foi centrada em posição de reflexão total.

Concentrações: [I]=(6,0±0,7)×10⁻⁶M, [II]=(4,7±1,0)×10⁻⁵M, [III]=(8,3±0,3)×10⁻⁵M, [IV]=(2,1±0,4)×10⁻⁵M.

6.2.2.1. Calibração das Intensidades de Luz ^{79b}

Na calibração foram utilizados os seguintes reagentes:

- Luminol em solução tampão de pH=11,6 (Na₂HPO₄/Na₃PO₄)
- Solução de H₂O₂ 0,3% em água
- Hemina: 2 soluções, uma com densidade óptica 0,6 em 414nm e a segunda resultante da diluição 1:3 da primeira.

Uma solução 1×10⁻⁷M de luminol (3 mL) foi pipetada para uma cubeta e a reação iniciada com a adição de 100µL de solução de peróxido de hidrogênio. Foi observada uma intensidade de

emissão muito baixa. A seguir adicionaram-se 100µL da solução diluída de hemina, observando-se um aumento significativo na intensidade de luz emitida. Após o término da reação, adicionaram-se 100µL da solução mais concentrada da hemina para garantir o total consumo do luminol. O tempo total do experimento é *ca.* 3min. A integração da área obtida permite o cálculo do fator de correção para a calibração da fotomultiplicadora.

A fotomultiplicadora foi calibrada diversas vezes. Em geral as calibrações eram realizadas sempre que os rendimentos quânticos de um determinado dioxetano estavam sendo determinados. Para cada calibração foram totalizados *ca.* de 10 experimentos, realizados em dias diferentes, num intervalo de 1 semana. O valor obtido para a integral foi a média obtida dos experimentos realizados. O fator de correção (*f*) obtido nas várias calibrações apresentou valores entre 1,9 - $2,3 \times 10^{-18} \text{ E.c}^{-1}$.

O experimento foi realizado mantendo-se as mesmas condições do aparelho utilizadas no estudo da termólise, tensão da fotomultiplicadora: 950kV, fenda: 8mm para **I**, **II**, **III**, e 6mm para **IV**, e grade de difração em posição espelho. Entretanto, como os experimentos da termólise em DBA e DPA para **III** foram realizados em 438nm, um experimento de decomposição utilizando-se as mesmas condições de calibração do aparelho e um outro nas condições da termólise permitiu a determinação do fator de correção (f_{λ}) para o cálculo do rendimento quântico. Com a grade de difração em posição espelho, a intensidade inicial de quimiluminescência ($I_{0,ESP}$) foi de $(5,5 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ c.s}^{-1}$ e a 438 nm foi obtido um valor de $I_{0,438} = (4,0 \pm 0,2) \times 10^5 \text{ c.s}^{-1}$. O fator de correção f_{λ} foi calculado a partir da relação entre as intensidades iniciais de quimiluminescência em ambas as condições.

$$f_{\lambda} = \frac{I_{0,ESP}}{I_{0,438}} = (0,138 \pm 0,004)$$

6.2.3. Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto

Os experimentos de decomposição catalisada foram realizados com a fotomultiplicadora centrada em 560 nm para **II** e em posição espelho para **IV**.

6.2.3.1. Obtenção dos Espectros de Emissão

Os espectros de emissão foram obtidos adicionando-se, sob agitação magnética, 100 µL de solução 1,0 M de fluoreto de tetrabutylamônio em THF a uma cubeta contendo o dioxetano em THF. O experimento foi realizado a 25 °C para **II** e 7,5 °C para **IV**. Com o objetivo de obtermos uma

cinética suficientemente lenta, para podermos traçar os espectros, os experimentos foram realizados de maneira a permitir a entrada de umidade no sistema, ou seja, a cubeta foi mantida aberta. Além disso os experimentos foram realizados numa sala escura, sendo que o compartimento contendo a cubeta coberto com um pano negro e a velocidade de varredura utilizada superior aos demais experimentos (10 nm/s). A varredura dos espectros foi iniciada imediatamente após a adição da solução de fluoreto.

Concentrações: [II] = $(2,0 \pm 0,4) \times 10^{-5} \text{M}$, [IV] = $(4,1 \pm 0,8) \times 10^{-5} \text{M}$.

6.2.3.2. Dependência de k com a $[F^-]$

A uma cubeta de 3mL, contendo THF anidro e fechada com um septo de borracha, sob agitação magnética, foram adicionados entre 5 a 20 μL de solução de dioxetano, a seguir adicionou-se solução de fluoreto de tetrabutylamônio em THF e a curva cinética de decomposição foi determinada. Foram traçadas curvas à diferentes concentrações de fluoreto à 25°C.

Toda aparelhagem utilizada estava totalmente seca. O solvente (THF 99,9%) e a solução de fluoreto de tetrabutylamônio em THF 1,0 M foram manuseadas sob atmosfera de nitrogênio. O dioxetano e o catalisador foram adicionados à cubeta através de micro-seringa. A adição do THF, dioxetano e da solução de fluoreto à cubeta foi realizada de maneira rápida e cautelosa a fim de se evitar entrada de umidade no sistema. Os experimentos foram realizados numa sala escura, sendo que o compartimento contendo a cubeta foi coberto com um pano negro. A “inicialização” das medidas foi realizada antes da adição da solução de fluoreto, permitindo a determinação da intensidade inicial de quimiluminescência.

Concentrações: [II] = $(2,0 \pm 0,4) \times 10^{-5} \text{M}$, [IV] = $(4,1 \pm 0,8) \times 10^{-5} \text{M}$, $[F^-]$ = 0,066 a 62 mM.

6.2.3.3. Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Catalisada dos Dioxetanos II e IV.

Para o dioxetano II, os parâmetros de ativação foram determinados em 3 diferentes concentrações de íons fluoreto: 1,3mM, 13mM e 32mM, utilizando-se 5 μL de uma solução $(1,2 \pm 0,2) \times 10^{-2} \text{M}$ de dioxetano em THF ([II] = $(2,0 \pm 0,4) \times 10^{-5} \text{M}$). Para IV, tais parâmetros foram determinados a uma concentração de íons fluoreto de 32mM (adição de 100 μL de solução 1,0M de

fluoreto de tetrabutilamônio à cubeta), utilizando-se 20µl de uma solução $(6,3 \pm 1,2) \times 10^{-3} \text{M}$ de dioxetano em THF ($[\text{IV}] = (4,1 \pm 0,8) \times 10^{-5} \text{M}$).

As celas contendo THF anidro, fechadas com um septo de borracha, foram pré-termostatizadas à temperatura desejada, sendo, a seguir, adicionadas, sob agitação magnética, as soluções de dioxetano e de fluoreto. Os experimentos foram realizados numa sala escura, sendo que o compartimento contendo a cubeta foi coberto com um pano negro. A “inicialização” das medidas foi realizada antes da adição da solução de fluoreto, permitindo a determinação da intensidade inicial de quimiluminescência. Foram traçadas curvas isotérmicas entre 0 a 25°C.

6.2.3.4. Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Catalisada de II e IV.

• Rendimentos Quânticos de Fluorescência das Espécies Excitadas Geradas

Para a determinação dos rendimentos de fluorescência foi utilizado o padrão secundário de fluoresceína, cujo espectro de emissão coincide com a quimiluminescência da reação catalisada ($\lambda_{\text{máx}} \approx 560 \text{ nm}$) e possui rendimento quântico de fluorescência (Φ_2) bem definido ($\Phi_2 = 0,91$ em uma solução aquosa 0,1 M de NaOH).⁹⁸

Os produtos de clivagem dos dioxetanos sililsubstituídos, II e IV, foram preparados e adicionados a uma cubeta de 3mL contendo THF anidro, a seguir adicionou-se solução de fluoreto de tetrabutilamônio em THF ($[\text{F}^-] = 32 \text{ mM}$), medindo-se a absorbância (A_1) da solução obtida, em 430 nm. Os espectros de emissão foram traçados, excitando-se a mistura reacional em 430nm. A integral da área sob o espectro de fluorescência (S_1) foi então determinada.

A absorbância (A_2) da solução de fluoresceína foi determinada e, em seguida foi obtido o espectro de fluorescência nas mesmas condições experimentais da amostra analisada.

Foram preparadas soluções de forma que os valores de A_1 permanecessem entre 0,1 e 0,2 e A_2 entre 0,02 e 0,05 a 430 nm. Os rendimentos de fluorescência foram determinados a partir da relação entre as áreas integradas sob os espectros de fluorescência da amostra (S_1) e do padrão (S_2).

$$\frac{S_2}{S_1} = \frac{\Phi_2}{\Phi_1} \times \frac{A_2}{A_1}$$

• **Rendimentos Quânticos na Decomposição Catalisada de II e IV**

Numa cela de fluorescência, contendo 3 mL de THF anidro e selada com um septo de borracha, foram adicionados, sob agitação magnética, entre 10 a 20 μL da solução do dioxetano e, a seguir, 100 μL de uma solução 1,0 M de TBAF. Os experimentos foram realizados numa sala escura, sendo que o compartimento contendo a cubeta foi coberto com um pano negro. A “inicialização” das medidas foi realizada antes da adição da solução de fluoreto, permitindo a determinação da intensidade inicial de quimiluminescência. Foram traçados os perfis cinéticos das decomposições a 25°C. A integração das áreas obtidas sob as curvas de decaimento forneceu o valor da quantidade de luz total (Q) em counts, emitida pela reação quimiluminescente. Para a determinação dos rendimentos quânticos de quimiluminescência foi calculada a relação entre a quantidade de luz total (Q), convertida em E.mol^{-1} pelo fator de calibração (f) e corrigida pelo fator resposta (f_{560}) da fotomultiplicadora para 560 nm, e o número de mols (n) de peróxido decomposto.

$$\phi_{\text{CHL}} = \frac{Q}{n} \times f \times f_{560}$$

$$f = (2,3 \pm 0,4) \times 10^{-18} \text{ E.mol}^{-1}$$

$$f_{560} = 2,34$$

$$n_{\text{II}} = (7,0 \pm 1,4) \times 10^{-8} \text{ mols}, n_{\text{IV}} = (1,3 \pm 0,2) \times 10^{-7} \text{ mols}$$

A partir dos valores obtidos para os rendimentos quânticos de quimiluminescência e para os rendimentos de fluorescência das espécies carbonílicas excitadas geradas, os rendimentos quânticos singlete foram obtidos conforme descrito na introdução: $\phi_{\text{CHL}} = \phi_{\text{II}} \times \phi^{\text{S}}$

7. Anexo 1

Espectros

Espectro 1. RMN- ^1H do 4-etil-4-metil-3-(3-metoxifenil)-1,2-dioxetano (I).

Espectro 2. RMN-¹³C e DEPT 135 do dioxetano I.

Espectro 3. RMN- ^1H dos Produtos da Termólise do Dioxetano I

3-metoxibenzaldeído - 9,98 (s, 1H); 7,47-7,15 (m, 4H); 3,87 (s, 3H).

2-butanona - 2,45 (q, 2H, $J=7,3\text{Hz}$); 2,14 (s, 3H); 1,05 (m, 3H).

Espectro 5. RMN- ^{13}C e DEPT 135 do dioxetano II.

Espectro 6. RMN- ^1H dos Produtos da Termólise do Dioxetano II

3-TBDMS-benzaldeído - 9,88 (s, 1H); 7,42-7,00 (m, 4H); 0,90 (s, 9H); 0,12 (s, 6H).

2-butanona - 2,38 (q, 2H, $J=7,3\text{Hz}$); 2,07 (s, 3H); 0,94 (t, 3H).

129

Espectro 8. Espectro de RMN-¹H do 2-metil-4-(3-metoxifenil)-2-butenos (**11**).

Espectro 9. RMN-¹³C e DEPT 135 da olefina 11.

132

Espectro 12. RMN- ^1H dos Produtos da Termólise do Dioxetano III

acetona - 2,1 (s, 6H).

3-metoxifenilacetaldeído - 9,68 (t, 1H, $J=2,5$ Hz); 7,27-6,68 (m, 4H); 3,73 (s, 3H);
3,59 (d, 2H, $J=2,4$ Hz)

Espectro 13. RMN-¹H do 2-metil-4-(3-TBDMS-fenil)-2-butenos (15).

Espectro 14. RMN-¹³C e DEPT 135 da olefina 15.

Espectro 15. RMN- ^1H do 2-metil-3-bromo-4-(3-TBDMS-fenil)-2-hidroperoxibutano (16).

Espectro 16. RMN- ^1H do 4,4-dimetil-3-(3-TBDMS-benzil)-1,2-dioxetano (IV)

Espectro 17. RMN-¹³C e DEPT 135 do dioxetano IV.

Espectro 18. RMN-¹H dos Produtos da Termólise do Dioxetano IV

3-TBDMS-fenilacetaldeído : 9,60 (t, 1H, J=2,5 Hz); 7,25-6,60 (m, 4H);

3,51 (d, 2H, J=2,9 Hz); 0,87 (s, 9H); 0,089 (s, 6H).

acetona - 2,06 (s, 6H)

Espectro 19. RMN-¹³C e DEPT 135 dos Produtos da Termólise do Dioxetano IV.

Espectro 20. RMN-¹H do 2-(3-TBDMS-fenil)-1-etanol (**34**).

Espectro 21. RMN-¹³C e DEPT 135 do 2-(3-TBDMS-fenil)-1-etanol (34).

Espectro 22. RMN-¹H do 3-*t*-Butildimetilsililoxifenilacetaldeído (35).

145

Espectro 24. RMN-¹H do 1-(3-TBDMS-fenil)-2-propanol (21).

Espectro 25. RMN-¹³C e DEPT 135 do 1-(3-TBDMS-fenil)-2-propanol (21).

Espectro 26. RMN-¹H do 1-(3-TBDMS-fenil)-propanona (**22**).

Espectro 27. RMN-¹³C e DEPT 135 do 1-(3-TBDMS-fenil)-propanona (22).

Espectro 28. RMN-¹H do 2-(3-metoxifenil)-1-etanol (27).

Espectro 29. RMN- ^1H do 2-(3-metoxifenil)-1-bromoetano (**28**).

8. Anexo 2

Gráficos Obtidos nas Determinações dos Parâmetros de Ativação nas Decomposições Unimolecular e Catalisada por Fluoreto dos Dioxetanos I-IV

8.1. Dioxetano I

8.1.1. Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular de I

Gráfico 1. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Unimolecular de I ($[I]=(6,7\pm0,8)\times10^{-5}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm).

Gráfico 2. Entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e Entropia ($\Delta S^\ddagger$) de Ativação na Decomposição Unimolecular de I ($[I]=(6,7\pm0,8)\times10^{-5}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm).

Gráfico 3. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Unimolecular de I ($[I]=(6,7\pm0,8)\times10^{-5}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm).

Gráfico 4. Entalpia de Quimiluminescência ($\Delta H^\ddagger_{chl}$) na Decomposição Unimolecular de I ($[I]=(6,7\pm0,8)\times10^{-5}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm).

8.1.2. Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de I

Gráfico 5. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* [DPA] na Decomposição Unimolecular de I ($[I]=(6,0\pm 0,7)\times 10^{-6}$ M, λ =ESP., 80°C).

Gráfico 6. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* [DBA] na Decomposição Unimolecular de I ($[I]=(6,0\pm 0,7)\times 10^{-6}$ M, λ =ESP., 80°C).

8.2. Dioxetano II

8.2.1. Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular de II

Gráfico 7. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Unimolecular de II ($[II]=(1,0\pm 0,2)\times 10^{-4}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm).

Gráfico 8. Entalpia (ΔH^*) e Entropia (ΔS^*) de Ativação na Decomposição Unimolecular de II ($[II]=(1,0\pm 0,2)\times 10^{-4}$ M, tolueno, $\lambda_{em}=412$ nm).

Gráfico 9. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Unimolecular de **II** ($[II]=(1,0\pm0,2)\times10^{-4}\text{M}$, tolueno, $\lambda_{em}=412\text{ nm}$).

Gráfico 10. Entalpia de Quimiluminescência (ΔH°_{chl}) na Decomposição Unimolecular de **II** ($[II]=(1,0\pm0,2)\times10^{-4}\text{M}$, tolueno, $\lambda_{em}=412\text{ nm}$).

8.2.2. Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de **II**

Gráfico 11. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* $[DPA]$ na Decomposição Unimolecular de **II** ($[II]=(4,7\pm1,0)\times10^{-5}\text{M}$, $\lambda=\text{ESP.}$, 80°C).

Gráfico 12. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* $[DBA]$ na Decomposição Unimolecular de **II** ($[II]=(4,7\pm1,0)\times10^{-5}\text{M}$, $\lambda=\text{ESP.}$, 80°C).

8.2.3. Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano II ($[F^-]=1,3 \text{ mM}$)

Gráfico 13. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição de **II** em presença de 1,3 mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560 \text{ nm}$).

Gráfico 14. Entalpia (ΔH^*) e Entropia de Ativação (ΔS^*) na Decomposição de **II** em presença de 1,3 mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560 \text{ nm}$).

Gráfico 15. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição de **II** em presença de 1,3mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560 \text{ nm}$).

Gráfico 16. Entalpia de Quimiluminescência (ΔH_{chl}^*) na Decomposição de **II** em presença de 1,3mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560 \text{ nm}$).

8.2.4. Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano II ($[F^-]=13\text{ mM}$)

Gráfico 17. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição de II em Presença de 13mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

Gráfico 18. Entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e Entropia de Ativação ($\Delta S^\ddagger$) na Decomposição de II em Presença de 13mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

Gráfico 19. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição de II em Presença de 13mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

Gráfico 20. Entalpia de Quimiluminescência ($\Delta H^\ddagger_{chl}$) na Decomposição de II em Presença de 13mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

8.2.5. Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano II ($[F^-]=32\text{ mM}$)

Gráfico 21. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição de **II** em Presença de 32mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

Gráfico 22. Entalpia (ΔH^*) e Entropia de Ativação (ΔS^*) na Decomposição de **II** em Presença de 32mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

Gráfico 23. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição de **II** em Presença de 32mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

Gráfico 24. Entalpia de Quimiluminescência (ΔH^*_{chl}) na Decomposição de **II** em Presença de 32mM de Fluoreto ($[II]=(2,0\pm0,4)\times10^{-5}\text{M}$, THF, $\lambda_{em}=560\text{ nm}$).

8.3. Dioxetano **III**

8.3.1. Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **III**

Gráfico 25. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Unimolecular de **III** ($[\text{III}] = (8,3 \pm 0,3) \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\lambda_{\text{em}} = 438 \text{ nm}$).

Gráfico 26. Entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e Entropia ($\Delta S^\ddagger$) de Ativação na Unimolecular de **III** ($[\text{III}] = (8,3 \pm 0,3) \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\lambda_{\text{em}} = 438 \text{ nm}$).

Gráfico 27. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Unimolecular de **III** ($[\text{III}] = (8,3 \pm 0,3) \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\lambda_{\text{em}} = 438 \text{ nm}$).

Gráfico 28. Entalpia de Quimiluminescência ($\Delta H^\ddagger_{\text{chl}}$) na Decomposição Unimolecular de **III** ($[\text{III}] = (8,3 \pm 0,3) \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{DPA}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\lambda_{\text{em}} = 438 \text{ nm}$).

8.3.2. Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de **III**

Gráfico 29. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* [DBA] na Decomposição Unimolecular de **III** ($[III]=(8,3\pm 0,3)\times 10^{-5}\text{ M}$, $\lambda_{em}=438\text{ nm}$, 80°).

Gráfico 30. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* [DPA] na Decomposição Unimolecular de **III** ($[III]=(8,3\pm 0,3)\times 10^{-5}\text{ M}$, $\lambda_{em}=438\text{ nm}$, 80°C).

8.4. Dioxetano **IV**

8.4.1. Determinação dos Parâmetros de Ativação na Decomposição Unimolecular do Dioxetano **IV**

Gráfico 31. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Unimolecular de **IV** ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}\text{ M}$, $[DPA]=1,0\times 10^{-2}\text{ M}$, $\lambda_{em}=438\text{ nm}$)

Gráfico 32. Entalpia (ΔH^*) e Entropia (ΔS^*) de Ativação na Decomposição Unimolecular de **IV** ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}\text{ M}$, $[DPA]=1,0\times 10^{-2}\text{ M}$, $\lambda_{em}=438\text{ nm}$)

Gráfico 33. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Unimolecular de **VI** ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}$ M, $[DPA]=1,0\times 10^{-2}$ M, $\lambda_{em}=438$ nm)

Gráfico 34. Entalpia de Quimiluminescência (ΔH^*_{chl}) na Decomposição Unimolecular de **IV** ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}$ M, $[DPA]=1,0\times 10^{-2}$ M, $\lambda_{em}=438$ nm)

8.4.2. Determinação dos Rendimentos Quânticos na Decomposição Unimolecular de **IV**

Gráfico 35. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* $[DBA]$ na Decomposição Unimolecular de **IV** ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}$ M, $\lambda=ESP.$, $80^\circ C$).

Gráfico 36. Duplo-Recíproco Intensidade de Emissão Inicial *versus* $[DPA]$ na Decomposição Unimolecular de **IV** ($[IV]=(2,1\pm 0,4)\times 10^{-5}$ M, $\lambda=ESP.$, $80^\circ C$).

8.4.3. Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto do Dioxetano IV ($[F^-]=32 \text{ mM}$)

Gráfico 37. Energia de Ativação (E_a) na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de IV ($[IV]=(4,2\pm 0,8)\times 10^{-5} \text{ M}$, THF, $\lambda=\text{ESP.}$).

Gráfico 38. Entalpia (ΔH^*) e Entropia (ΔS^*) de Ativação na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de IV ($[IV]=(4,2\pm 0,8)\times 10^{-5} \text{ M}$, THF, $\lambda=\text{ESP.}$).

Gráfico 39. Energia de Quimiluminescência (E_{chl}) na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de IV ($[IV]=(4,2\pm 0,8)\times 10^{-5} \text{ M}$, THF, $\lambda=\text{ESP.}$).

Gráfico 40. Entalpia de Quimiluminescência (ΔH^*_{chl}) na Decomposição Catalisada por Íons Fluoreto de IV ($[IV]=(4,2\pm 0,8)\times 10^{-5} \text{ M}$, THF, $\lambda=\text{ESP.}$).

9. Bibliografia

- ¹ Campbell, A.K., "Chemiluminescence: Principles and Applications in Biology and Medicine", Ellis Horwood Ltd., Chichester (England), 1988.
- ² Schuster, G. B. & Schmidt, S. P., *Adv. Phys. Org. Chem.*, **18**, 187 (1982).
- ³ Faulkner, L. R., *Int. Rev. Sci.: Phys. Chem. Ser. Two*, **9**, 213 (1976).
- ⁴ Koo, J. -Y. & Schuster, G. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4496 (1978).
- ⁵ Schuster, G. B.; Dixon, B.; Koo, J.-Y.; Schmidt, S.P. & Schmidt, J. P., *Photochem. Photobiol.*, **30**, 17 (1979).
- ⁶ Montano, L. A. & Ingle, J. D. Jr., *Anal. Chem.*, **51**, 926 (1979).
- ⁷ Mendenhall, G. B., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **16**, 225 (1977).
- ⁸ Williams, D. C. III & Seite, W. R., *Anal. Chem.*, **48**, 1478 (1976).
- ⁹ Adam, W., *Pure & Appl. Chem.*, **52**, 2591 (1980).
- ¹⁰ Lechtken, P.; Breslow, R.; Schmidt, A. H. & Turro, N. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3025 (1973).
- ¹¹ Wilson, T., *Int. Rev. Sci.: Phys. Chem. Ser. Two*, **9**, 265 (1976).
- ¹² Marcus, R. A., *J. Chem. Phys.*, **43**, 2654 (1965).
- ¹³ Marcus, R. A., *J. Chem. Phys.*, **52**, 2803 (1970).
- ¹⁴ Hercules, D. M., *Accounts Chem. Res.*, **2**, 301 (1969).
- ¹⁵ a. Staudinger, H., *Chem. Ber.*, **58**, 1075 (1925), b. Staudinger, H.; Dyckerhoff, K.; Klever, H. W. & Ruzicka, L., *Chem. Ber.*, **58**, 1079 (1925).
- ¹⁶ McCapra, F., *Chem. Commun.*, 155 (1966).
- ¹⁷ a. Kopecky, K. R.; Mumford, C., *Can. J. Chem.*, **47**, 709 (1969), b. Kopecky, K. R.; Mumford, C., *Abstracts*, 51st Annual Conference of Chemical Institute of Canada, Vancouver (B C), p. 41 (1968).
- ¹⁸ Bechara, H. J. H. & Wilson, T., *J. Org. Chem.*, **45**, 5261 (1980).
- ¹⁹ Adam, W. & Cilento, G., "Chemical and Biological Generation of Excited States", Academic Press, NY (1982).
- ²⁰ Wilson, T. *Photochem. Photobiol.*, **62**, 601 (1995).
- ²¹ Adam, W.; Liu, J.-C., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 2894 (1972).
- ²² Adam, W. & Cilento, G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **22**, 529 (1983).
- ²³ Schuster, G. B., *Acc. Chem. Res.*, **12**, 366 (1979).
- ²⁴ Schmidt, S. P. & Schuster, G. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 306 (1980).
- ²⁵ McCapra, F.; Beheshti, I.; Burford, A.; Hann, R. A. & Zaklika, K. A., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 944 (1977).
- ²⁶ Lee, S.; Singer, L. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 3823 (1980).
- ²⁷ Zaklika, K. A.; Kissel, T.; Thayer, A. L.; Burns, P. A. & Schaap, A. P., *Photochem. Photobiol.*, **30**, 35 (1979).
- ²⁸ Schaap, A. P. & Gagnon, S. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 3504 (1982).
- ²⁹ Schaap, A. P.; Chen, T.-S.; Handley, R. S.; De Silva, R. & Giri, B. P., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 1155 (1987).
- ³⁰ Wilson, T., *J. Phys. Org. Chem.*, **8**, 359 (1995).
- ³¹ McCapra, F., *Chem. Comm.*, 155 (1968).
- ³² Turro, N.-J.; Lechtken, P., *Pure Appl. Chem.*, **33**, 363 (1973).
- ³³ O'Neal, H. E. & Richardson, W. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 6553 (1970).
- ³⁴ a. Zimmerman, H. E.; Keck, G. E.; Pflederer, J. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5574 (1976), b. Zimmerman, H. E.; Keck, G. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 3527 (1975).
- ³⁵ Richardson, W. H.; Batinica, G.; Janota-Perret, K.; Miller, T. & Shen, D., *J. Org. Chem.*, **56**, 6140 (1991).
- ³⁶ Richardson, W. H.; Lovett, M. B.; Olson, L., *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 3523 (1989).
- ³⁷ a. Adam, W.; Heil, M., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 8807 (1992), b. Adam, W.; Andler, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 5674 (1994).
- ³⁸ a. Lima, D. F., Dissertação de Mestrado, IQ-USP (1996), b. Murphy, S.; Adam, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 12916 (1996).
- ³⁹ Turro, N. J.; Devaquet, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 3858 (1975).
- ⁴⁰ Adam, W.; Baader, W. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 410 (1985).
- ⁴¹ Wilson, T. ; "Singlet Oxygen", vol II, 37, A. Frimer ed., CRC Press, Baton Rouge, L.A. (1985).
- ⁴² Catalani, L. H.; Wilson, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 2633 (1989).
- ⁴³ White, E. H.; Wörther, H.; Seliger, H. H. & McElroy, W. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2015 (1966).
- ⁴⁴ McCapra, F., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 946 (1977).
- ⁴⁵ McCapra, F., "Progress in Organic Chemistry", eds. Carruthers, W. & Sutherland, J. K., vol 8, 254 (1973).
- ⁴⁶ Nakamura, K. & Goto, T., *Photochem. Photobiol.*, **30**, 27 (1979).

- ⁴⁷ Schaap, A. P.; Handley, R. S. & Giri, B. P., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 935 (1987).
- ⁴⁸ Schaap, A. P.; Sandison, M. D. & Handley, R. S., *Tetrahedron Lett.*, **28**, 1159 (1987).
- ⁴⁹ Southern, E. M., *J. Mol. Biol.*, **98**, 503 (1975).
- ⁵⁰ Bronstein, I.; Voyta, J. C.; Lazzari, K. G.; Murphy, O.; Edwards, B. & Kricka, L. J., *Biotechniques*, **8**, 310 (1990).
- ⁵¹ Bronstein, I.; Edwards, B. & Voyta, J. C., *J. Biolum. Chemilum.*, **4**, 99 (1989).
- ⁵² Bronstein, I.; Voyta, J. C., *Clin. Anal.*, **35**, 1856 (1989).
- ⁵³ Bronstein, I.; Voyta, J. C.; Edwards, B., *Anal. Biochem.*, **180**, 95 (1989).
- ⁵⁴ Schaap, A. P.; Akhavan, H.; Romano, L. J., *Clin. Chem.*, **35**, 1893 (1989).
- ⁵⁵ Bronstein, I.; Voyta, J. C.; Vant Erve, Y. & Kricka, L. J., *Clin. Chem.*, **37**, 1526 (1991).
- ⁵⁶ Thorpe, G. H. G.; Bronstein, I.; Kricka, L. J.; Edwards, B. & Voyta, J. C., *Clin. Chem.*, **35**, 2319 (1989).
- ⁵⁷ Beale, E. G. et al., *Biotechniques*, **3**, 320 (1992).
- ⁵⁸ Adam, W.; Reinhardt, D. & Sahamoller, C. R., *Analyst*, **121**, 1527 (1996).
- ⁵⁹ Adam, W. & Reinhardt, D., *Liebigs Ann.*, 1359 (1997).
- ⁶⁰ Imanishi, T.; Ueda, Y.; Tainaka, R. & Miyashita, K., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 841 (1997).
- ⁶¹ Matsumoto, M.; Watanabe, N.; Kobayashi, H.; Azami, M. & Ikawa, H., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 411 (1997).
- ⁶² Adam, W. & Schulz, M. H., *Chem. Ber.*, **125**, 2455 (1992).
- ⁶³ Adam, W.; Fell, R.; Schulz, M. H., *Tetrahedron*, **49**, 2227 (1993).
- ⁶⁴ Adam, W. & Reinhardt, D., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1503 (1994).
- ⁶⁵ Trofimov, A. V.; Mielke, K.; Vasil'ev, R. F. & Adam, W., *Photochem. Photobiol.*, **63**, 463 (1996).
- ⁶⁶ Adam, W.; Bronstein, I.; Edwards, B.; Engel, T.; Reinhardt, D.; Schneider, F. W.; Trofimov, A. V. & Vasil'ev, R. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 10400 (1996).
- ⁶⁷ McCapra, F., "Bioluminescence and Chemiluminescence: Molecular Reporting from Photons", eds. J. W. Hastings, L. J. Kricka & P. E. Stanley, John Wiley & Sons, Mass., p. 7 (1997).
- ⁶⁸ Baumstark, A. L., "Singlet Oxygen", vol II, 1, A. Frimer ed., CRC Press, Baton Rouge, L.A. (1985).
- ⁶⁹ Bartlett, P. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, 3223 (1970).
- ⁷⁰ Adam, W., *Adv. Heterocycl. Chem.*, **21**, 437 (1977).
- ⁷¹ Adam, W.; Sakanishi, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3965 (1978).
- ⁷² Zahn, A., Diplomarbeit, Universität Würzburg, Setembro (1981).
- ⁷³ Nakamura, H.; Goto, T., *Heterocycles*, **15**, 1119 (1981).
- ⁷⁴ Nelsen, S. F.; Akaba, R., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2096 (1981).
- ⁷⁵ Büchi, G.; Wüest, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 294 (1978).
- ⁷⁶ Leclercq, D.; Bats, J.-P.; Picard, P.; Moulines, J., *Synthesis*, 778 (1982).
- ⁷⁷ Belyakov, V. A.; Vasil'ev, R. F., *Photochem. Photobiol.*, **11**, 179 (1970).
- ⁷⁸ Baader, J. W., Tese de Doutorado, Universität Würzburg (1983).
- ⁷⁹ a. Lee, J.; Seliger, H. H., *Photochem. Photobiol.*, **15**, 227 (1972), b. Lee, J.; Wesley, A. S.; Fregson III, J. F. & Seliger, H. H., "Bioluminescence in Progress", **35**, Princeton, N. J. Princeton University Press (1965).
- ⁸⁰ Hastings, J. W. & Reynolds, G. T., "Bioluminescence in Progress", 45 Princeton, N. J. Princeton University Press (1966).
- ⁸¹ White, E. H.; Roswell, D. F., *Acc. Chem. Res.*, **3**, 54 (1970).
- ⁸² Lee, J.; Seliger, H. H., *Photochem. Photobiol.*, **4**, 1015 (1965).
- ⁸³ Turro, N. J. & Lechtken, P., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 2886 (1972).
- ⁸⁴ Richardson, W. L.; Montgomery, F. C.; Yelvington, M. B. & O'Neal, H. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 7525 (1974).
- ⁸⁵ De Luca, M. & McElroy, W. D., "Bioluminescence and Chemiluminescence. Basic Chemistry and Analytical Applications", Academic Press, N Y (1981).
- ⁸⁶ Edwards, B.; Sparks, A.; Voyta, J. C. & Bronstein, I., *J. Biolumin. Chemilumin.*, **5**, 1 (1990).
- ⁸⁷ Wittig, G.; Schoellkopf, U., *Organic Synthesis* **40**, 66 (1960).
- ⁸⁸ Karasch, M. S. & Reinmuth, O., "Grignard Reactions of Nonmetallic Substances", 961, Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.Y. (1976).
- ⁸⁹ Lajis, N. J.; Kahn, M. M., *Tetrahedron* **48**, 1109 (1992).
- ⁹⁰ Kopecky, K. R.; Filby, J. E.; Mumford, C.; Lockwood, P. A. & Ding, J.-Y., *Can. J. Chem.*, **53**, 1103 (1975).
- ⁹¹ Magid, R. M.; Nieh, E. C. & Gandour, R. D., *J. Org. Chem.* **36**, 2099 (1971).
- ⁹² a. Corey, E. J.; Venkateswarlu, A., *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 6190 (1972), b. Dodd, G. H.; Golding, B. T.; Panayiotics, W. I., *J. Chem. Soc. (Perkin I)*, 2273 (1976).
- ⁹³ a. Moreau, C.; Roussax, F., *Tetrahedron Lett.*, 3527 (1970), b. Neville, R. G., *J. Org. Chem.* **25**, 1063 (1960).
- ⁹⁴ Corey, E. J. & Suggs, J. W., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 2642 (1975).
- ⁹⁵ a. Castro, R. B., *Organic Reactions*, **29**, 1, (1983), b. Landauer, S. R.; Coe, D. G.; Hidon, H. N., *J. Chem. Soc.*, 2281 (1954).
- ⁹⁶ La Toge, F. B.; Barther, W. F., *J. Org. Chem.*, **9**, 250 (1944).

-
- ⁹⁷ Cotton, M. L.; Dunford, H. B., *Can. J. Chem.*, **51**, 582 (1973).
- ⁹⁸ Miller, J. N., "Standards in Fluorescence Spectroscopy", ed. Chapman and Hall, vol 2, New York (1981).
- ⁹⁹ Baumstark, A. L.; Dunams, T.; Roskamp, P. C. e Wilson, C. E., *J. Org. Chem.*, **48**, 261 (1983).
- ¹⁰⁰ Wu, K. C.; Ware, W. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 5906 (1979).
- ¹⁰¹ Zimmerman, H. E.; Sandel, V. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 915 (1963).
- ¹⁰² a. Zimmerman, H. E.; Somassekhara, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 922 (1963), b. Pincock, J. A.; Wedge, P. J., *J. Org. Chem.*, **59**, 5578 (1994), c. Fleming, S. A.; Jensen, A. W., *J. Org. Chem.*, **61**, 7040 (1996).
- ¹⁰³ Perrin, D. D.; Arnarego, W. L.; Perrin, D. L., "Purification of Laboratory Chemicals" Pergamon Press, Oxford (1966).
- ¹⁰⁴ Watson, S. C.; Eastham, J. F., *J. Organometal. Chem.*, **9**, 165 (1967).

Curriculum Vitae

Ana Luiza Petillo Nery

FORMAÇÃO:

Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas - Instituto de Química da USP (1987 - 1990).

Mestrado com Passagem Direta para o Doutorado (1992 - 1997).

BOLSAS:

Mestrado: CNPq

Doutorado: Capes

PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS:

Ana L. P. Nery; Luiz H. Catalani; Vicente G. Toscano & Wilhelm J. Baader, “*Estudo da Termólise de Dioxetanos Catalisada por Transferência Intramolecular de Elétron*” - XVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Caxambu, MG (1994).

Ana L. P. Nery; Luiz H. Catalani; Vicente G. Toscano & Wilhelm J. Baader, “*Synthesis of Olefins Containing m-Methoxyphenyl and m-Sililoxyphenyl Moities*” - 6th Brazilian Meeting on Organic Synthesis, São Paulo, SP (1994).

Ana L. P. Nery; Luiz H. Catalani; Vicente G. Toscano & Wilhelm J. Baader, “*Estudo da Termólise de Dioxetanos Catalisada por Transferência Intramolecular de Elétron*” - XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Caxambu, MG (1995).

Ana L. P. Nery; Luiz H. Catalani; Vicente G. Toscano & Wilhelm J. Baader - “*Studies on the Intramolecular Electron Transfer Catalyzed Thermolysis of 1,2-Dioxetanes*” - 8th Inter-American Photochemical Society Conference, Foz do Iguaçu, PR (1996).

Luiz H. Catalani; Ana L. P. Nery & Wilhelm J. Baader, "*Singlet Excited State Formation by Intramolecular Electron Transfer Catalyzed 1,2-Dioxetane Decomposition*" - 9th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence, Woods Hole, Mass (1996).

Ana L. P. Nery & Wilhelm J. Baader, "*Estudo da Termólise de Dioxetanos Catalisada por Transferência Intramolecular de Elétron*" - XX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG (1997).

Wilhelm J. Baader; Ana L. P. Nery; Sandra M. Silva & Cassius V. Stevani, "*Studies on the Mechanisms of Chemiexcitation: the question of electron transfer in chemiluminescence*" - Dresden Chemiluminescence Days, Dresden, Alemanha (1997). Abstract publicado no: *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **35**, A76 (1997).

PUBLICAÇÕES:

Luiz H. Catalani; Ana L. P. Nery & Josef W. Baader, "*Singlet Excited State Formation by Intramolecular Electron Transfer Catalyzed 1,2-Dioxetane Decomposition*", in "Bioluminescence and Chemiluminescence - Molecular Reporting with Photons", p.23, eds. J. W. Hastings, L. J. Kricka, P. E. Stanley, John Wiley and Sons, Mass. - USA (1997).