Universidade de São Paulo
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Estudo sobre o mecanismo de fotólise por radiação UV do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico e compostos análogos.

Fabio Nery de Assis

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**

RIBEIRÃO PRETO -SP

2019

RESUMO

ASSIS, Fabio Nery de. *Estudo sobre o mecanismo de fotólise por radiação UV do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico e compostos análogos*. 2019. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área: Química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Nesta Dissertação de Mestrado, buscamos estudar o mecanismo da reação de fotólise por radiação ultravioleta (UV) do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** e do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**. Foram usados como compostos modelos: o ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4),** ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)**, *orto*-nitrofenol **(*o*-NF)** e *para*-nitrofenol **(*p*-NF)**. Inicialmente, preparamos o ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** por uma rota sintética de cinco etapas. Depois, soluções aquosas 1,0 mmol L^{-1} do **DNS**, **7** e dos compostos modelos foram submetidas a fotólise por UV, durante 240 min. Periodicamente alíquotas foram recolhidas e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) com ionização em modo negativo (*Electrospray Ionization* – ESI(-)). Os resultados indicam a formação de produtos de: *(a)* hidroxilação mediada por solvente, *(b)* descarboxilação-hidroxilação, *(c)* descarboxilação e *(d)* dímeros, dependentes do tipo de substituinte e de sua posição no anel aromático. O possível mecanismo para gerar estes intermediários envolve, no início, um radical fenoxila produzido pela clivagem fotoquímica da ligação O-H da hidroxila fenólica presente em **DNS**, **7** e nos demais compostos estudados. Determinamos a entalpia da dissociação da ligação O-H da hidroxila fenólica por meio de reações isodésmicas calculadas por Teoria do Funcional de Densidade (DFT) com conjunto de base B3LYP/6-31+G(d,p). A clivagem fotoquímica da ligação hidroxila é fortemente influenciada pelo caráter doador ou captor de densidade eletrônica que o substituinte possui e por sua posição no anel aromático e gera o radical fenoxila. A análise de densidade de spin de Mulliken (ρ^s) por DFT/B3LYP/6-31+G (d,p) confirma que o elétron desemparelhado no átomo de oxigênio do radical fenoxila deslocaliza-se pelos átomos de carbono nas posições 1, 3 e 5 do anel aromático e em átomos de nitrogênio de aminas. Isto justifica a formação de produtos intermediários identificados ao longo da fotólise por UV do **DNS** e demais compostos. A influência do radical fenoxila nas reações de fotólise por UV foi comprovada por experimentos de fotólise com **5-NFt**, onde a hidroxila fenólica foi substituída por –COOH. Neste caso não houve a formação de produtos de hidroxilação mediada por solvente. O grupo -COOH é imprescindível nos compostos **DNS**, **7** e em seus análogos, pois enfraquece as ligações $C\text{-}NO_2$ facilitando que processos de hidroxilação mediada por solvente ocorram. Isto é comprovado quando comparamos os resultados da fotólise por UV de **2** e **3** com o ***p*-NF** e ***o*-NF**, respectivamente.

Palavras-chave: ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico, fotólise, radical fenoxila, mecanismo, nitro compostos, DFT/B3LYP/6-31+G(d,p).

ABSTRACT

ASSIS, Fabio Nery de. *Study on the mechanism of UV photolysis of 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoic acid and analogous compounds*. 2019. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área: Química) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

In this work, we investigated the mechanism of ultraviolet (UV) photolysis reaction of 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoic acid **(DNS)** and 5-amino-2-hydroxy-3-nitrobenzoic acid **(7)**. We also used as model compounds: 2-hydroxybenzoic acid **(1)**, 2-hydroxy-5-nitrobenzoic acid **(2)**, 2-hydroxy-3-nitrobenzoic acid **(3)**, 5-amino-2-hydroxybenzoic acid **(4)**, 5-nitrophthalic acid **(5-NFt)**, *ortho*-nitrophenol **(*o*-NF)** and *para*-nitrophenol **(*p*-NF)**. First, we prepared 5-amino-2-hydroxy-3-nitrobenzoic acid (7) by a five-step synthetic route. Later, aqueous solutions 1.0 mmol L^{-1} of **DNS**, **7** and the model compounds were subjected to UV photolysis for 240 min. Periodically, aliquots were collected and analyzed by High Performance Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (HPLC-MS) with Electrospray Ionization in negative mode (ESI(-)). The results show the formation of products of: *(a)* solvent mediated hydroxylation, *(b)* decarboxylation-hydroxylation, *(c)* decarboxylation and *(d)* dimers, dependent on the type of substituent and its position in the aromatic ring. The possible mechanism for generating these intermediaries involves, at beginning, a phenoxyl radical produced by the photochemical cleavage of the phenolic O-H bond present in the **DNS**, **7** and in other studied compounds. We calculated the enthalpy of dissociation of the phenolic O-H bond through isodesmic reactions applying the Density Functional Theory (DFT) with B3LYP/base set 6-31+G(d,p). The electron donor or withdrawing characters of the substituents and their location in the aromatic ring strongly influence the hydroxyl bond photochemical cleavage for producing the phenoxyl radical. Mulliken spin density analysis (ρ^s) by DFT/B3LYP/6-31+G(d,p) validates that the unpaired electron of the phenoxyl radical´s oxygen relocates to carbon atoms at positions 1, 3 and 5 of the aromatic ring and to nitrogen atoms of amines. This justifies the formation of intermediary products identified during the UV photolysis of DNS and analogous compounds. The role of the phenoxyl radical on UV photolysis reactions was proven by photolysis experiments with **5-NFt**, where the phenolic hydroxyl was replaced by –COOH. In this case, there was no formation of hydroxylation products mediated by solvent. The presence of the -COOH group in **DNS**, **7** and others models compounds is crucial, since it weakens the C-NO_2 bonds, favoring the formation of solvent-mediated hydroxylation products. This is supported by the results from the UV photolysis of **2** and **3** compared to the ***p*-NF** and ***o*-NF**, respectively.

Keywords: 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoic acid, photolysis, phenoxyl radicals, mechanism, nitro compounds, DTF/B3LYP/6-31+G(d,p).

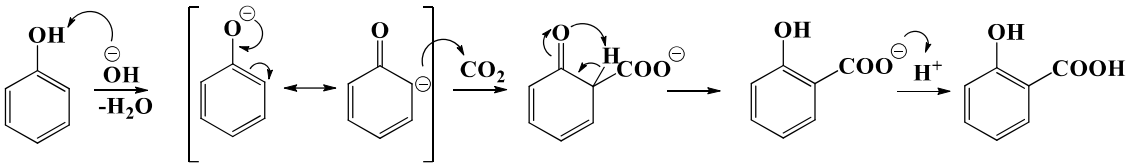
Capítulo 1: Introdução e objetivos

1.1 Introdução

1.1.1. Ácido 2-hidroxibenzoico e seus derivados – histórico, aplicações e os problemas ambientais associados.

O ácido 2-hidroxibenzoico, usualmente chamado de ácido salicílico, é o fármaco mais consumido no mundo (MADAN & LEVITT, 2014). Seu uso como analgésico e antipirético é relatado desde a antiguidade na Grécia e Roma Antigas por médicos da época como Hipócrates, Galeno e Plínio, o Velho (MINER & HOFFHINES, 2007). Os relatos na antiguidade ainda se espalham pela China, Egito, Suméria, Assíria e por tribos indígenas presentes na América do Norte no período anterior a colonização inglesa (MINER & HOFFHINES, 2007). Em todas estas civilizações, a principal fonte do ácido 2-hidroxibenzoico era um extrato ativo obtido de cascas do tronco da árvore salgueiro branco (*Salix Alba*), chamado salicina (HAYAT *et al.,* 2010).

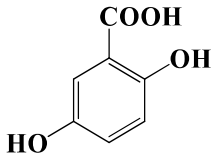
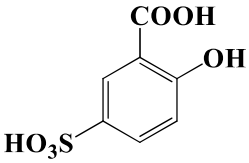
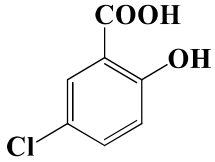
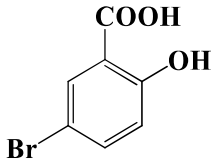
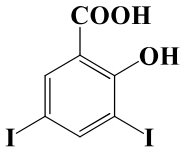
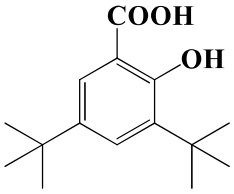
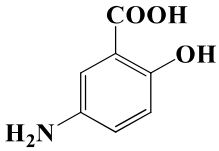
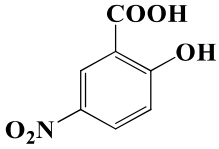
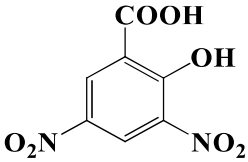
Em 1828, Buchner realizou a extração do ácido 2-hidroxibenzoico do extrato salicina (MINER & HOFFHINES, 2007). No ano de 1860, Kolbe, e em 1885, Schmitt independentemente, desenvolveram a síntese do ácido 2-hidroxibenzoico reagindo fenolatos com gás carbônico em altas pressões **(Esquema 1.1)**. Este método é utilizado até os dias de hoje para sintetizar em escala industrial os mais diversos derivados de ácido 2-hidroxibenzoico (LINDSEY & JESKEY, 1957; LÜ *et al.*, 2011).



Esquema 1.1 – Mecanismo da reação de carboxilação de Kolbe-Schmitt para o preparo do ácido 2-hidroxibenzoico utilizando fenolatos.

Com a síntese do ácido 2-hidroxibenzoico e sua posterior comercialização, diversos derivados funcionalizados passaram a ser produzidos para várias aplicações, tais como, desenvolvimento de fármacos, indústria de corantes e dispositivos tecnológicos (EKINCI, ŞENTÜRK & KÜFREVIOĞLU, 2011). A **Tabela 1.1** mostra alguns derivados do ácido 2-hidroxibenzoico e suas respectivas aplicações.

Tabela 1.1 – Aplicações dos principais derivados do ácido 2-hidroxibenzoico.

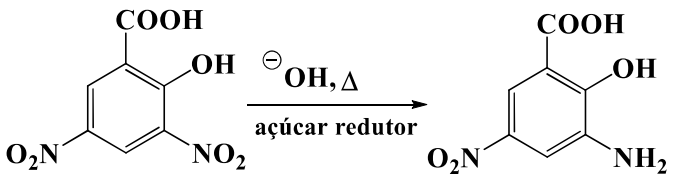
Nome do composto	Estrutura	Aplicação
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico		Fármaco, atua no combate contra artrite reumática e gota (PAUL, SAMANTA & GUCHHAIT, 2010).
Ácido 2-hidroxi-5-sulfobenzoico		Reagente utilizado na quantificação de proteínas em urina (RAPPAPORT & KONFORTI, 1959)
Ácido 5-cloro-2-hidroxibenzoico		Fungicida, utilizado em diversas plantas (JAMPILEK, 2016).
Ácido 5-bromo-2-hidroxibenzoico		Fungicida, utilizado em diversas plantas (TRIPATHY *et al.*, 1973)
Ácido 2-hidroxi-3,5-diiodobenzoico		Utilizado na avaliação metabólica da absorção de iodo em ratos (ASCHBACHER & FEIL, 1968)
Ácido2-hidroxi-3,5-di-*terc*-butilbenzoico		Propriedades tribo elétricas (LAW & SHOHAM, 1995)
Ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico		Fármaco, atua como anti-inflamatório intestinal (WEINTRAUB & EVANS, 1987) e como corantes
Ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico		Utilizado em estudos de espectroscopia vibracional (KARTHICK *et al.*, 2011)
Ácido 2-hidroxi-3,5-nitrobenzoico		Reagente para quantificação de açúcares redutores presentes em biomassas hidrolisáveis (WOOD *et al.*, 2012).

O ácido 2-hidroxibenzoico e seus derivados apresentam perfil de especiação e acúmulo variados nos diversos ambientes aquáticos. Por exemplo, o ácido 2-hidroxi-5-sulfobenzoico é encontrado livre em solução estabelecendo equilíbrios iônicos, enquanto outros estão presentes associados em forma de substâncias húmicas (CORIN, BACKLUND & KULOVAARA, 1996). Já o ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico pode formar compostos de coordenação com íons metálicos presentes na água como Fe^{3+} e Al^{3+} (MERCÉ *et al.*, 1997).

Os derivados nitrados do ácido 2-hidroxibenzoico são importantes reagentes para a síntese orgânica, pois são precursores para a obtenção de aminas, amidas e outros grupos funcionais nitrogenados de moléculas destinadas a indústria de fármacos, explosivos, polímeros e corantes (POURETEDAL & KESHAVARZ, 2015). No entanto, nitrocompostos são considerados contaminantes de águas naturais. Sua identificação em água doce e em ambientes habitados por peixes no Japão e nos Estados Unidos da América é relatada desde início da década de 80 nos trabalhos de YAMAGISHI *et al.* 1981 e 1983 e de YURAWECZ & PUMA 1983. Em ratos, altas concentrações de nitrocompostos geram toxicidade hepática, renal e esplênica (NARIMANTAS *et al.*, 2001; RATHI, MEENAKSHI & GOPALAKRISHNAN, 2015). Em seres humanos, a intoxicação por nitrocompostos provoca sensibilização cutânea, imunotoxicidade e metahemoglobinemia (KATRITZKY *et al.*, 2003). Portanto, apesar da relevância de suas aplicações e usos, esses compostos não podem ser descartados aleatoriamente, como o é o caso do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS).

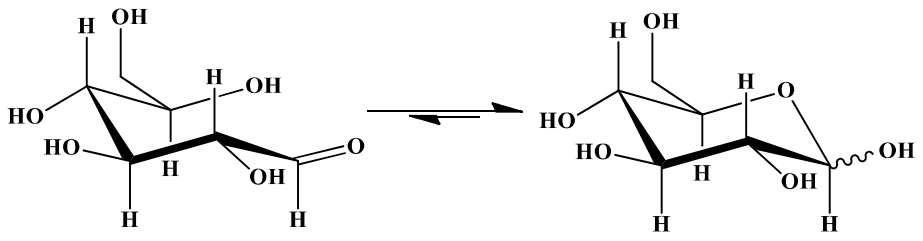
1.1.2. Ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS)

Em 1921, Sumner em colaboração com Graham (SUMNER & GRAHAM, 1921) fez o primeiro relato que o ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS) **(Esquema 1.2)** poderia ser usado para estimar a concentração de açúcar no sangue e na urina de pessoas normais e diabéticas. Desde então, SUMNER e NOBACK (1924) e diversos outros pesquisadores adaptaram e melhoraram este método, quer seja para estimar a concentração de outros tipos de açúcares (BELL, MANNERS & PALMER, 1952), para ser usado em outros solventes (SMITH & CHENG, 1978), ou determinar produtos de reações enzimáticas (BAILEY, 1988).



Esquema 1.2 - Reação do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS) com um açúcar redutor, produzindo o ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico.

O método faz uso da existência de um equilíbrio entre as estruturas químicas cíclica (hemiacetal) e cadeia aberta que os açúcares monoméricos apresentam em soluções aquosas **(Esquema 1.3)** (HARPER, RODWELL & MAYES, 1982; CONSTANTINO, 2008). Os açúcares em cadeia aberta apresentam o grupo funcional aldeído que pode reduzir um dos grupos nitro da molécula do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico ao grupo amino **(Esquema 1.2)**, produzindo o ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico.



Esquema 1.3 – Equilíbrio químico entre a forma acíclica da *D*-glicose e hemiacetal.

O método que aplica o DNS para determinação de açúcares redutores, apesar de não ser específico para um determinado tipo de açúcar, é fácil, de baixo custo efetivo comparado com experimentos que podem ser feitos via cromatografia gasosa ou cromatografia líquida de alto desempenho. Entretanto, apesar da praticidade deste método, o DNS não pode ser descartado diretamente no esgoto. Segundo a Ficha de Informações de Segurança de Produtos da Sigma-Aldrich,[1] o DNS apresenta toxicidade aguda, oral (categoria 4). DL_{50} oral – ratazana (Dose letal para matar 50% da população em teste, no caso ratazana, via oral) de 860 $mg.kg^{-1}$. É nocivo por ingestão, provoca irritação cutânea (categoria 2) e pode provocar irritação das vias respiratórias (categoria 3).

No Departamento de Química – FFCLRP – USP, disciplinas da área de Bioquímica utilizam o método do DNS para determinação de açúcares redutores. Laboratórios de pesquisa, também, empregam rotineiramente este método em seus ensaios. Gera-se, por semestre, cerca de 20 L de resíduo que, atualmente, estão armazenados para um tratamento posterior, como incineração. Uma maneira de minimizar o impacto ambiental de resíduos altamente tóxicos é fazer o seu tratamento por Processos Oxidativos Avançados.

[1] http://www.sigmaaldrich.com – acessado em 10/02/2019.

1.1.3. Processos Oxidativos Avançados.

Os Processos Oxidativos Avançados são excelentes alternativas aos métodos tradicionais de remediação de poluentes do solo e da água, tais como: pesticidas, inseticidas, fenóis, hidrocarbonetos entre outras moléculas orgânicas e metais pesados (chumbo, cádmio, crômio, mercúrio etc.) (IBRAHIM *et al.*, 2016). Quando a poluição atinge o nível subterrâneo, nos lençóis freáticos, a contaminação pode se espalhar por grandes áreas e a recuperação se torna mais difícil. Estes compostos são tóxicos, recalcitrantes e possuem a capacidade de permanecer no meio ambiente por muito tempo em concentrações de ppm e ppb. De uma forma geral, esses poluentes ou seus derivados têm o potencial para contaminar os seres humanos por meio de inalação, ingestão ou absorção, tornando-se responsáveis por diversas doenças crônicas e câncer (SHERTZER *et al.*, 2004).

Os POA (Processos Oxidativos Avançados) têm sido investigados ao longo das últimas décadas e apresentam os melhores resultados quando comparamos eficiência, custo e benefício (PATEL *et al.*, 2019). Estes processos baseiam-se na geração de espécies altamente reativas, principalmente o radical hidroxila ($^{\bullet}OH$), que tem potencial de redução (MOUSSET *et al.*, 2016) de 2,8 V e reage rapidamente e não seletivamente com diversos tipos de poluentes orgânicos (SERNA-GALVIS *et al.*, 2016).

O radical $HO^{\bullet}$ reage com moléculas orgânicas basicamente por três mecanismos ao longo do processo de mineralização de substrato: abstração de hidrogênio, adição eletrofílica e transferência de elétrons.

Abstração de hidrogênio

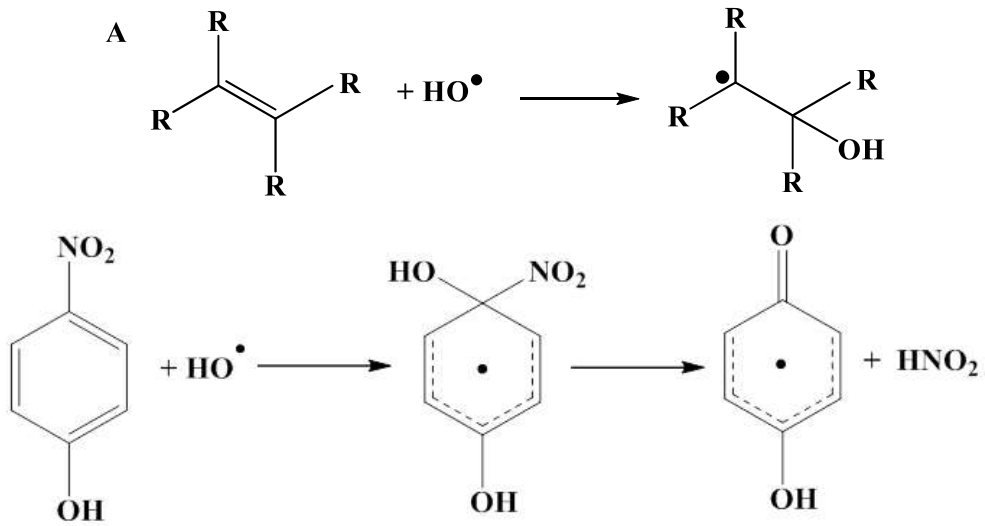
Este mecanismo ocorre com maior frequência em hidrocarbonetos alifáticos, onde os radicais hidroxila abstraem um hidrogênio dando origem aos radicais orgânicos (LEGRINI, OLIVEROS & BRAUN, 1993) **(Equação 1.1)**. Estes, por meio de reações cadeia, levam a conversão da matéria orgânica à CO_2, H_2O e ânions inorgânicos.

$$HR + HO^{\bullet} \longrightarrow R^{\bullet} + H_2O \qquad \textbf{Equação 1.1}$$

Observa-se que em álcoois a abstração de hidrogênio ocorre facilmente no H em posição α à hidroxila (DIXON & NORMAN, 1963). Entretanto, verifica-se que na presença de grupos captores de elétrons como –COOH e $-NO_2$ a abstração ocorre com maior dificuldade (MACHULEK, 2007).

Adição eletrofílica

O mecanismo responsável pela adição do radical HO• a ligações π em moléculas insaturadas ou que sejam aromáticas **(Esquema 1.4)** é a adição eletrofílica.



Esquema 1.4 – Produtos da adição eletrofílica de radicais hidroxila a ligações π.

Dada a natureza polar do radical, a posição onde a adição ocorre depende do caráter de receptor ou doador de elétrons dos substituintes (MACHULEK, 2007).

Transferência de elétrons

Este mecanismo é responsável pela redução do radical HO• para ânion hidróxido **(Equação 1.2)**. Ocorre quando a abstração de hidrogênio e a adição eletrofílica são desfavorecidas pela presença de substituintes halogenados ou por impedimento estérico devido a substituintes volumosos (LEGRINI, OLIVEROS & BRAUN, 1993).

$$HO^{\bullet} + RX \longrightarrow RX^{\bullet +} + HO^{-} \qquad \textbf{Equação 1.2}$$

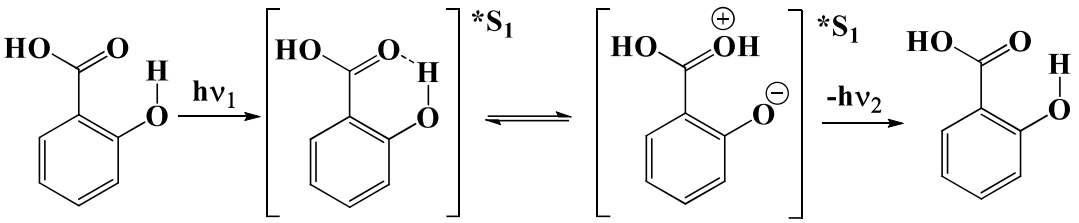
Pela ação do radical •OH, os POA são capazes de transformar completamente os poluentes orgânicos em ânions inorgânicos, gás carbônico e água, a chamada mineralização dos substratos orgânicos (NOGUEIRA *et al.*, 2004). Em outras palavras, nos casos mais favoráveis os POA degradam efetivamente os poluentes e não somente os removem de uma fase para outra (NOGUEIRA *et al.*, 2004). Um exemplo de POA é a fotólise do peróxido de hidrogênio por luz UV para degradar os corantes *Acid Black* 24 e *Reactive Red* 120 (COLLIVIGNARELLI *et al.*, 2019) e nitrofenóis (ácido pícrico e *para*-nitrofenol) (XIONG *et al.*, 2019).

Note que é interessante o tratamento por POA do ácido 3,5-dinitrosalicílico, como realizar sua fotólise por luz UV. Como há a interação do composto químico com a radiação, o próximo item descreve o histórico da fotofísica e fotoquímica do ácido salicílico e seus derivados.

1.1.4. Fotofísica e fotoquímica do ácido 2-hidroxibenzoico e seus derivados.

O primeiro estudo sobre a espectroscopia de emissão de fluorescência do ácido 2-hidroxibenzoico foi realizado por WELLER (1955) e WELLER (1956). Este composto e seus derivados possuem a capacidade de formar uma ligação de hidrogênio intramolecular entre a carbonila do grupo ácido carboxílico e a hidroxila fenólica (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005). No estado excitado, a basicidade da carbonila do ácido carboxílico e a acidez do fenol aumentam com relação ao estado fundamental. Assim, o próton da hidroxila fenólica pode migrar facilmente para o oxigênio da carbonila (ROATGI-MUKHERJEE, 1978) em um processo de Transferência de Próton no Estado Excitado (*excited-state intramolecular proton transfer* – ESIPT). A acidez ou basicidade destes estados excitados (pKa^*) são determinados por meio de um ciclo termodinâmico, denominado ciclo de Foster, que correlaciona os deslocamentos de Stokes entre um ácido e sua base conjugada (MULDER, 2003).

Portanto, após a absorção de um fóton com frequência ν_1 por uma fração das moléculas de ácido 2-hidroxibenzoico, há uma transição eletrônica entre o estado fundamental S_0 para níveis mais energéticos, como o primeiro estado excitado singlete S_1 e os de maiores energia, S_n. Para simplificação, no **Esquema 1.5**, mostramos somente a transferência de próton intramolecular ocorrendo no estado excitado S_1. Em seguida, ocorre a emissão de um fóton, ν_2, (sendo $\nu_2 < \nu_1$) acompanhado da desprotonação da carbonila retornando o ácido 2-hidroxibenzoico ao estado fundamental (S_0).



Esquema 1.5 – Mecanismo de transferência de próton no estado excitado para o ácido 2-hidroxibenzoico

A transferência de próton no estado excitado (ESIPT) tem sido relatada tanto para o ácido 2-hidroxibenzoico (JOSHI, MISHRA & TRIPATHI, 1997) como seus derivados: ácido 2-hidroxi-5-sulfobenzoico (POZDNYAKOV *et al.*, 2004), ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico

(POZDNYAKOV *et al.*, 2009), ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico (ARORA *et al.,* 2012), ácido 4-amino-2-hidroxibenzoico (SUYAL *et al.*, 2010), ácido 2-hidroxi-3,5-*terc*-butil-benzoico (LAW & SHOHAM, 1995), ácido 4-cloro-2-hidroxibenzoico (PAUL & GUCHHAIT, 2012), ácido 5-cloro-2-hidroxibenzoico, ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzoico, ácido 3,5,6-tricloro-2-hidroxibenzoico (PAUL, SAMANTA & GUCHHAIT, 2010), ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido 2-hidroxi-5-metil-benzoico e ácido 2-hidroxi-5-metoxibenzoico (LÜDEMANN, HILLENKAMP & REDMOND, 2012).

Os derivados do ácido 2-hidroxibenzoico que possuem grupos substituintes haletos (por exemplo: -Cl), ácido sulfônico ($-SO_3H$) e nitro ($-NO_2$) são pouco fluorescentes (VALEUR & BERBERAN-SANTOS, 2012) ou não exibem fluorescência como o ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (KUMAR, LEE & KIM, 2016).

O baixo rendimento quântico de emissão de fluorescência (ϕ_{fluo}) apresentado por estes derivados do ácido 2-hidroxibenzoico é devido ao cruzamento intersistemas (CIS). A diferença de energia entre estados excitados singleto (S_1) e tripleto (T_n) é pequena o suficiente, para permitir uma combinação entre os níveis vibracionais destes estados. Isto possibilita que um elétron sofra uma inversão de spin entre estes estados excitados de diferentes multiplicidades (TURRO, RAMAMURTHY & SCAIANO, 2009).

O ácido 2-hidroxibenzoico e seus derivados no estado tripleto podem desencadear uma série de fenômenos fotofísicos como: absorção tripleto-tripleto (T-T), fosforescência, fluorescência tardia, decaimento não radiativo e formação de espécies radicalares.

A **Figura 1.1** mostra uma representação adaptada do diagrama de Jablonski, onde se observam os níveis de energia do estado fundamental e dos estados excitados singlete e triplete. Notam-se ainda os processos fotofísicos e fotoquímicos associados à cada estado energético, como ocorre na formação de transientes radicalares por processos fotoquímicos.

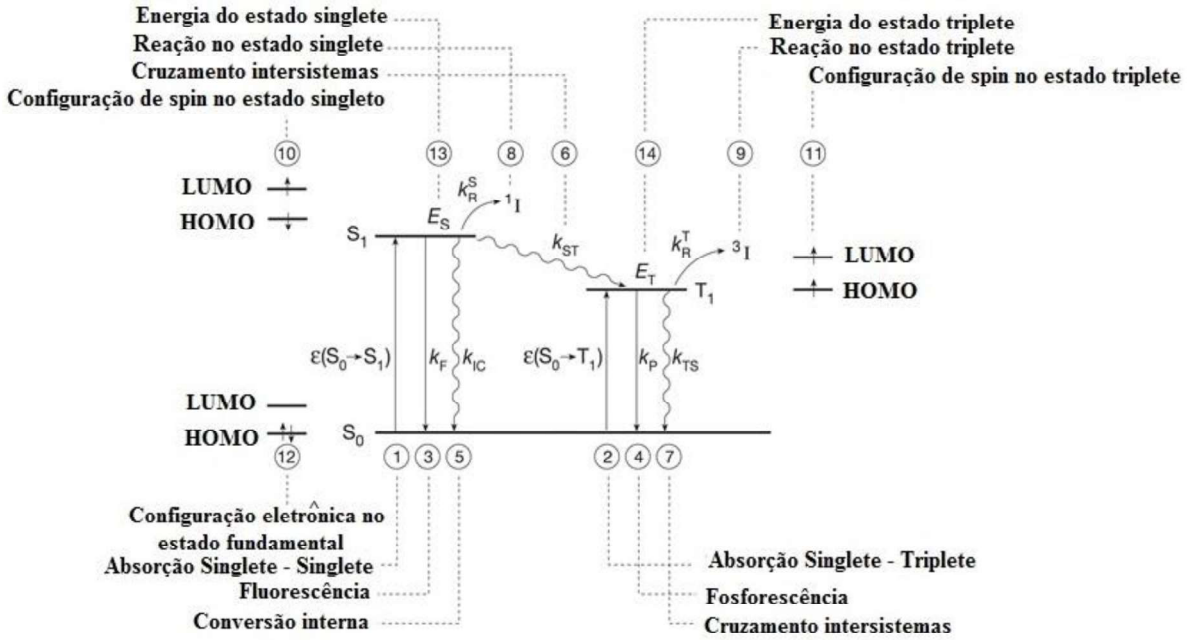


Figura 1.1 - Diagrama de Jablonski adaptado de TURRO,1978.

Os radicais são importantes nos processos de fotodegradação de compostos orgânicos, pois podem ser precursores de espécies reativas de oxigênio como os radicais fenoxila. Em um trabalho publicado por ESSAWY & ABDEL-MOTTALEB (2003) o radical fenoxila derivado do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS) foi obtido da fotossensibilização do íon uranila (UO_2^{2+}) e foi responsável pela degradação do excesso de DNS presente no meio reacional. Esse trabalho não fornece nenhum comentário sobre os possíveis intermediários gerados neste processo de fotodegradação do DNS. Contudo, a determinação destas espécies é necessária.

1.1.5. Monitoramento de intermediários formados ao longo da fotodegradação e proposição de mecanismos de fotodegradação.

Uma das premissas fundamentais em métodos de fotodegradação de poluentes deve ser que durante este processo, não ocorra a geração de intermediários cuja toxicidade seja maior que a do composto inicial. Por exemplo, o corante *N*-Etil-*N*-(2-hidroxietil)-4-(4-nitrofenilazo)anilina (*Disperse Red 1*) ao longo de sua fotodegradação gera um intermediário radicalar responsável por efeitos genotóxicos e mutagênicos em camundongos (CHEQUER *et al.*, 2011). Neste contexto, identificar e caracterizar os intermediários que se formam ao longo do processo de fotodegradação é de grande importância (HISAINDEE, MEETANI & RAUF, 2013).

As principais técnicas utilizadas para obtenção das informações acerca dos intermediários de fotodegradação são resumidas a seguir:

Métodos espectroscópicos

As espectroscopias de absorção luz ultravioleta/visível (UV/Vis) e/ou emissão de fluorescência são técnicas amplamente empregadas no monitoramento de processos de fotodegradação de intermediários formados. Mas, em geral, fornecem pouca informação sobre aspectos estruturais dos intermediários sendo assim pouco úteis na caracterização (RAUF *et al.*, 2010).

Métodos eletroanalíticos

A condutimetria ou a potenciometria podem ser utilizadas na identificação e caracterização de intermediários de fotodegradação, especialmente nas etapas finais dos processos fotodegradação, quando se encontram ácidos carboxílicos de baixa massa molecular resistentes a fotodegradação e ânions (como íons nitrato e sulfato) oriundos de heteroátomos presentes nas moléculas iniciais. Neste caso, a caracterização é realizada mediante o uso de padrões analíticos (GU, SONG & ZHU, 2011).

Métodos cromatográficos

A identificação de intermediários de fotodegradação pode ser realizada pelos mais diversos tipos de cromatografia (gasosa, líquida ou iônica). A escolha depende das características do composto inicial como polaridade, acidez, solubilidade entre outras (HISAINDEE, MEETANI & RAUF, 2013). Com o advento de técnicas acopladas o uso de cromatografias gasosa e líquida acopladas à espectrometria de massas tornou-se amplamente popular na identificação e caracterização de intermediários de fotodegradação (ZHU *et al.*, 2012; HISAINDEE, MEETANI & RAUF, 2013).

Nesta Dissertação de Mestrado, deseja-se detalhar o mecanismo de fotodegradação do ácido 3,5-dinitro-salicílico (DNS). Durante a Iniciação Científica, verificou-se que um método bastante adequado para a remediação do DNS e dos resíduos gerados pelo método de quantificação de açúcares empregando esta substância é a fotólise por radiação UV. Observou-se por espectros de absorção UV/visível que o DNS decompunha-se durante a fotólise. Porém, torna-se importante determinar quais são os intermediários formados, se são mais tóxicos ou não do que o composto inicial. Este foi o objeto de estudo desta Dissertação.

Capítulo 4: Considerações finais

O desenvolvimento deste projeto iniciou-se durante a Iniciação Científica, quando nos propusemos encontrar uma solução para o problema do montante de resíduo passivo armazenado no Departamento de Química da FFCLRP/USP relativo à quantificação de açúcares redutores empregando o método do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (**DNS**). Neste resíduo encontram-se: o **DNS** não reagido, íons tartarato, ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico e açúcares oxidados. Na época, fomos capazes de degradar 80% de resíduo, adicionando-se peróxido de hidrogênio, após 4 h de radiação UV. Durante estes estudos, detectamos a formação de um intermediário com maior massa molecular e maior intensidade de absorção da luz UV/visível do que o próprio **DNS**. Portanto, partimos para compreender como a fotodegradação ocorre para cada um dos constituintes do resíduo separadamente, tornando-se mais simples realizar estudos de fotólise por radiação UV. A fotólise por UV do peróxido de hidrogênio gera, além do radical hidroxila ($HO^{\bullet}$), espécies transientes altamente reativas que dificultam as possíveis análises e identificações dos intermediários gerado ao longo da reação.

Nesta Dissertação de Mestrado, expandimos o estudo da fotólise por radiação UV para compostos modelos que foram úteis para determinar o mecanismo de fotodegradação do **DNS** e do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**. Os padrões foram o ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)**, *orto*-nitrofenol **(*o*-NF)** e *para*-nitrofenol **(*p*-NF)**.

Para realização deste estudo, inicialmente, preparamos o ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** por uma rota sintética de cinco etapas. Por este caminho, obtivemos os ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**. Posteriormente, soluções aquosas 1,0 $mmol.L^{-1}$ do **DNS**, **7** e dos compostos modelos foram submetidas a fotólise por UV, durante 240 min. Periodicamente alíquotas foram recolhidas e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) com ionização em modo negativo (*Eletrospray Ionization* – ESI(-)). Observamos que há a formação de um radical fenoxila, no início da reação de fotodegradação para todos os compostos analisados. Na sequência, formam-se intermediários dependentes do tipo de substituinte e de sua posição no anel aromático. Podemos dividi-los em produtos de: (a) hidroxilação mediada por solvente, (b) descarboxilação-hidroxilação, (c) descarboxilação e (d) dímeros.

Por meio de cálculos teóricos aplicando a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) e conjunto de bases B3LYP/ 6-31+G (d,p), avaliamos a entalpia de dissociação da ligação hidroxila fenólica (BDE - *Bond Dissociation Enthalpy)* obtida usando reações isodésmicas para todos os compostos estudados neste trabalho (os sintetizados, os submetidos às reações de fotólise por UV e alguns padrões como o ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)** e o 3,5-dinitrobenzoato de metila **(MDNS)**. É importante ressaltar que todas as substâncias aqui analisadas possuíam o grupo ácido carboxílico/carboxilato em *orto* a hidroxila fenólica. Ainda assim, esta última ligação, a O-H fenólica, é significativamente influenciada pelo caráter doador ou sacador de densidade eletrônica que o substituinte possui e de sua posição no anel aromático. A análise de densidade de spin de Mulliken (ρ^s) por cálculos computacionais DFT nível B3LYP/6-31+G(d,p) confirma que o elétron desemparelhado no átomo de oxigênio do radical fenoxila deslocaliza-se pelos átomos de carbono nas posições 1, 3 e 5 do anel aromático e em átomos de nitrogênio de aminas. Isto justifica a formação de produtos intermediários identificados ao longo da fotólise por UV do **DNS** e de compostos análogos.

Analisamos, também, a influência que a função ácido carboxílico/carboxilato (-COOH/COO^-) possui nas reações de fotólise por UV para o ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** em comparação com o *para*-nitrofenol **(*o*-NF)** e *orto*-nitrofenol **(*p*-NF)**, respectivamente. Verificamos que a formação de produtos de hidroxilação mediada por solvente que envolvem a eliminação de -HNO_2 não ocorre na fotólise por UV do ***p*-NF** e ***o*-NF**. As análises por cálculos computacionais DFT nível B3LYP/6-31+G(d,p) mostram que o comprimento de ligação C-NO_2 nos radicais fenoxila originados do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** são mais fracas que nos radicais fenoxila originados a partir do ***p*-NF** e ***o*-NF**. Como as reações de hidroxilação mediada por solvente envolvem uma eliminação de -HNO_2, os intermediários radicais com ligação C-NO_2 mais fracas se tornam mais susceptíveis a formação de produtos de hidroxilação mediada por solvente.

Experimentos de fotólise por UV comparando o ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)** com ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** indicam que na primeira substância, há somente produtos de descarboxilação; enquanto no segundo, formam-se produtos de hidroxilação mediados por solvente. Sendo assim, o mecanismo inicial das reações de fotólise por UV do **DNS** e seus análogos ocorre por meio de um intermediário do tipo radical fenoxila.

6. Referências bibliográficas

- Aldred, E. M. *Pharmacology: A Handbook for Complementary Healthcare Professionals*; Elsevier: Londres, **2009**.
- Alif, A.; Boule, P.; Lemaire, J. Photochemistry and environment .12. phototransformation of 3-nitrophenol in aqueous-solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology: Chemistry*. **1990**, *50*(3), 331–342.
- Andreozzi, R.; Canterino, M.; Caprio, V.; Di Somma, I.; Sanchirico, R. Batch Salicylic Acid Nitration by Nitric Acid/acetic Acid Mixture under Isothermal, Isoperibolic and Adiabatic Conditions. *Journal of Hazardous Materials.* **2006a,** *138* (3), 452–458.
- Andreozzi, R.; Caprio, V.; Di Somma, I.; Sanchirico, R. Kinetic and Safety Assessment for Salicylic Acid Nitration by Nitric Acid/acetic Acid System. *Journal of Hazardous Materials*. **2006b,** *134(1-3)*, 1–7.
- Arora, P.; Suyal, K.; Joshi, N. K.; Joshi, H. C.; Pant, S. Fluorescence characteristics of 5-amino salicylic acid: An iodide recognition study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* **2012**. *94,* 119-125
- Aschbacher, P. W.; Feil, V. J. Metabolism of 3,5-Diiodosalicylic Acid in Cattle and Rats. *Journal of Dairy Science.* **1968**, *51* (5), 762–766.
- Aschi, M.; Cacace, F.; De Petris, G.; Pepi, F. Gas-Phase Proton Affinity of Nitric Acid and Its Esters. A Mass Spectrometric and Ab Initio Study on the Existence and the Relative Stability of Two Isomers of Protonated Ethyl Nitrate. *The Journal of Physical Chemistry,* **1996**, *100* (41), 16522–16529.
- Atkins, P.; De Paula, J.; Keeler, J. *Atkins' Physical Chemistry*, Oxford University Press: Oxford, **2018**.
- Bailey, M. J. A note on the use of dinitrosalicylic acid for determining the products of enzymatic reactions. *Applied Microbiology and Biotechnology* **1988,** *29* (5), 494.
- Becke, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, **1988**, *38*(6), 3098-3100.
- Becke, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics.* **1993**, *98*(7), 5648–5652.
- Bell, D. J.; Manners, D. J.; Palmer, A. Observations on the reduction of alkaline 3-5-dinitrosalicylate by certain carbohydrates. *Journal of the Chemical Society* **1952**, 3760.
- Benson, S. W. III - Bond energies. *Journal of Chemical Education.* **1965**, *42*(9), 502.

- Beynon, J. H.; Bertrand, M.; Cooks, R. G. Metastable loss of nitrosyl radical from aromatic nitro compounds. *Journal of the American Chemical Society.* **1973**, *95*(6), 1739–1745.
- Blanksby, S. J.; Ellison, G. B. Bond Dissociation Energies of Organic Molecules. *Accounts of Chemical Research.* **2003**, *36*(4), 255–263.
- Borges, R. S.; Castle, S. L. The Antioxidant Properties of Salicylate Derivatives: A Possible New Mechanism of Anti-Inflammatory Activity. *Bioorganic Medical. Chemistry. Letters.* **2015**, *25* (21), 4808–4811.
- Braslavsky, S. E., Kuhn, H. J. and Schmidt, R. Chemical actinometry (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. *76* (12). **2004**,
- Brinck, T.; Haeberlein, M.; Jonsson, M. A computational analysis of substituent effects on the O− H bond dissociation energy in phenols: polar versus radical effects. *Journal of the American Chemical Society.***1997**, *119*(18), 4239–4244.
- Carroll, F. A. *Perspectives on Structure and Mechanism in Organic Chemistry*, Wiley: New Jersey, **2011**.
- Chequer, F. M. D.; Lizier, T. M.; de Felício, R.; Zanoni, M. V. B.; Debonsi, H. M.; Lopes, N. P.; Marcos, R.; de Oliveira, D. P. Analyses of the genotoxic and mutagenic potential of the products formed after the biotransformation of the azo dye Disperse Red 1. *Toxicology in Vitro.* **2011**, *25* (8), 2054–2063.
- Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Organic Chemistry*. OUP Oxford: Oxford, **2012**; 558-559.
- Collivignarelli, M. C.; Abbà, A.; Carnevale Miino, M.; Damiani, S. Treatments for color removal from wastewater: State of the art. *Journal of Environmental Management* **2019**, *236*, 727-745.
- Constantino, M. G. *Química Orgânica - Curso Básico Universitário*; LTC: Rio de Janeiro, **2008**.
- Corin, N.; Backlund, P.; Kulovaara, M. Degradation products formed during UV-irradiation of humic waters. *Chemosphere* **1996**, *33* (2), 245–255.
- Darwent, B. B. *Bond Dissociation Energies in Simple Molecules*; Bond dissociation energies in simple molecules, U.S. National Bureau of Standards: Washington, **1970**.
- De Petris, G. Mass Spectrometric Evidence for the Existence of Two Isomers of Protonated Methyl Nitrate. *Organic Mass Spectrometry.* **1990**, *25* (1), 83–86.
- Denisov, E; Denisova, T.; Dissociation Energies of O−H Bonds of Phenols and Hydroperoxides. In: *Applications of thermodynamics of biological and materials science*. Eds: Tadashi, M. InTech: Shangai, **2011**.

- Dixon, W. T.; Norman, R. O. C. Electron spin resonance studies of oxidations. Part 1 Alcohols. *Journal of the Chemical Society* **1963**, 3119-3124.
- Ekinci, D.; Şentürk, M.; Küfrevioğlu, Ö. İ. Salicylic acid derivatives: synthesis, features and usage as therapeutic tools. *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* **2011**, *21* (12), 1831–1841.
- Engel, P. S.; Steel, C. Photochemistry of aliphatic azo compounds in solution. *Accounts of Chemical Research.* **1973**, *6*(8), 275–281.
- Epling, G. A.; Lopes, A. Fragmentation pathways in the photolysis of phenylacetic acid. *Journal of the American Chemical Society.* **1977**, *99*(8), 2700–2704.
- Eriksson, A.; Nyholm, L. Coulometric and spectroscopic investigations of the oxidation and reduction of some azosalicylic acids at glassy carbon electrodes. *Electrochimica Acta* **2001**. *46*(8), 1113-1129.
- Essawy, A. A. I.; Abdel-Mottaleb, M. S. A. Photosensitized degradation of dinitrosalicylic acid by uranyl ions. *International Journal of Photoenergy.* **2003**, *5* (4), 219–221.
- Fleming, I. *Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions, Student Edition*, Wiley: New Jersey, **2009**.
- Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; and Pople, J. A. Gaussian 03, Revision C.02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2004**.
- Gillespie, T. A.; Urogdi, L.; Katritzky, A. R.; Yost, R. A. Studies of phthalic acid and related compounds by positive- and negative-ion chemical ionization tandem mass spectrometry (± CI/MS/MS). *Organic Mass Spectrometry*. **1989**. *24*, 817-822.

- Gu, L.; Song, F.-Y.; Zhu, N.-W. An innovative electrochemical degradation of 1-diazo-2-naphthol-4-sulfonic acid in the presence of Bi2Fe4O9. *Applied Catalysis B: Environmental.* **2011**, *110*, 186–194.
- Halder, D.; Dan, S.; Biswas, E.; Sarkar, P.; Halder, U. C. H and Pal, T. K. A Rapid LC-ESI-MS/MS Method for the Quantitation of Salicylic Acid, an Active Metabolite of Acetylsalicylic Acid: Application to *in vivo* Pharmacokinetic and Bioequivalence Study in Indian Healthy Male Volunteers. *Applied Clinical Research, Clinical Trials and Regulatory Affairs.* **2015**, *2*(2), 90–102.
- Harper, H. A.; Rodwell, V. W.; Mayes, P. A. *Manual de Química Fisiológica*; 5ª ed.; Atheneu Editora São Paulo Ltda.: São Paulo, **1982**.
- Hayat, Q.; Hayat, S.; Irfan, M.; Ahmad, A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany.* **2010**, *68* (1), 14–25.
- Hisaindee, S.; Meetani, M. A.; Rauf, M. A. Application of LC-MS to the analysis of advanced oxidation process (AOP) degradation of dye products and reaction mechanisms. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* **2013**, *49*, 31–44.
- Hoggett, J. G.; Moodie, R. B.; Penton, J. R.; Schofield, K. *Nitration and Aromatic Reactivity*. Cambridge University Press: Cambridge, **1971**.
- Hummel, M.; Laus, G.; Nerdinger, S.; Schottenberger, H. Improved Synthesis of 3-Nitrosalicylic Acid. *Synthetic Communications,* **2010**, *40* (22), 3353–3357.
- Ibrahim, R. K.; Hayyan, M.; AlSaadi, M. A.; Hayyan, A.; Ibrahim, S. Environmental application of nanotechnology: air, soil, and water. *Environmental Science and Pollution Research* **2016,** *23* (14), 13754.
- Idoux, J. P. Selective Reduction of Nitroaromatic Compounds. *Journal of the Chemical Society C: Organic* **1970**, 435.
- Isenmann, A. F. *Princípios da Síntese Orgânica*. 2ªed. Edição do Autor: Timóteo, **2013**.
- Jampilek, J. Potential of agricultural fungicides for antifungal drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. **2016**, *11*(1), 1-9.
- Joshi, H.; Mishra, H.; Tripathi, H. Photophysics and photochemistry of salicylic acid revisited. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1997,** *105* (1), 15.
- Karthick, T.; Balachandran, V.; Perumal, S.; Nataraj, A. Spectroscopic studies, HOMO–LUMO and NBO calculations on monomer and dimer conformer of 5-nitrosalicylic acid. *Journal of Molecular Structure.* **2011**, *1005* (1–3), 192–201.
- Katritzky, A. R.; Oliferenko, P.; Oliferenko, A.; Lomaka, A.; Karelson, M. Nitrobenzene toxicity: QSAR correlations and mechanistic interpretations. J. *Journal of Physical Organic Chemistry*. **2003**, *16* (10), 811–817.

- Klein, E.; Lukeš, V. DFT/B3LYP study of O–H bond dissociation enthalpies of para and meta substituted phenols: Correlation with the phenolic C–O bond length. *Journal of Molecular Structure.* **2006**, *767*(1–3), 43–50.
- Klein, E.; Rimarcik, J.; Lukes, V. DFT/B3LYP study of the O-H bond dissociation enthalpies and proton affinities of para- and meta-substituted phenols in water and benzene. *Acta Chimica Slovaca*. **2009**, *2*, 37–51.
- Kotronarou, A.; Mills, G.; Hoffmann, M. R. Ultrasonic irradiation of p-nitrophenol in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry* **1991**, *95* (9), 3630–3638.
- Kumar, A.; Lee, J.Y.; Kim, H.-S. Selective fluorescence sensing of 3,5-dinitrosalicylic acid based on pyrenesulfonamide-functionalized inorganic/ organic hybrid nanoparticles. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.* **2016**, *44*, 82–89.
- Laidler, K. J. *Chemical kinetics*, Pearson: New Delhi, **2014**.
- Land, E. J.; Porter, G. Primary photochemical processes in aromatic molecules .7. spectra and kinetics of some phenoxyl derivatives. *Transactions of the Faraday Society.* **1963**, *59*(489), 2016-2026.
- Land, E. J.; Porter, G.; Strachan, E. Primary photochemical processes in aromatic molecules .6. absorption spectra and acidity constants of phenoxyl radicals. *Transactions of the Faraday Society.* **1961**, *57*(11), 1885-1893.
- Law, K. Y.; Shoham, J. Photoinduced proton transfers in 3,5-di-*tert*-butylsalicylic acid. *The Journal of Physical Chemistry.* **1995**, *99*(32), 12103–12108.
- Learmonth, D. A. Method for the nitration of phenolic compounds. US Pat. 7.005.553B2, 28 Fev, **2006**
- Lee, C.; Yang, W.; Paar, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B.* **1988.** *37*(2),785-789.
- Legrini, O.; Oliveros, E.; Braun, A. M. Photochemical processes for water-treatment. *Chemical Reviews*. **1993**, *93*(2), 671-698.
- Lindsey, A. S.; Jeskey, H. The Kolbe-Schmitt Reaction. *Chemical Reviews,* **1957***, 57*(4), 583–620.
- Lourenço, R. V. A utilização da química computacional em processos químicos relacionados à ionização por electrospray (Tese de Doutorado). Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, **2009.**
- Lü, H.; Liu, J.; Xing, C.; Tan, M.; Gao, F. Synthesis of 5-Aminosalicylic Acid Using Kolbe-Schmidt Reaction under Supercritical Conditions. *Asian Journal of Chemistry.* **2011**, *23* (9), 3819–3823.

- Lucchese, A. M.; Marzorati, L. Catálise de Transferência de Fase. *Química Nova*, **2000**, *23* (5), 641–652.
- Lüdemann, H. C.; Hillenkamp, F.; Redmond, R. W. Photoinduced hydrogen atom transfer in salicylic acid derivatives used as matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) matrices. *The Journal of Physical Chemistry A* **2000**, *104* (17), 3884–3893.
- Luo, Y. R. *Comprehensive Handbook of Chemical Bond Energies*; CRC Press: Boca Raton, **2007**.
- Machulek Jr., A., *Estudos mecanísticos da origem da inibição da reação foto-Fenton por íons cloreto.* Tese de Doutorado, Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, **2007**.
- Madan, R. K.; Levitt, J. A review of toxicity from topical salicylic acid preparations. *Journal of the American Academy of Dermatology.* **2014**, *70* (4), 788–792.
- Maity, S. K., Pradhan, N. C., Patwardhan, A. V. Reduction of *p*-nitrotoluene by aqueous ammonium sulfide: Anion exchange resin as a triphasic catalyst. *Chemical Engineering Journal*. **2008,** 141, 187-193.
- Manderville, R. A. DNA Damage by Phenoxyl Radicals. In: *Radical and Radical Ion Reactivity in Nucleic Acid Chemistry;* Ed. Greenberg, M. M. Willey: New Jersey **2009**. 421-443.
- Matta, C. F.; Gillespie, R. J. Understanding and Interpreting Molecular Electron Density Distributions. *Journal of Chemical Education* **2002**, *79*(9), 1141.
- Meiggs, T. O.; Grossweiner, L. I.; Miller, S. I. Extinction coefficient and recombination rate of benzyl radicals. I. Photolysis of sodium phenylacetate. *Journal of the American Chemical Society.* **1972**, *94*(23), 7981–7986.
- Mercé, A. L. R.; Mangrich, A. S.; Szpoganicz, B.; Levy, N. M.; Felcman, J. Equilibrium studies of Al(III) and Fe(III) with nitrosalicylic acids - nitrohumic acid-like models. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **1996,** *7* (2), 97.
- Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* **1959,** *31* (3), 426.
- Miner, J.; Hoffhines, A. The discovery of aspirin's antithrombotic effects. *Journal Texas Heart Institute.* **2007**, *34* (2), 179.
- Mohamed, R. K.; Byers, P. M.; Alabugin, I. V. Radical Reactions. *Encyclopedia of Physical Organic Chemistry*. Ed: Zerong Wang. Willey: New Jersey. **2017**.
- Morgon, N. H.; Custodio, R. Teoria do funcional de densidade. *Química Nova.* **1995**, *18*(1), 44–55.

- Mousset, E.; Frunzo, L.; Esposito, G.; van Hullebusch, E. D.; Oturan, N.; Oturan, M. A. A complete phenol oxidation pathway obtained during electro-Fenton treatment and validated by a kinetic model study. *Applied Catalysis B: Environmental.* **2016,** *180*, 189.
- Mulder, W. H. Effect of medium relaxation on the acidity constants of electronically excited states obtained by the Förster cycle method. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* **2003**, *161* (1), 21–25.
- Murkovic, M., Phenolic compounds. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. 2nd.* Eds. Caballero, B.C., Trugo, L and Finglas, P.M., Amsterdam: Academic Press, **2003**, 4507–4514.
- Murov, S. L.; Carmichael, I.; Hug, G. L. *Handbook of Photochemistry, Second Edition*; Taylor & Francis: Boca Raton, **1993**.
- Narimantas, Č.; Nemeikait, A.; Nivinskas, H.; Anusevičius, Ž.; Šarlauskas, J. Quantitative structure–activity relationships in enzymatic single-electron reduction of nitroaromatic explosives: implications for their cytotoxicity. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects.* **2001**, 1528 (1), 31–38.
- Nelson, D. L.; Lehninger, A. L.; Cox, M. M. *Lehninger principles of biochemistry.6th ed.* MacMillan; Basingstoke, **2013**.
- Neta, P.; Grodkowski, J. Rate constants for reactions of phenoxyl radicals in solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data.* **2005**, *34* (1), 109–199.
- Newbold, B. T., Le Blanc, R. P. Reduction of Substituted Nitrobenzenes. I. Reduction of Monohalogenated Nitrobenzenes with Reducing Sugars in Alkaline Medium. *The Journal of Organic Chemistry*, **1962**, *27*(1), 312–314.
- Niessen, W. M. A. Fragmentation of toxicologically relevant drugs in negative-ion liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* **2012**, *31*, 626-665.
- Niessen, W. M. A.; Correa C., R. A. *Interpretation of MS-MS Mass Spectra of Drugs and Pesticides*. Wiley: New Jersey. **2016**.
- Nishimura, S. *Handbook of heterogeneous catalytic hydrogenation for organic synthesis.* Wiley-Interscience Publication: NewYork, **2001**
- Nogueira, R. F. P.; Trovó, A. G.; Silva, M. R. A.; Villa, R. D.; Oliveira, M. C. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. *Química Nova* **2007,** *30* (2), 400.
- Opolonick, N. Reduction of Nitrobenzene with Dextrose in Alkaline Solutions. *Industrial & Engineering Chemistry*, **1935**, *27*(9), 1045–1046.

- Patel, M.; Kumar, R.; Kishor, K.; Mlsna, T.; Pittman Jr, C. U.; Mohan, D. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: chemistry, occurrence, effects, and removal methods. *Chemical Reviews.* **2019**, *119* (6), 3510–3673.
- Paul, B. K.; Guchhait, N. Evidence for excited-state intramolecular proton transfer in 4-chlorosalicylic acid from combined experimental and computational studies: Quantum chemical treatment of the intramolecular hydrogen bonding interaction. *Chemical Physics.* **2012**, *403*, 94–104.
- Paul, B. K.; Samanta, A.; Guchhait, N. Deciphering the photophysics of 5-chlorosalicylic acid: Evidence for excited-state intramolecular proton transfer. *Photochemical & Photobiological Sciences.* **2010**. *9*(1), 57-67.
- Ponomarev, D. A.; Takhistov, V. V. What are Isodesmic Reactions? *Journal of Chemical Education* **1997**, *74* (2), 201-204
- Porter, G.; Wright, F. J. Primary photochemical processes in aromatic molecules .3. absorption spectra of benzyl, anilino, phenoxy and related free radicals. *Transactions of the Faraday Society.* **1955**, *51* (11), 1469-1471.
- Pouretedal, H. R.; Keshavarz, M. H. Prediction of toxicity of nitroaromatic compounds through their molecular structures. *Journal of the Iranian Chemical Society***. 2011**, *8*(1), 78–89.
- Pozdnyakov, I. P.; Pigliucci, A.; Tkachenko, N.; Plyusnin, V. F.; Vauthey, E.; Lemmetyinen, H. The photophysics of salicylic acid derivatives in aqueous solution. *Journal of Physical Organic Chemistry.* **2009,** *22* (5), 449.
- Pozdnyakov, I. P.; Plyusnin, V. F.; Grivin, V. P.; Vorobyev, D. Y.; Kruppa, A. I.; Lemmetyinen, H. Photochemistry of sulfosalicylic acid in aqueous solutions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry* **2004,** *162* (1), 153.
- Rappaport, F.; Konforti, N. A standard for the determination of total protein and globulin in biological fluids. *Journal of Clinical Pathology.* **1959**, *12* (5), 483.
- Rathi, M. A.; Meenakshi, P.; Gopalakrishnan, V. K. Hepatoprotective activity of ethanolic extract of Alysicarpus vaginalis against nitrobenzene-induced hepatic damage in rats. *South Indian Journal of Biological Sciences.* **2015**, *1* (2), 60–65.
- Rauf, M. A.; Meetani, M. A.; Khaleel, A.; Ahmed, A. Photocatalytic degradation of Methylene Blue using a mixed catalyst and product analysis by LC/MS. *Chemical Engineering Journal.* **2010**, *157* (2), 373–378.
- Roatgi-Mukherjee, K. K. *Fundamentals of photochemistry,* New Age International Press: New Delhi, **1978**.

- Senthilkumar, K. DFT Study on O-H Bond Dissociation Enthalpies and Ionization Potentials of Ortho, Para and Meta Substituted Phenols: A Computational Study. *International Journal of Engineering Science Invention (IJESI)* **2019**, *12*(7), 57 -68.
- Serna-Galvis, E. A.; Silva-Agredo, J.; Giraldo, A. L.; Florez-Acosta, O. A.; Torres-Palma, R. A. Comparative study of the effect of pharmaceutical additives on the elimination of antibiotic activity during the treatment of oxacillin in water by the photo-Fenton, TiO_2-photocatalysis and electrochemical processes. *Science of the Total Environment.* **2016,** *541*, 1431.
- Shertzer, H. G.; Clay, C. D.; Genter, M. B.; Chames, M. C.; Schneider, S. N.; Oakley, G. G.; Nebert, D. W.; Dalton, T. P. Uncoupling-mediated generation of reactive oxygen by halogenated aromatic hydrocarbons in mouse liver microsomes. *Free Radical Biology and Medicine.* **2004,** *36* (5), 618.
- Shriner, R. L., Reynold C. Fuson, D. Y. C. *The Systematic Identification of Organic Compounds. A Laboratory Manual*.; The University of Chicago Press: Chicago, **1956**.
- Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. *Spectrometric identification of organic compounds 7ed*. Jonh Wiley & Sons: River Street, **2005**
- Smith, W. T.; Cheng, C. Use of 3,5-Dinitrosalicylate Reagent for Glucose Determination in Mixed Solvents. *Analytical Letters.* **1978**, *11* (2), 191–194.
- Sousa, S. F.; Fernandes, P. A.; Ramos, M. J. General performance of density functionals. *The Journal of Physical Chemistry A*. **2007**, *111* (42), 10439–10452.
- Steenken, S.; Neta, P. Transient Phenoxyl Radicals: Formation and Properties in Aqueous Solutions. In: *The Chemistry of Phenols* Ed. Patai, S., **2003**, p 1107–1152.
- Stephen, H.; Stephen, T. *Binary System: Solubilities of inorganic and organic Compounds. Vol.: 1, Part I.* Pergamon Press:Paris, 1963.
- Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F. N.; Frisch, M. J. Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields. *The Journal of Physical Chemistry.* **1994**, *98* (45), 11623–11627.
- Sumner, J. B. Dinitrosalicylic acid: a reagent for the estimation of sugar in normal and diabetic urine. *Journal of Biological Chemistry*, **1921**, 47(1), 5-9
- Sumner, J. B.; Graham, V. A. Dinitrosalicylic acid: A reagent for the estimation of sugar in normal and diabetic urine. *Journal of Biological Chemistry* **1921,** *47* (1), 5.
- Sumner, J. B.; Noback, C. V. The estimation of sugar in diabetic urine, using dinitrosalicylic acid. *Journal of Biological Chemistry* **1924,** *62* (2), 287.

- Suyal, K.; Joshi, N. K.; Rautela, R.; Joshi, H. C.; Pant, S. Fluorescence properties of 4-amino salicylic acid in polymers. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* **2010**. *216*(1), 51-58.
- Szabó, K. J.; Hörnfeldt, A. B.; Gronowitz, S. Theoretical Study on Mechanism and Selectivity of Electrophilic Aromatic Nitration. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, *114* (17), 6827–6834.
- Taborsky, R. G.; Kaye, S.; Darker, G. D. Substituted Salicylanilides With Antimicrobial Activity. *Journal of the American Pharmacists Association,* **1988**, *48* (9), 503–507.
- Tripathy, H.; Pradhan, D. G.; Dash, B. C.; Mahapatra, G. N. Synthesis of some new halogenated N-thiazolyl substituted hydroxy acid amides and their use as possible fungicides. *Agricultural and Biological Chemistry.* **1973**, *37* (6), 1375–1383.
- Turro, N. J. *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books: Mill Valley, **1991**.
- Turro, N. J.; Ramamurthy, V.; Scaiano, J. C. *Principles of molecular photochemistry: an introduction*; University Science Books: Sausalito, **2009.**
- Valeur, B.; Berberan-Santos, M. N. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*; 2nd ed., John Wiley & Sons: River Street, **2012**.
- Vogel, A.I.; Furniss,B.S. *Vogel's textbook of practical organic chemistry.* 5th ed., Longman Scientific and Technical: Londres, **1989**.
- Weintraub, M.; Evans, P. 5-Aminosalicylic acid-an old, new treatment for inflammatory bowel-disease. *Hospital Formulary.* **1987**, *22* (6), 528-533.
- Weller, A. Innermolekularer protonenubergang im angeregten zustand. *Zeitschrift fur elektrochemie*. **1956**, *60* (9–10), 1144–1147.
- Weller, A. Uber die fluoreszenz der salizylsaure und verwandter verbindungen. *Naturwissenschaften.* **1955**, *42* (7), 175–176.
- Wisman, E.; Hartmann, U.; Sagasser, M.; Baumann, E.; Palme, K.; Hahlbrock, K.; Saedler, H.; Weisshaar, B. Knock-out mutants from an En-1 mutagenized Arabidopsis thaliana population generate phenylpropanoid biosynthesis phenotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* **1998**, *95* (21), 12432–12437.
- Wood, I. P.; Elliston, A.; Ryden, P.; Bancroft, I.; Roberts, I. N.; Waldron, K. W. Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass & Bioenergy.* **2012,** *44*, 117.
- Wuts, P.G.M. *Greenes's Protective groups in Organic Synthesis*. 5th ed., Wiley: New Jersey, **2014.**

- Xiong, Z.; Zhang, H.; Zhang, W.; Lai, B.; Yao, G. Removal of nitrophenols and their derivatives by chemical redox: A review. *Chemical Engineering Journal*. **2019**. *359*(1), 13-31.
- Yamagishi, T.; Miyazaki, T.; Horii, S.; Akiyama, K. Synthetic musk residues in biota and water from Tama River and Tokyo Bay (Japan). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* **1983**, *12* (1), 83–89.
- Yamagishi, T.; Miyazaki, T.; Horii, S.; Kaneko, S. Identification of musk xylene and musk ketone in freshwater fish collected from the Tama River, Tokyo. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* **1981**, *26* (1), 656–662.
- Yurawecz, M. P.; Puma, B. J. Nitro musk fragrances as potential contaminants in pesticide residue analysis [Foods]. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists.* **1983**.
- Zhang, K.; Halitschke, R.; Yin, C.; Liu, C.-J.; Gan, S.-S. Salicylic acid 3-hydroxylase regulates Arabidopsis leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences. 10* (36). **2013**.
- Zhu, N.; Gu, L.; Yuan, H.; Lou, Z.; Wang, L.; Zhang, X. Degradation pathway of the naphthalene azo dye intermediate 1-diazo-2- naphthol-4-sulfonic acid using Fenton's reagent. *Water Research.* **2012**, *46* (12), 3859–3867.