CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1- Introdução

Esta etapa dos estudos teve por objetivo a síntese e os estudos fotoquímicos e fotofísicos de derivados de quinolinas (fotobase), mais especificamente dos monômeros 3-alil-2-metilquinolin-4-ol (HIQ) e 3-alil-4-cloro-2-metilquinolina (CLQ).

Um dos temas modernos em fotoquímica em soluções e mais especificamente em soluções aquosas, teve início após os estudos pioneiros de Weber, Weller e Förster na década dos 50 quando da descoberta da existência de prototropismo de estados eletrônicos excitados. Em termos resumidos, moléculas orgânicas (via de regra estados singleto) contendo grupamentos prototrópicos quando excitadas, seja mantendo a multiplicidade do Spin seja indo ao estado tripleto, cujo tempo de vida do estado excitado seja longo o suficiente, reações competitivas de transferência de prótons com as do processo de relaxação poderão ocorrer. No caso de aumento de acidez os compostos são denominados fotoácidos e no contrário fotobases. Este fenômeno é atribuído a um estado isoeletrônico da molécula no estado excitado acarretando em mudanças bastante significativas de pKa. Moléculas e íons como a 8-hidróxi-1,3,6-pirenotrissulfonato de sódio (POH) ou como a 6-metóxi-quinolina (6MQ) apresentam em solução aquosa variações, respectivamente, de cerca de 7 (fotoácido) e 5 (fotobase) unidades de pKa .

Do ponto de vista da investigação Físico-Química o estudo da circunvizinhança, na qual as espécies excitadas percorrem uma superfície de potencial seja na direção da reassociação seja na da ionização com posterior solvatação das mesmas, fornece uma importante ferramenta de análise de propriedades de micro ambiente. Esta

possibilidade advém das, via de regra, excelentes propriedades espectrais dos grupos cromofóricos desta classe de compostos que facilita o monitoramento das espécies transientes adicionado ao estágio técnico atual de medidas temporais ultra rápidas .

No tangente ao estado excitado singleto dois processos prototrópicos na escala de femto à picossegundos e de pico à nanossegundos, respectivamente, podem ocorrer, isto é, os processos denominados intra e intermolecular. No primeiro caso o prototropismo se dá entre grupamentos ácido-base da mesma molécula, o qual pela proximidade física ocorre em escala ultra-rápida, podendo ou não apresentar o solvente com espécie interveniente . Por sua vez em processos intermoleculares a participação do solvente é imprescindível e no caso da grande maioria dos fotoácidos, até então estudados, este processo é, para moléculas cuja constante de dissociação de estado excitado (pKa^*) é próxima de zero, dependente da presença de água. Desta dependência uma correlação entre a extensão de prototropismo e a atividade de água do micro ambiente foi proposta.

Estudos com estes compostos tem enfocado desde efeitos de tampão e de outras espécies susceptíveis ao prototropismo transiente a estudos de interfaces. O estudo de fotoácidos ou fotobases em sistemas poliméricos, entretanto, seja como um monômero constituinte seja com um grupamento pendente ao esqueleto do polímero, não foram ainda descritos. Ainda que macromoléculas como as poliquinolinas já tenham sido reportadas em conexão a propriedades de novos materiais eletroluminescentes, estudos da fotoquímica e fotofísica destas macromoléculas em solução ainda não foram realizados.

Além da dificuldade sintética de se introduzir fotoácidos e fotobases em sistemas poliméricos, pode-se antever a dificuldade da solubilização de polímeros neutros derivados, por exemplo, de quinolina (fotobase) e naftóis (fotoácido) em água para permitir a investigação de prototropismo de estado excitado. Pode-se prever, portanto, uma reduzida aquossolubilidade de moléculas como as poliquinolinas ou como os polinaftóis, a qual pode em princípio ser contornada com a adição de grupamentos iônicos, como os sulfonatos, ao polímero. Neste exemplo um passo a mais de dificuldade sintética. Recentemente, entretanto vários estudos têm se dedicado à investigação dos denominados super-fotoácidos, moléculas estas batizadas após os estudos de L.M.Tolbert que determinou que derivados como os cianonaftóis tem a capacidade de se dissociar em solventes como o metanol. Determinou-se que nestes compostos a cinética de transferência de proton (H^+) exibe diferentes leis de relaxação em função da competição entre os processos de reprotonação geminada reversível e irreversível. Estes estudos são de alto interesse tendo em vista a possibilidade de se inspecionar micro ambientes não aquosos com capacidade de prototropismo e especialmente para o desenho de protótipos (monômeros) para obtenção de polímeros que poderão ser solubilizados em meios como o alcóolico.

Na segunda etapa desta pesquisa fizemos estudos fotoquímicos e fotofísicos de derivados de di-naftalimidas variando-se os grupos substituintes, aqui estudamos sete compostos: N,N'-n-butil-1,4,5,8-di-naftalimida (BUNDI); N,N'-(2-cloro-etileno)-1,4,5,8-di-naftalimida (CLNDI); N,N'-(2-bromo-etileno)-1,4,5,8-di-naftalimida (BRNDI); N,N'-2-hidroxietileno-1,4,5,8-di-naftalimida (OHNDI); N,N'-(N,N'-dimetiletilenodiamina)-1,4,5,8-

di-naftalimida (DMNDI); N,N'-amino-1,4,5,8-di-naftalimida (DANDI) e N,N'-1,4,5,8-di-naftalimida (NDI).

As N-alquinaftalimidas apresentam muitas aplicações, como na formação de filmes tipo Langmuir-Blodget eletro-ativos [Cammarata, 1992], como marcadores de células tumorais [Braña, 1993] e ainda como possíveis fármacos no tratamento contra o vírus HIV [Lewis, 1993]. As propriedades químicas destes compostos tem direcionado estudos destinados à compreensão de sua reatividade em sistemas modelo in vivo. Também tem sido observado ftalimidas em virtude da conjugação de elétrons do grupamento imídico aos do anel do naftaleno e sua implicação na reatividade fotoquímica. Ftalimidas e derivados apresentam estados eletrônicos excitados de menor energia muito próximos, com caráter π-π^*, os quais são susceptíveis de inversão em função da polaridade do meio. Estas características permitem a utilização destes compostos como sondas de micro ambiente.

1.1 - Luminescência e fotoquímica

Quando corpos são aquecidos eles emitem radiação devido à sua alta temperatura essa forma de emissão é a **incandescência**. E todas as outras formas de emisssão de luz são chamadas **luminescência** (emissão de luz por matéria – transformação de energia química em energia eletromagnética). Quando a luminescência ocorre, o sistema perde energia e se a emissão for contínua, alguma forma de energia deve ser fornecida de outro lugar. A maioria dos tipos de luminescência são classificadas de acordo com a fonte que a energia é derivada. Assim a *radioluminescência* emitida de relógios luminosos é fornecida por partículas de alta energia de origem de material radioativo do fósforo e a *eletroluminescência* da descarga de um gás da lâmpada é derivada da passagem de corrente elétrica através de um gás ionizado. Outros fenômenos como a *quimioluminescência*, a qual a energia é derivada de reações químicas, a bioluminescência quando a reações ocorrem dentro de organismos vivos (por exemplo; a luz emitida de vaga-lumes, e é chamada fosforescência). A *fotoluminescência* onde a energia é fornecida pela absorção da luz na região do infra-vermelho, visível ou ultravioleta.

O estudo de vários tipos de luminescência pode fornecer alguma informação sobre a composição química de um sistema emissor e os processos que ocorrem depois da absorção da luz e da energia de excitação, mas a fotoluminescência tem um campo informativo mais amplo devido ao grande domínio experimental (análises fluorimétricas) em relação ao processo de excitação. Através da escolha do comprimento de onda para a excitação da luz a energia pode ser direcionada para

específicos componentes de um sistema tanto que os processos são simples e deste modo a energia é fornecida para o sistema como um todo. Os processos que levam para a emissão de luminescência estão intimamente associados com os resultados das reações fotoquímicas e desta maneira o estudo de fotoluminescência é parte integral do assunto da matéria de **fotoquímica** (estuda os processos físicos e químicos induzidos pela absorção de fótons).

A ação da luz solar promove mudanças químicas como branqueamento de tecidos ou a coloração verde de plantas e isto é conhecido como experiências comuns. De fato a utilização da luz do sol pelas plantas envolvem reações fotoquímicas que levam a sua auto-suficiência quanto a alimentação no qual o mundo animal é totalmente dependente. O estudo quantitativo de reações fotoquímicas iniciou-se através da formulação de Grotthus (1817) a qual pode ser considerada como a primeira lei da fotoquímica, que é " Somente aquela luz que é absorvida por um sistema pode causar uma mudança química". A segunda lei da fotoquímica foi primeiramente explicada por Stark (1908) e depois por Einstein (1912). Esta lei diz " Um quantum de luz é absorvido por molécula de absorvente e reagindo com a substância este desaparece". Esta lei foi originalmente deduzida para reações extremamente simples e aplicada apenas para a a produção da fotoquímica primária, isto é; a produção de espécies excitadas que imediatamente seguem a produção da absorção, porque algumas moléculas excitadas podem voltar para seu estado inicial através de vários processos, inclusive a emissão de luminescência. Além disto, até se todas as moléculas sofrem reações, os produtos primários são freqüentemente instáveis e levam a uma série complexa de reações que originam finalmente o produto final observado. E foi

Einstein quem enfatizou a importância da determinação do rendimento quântico na investigação do mecanismo de reações fotoquímicas.

1.2-Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e do visível

A energia total de uma molécula corrresponde à soma de sua energia eletrônica ($E_{elet)}$, vibracional (E_{vib}) e rotacional (E_{rot}), sendo que a magnitude destas energias diminui na seguinte ordem: $E_{elet} > E_{vib} > E_{rot.}$

A energia absorvida pela molécula na região do UV-VIS (λ = 190/400 –400/780 nm) produz variação na energia eletrônica da molécula ocasionando transições de seus elétrons de valência. Essas transições envolvem a passagem de elétrons localizados em níveis de energia do estado fundamental para o estado excitado.

As características principais de uma banda de absorção são a sua posição e intensidade. A posição corresponde ao comprimento de onda da radiação cuja energia é igual àquela necessária para que ocorra uma transição eletrônica. Por sua vez, a intensidade da absorção depende das regras de seleção para a transição eletrônica ou em outras palavras; é em função de dois fatores: a probalidade de interação entre o sistema radiante e o sistema eletrônico; e a diferença entre os estados fundamental e excitado. A probabilidade da transição é proporcional ao quadrado do momento de transição. O momento de transição, ou momento de dipolo da transição, é, por sua vez, proporcional à variação da distribuição de carga eletrônica que ocorre durante a

excitação. Observa-se uma absorção intensa quando a transição é acompanhada por uma grande variação no momento de dipolo da transição.

Embora sejam os elétrons que sofram a excitação do estado fundamental para o excitado, o núcleo ao qual esses elétrons são mantidos presos através das ligações também tem sua importância na determinação do comprimento de onda da absorção. Assim, a energia característica da transição é uma propriedade de um grupo de átomos conhecido como **cromóforo** (é um grupo insaturado covalente, responsável pela absorção eletrônica, por exemplo: C=C, C=O, NO_2).

Utilizando-se a **Lei de Lambert-Beer** para a absorção, a qual indica (mostra) a fração da luz monocromática transmitida através de um sistema absorvente e é expressa pela equação (1):

$$\mathbf{A = \varepsilon\, b\, c \quad (1)}$$

onde:

A é a absorbância,

ε é a absortividade molar ($M^{-1}\, cm^{-1}$),

b é o caminho através da amostra (espessura da cela): 1 - 10 cm,

c é a concentração da amostra: ~ 10E-4 a 10E-5 M.

Quando obtemos valores de $\boldsymbol{\varepsilon_{max}}$ (absortividade molar máxima) iguais ou superiores a 10E4 a absorção é considerada muito intensa, e para valores iguais ou

menores que 10E3 a absorção é considerada de fraca intensidade. Ainda temos as transições de baixa probabilidade de ocorrer que são chamadas transições proibidas.

Intensidade da Absorção

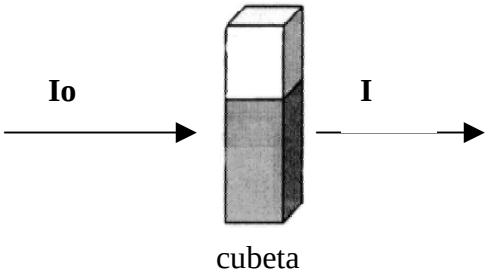

Figura 1 - Representação da passagem da luz através de uma amostra em solução dentro de uma cubeta.

Transmitância

$$T = I / Io \quad (2)$$

Absorbância

$$A = \log 1 / T \quad (3)$$

onde:

Io é a intensidade de luz incidente,

I é a intensidade de luz transmitida.

Linearidade: 35 < T < 65 %
0,2 < A < 0,8

É importante mencionar o **Princípio de Franck-Codon**, o qual é baseado no fato que a absorção da luz ocorre em torno de 10E-15 segundos, isto é; dentro do período de vibração da onda de luz. Durante este tempo, em virtude de os núcleos serem muito

mais pesados que os elétrons, uma transição eletrônica ocorre de forma bastante rápida para que os núcleos possam responder, ou seja; não há mudança significativa de suas posições e momento (no núcleo do átomo). Como resultado, a configuração nuclear e movimentos relativos ao estado excitado após a absorção de luz são idênticos aos existentes antes da absorção.

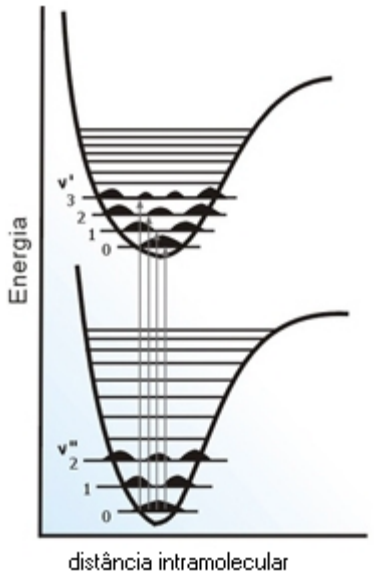

Figura 2 -Representação da transição eletrônica segundo o Princípio de Frank-Codon.

(figura extraída do site www.chemkeys.com)

1.3- Espectroscopia de emissão de fluorescência

A espectroscopia de emissão de fluorescência é uma poderosa ferramenta analítica para estudar os efeitos de vários parâmetros físico-químicos (pH, polaridade, viscosidade, concentração, efeito dos solventes, processos moleculares no estado excitado, etc.) sobre as moléculas em solução. A utilização desta técnica é função de sua inerente sensibilidade analítica [Lakowicz, 1983].

Fluorescência é a propriedade que alguns átomos ou moléculas (conhecidos por fluoróforos ou sondas fluorescentes) têm em absorverem luz em um determinado comprimento de onda e posteriormente emitir esta luz em um comprimento de onda maior após um breve intervalo de tempo. Os vários níveis de energia envolvidos na absorção e emissão de luz são apresentados no diagrama de Jablonski (Figura 3).

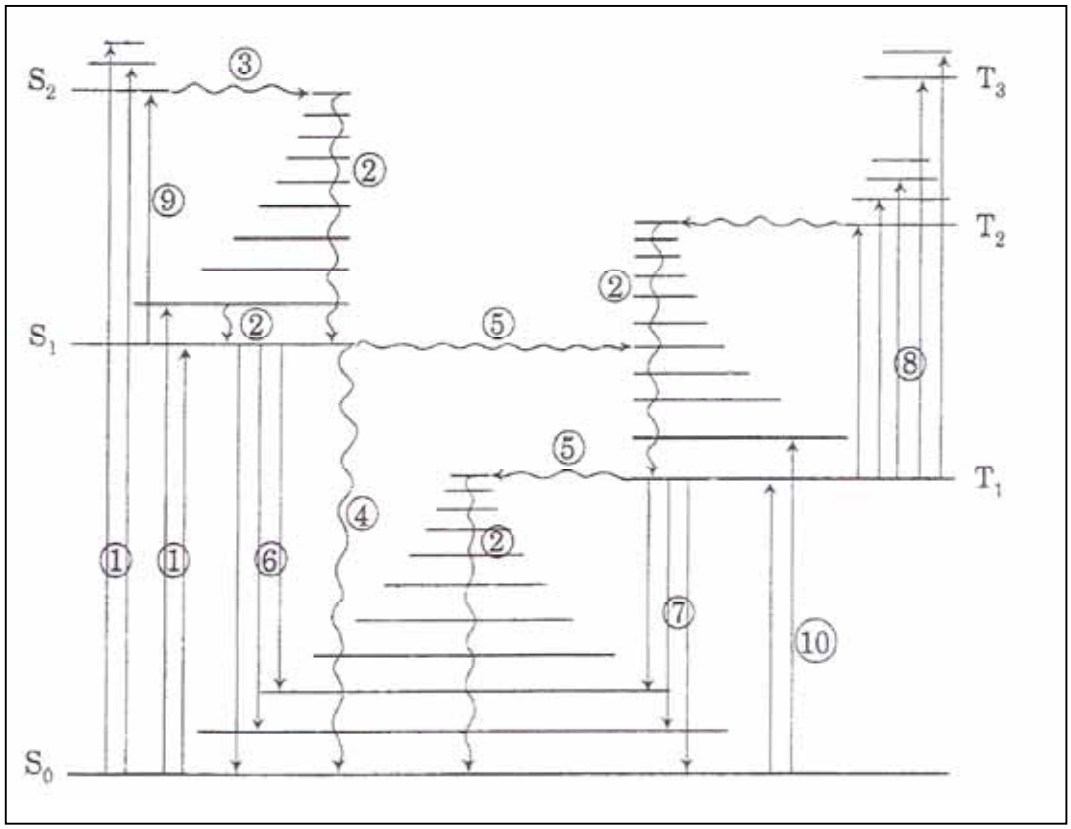

Figura 3 - Diagrama de Jablonski [Carroll, 1998]

Neste diagrama aparecem em linhas horizontais o estado fundamental (S_0) e os estados excitados singlete (spins emparelhados) (S_1 e S_2) e triplete (spins desemparelhados) (T_1, T_2 e T_3) com seus correspondentes níveis vibracionais. As linhas retas (verticais) referem-se aos processos radiativos e as sinuosas aos processos não radiativos. Os números nas linhas referem-se as seguintes definições:

1-Absorção de Luz. Uma molécula no estado fundamental (S_0) pode absorver um fóton de luz ($h\nu$) e tornar-se excitada com escala de tempo de 10E-15 s. A maioria

das transições prováveis é $S_0 \rightarrow S_1$ ou $S_0 \rightarrow S_2$, embora transições de S_0 para estados excitados singlete de maior energia também são possíveis.

2- Relaxação Vibracional. A absorção do S_o para S_n envolve uma mudança do nível vibracional zero do S_0 para qualquer nível vibracional do estado excitado. Contudo, o nível vibracional ν" = 0 é o nível mais populoso à temperatura ambiente para a molécula em seu estado eletrônico fundamental, e ν' = 0 é também o nível vibracional do estado eletrônico excitado que é mais populoso no equilíbrio. Ao menos que a molécula dissocie antes do equilíbrio ser alcançado, existe um processo rápido (10E-12 s) que relaxa o nível vibracional de maior energia do estado excitado para seu nível vibracional zero.

3- Conversão Interna. É um processo não radiativo que converte um estado eletrônico de maior energia para um de menor energia de mesma multiplicidade. Por exemplo, O nível vibracional zero do S_2 é convertido em um nível vibracional do estado excitado S_1 que tem a mesma quantidade de energia. O nível vibracional excitado S_1 pode então relaxar para seu nível zero. A escala de tempo para a conversão interna é rápida (> 10E-10 s), especialmente quando os dois estados são próximos em energia.

4- Decaimento não Radiativo. É um processo pelo qual o estado eletrônico excitado retorna ao estado fundamental (tipicamente de S_1 para S_0) sem a emissão de luz. A escala de tempo para decaimento não radiativo (< 10E-6 s) é menor que para

conversão interna devido à diferença de energia entre S_1 e S_0 que usualmente é maior do que entre S_2 e S_1.

5- Cruzamento Intersistema. É a conversão de um estado singlete em um estado triplete (ou vice versa), requer a mudança rápida do spin do elétron. A probabilidade do cruzamento intersistema depende, entre outras coisas, da diferença de energia entre o estado singlete e tripete, com escala de tempo entre 10E-6 e 10E-10 s. O estado T_n é menor em energia do que o seu correspondente S_n devido a menor repulsão de elétron para elétrons não emparelhados.

6- Fluorescência. É a emissão de luz de um estado excitado para o estado fundamental com a mesma multiplicidade. Usualmente a emissão é de $S_1 \rightarrow S_0$, com escala de tempo entre 10E-9 e 10E-7 s. Alguns casos de fluorescência anormal $S_2 \rightarrow S_0$ são encontrados ocorre em alguns compostos, tais como o azuleno e compostos tiocarbonil.

7- Fosforescência. É a emissão de luz de um estado excitado para o estado fundamental com mudança de multiplicidade (usualmente de um estado excitado triplete para o estado fundamental), ocorrendo a tempos longos (10E-3 a 1 s). Este processo envolve mudança de estado eletrônico e de spin, assim como absorção $S_0 \rightarrow T_n$, fosforescência é um processo spin proibido.

8- Absorção Triplete – Triplete. Uma molécula no estado excitado triplete pode absorver um fóton para originar um estado triplete de maior energia, assim espectro UV/VIS pode ser obtido e o decaimento do estado excitado em função do tempo pode ser monitorado.

9- Absorção Singlete – Singlete. Estados tripletes podem persistir mais do que estados excitados singletes, portanto só era possível absorção triplete – triplete. Entretanto, com o advento da espectroscopia de pico (10E-12) e femto (10E-15) segundos, tornou-se possível medir transições de um estado excitado singlete para um outro singlete de maior energia.

10- Absorção Singlete – Triplete. Como fosforescência, este é um processo proibido, portanto a transição $S_0 \rightarrow T_n$ não é observada na espectroscopia UV/VIS [Carroll, 1998].

Três parâmetros fundamentais utilizados na descrição e comparação das sondas fluorescentes são: absortividade molar **(ε)**, rendimento quântico **(ϕ_f)** e tempo de vida de fluorescência **(τ_f)**.

A absortividade molar (ε) converte unidades de absorbância em unidades de concentração molar para uma variedade de substâncias químicas, sendo determinado pela medida de absorbância a um particular comprimento de onda (usualmente, o ε utilizado é aquele relativo ao máximo valor de absorção no espectro UV/VIS) de um fluoróforo. A absortividade molar é a medida direta da habilidade do fluoróforo em

absorver luz, e aqueles fluoróforos que têm um valor alto da absortividade molar apresentam grande probabilidade de emissão de fluorescência.

O rendimento quântico (ϕ_f) é um padrão para medir a eficiência da emissão de fluorescência relativa a todos os caminhos possíveis para relaxação, ou seja, representa a probabilidade de um fluoróforo excitado produzir um fóton emitido e é geralmente expresso pela equação (4):

ϕf = número de fótons emitidos / número de fótons absorvidos (4)

Em relação ao tempo de vida de fluorescência, isto é; o tempo característico que uma molécula permanece no estado excitado antes de retornar ao estado fundamental. Este parâmetro é de fundamental importância uma vez que este é o tempo disponível para dar a informação do perfil de emissão. Durante o tempo de vida do estado excitado, o fluoróforo pode sofrer mudanças conformacionais ou interagir com outras moléculas e se difundir através do ambiente local. A intensidade do decaimento de fluorescência como uma função do tempo em uma população uniforme de moléculas excitadas com um breve pulso de luz é descrito por uma função exponencial (5):

$$I_t = I_0 - e\,(-t / \tau_f) \qquad (5)$$

onde:

I_t é a intensidade de fluorescência medida a tempo t,

I_0 é a intensidade inicial observada após a excitação e,

τ_f é o tempo de vida de fluorescência.

Formalmente, o tempo de vida de fluorescência é definido como o tempo no qual a intensidade de fluorescência do fluoróforo decai para 1/e (~ 37%) da intensidade inicial, conforme Figura 4(a). Esta quantidade é o recíproco da constante de velocidade para o decaimento de fluorescência do estado excitado para o estado fundamental. Desde que, o nível de fluorescência é diretamente proporcional ao número de moléculas no estado excitado, medidas de tempo de vida podem se feitas através do decaimento de fluorescência após um breve pulso de excitação. Em um solvente uniforme, o decaimento de fluorescência é usualmente uma função mono-exponencial, conforme Figuras 4(a) e 4(b). Além disso, processos como conversão interna, cruzamento intersistema e supressão podem competir com emissão de fluorescência na relaxação dos elétrons do estado excitado para o estado fundamental. Exceto fluorescência e fosforescência, os processos não radiativos são mecanismos primários responsáveis pela relaxação dos elétrons do estado excitado. Todos os processos não fluorescentes que competem para a desativação dos elétrons no estado excitado podem ser combinados em uma única constante de velocidade, conhecida por constante de velocidade não radiativa (k_{nr}). Esta constante ignora qualquer contribuição da relaxação vibracional devido à rápida velocidade (10E-12 s) destas conversões que são várias ordens de magnitude mais rápida do que as transições de desativação (10^{-9} s). Portanto, rendimento quântico pode ser descrito em termos de constante de velocidade, segundo a equação (6):

$$\phi_f = k_f / (k_f + k_{nr}) = \tau_f / \tau_0 \qquad (6)$$

onde:

$\mathbf{k_f}$ é a constante de velocidade para o decaimento por fluorescência,

τ_f é o tempo de vida de fluorescência medido,

τ_0 é o tempo de vida intrínseco, ou seja, o tempo de vida do estado excitado na ausência de todos os processos que competem com a fluorescência.

Na prática, o tempo de vida de fluorescência é diminuído pela presença de processos não radiativos, resultando em um tempo de vida medido que é a combinação do tempo de vida de fluorescência e dos mecanismos de relaxação não fluorescentes. Já que o tempo de vida medido é sempre menor que o tempo de vida intrínseco, o rendimento quântico nunca excede ao valor unitário .

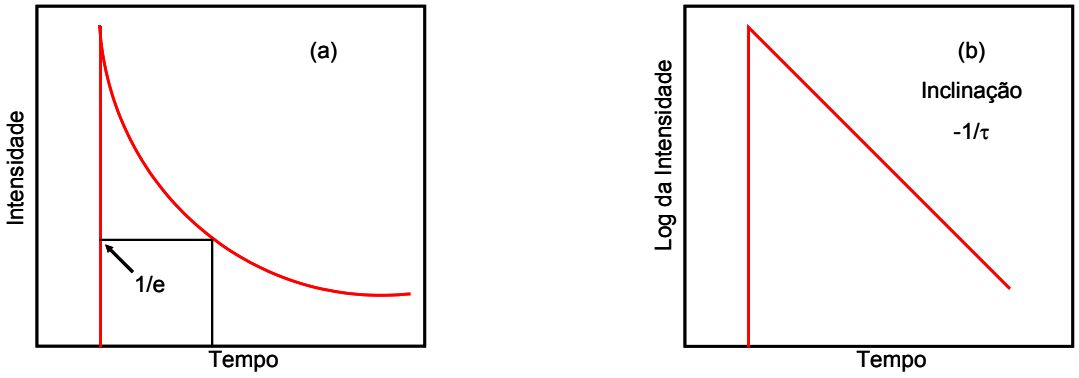

Figura 4 - Perfil do decaimento do tempo de vida de fluorescência

(figura extraída do site www.olympusfluoview.com)

1.4- Equilíbrio Ácido- Base no Estado Excitado

Em 1931, Weber observou que o comprimento de onda de fluorescência do 1-naftilamina-4-sulfonato apresenta alterações em função do pH da solução sem que houvesse alterações no espectro de absorção. Em 1949, a observação de Weber foi interpretada corretamente por Förster que considerou a possibilidade de que a constante de equilíbrio ácido-base no estado excitado fosse diferente da constante de equilíbrio no estado fundamental, [Förster et al., 1949; 1950].

A relação entre deslocamento de comprimento de onda acompanhada de protonação e mudança na constante de equilíbrio sob excitação é formalizada no diagrama de energia do Ciclo de Förster, ilustrada na Figura 5.

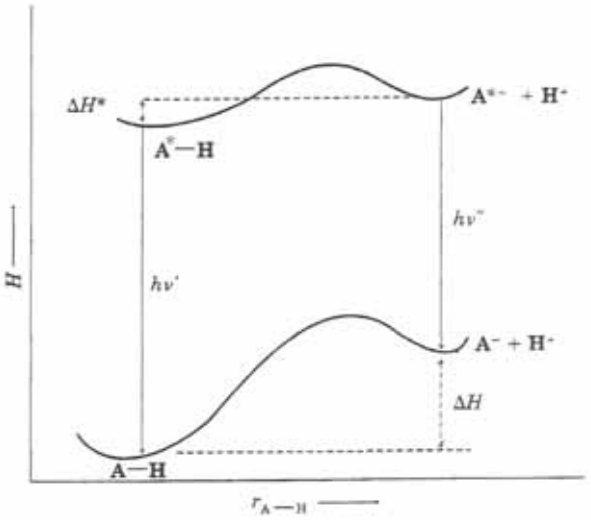

Figura 5 - Ciclo de Forster [Carroll, 1998].

onde:

ΔH e **ΔH*** são entalpias de dissociação do ácido AH em sua base conjugada A^- no estado fundamental e no estado excitado singlete mais baixo,

hν' e **hν"** são as energias de transição eletrônica entre o estado fundamental e estado excitado singlete mais baixo para AH e A^-,

h é a constante de Planck.

Conforme o ciclo de Förster, é evidente que:

$$\Delta H^* + h\nu' = \Delta H + h\nu'' \qquad (7)$$

$$\Delta H^* = \Delta H + (h\nu'' - h\nu') \qquad (8)$$

Assumindo que a variação de entropia é a mesma no estado fundamental e excitado e que **ΔG = ΔH - TΔS**, a equação (8) torna-se:

$$\Delta H^* - \Delta H \approx \Delta G^* - \Delta G \qquad (9)$$

e utilizando a relação entre ΔG e equilíbrio

$$\Delta G = 2{,}303\ RT\ pK \qquad (10)$$

tem-se a relação (11), na qual pode-se determinar o valor pK* a partir do pK do estado fundamental.

$$\mathbf{pK^* - pK = (h\nu'' - h\nu') / (2{,}303\ RT) \qquad (11)}$$

onde:

R é a constante universal dos gases,

T é a temperatura em Kelvin.

Conforme o surgimento da emissão de fluorescência da base ou do ácido conjugado (ou seja, um ácido ou base mais forte no estado excitado) essas substâncias passaram a ser conhecida como fotoácidos e fotobases, respectivamente [Ireland & Wyatt et al., 1976; Parker, 1968; Eigen et al., 1964; Weller et al., 1961; Gutman et al., 1981a; Schulman, 1977].

Uma molécula no estado excitado pode ser considerada como um isômero metaestável da mesma molécula no estado fundamental, uma vez que as propriedades físicas e químicas são determinadas pelo arranjo do orbital eletrônico. Essa nova molécula pode exibir reações não mostradas no estado fundamental (reações fotoquímicas) e ainda pode tomar parte em reações análogas àquelas do estado fundamental. Entre estas reações estão as reações denominadas de prototrópicas (Prototropismo significa dissociação e associação de prótons) [Parker, 1968].

Dependendo das escalas de tempo envolvidas entre o processo prototrópico no estado excitado (P) e o decaimento de fluorescência (D), e considerando-se fotoácidos,

existem três casos possíveis para o equilíbrio de protonação no estado excitado singlete.

(a) - P é muito mais lento que D;

(b) - P é muito mais rápido que D;

(c) - P é competitivo com D.

No caso a, prevalece a fluorescência, e não ocorre o processo de transferência de próton, ou seja, a espécie ácida quando excitada irá fluorescer antes de ser convertida na base conjugada. A fluorescência observada será devido à forma que estiver no estado excitado (ácida ou básica). Substâncias que se comportam desta maneira são ótimas sondas para determinar o pH, uma vez que a técnica fluorimétrica apresenta maior sensibilidade em relação à técnica espectrofotométrica. Os casos b e c podem ser explicados considerando um equilíbrio entre o ácido excitado AH^* e sua base conjugada A^{-*} ($pK_a^* << pK_a$) e ambas as espécies fluorescem. Em solução alcalina, a população do estado fundamental consiste de A^- e sob excitação luminosa observa-se o processo (12) e em meio fortemente ácido, AH será a espécie predominante e a emissão de fluorescência corresponderá ao processo (13):

$$\mathbf{A^{-*} \xrightarrow{kf''} A^- + h\nu''} \qquad \mathbf{(12)}$$

$$\mathbf{AH^* \xrightarrow{kf'} AH + h\nu'} \qquad \mathbf{(13)}$$

onde:

h é a constante de Planck,

ν'' é a freqüência de emissão de A^-,

ν' é a freqüência de emissão de AH.

Em um valor de pH intermediário ($pK_a^* + 1 < pH < pK_a - 1$) a espécie presente no estado fundamental é AH mas, sob excitação luminosa, a espécie AH^* se dissociará parcialmente aparecendo a emissão devido a espécie A^{-*}.

Se o prototropismo no estado excitado é muito mais rápido que o decaimento por fluorescência (caso b), ocorre o processo de transferência de próton no estado excitado sendo que a quantidade das espécies ácida e básica no estado excitado dependerá da magnitude das constantes envolvidas.

Se o prototropismo é competitivo com o decaimento por fluorescência (caso c) atinge-se um estado de quasi-equilíbrio, onde ocorre o processo de transferência de próton, mas o equilíbrio não é totalmente estabelecido (isto ocorrre devido a competição entre os dois processos).

1.5- Reações de Transferência de Prótons

Reações de transferência de prótons estão entre os mais comuns e importantes processos químicos que ocorrem em soluções aquosas na biosfera [Bell et al., 1973]. Tratam-se também de reações extremamente rápidas, com velocidade na ordem de 1E10 a 2E11 $M^{-1}s^{-1}$ [Gutman, et al., 1986]. Muito do que se conhece a respeito de equilíbrio químico, cinética química, efeitos isotópicos, transporte de massa em solução,

relações de energia livre e reatividade química é derivado do estudo de reações de transferência de prótons [Huppert et al., 1981].

Na química clássica de soluções aquosas, a dissociação de prótons é tratada como uma simples reação de primeira ordem. Na verdade trata-se de uma reação bastante complexa envolvendo mais de uma etapa [Huppert et al., 1982].

O esquema da transferência de próton proposto pelo autor [Huppert et al., 1981] está expresso em (14):

$$\mathbf{AH + B \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} AH.....B \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} A.....BH \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} A^- + BH^+} \quad \mathbf{(14)}$$

onde:

$\mathbf{k_1}$ e $\mathbf{k_{-1}}$ representam os processos de encontro e separação dos reagentes,

$\mathbf{k_2}$ e $\mathbf{k_{-2}}$ descrevem a transformação química e,

$\mathbf{k_3}$ e $\mathbf{k_{-3}}$ representam os processos de encontro e separação dos produtos.

Essa reação pode ser dividida em três partes: a difusão dos reagentes para o raio da atmosfera iônica; difusão acelerada até a distância de encontro e subseqüente conversão do complexo de encontro até os produtos. Em reações onde o equilíbrio é estabelecido rapidamente com o complexo de encontro, as equações de velocidade são dominadas por processos de difusão. Isso resulta na perda da informação sobre a

dinâmica do complexo de encontro. O solvente exerce papel fundamental nessa reação.

Pelo uso de fotoácidos, o processo de dissociação total após o pulso de laser, pode ser dividido em dois passos consecutivos de reação e difusão. No estágio reativo, ocorre uma rápida separação de carga e forma-se um par iônico pelo estiramento da ligação do doador de próton que é estabilizado pelo solvente. O tempo de vida desse estado transiente é muito curto, comparável com o tempo da vibração. Para uma ligação OH esse tempo é de 30 fs. Compostos com baixo valor de pK_a irão atingir o estado [RO^-.....H^+] numa freqüência alta , enquanto que aqueles com alto valor de pK_a irão atravessar muitas vibrações até que a energia de estiramento supere o limiar para formar o par iônico [Gutman et al., 1984; Pines & Huppert et al., 1986; Pines et al., 1988]. O estado [RO^-.....H^+] é muito instável, estando sujeito a uma enorme atração eletrostática. Sendo assim, não ocorre dissociação sem que haja assistência do solvente. O próton carregado positivamente interage com o dipolo das moléculas de água circunvizinhas e a camada de hidratação é formada num domínio de tempo de 20 a 50fs [Rao & Berne et al., 1981; Warshel, et al., 1982]. O próton estabilizado pode assim difundir (segundo estágio) da sua base conjugada devido a movimentos randômicos térmicos, mas essa difusão ainda dentro do raio formado pela gaiola coulômbica (ver adiante), está sujeito a forças eletrostáticas.

O processo reverso é a recombinação geminada (neutralização) dos dois íons separados, tanto por colapso direto do par iônico, ou pelo reencontro geminado dos íons “livres” solvatados, conforme (15).

Uma descrição simples e direta deste processo foi apresentada por Eigen [Eigen et al., 1964; Eigen et al., 1964]:

$$RO^- + H^+ \underset{k_{-D}}{\overset{k_D}{\rightleftharpoons}} [RO^-.....H^+] \underset{k_1}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} ROH \qquad (15)$$

onde:

R é o radical orgânico,

[RO⁻.....H⁺] é o par iônico formado entre o ânion molecular RO^- e o próton H^+,

$\mathbf{k_D}$ e $\mathbf{k_{-D}}$ são as constantes de velocidade direta e reversa, que podem ser obtidas da solução da equação de Debye-Smoluchowski (equação 16) de estado estacionário e,

$\mathbf{k_2}$ e $\mathbf{k_1}$ são as constantes de velocidade de recombinação e dissociação molecular do par iônico.

$$k = [(4\pi N R_0 \Sigma D) / 1000].[\delta / (e^{\delta} - 1)].[e^{\delta} (R_0\kappa / (1 + R_0\kappa))] \qquad (16)$$

A equação de Debye - Smoluchowski (16) fornece a constante de velocidade controlada por difusão. O primeiro termo da equação define a velocidade de colisão entre os reagentes na ausência de interações eletrostáticas. Os parâmetros que aparecem no primeiro termo são N (número de Avogadro), R_0 (distância de colisão) e ΣD (somatória dos coeficientes de difusão dos reagentes). Como o coeficiente de difusão do próton é muito maior do que qualquer outra espécie, pode-se aproximar ΣD

~ D_{H+} onde, D_{H+} = 9,3E-5 cm^2s^{-1}. Sendo assim, para um próton difundindo livremente e com R_0 ~ 6Å, a velocidade resultante do encontro entre H^+ e uma espécie não carregada é aproximadamente 4E10 $M^{-1}s^{-1}$.

Os outros termos na equação (16) levam em conta a interação eletrostática entre o H^+ e o aceptor. A intensidade de interação é expressa pelo termo δ que é a razão entre o raio da gaiola coulômbica (ou o raio de Debye, R_D) e R_0. O R_D é a distância na qual a interação tanta atrativa quanto repulsiva entre os reagentes, se iguala à energia térmica (e_0 é a carga eletrônica e k_B é a carga de Boltzmann), segundo a equação (17).

$$\mathbf{R_D = |Z_1Z_2|\ e_0^2 / \varepsilon\ k_BT} \qquad \mathbf{(17)}$$

Por definição R_D é sempre positivo. Em solução aquosa, à temperatura ambiente, $|Z_1Z_2|$ = 1 e R_D = 7 Å.

A natureza da interação eletrostática é dada pelo sinal de δ que corresponde ao produto (Z_1Z_2), e reflete se o próton dentro da distância R_D será atraído pelo ânion ou repelido pelo cátion. Interações atrativas terão um valor negativo de δ, enquanto que forças repulsivas têm um valor positivo de δ.

Uma vez que o próton (ou outra partícula carregada) penetra a gaiola coulômbica, sua difusão é dificultada pela interação eletrostática. Se a interação é atrativa ($\delta < 0$) os íons irão colidir em menos de 1 ns. Interações repulsivas ($\delta > 0$) causarão um desvio da partícula e a probabilidade de encontro irá diminuir. A relação

entre δ e a velocidade da reação é dada pelo segundo termo [δ / (e^{δ} - 1)] da equação 16.

Um potencial fortemente repulsivo, $\delta > 1$ faz reduzir a expressão muito rapidamente. Por outro lado, para potencial atrativo, a expressão se aproxima da linearidade para $\delta < -3$. Assim, um aceptor muito positivo pode efetivamente evitar a protonação, enquanto que cargas negativas não conseguem aumentar a velocidade de protonação mesmo que por um fator de 10.

O último termo na equação 16 considera o efeito da força iônica na velocidade da reação entre partículas carregadas. Ele combina δ, o comprimento de Debye (κ = 3,3 x 10^{-7} x $\mu^{½}$ cm^{-1}) e o raio de encontro (R_0) numa expressão que suprime a intensidade de interação eletrostática. Quanto maior a carga do aceptor, mais este será susceptível aos efeitos do íon em solução. Sob condições fisiológicas, um ânion carregado com uma única carga irá reagir com um próton numa velocidade de aproximadamente 2 a 4 x 10^{10} M^{-1} s^{-1}. Constantes de velocidades menores que esse valor sugerem algumas peculiaridades no sítio de ligação do próton [Gutman & Nachliel et al., 1995].

A aplicabilidade da equação 16 para o cálculo do coeficiente de difusão de um par próton-ânion foi demostrada por Pines & Huppert (1983). Esta é uma ferramenta útil para calcular o coeficiente de difusão do próton em espaços microscópicos onde outros métodos não podem ser empregados [Gutman et al., 1989].

Resumidamente, a equação de Debye-Smoluchowski (16) descreve a busca mútua entre os reagentes até que a distância entre eles seja igual ao raio de Debye (R_D). Assim que o próton penetra na superfície da esfera limitada pelo raio de Debye, também denominada gaiola coulômbica, a velocidade dos eventos é altamente

acelerada pela forte atração eletrostática. Em fração de nanosegundos, o próton se aproximará da distância de contato (R_0) e a formação da ligação covalente irá se processar. Em comparação com a busca mútua que é relativamente longa, os eventos dentro da gaiola coulômbica são ignorados.

A **Gaiola Coulômbica** é o espaço no qual a energia potencial eletrostática ao redor de um íon é maior que sua energia térmica. A aproximação de um próton até a gaiola coulômbica de um ânion é uma reação controlada por difusão e é medida em escala de microsegundos.Uma vez que o próton penetra na gaiola coulômbica, sua trajetória é dominada pelo potencial eletrostático e colisão com o ânion, que é da ordem da nanosegundos, uma escala de tempo que é comparável com o tempo de vida dos indicadores de pH fluorescentes. A avaliação das medidas de fluorescência deve considerar a dinâmica interna à gaiola coulômbica, ou seja, é importante dar ênfase à constante dielétrica, ao coeficiente de difusão e à geometria do espaço reacional. Outro termo que afeta as reações dentro da gaiola coulômbica é a geometria do espaço reacional. Quando se considera a interação próton-ânion em meio aquoso, o espaço reacional é esférico. Mas, quando a porção dissociante está inserida numa cavidade definida, a dispersão do próton não ocorre num meio simetricamente esférico. Ambos os fatores, campo elétrico local e espaço reacional não esférico são tratados quantitativamente pelo formalismo da recombinação geminada entre próton e ânion por Pines e seus colaboradores [Pines et al., 1988].

1.6- Efeito do Solvente

O solvente pode afetar a velocidade de dissociação de fotoácidos e fotobases por três efeitos independentes:

1. Velocidade de hidratação do próton.

2. Velocidade da difusão.

3. Constante dielétrica do meio.

No primeiro efeito, a água tem papel fundamental na solvatação do próton que é dissociado, e uma das características do solvente é refletida diretamente na velocidade da dissociação, que pode ser utilizada como uma ferramenta para investigar o meio onde o reagente se encontra. Embora a natureza exata da solvatação do próton em água seja controversa, reconhece-se que a solvatação do próton e sua difusão em água pura envolvem algum tipo de participação cooperativa de moléculas de água [Pines & Fleming et al., 1991]. Na representação clássica da estrutura da água [Bernal & Fowler et al., 1933] assume-se que o próton é solvatado por 4 moléculas de água formando um complexo de geometria tetraédrica. Em outras palavras, primeiro o próton se ligaria a uma única molécula de água e posteriormente os hidrogênios se ligariam as três primeiras camadas de solvatação de moléculas de água [Robinson et al., 1986; Eigen, 1964]. Utilizando a técnica de salto de pH induzido por laser e utilizando fotoácidos em várias misturas de água-álcool, os seguintes autores [Robinson et al., 1986; Huppert & Kolodney, 1981; Huppert et al, 1982] em experimentos independentes, interpretaram a diminuição das velocidades de dissociação do próton como uma

manifestação da quebra da estrutura da água causada pela diluição da água pelo solvente orgânico.

Os outros dois efeitos (velocidade de difusão do próton e constante dielétrica do meio) afetam a velocidade com a qual o próton escapa da gaiola coulômbica. A difusão dos prótons é mediada por uma troca rápida na rede de ligações de hidrogênio. Qualquer ruptura da rede encurta a distância sobre a qual o próton pode migrar. Assim, solventes orgânicos encurtam o trecho de passagem rápido e tornam o próton mais lento no seu caminho de saída da gaiola coulômbica. Por sua vez, a constante dielétrica dos solventes orgânicos expande o tamanho da gaiola coulômbica, o que também diminui a probabilidade do sucesso do escape.

A constante de velocidade da dissociação do próton é extremamente sensível ao meio. Exceto para fotoácidos muito fortes ($pK_a^* < 0$), não ocorre dissociação a menos que moléculas de água estejam na vizinhança para atuar como receptoras de prótons. Ainda, essas moléculas de água precisam estar livres para reagir com o próton na escala de tempo comparável com o tempo de vibração (30 fs). Durante esse período curto de tempo, as moléculas de água estão praticamente fixas no espaço e somente aquelas moléculas que já se encontram numa distância igual a da primeira e da segunda camada de hidratação irão participar da reação. Simulações de dinâmica molecular [Rao & Berne et al.,1981] demonstraram que o processo de hidratação total de um íon de carga positiva ocorre dentro de uma esfera de menos de 4 Å. Portanto, a cinética da dissociação do próton pode ser considerada uma técnica adequada para medir a atividade da água.