ETELVINO JOSÉ HENRIQUES BECHARA

EFEITOS DE SUBSTITUINTES ALQUÍLICOS
NAS PROPRIEDADES DE DIOXETANOS

Tese de Livre Docência

apresentada ao

Instituto de Química da

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

São Paulo

1979

Aos meus amigos, pais e conselheiros

Paulo e Maria Campanhã

A minha mulher, Dulce
e aos meus filhos,
André, Guilherme e Fernando

Aos meus irmãos, Yara e Meson

Um agradecimento especial aos meus filhos,
que compreenderam e retribuíram com carinho, solida-
riedade e cuidados a pouca atenção dada a eles durante
a redação desta tese.

MEUS AGRADECIMENTOS

- aos Profs. Giuseppe Cilento, Thérèse Wilson e Johns W. Hastings, por despertarem meu interesse em quimiluminescência, com discussões e sugestões do mais alto nível.
- ao Dr. Frank Quina, pelas estimulantes discussões.
- aos meus amigos do laboratório pelo incentivo e apoio, particularmente à Dra. Ohara Augusto.
- à Nazira e José Vito, pelo excelente trabalho de datilografia.
- ao Grupo Educacional Equipe Vestibulares, na pessoa do Prof. Carmo Gallo Netto, pela impressão gratuita desta tese.
- ao Fernando, Sônia e Inês, pela colaboração técnica.
- à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio material.
- a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE GERAL

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	
1.1. Dioxetanos - Quimi- e Bioluminescência...	1
1.2. Métodos sintéticos de dioxetanos	10
1.3. Reações não-quimiluminescentes de dioxetanos	14
1.4. Cinética de termólise de dioxetanos	17
1.5. Parâmetros de ativação de termólise	24
1.6. Cálculos termoquímicos	30
1.7. Multiplicidade e rendimentos quânticos de produtos excitados	36
1.8. Mecanismo de clivagem de dioxetanos	55
1.9. Dioxetanos hipotéticos em quimi- e bioluminescência	58
2. OBJETIVOS	74
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1. Abreviações	77
3.2. Drogas	78
3.3. Solventes	79
3.4. Aparelhagem	79
3.5. Métodos analíticos	80
3.6. Métodos sintéticos	91

4. RESULTADOS

4.1. Síntese de dioxetanos	115
4.2. Fotooxigenação de tetraetiletileno	119
4.3. Parâmetros cinéticos	121
4.4. Cálculos termoquímicos	131
4.5. Rendimentos quânticos de produtos exci- tados	137
4.6. Supressão de produtos excitados com <u>die</u> nos	142

5. DISCUSSÃO

5.1. Fotooxigenação de tetraetiletileno	153
5.2. Estabilidade térmica dos dioxetanos	156
5.3. Rendimentos de quimiexcitação dos pro- dutos	168
5.4. Vida média das espécies excitadas <u>gera</u> das na termólise	175

6. CONCLUSÕES FINAIS. IMPLICAÇÕES BIOLÓGICAS ... 180

7. SUMÁRIO 190

8. SUMMARY 191

9. APÊNDICES

Apêndice 1: Equações de intensidade de quimi luminescência versus concentração de acceptor	192
--	-----

Apêndice 2: Supressão de quimiluminescência com dienos	201
Apêndice 3: Cálculos termoquímicos para te- traetildioxetano (TED)	205
Apêndice 4: Normas de segurança para traba- lho com H_2O_2 conc. e peróxidos...	209
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	211

1. INTRODUÇÃO

1.1. Dioxetanos - Quimi- e Bioluminescência

Um processo quimi- ou bioluminescente, caracterizado por emissão de luz "fria", visível, durante reação química ou enzimática, respectivamente, pode ser visualizado como uma série consecutiva de três etapas (Rauhut, 1969 e referências aí citadas; McCapra, 1970 e referências citadas):

- (i) reações preliminares que transformem um substrato (S) num intermediário chave (I), "rico em energia";
- (ii) fase de excitação, onde a energia química do intermediário é convertida em energia de excitação eletrônica; e
- (iii) emissão fluorescente (singlete; τ (vida média) $\sim 10^{-6} - 10^{-10}$ s) do produto excitado (P^*), formado na fase de quimiexcitação.

Tratando-se de emissão de luz visível, o intermediário deve ser suficientemente "rico em energia" para pro

ver 41 (700nm) a 71 kcal/mol (400nm) para excitação do produto. O rendimento quântico de luminescência (ϕ_L), isto é, a fração de fótons emitidos por molécula de substrato consumido, dependerá de quão eficientes forem as etapas separadas ($\phi_i \phi_{ii} \phi_{iii}$) e a emissão será tão mais intensa, brilhante, quanto maior ϕ_L e mais rápidas forem as etapas (i) e (ii). A etapa iii nunca é limitante, pois $k_{iii} = k_F \sim 10^6 - 10^{10} \text{ s}^{-1}$, onde k_F é a constante de velocidade de fluorescência. Estes requisitos explicam porque a quimiluminescência é tão rara: a maioria das reações químicas não produz rápida e significativamente produtos excitados e a maioria das moléculas é fracamente fluorescente. Em processos bioluminescentes, onde as reações são catalisadas por enzimas (luciferases), os requisitos de rendimento e velocidade são satisfeitos. Assim, por exemplo, enquanto o sistema luciferina (substrato) luciferase de vagalume, "in vitro", produz cerca de 88 fótons por 100 moléculas de luciferina oxidada ($\phi_L \approx 0,88$; Seliger e McElroy, 1959, 1960), o sistema quimiluminescente de derivados de acridina é apenas 4 a 5% eficiente na emissão (McCapra, 1970).

McCapra (1968 e referências citadas) foi o primeiro a postular 1,2-dioxetanos(I) e 1,2-dioxetanonas (II), peróxidos cíclicos de anel tetraatômico, como os precursores "ricos em energia" de sistemas quimi- e bioluminescentes. Como visto, nestes processos, a luminescência resulta da canalização de energia química para excitação eletrônica de um produto, o qual, em seguida, emite um fóton e "cai" para o

estado fundamental.

Embora não tivessem sido isolados e inequivocamente identificados até 1968 (Kopecky e Mumford, 1968), várias razões podiam ser alegadas em favor de sua participação como intermediários na etapa de quimiexcitação (Wilson, 1976):

(i) a clivagem térmica de 1,2-dioxetanos, produzindo dois compostos carbonílicos, deveria ser bastante exotérmica, considerando-se a relativa fragilidade da ligação O-O (~ 35 kcal/mol), a tensão de anel liberada na clivagem (~ 26 kcal/mol) e a formação de duas ligações fortes C=O:

O calor de termólise (ΔH^0) de 1,2-dioxetanos pode ser estimado, a título de ilustração, por cálculos simples baseados em tabelas de energias de dissociação de ligações e de tensão de anéis, publicadas em textos didáticos de Química Orgânica Básica (Roberts e Caserio, 1969, por exemplo):

Energia "gasta", em kcal/mol:

$$\begin{array}{rcl} \text{quebra de ligação C-C:} & + & 83 \\ \text{O-O:} & + & \underline{32} \\ & & + 115 \end{array}$$

Energia "ganha", em kcal/mol:

$$\begin{array}{rcl} \text{formação de duas ligações C=O:} & - & 180 \\ \text{(diferença entre C=O ,} & & \\ \text{176 kcal e C-O, 86 kcal)} & & \\ \text{Tensão do anel (ciclobuta} & & \\ \text{no)} & - & \underline{26} \\ & & - 206 \end{array}$$

Exotermicidade da termólise, $\Delta H^0 \approx -90$ kcal/mol.

Sabendo-se que a excitação eletrônica de aldeídos e cetonas ao primeiro estado singlete (estado excitado singlete de mais baixa energia), S_1 ou ao primeiro estado tripleto, T_1 , requer menos de 85 kcal/mol (Turro, 1969), torna-se evidente que a exotermicidade da termólise de 1,2-dioxetanos é suficiente para popular níveis excitados de um dos produtos.

Nota: É sabido (veja, por exemplo, Turro, 1969) que, no caso aldeídos e cetonas alifáticas, a configuração do estado excitado é principalmente $n\pi^*$, isto é, a excitação resulta da promoção de elétron do orbital não-ligante de oxigênio

nio (eletron n) ao orbital anti-ligante π^* ; a energia de excitação fica assim localizada na carbonila. Se na excitação não ocorrer inversão do spin, a multiplicidade do estado continua sendo singlete; caso contrário, triplete. No caso de compostos carbonílicos aromáticos polinucleares, especialmente contendo substituintes que aumentam a densidade eletrônica no sistema aromático ($-\text{OCH}_3$, $-\text{NR}_2$, etc), aumenta o caráter $\pi\pi^*$ do estado excitado (singlete ou triplete), isto é, a excitação resulta da promoção de eletron ligante π a π^* ; consequentemente, a energia de excitação fica delocalizada no sistema extensamente conjugado.

(ii) na estrutura do dioxetano, a ligação C-O está fora do plano formado pelas ligações $\text{R}_1\text{-C-R}_2$, tal como acontece com moléculas carbonílicas excitadas (Herzberg, 1966; Turro, 1969); no estado fundamental o grupo C=O é planar. Assim, durante a clivagem do dioxetano dando os produtos carbonílicos, não ocorreria dissipação de energia de excitação na forma vibracional.

(iii) os produtos de reação de diversos sistemas quimi- e bioluminescentes clássicos (McCapra e Richardson, 1964; McCapra e colab., 1965; Rauhut e colab., 1965; Hopkins e colab., 1967; Goto e Kishi, 1968; McCapra e Chang, 1966, 1967) foram identificados como CO_2 e um composto carbonílico (cetona, amida ou lactama), os produtos esperados da clivagem de um intermediário de estrutura α -peroxilactônica (1,2-dioxetanona):

(iv) McCapra postulou, em 1968, baseando-se em diagramas de correlação de orbitais de simetria dioxetano-produtos (regras de Woodward-Hoffmann, 1968), que a clivagem "concerted" do anel dioxetânico no estado fundamental a produtos, somente era permitida pela simetria caso de uma das moléculas-produto fosse gerada num estado eletronicamente excitado:

Os pontos (i) a (iv) apresentados anteriormente constituíam fortes argumentos que qualificavam compostos dioxetânicos como os precursores "ricos em energia" da quimi- e bioluminescência. As dificuldades experimentais encontradas no isolamento e identificação destes intermediários decorreriam de sua instabilidade, daí as emissões se-

rem tão intensas e de curta duração naqueles sistemas químicos e biológicos.

A par da emissão luminescente, alguns trabalhos publicados já no século passado ou no início deste século, sugeriam compostos de estrutura dioxetânica como produtos ou intermediários de reação. Blitz (1897) relatou a produção de tetrakis(4-nitrofenil)-1,2-dioxetano pela oxidação de tetrakis(4-nitrofenil)etileno por ácido crômico a 115-130°C. Kohler (1906) interpretou a clivagem oxidativa de um enol polifenílico via em dioxetano intermediário; sua hipótese foi confirmada recentemente por Richardson e colab. (1974 a, b). Stephens (1928) e Hock e Schrader (1936) propuseram a formação de dioxetanos durante oxidação de olefinas, porém Criegee e colab. (1939) demonstraram posteriormente que o produto de reação era um hidroperóxido alílico.

Somente em junho de 1968, durante a 51a. Conferência do "Chemical Institute of Canada", em Vancouver, foi relatado o isolamento de um dioxetano. Kopecky e Mumford (1968) comunicaram nesta ocasião a surpreendente síntese do trimetil-1,2-dioxetano (III)" pela ciclização do α -bromohidroperóxido IV com solução metanólica de NaOH. Este dioxetano, isolado na forma de óleo ou agulhas amarelas (P.F. 4-7°C), quando aquecido a 50°C em solução produz uma quimiluminescência fraca com λ_{max} a 430-440 nm (Kopecky e Mumford, 1969). A emissão foi atribuída a acetona ou acetaldeído excitado no estado singlete ou um excímero dos dois.

A partir desta primeira síntese, mais de 60 dioxetanos relativamente estáveis têm sido preparados pelo hoje chamado "método de Kopecky" e por outros métodos desenvolvidos posteriormente. Em todos os casos, o dioxetano é amarelo, explosivo quando puro ou em solução concentrada, sob aquecimento. Sua decomposição térmica, unimolecular, é acompanhada de emissão de luz, com formação quantitativa dos produtos de clivagem. Duas outras características, comuns a dioxetanos e dioxetanonas contendo substituintes alquílicos, alcoxílicos ou homoarílicos, são:

(i) a energia de ativação (E_a) para sua termólise varia na faixa de 21 kcal/mol para o 3,3-(9,9-fluorenil)-4-metoxi-1,2-dioxetano (V) (Baumstark e colab., 1976) a 34,4 kcal/mol para o biadamantilidenodioxetano (VI) (Schuster e colab., 1975).

V

VI

P.F. 174-176°C

(ii) a termólise de dioxetanos e dioxetanonas gera preferencialmente produto excitado no estado triplete (não emissivo, em solução aerada), daí a quimiluminescência direta ser relativamente fraca. A razão $^3\phi/^1\phi$, onde $^3\phi$ e $^1\phi$ são os rendimentos quânticos de espécies tripletas e singletes (fração de moléculas excitadas no estado triplete ou singlete produzida por molécula de dioxetano), varia na faixa de 10 a 10^3 (Wilson, 1976; Horn e colab., 1978-79). Os rendimentos $^3\phi$ variam na faixa de 3 a 5% para o 3,3-difenil-1,2-dioxetano (VII) (Landis, 1974; Richardson e colab., 1974c) a cerca de 60% para o tetraetil-1,2-dioxetano (VIII) (Bechara e colab., 1976).

Os vários aspectos da química e bioquímica de dioxetanos foram discutidos criticamente em excelentes revisões recentes de Wilson (1976), Adam (1977) e Horn e colab. (1978-79). Na introdução de nosso trabalho, procuraremos discutir apenas aqueles aspectos ligados diretamente ao estudo elaborado nesta tese.

1.2. Métodos sintéticos de dioxetanos

São conhecidos presentemente dois métodos gerais para preparação de dioxetanos:

- (i) Método de Kopecky (Kopecky e Mumford, 1968; Kopecky e colab., 1975): tratamento de α -halogenohidroperóxido com solução metanólica de NaOH (no caso de haleto secundário (IX)) ou com suspensão de acetato de prata, em éter anidro ou CH_2Cl_2 (no caso de haleto terciário (X)).

IX

X

XI

O tratamento de α -bromohidroperóxido terciário (X) com solução alcalina leva à formação quase quantitativa do hidroperóxido alílico XI. Aspectos mecanísticos e estereoquímicos envolvidos na preparação de dioxetanos, bem como reações usadas em sua identificação, foram discutidos por Kopecky e colab. (1975).

Os α -halogenohidroperóxidos, por sua vez, foram preparados por Kopecky e colab. a partir das olefinas correspondentes pelo tratamento com 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina (ou 1,3-diiodo-5,5-dimetilhidantoina), em solução concentrada de H_2O_2 em éter anidro, a -40°C :

80-100%

40-50%, se $\text{R}_3 = \text{H}$

- (ii) Fotooxigenação de olefinas (Bartlett e Schaap, 1970): neste caso, os dioxetanos são preparados por cicloadição-1,2 de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) a certas olefinas. O método só funciona com olefinas relativamente "ricas" em eletrons (com substituintes $-\text{OR}$, $-\text{NR}_2$, por ex.) e que não possuem hidrogênios alílicos que possam ser abstraídos (Kearns, 1971; Schuster e colab., 1975). Oxigênio singlete é produzido durante irradiação de solução diluída de um sensibilizador (azul de metileno (MB), tetrafenilporfina (TPP), etc), sob contínuo borbulhamento de oxigênio (Foote, 1968). Alguns exemplos de preparação de dioxetanos via fotooxigenação são mostrados a seguir:

A reatividade de $^1\text{O}_2$ em relação a outras olefi-
nas inclui (i) cicloadição-1,3, via um perepóxido (XII) ,
com formação de hidropereóxido alílico e (ii) cicloadição-1,4,
produzindo um 1,4-endopereóxido (Kearns, 1971; Foote e Denny,
1971; Denny e Nickon , 1973):

(Foote e colab., 1968)

(Hasty e Kearns, 1973)

Além dos métodos gerais, já apontados, Schaap. e colab. (1977) e Matsumoto e Kondo (1977) publicaram recentemente a preparação de dioxetano pelo rearranjo de um 1,4-endoperóxido, catalisado por sílica gel e metanol, respectivamente.

Dioxetanonas: as primeiras 1,2-dioxetanonas foram preparadas e isoladas, pela primeira vez, por Adam e Liu (Adam e Liu, 1972; Adam, 1977), pela ciclização de α -hidroperoxiácidos com diciclohexilcarbodiimida (DCC). As etapas envolvidas na preparação de α -hidroperoxiácidos e das 1,2-dioxetanonas correspondentes são mostradas a seguir:

pela grande instabilidade destes compostos; são caracterizados pela banda no espectro IR em 1875 cm^{-1} .

1.3. Reações não-quimiluminescentes de dioxetanos

Os dioxetanos são facilmente identificáveis pelos glicóis correspondentes (XIII) formados na redução por I^- , LiAlH_4 , Zn/HAc (Wieringa e colab., 1972; Filby, 1973; Kopecky e colab., 1975) e por SnCl_2 (Baumstark, 1974):

A redução de dioxetanos com I^- é praticamente instantânea, e constitui base para sua titulação iodométrica em anidrido acético (Filby, 1973; Kopecky e colab., 1973). Entretanto, deve-se usar de cautela na dosagem de soluções de dioxetanos por este método, importantíssima para determinação exata dos rendimentos quânticos $^3\phi$ e $^1\phi$, devido: (i) a tendência à "sub-titulação" no caso de dioxetanos pouco estáveis, os quais se clivam parcialmente durante a titulação ou (ii) a tendência à "super-titulação", com dioxetanos estericamente impedidos de reagir com I^- , tornando-se a titulação extremamente lenta e difícil de ser percebido o ponto de viragem (amarelo claro $\rightarrow$ incolor).

Inserção de reagentes nucleófilos: existe muito interesse na investigação de reações que transformam o dioxetano num produto estável, facilmente identificável, com vistas especialmente à detecção de "intermediários" dioxetânicos em reações de fotooxigenação, quimi- e bioluminescentes. Pela sua potencialidade, destacam-se as seguintes:

(i) Reação com azoteto, N_3^- (Gollnick e colab., 1972):

(ii) Reação com derivados de fósforo, por exemplo, trifenilfosfina, PPh_3 (Baumstark, 1974; Bartlett e colab., 1973, 1974):

Esta reação é rápida e quantitativa, produzindo um fosforano estável (XIV). Foi usada, com certa frequência nesta tese, para caracterização e durante a dosagem de soluções de dioxetanos.

(iii) Reação com dissulfetos orgânicos:

(Wasserman e Saito, 1975)

Ph = fenil

(Campbell e colab., 1975)

Com excessão de azoteto, os demais reagentes são muito pouco solúveis em água, o que limita sua utilidade em sistemas biológicos. Neste sentido, acreditamos ser bastante promissora a investigação do uso de soluções de TiCl_3 em tampão/dioxano, em temperatura $< 0^\circ\text{C}$, já que este reagente tem sido muito usado na redução, em condições brandas, de vários compostos orgânicos (meio aquoso-orgânico, $\text{pH} \sim 7$, à temperatura ambiente; McMurry, 1974). Várias enzimas conservam parcialmente sua atividade a temperaturas $< 0^\circ\text{C}$, em meio aquoso-orgânico (Douzou e colab., 1970, 1975, 1978).

Reação com BF_3 : o rearranjo de tetrametildioxetano (TMD), catalisado por BF_3 , foi estudado por Baumstark (1974). O tratamento de TMD com BF_3 em CH_2Cl_2 a -78°C , seguido de metanólise, produziu uma mistura de pinacolona (XV), diperoxido cíclico da pinacolona (XVI), acetona e H_2O_2 . Estes resultados foram interpretados segundo o seguinte mecanismo:

1.4. Cinética de termólise de dioxetanos

Os dioxetanos, quando aquecidos em soluções diluídas aeradas, se decompõem segundo uma cinética de primeira ordem (Wilson, 1976). Trata-se, assim, de uma reação quase ímpar: processo unimolecular, unidirecional e quimiluminiscente. As constantes de velocidade, k_1 , podem ser determinadas acompanhando-se a queda da concentração de dioxetano

com o tempo, via titulação iodométrica ou seguindo-se o desaparecimento de dioxetano e/ou aparecimento de produtos carbonílicos via análise por ressonância nuclear magnética protônica ($^1\text{H-NMR}$). (Wilson e Schaap, 1970; Kopecky e colab., 1975). Entretanto, o método mais simples e preciso é, evidentemente, pela velocidade de queda da quimiluminescência, em espectrofluorímetros ou outros fotômetros mais sensíveis. Alcança-se, neste caso, sensibilidade incomparavelmente alta em relação aos métodos analíticos convencionais. Basta mencionar, que nos fotômetros tipo Hastings-Weber (1963), pode-se acompanhar emissão proveniente da decomposição de 10^{-15} moles de dioxetano/sec. Sensibilidade maior pode ser atingida, usando-se um contador de cintilação líquida com o circuito de coincidência desligado. As constantes de termólise dos dioxetanos podem, assim, ser calculadas pela medida direta da intensidade de quimiluminescência (I_{QL}), a qual é atribuída à emissão fluorescente de cetona singlete gerada na termólise; I_{QL} é proporcional a k_1 e à concentração de dioxetano (Esquema I; Wilson, 1976).

Esquema I:

onde, D é dioxetano; C, cetona no estado fundamental; $^1\phi$, rendimento quântico de cetona singlete excitada ($^1C^*$) gerada na termólise; k_F , constante de velocidade de emissão fluorescente; k_2 , soma das constantes de desativação não radiativa (térmica) de $^1C^*$, sendo ϕ_F , o rendimento quântico de fluorescência da cetona. Em solução aerada, não se observa emissão (fosforescente) da acetona triplete produzida na termólise de dioxetanos, devido à supressão de $^3C^*$ por O_2 (Lechtken e colab., 1973).

Outra alternativa, mais utilizada, consiste em se adicionar à solução de dioxetano agentes fluorescentes (aceptores emissivos, ou, sensibilizadores) os quais amplificam I_{QL} de 10 a 1000 vezes, dependendo da natureza do acceptor adicionado. Frequentemente, têm sido empregados 9,10-difenilantraceno (DPA) e perileno, os quais são "con-tadores" de espécies singletes e 9-10-dibromoantraceno (DBA) e o quelato, europium-tris(tenoiltrifluoroacetato)-9-10-fenantrolina ($Eu(TTA)_3Phen$), que são específicos para tri-plettes (Wilson e Schaap, 1971; Steinmetzer e colab., 1973; White e colab., 1973; Wilson e colab., 1976; Wilson, 1976). A intensificação da quimiluminescência é atribuída à trans-ferência da energia de excitação de acetona excitada (sin-glete ou triplete) para o acceptor (A), levando-o ao estado singlete ($^1A^*$), o qual emite em seguida um fóton com alta eficiência e "cai" para o estado fundamental. O esquema II ilustra simplifadamente estes processos.

Esquema II:

A transferência de energia de C^* para A é bastante favorecida, pois o processo é exotérmico (E_T e E_S de aldeídos e cetonas $> E_S$ do aceptor) e ocorre numa velocidade igual (com aceptores de tripletes) ou superior (com aceptores de singletes) à velocidade de difusão ($k_3 \geq 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; Turro e colab., 1973; Berenfel'd e colab., 1970).

Pode-se demonstrar por tratamento de estado estacionário (veja Apêndice I) que, na presença de concentração constante de aceptor a uma dada temperatura, a intensidade observada de quimiluminescência (I_{QL}^A) é proporcional a k_1 e à concentração de dioxetano:

$$I_{QL}^A = K k_1 [D]$$

A constante K engloba o rendimento quântico de produto excitado (${}^3\phi$ ou ${}^1\phi$, dependendo da natureza do aceptor), a eficiência de transferência de energia de C^* para A ($\rightarrow {}^1A^*$), o rendimento quântico de fluorescência do aceptor e a vida média da espécie excitada sendo desativada pelo aceptor. Como esperado, as constantes de velocidade obti

das pela projeção $\log I_{QL}^A$ x tempo não dependem da natureza do aceptor ou da natureza do solvente (Wilson e Schaap, 1971).

Decomposição induzida de dioxetanos: Wilson e Schaap (1971) observaram que a remoção de oxigênio de solução aquecida de cis-dietoxi-1,2-dioxetano ($\sim 0,10M$) e DBA, DPA ou biacetilo como aceptores, provocou um aumento da velocidade de queda da quimiluminescência (fator de 2-3, com DBA) e de decomposição do dioxetano, embora não afetasse significativamente a intensidade I_{QL} inicial. Na medida em que a presença ou ausência de oxigênio não teve influência detectável sobre a velocidade de decomposição de dioxetano puro em solução benzênica, os autores concluíram que o efeito de oxigênio estava necessariamente associado à presença de aceptores. Confirmaram, então, estes resultados ao verificar que a fotodecomposição de cis-dietoxidioxetano (XVII), sensitizada pelos aceptores derivados de antraceno, era acelerada de apenas 20% com DPA e 60-70% com DBA quando as soluções eram degasificadas. O efeito de oxigênio foi interpretado como o resultado da indução da decomposição do dioxetano por $^3DBA^*$ formado via transferência de energia de produto triplete (formato) para DBA (transferência triplete-triplete). A cadeia de reações propostas para explicar a indução acha-se ilustrada no esquema III.

Esquema III:

Na ausência de O_2 : $\text{D} + {}^3\text{DBA}^* \rightarrow {}^? \text{F}^* + \text{F} + \text{DBA}$

Na presença de O_2 : $\text{O}_2 + {}^3\text{DBA}^* \rightarrow {}^1\text{O}_2 + \text{DBA}$

O efeito de oxigênio, protegendo o dioxetano de decomposição induzida pelo produto triplete (${}^3\text{C}^*$), também foi observado por Lechtken e colab. (1973) em soluções deaeradas e concentradas de TMD ($\sim 1,0\text{M}$):

Na ausência de O_2 , $\text{TMD} + {}^3\text{C}^* \rightarrow {}^3\text{C}^* + 2\text{C}$

Na presença de O_2 , ${}^3\text{C}^* + \text{O}_2 \rightarrow \text{C} + {}^? \text{O}_2$

Devido ao caráter de cadeia, em solução concentrada, a velocidade observada de termólise mostra dependência de segunda ordem na concentração de dioxetano. O rendimento quântico

de tripletes, $^3\phi$, diminui consideravelmente, devido ao caráter não-quimiluminescente da autocatálise.

Catálise por íons de metais de transição:

Os inesperados resultados de Turro e Lechtken (1973) sobre o efeito de solventes (especialmente hidroxílicos) na cinética de termólise de TMD, levaram Wilson e colab. (1973) e Baumstark (1974) a reinvestigar este sistema com solventes cuidadosamente purificados. Tratamento dos "solventes catalíticos" com EDTA, exceto no caso de acetonitrila, restauraram a mesma velocidade de termólise observada em benzeno. Adição de traços de CuCl_2 ($\sim 10^{-5}\text{M}$) a solução metanólica de TMD, acelerou sua decomposição de um fator de 100. Baumstark (1974) estudou a cinética de decomposição de TMD catalisada por uma série de dicloreto: Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} e Cd^{2+} , em metanol purificado, e verificou que a catálise era: (i) não-quimiluminescente; (ii) de primeira ordem na concentração de dioxetano e do íon metálico; (iii) sujeita a um efeito do ânion ou quelato; (iv) mais eficiente com Cu^{2+} e (v) resultava numa relação linear entre os logaritmos das eficiências catalíticas e os logaritmos das constantes de dissociação dos malonatos dos íons metálicos. Baumstark interpretou estes resultados por meio de um mecanismo envolvendo coordenação entre os ácidos de Lewis (íons) e o dioxetano:

A propósito, cabe mencionar que durante a investigação da luminescência proveniente da oxidação aeróbica de isobutanal , catalisada por peroxidase, e que se processaria via um dioxetano intermediário, verificamos (Faria Oliveira e colab. , 1978) que a intensidade de emissão foi amplificada de cerca de 100 vezes por adição de complexantes de íons metálicos ao sistema (EDTA, pirofosfato).

1.5. Determinação dos parâmetros de ativação

As energias de ativação (E_a) de clivagem térmica de dioxetanos são determinadas usualmente por projeções de Arrhenius ($\log k_1$ versus $1/T$). Se as medidas de constantes de velocidade k_1 , nas várias temperaturas, forem realizadas em solvente purificado e em condições de baixa concentração de dioxetano e de acceptor emissivo, para evitar decomposição induzida, a projeção será certamente linear. A decomposição "escura" (catalisada por traços de íons metálicos), paralela ao processo luminescente, se manifesta mais acentuada mente na região de baixa temperatura, em consequência do fato desta via competitiva ter energia de ativação relativamen

te baixa (Wilson e colab., 1976). Como resultado da catálise "escura", as projeções de Arrhenius tendem a curvatura quando as medidas são feitas a temperaturas baixas ($< 50^{\circ}\text{C}$, em geral).

Wilson e Schaap (1971) introduziram um método mais simples e menos sujeito a erro, proveniente de decomposição induzida, para determinação de E_a : o "método da queda brusca de temperatura". Este método consiste na medida das intensidades de emissão (I_1 e I_2) ao se submeter uma solução de dioxetano aquecida a determinada temperatura T_1 a um resfriamento rápido ($\sim 30\text{s}$) de cerca de 15°C até uma temperatura T_2 . Geralmente, estas medidas são feitas com aceptores emissivos adicionados ao sistema. Durante a queda brusca de temperatura não há decomposição apreciável do dioxetano (Fig. I) e a energia de ativação observada ($E_{QL}(\text{obs})$) pode ser calculada a partir das intensidades I_1 e I_2 :

$$I_{QL} = K k_1 [D] \quad (\text{veja apêndice 1})$$

Vamos chamar, para simplificar, $I_{QL} = I$ e $k_1 = k$

Nas duas temperaturas de medida de I , T_1 e T_2 :

$$I_1 \sim k_1 [D] \quad \text{e} \quad I_2 \sim k_2 [D]$$

$$E_{QL}(\text{obs}) = - 4.58 \frac{\log k_1/k_2}{1/T_1 - 1/T_2} = - 4.58 \frac{\log I_1/I_2}{1/T_1 - 1/T_2}$$

$E_{QL}(\text{obs}) = E_a$ (Arrhenius) se K for independente da temperatura.

Fig. I: "Método da queda brusca de temperatura" para determinação da energia de ativação da termólise de dioxetanos (Wilson, 1976)

Considerando-se que: (i) os processos fotofísicos envolvendo transferência de energia e desativação térmica têm energias de ativação negligenciáveis comparadas à E_{QL} e (ii) os rendimentos primários de produtos singletes e tripletes, $^1\phi$ e $^3\phi$, são independentes da temperatura (Wilson, 1976), o valor observado da energia de ativação, $E_{QL}(\text{obs})$ deve ser corrigido apenas para o efeito da temperatura na eficiência de fluorescência do acceptor (ϕ_F^A), isto é, deve-se levar em conta a energia de ativação de fluorescência do acceptor (E_F^A). Assim, o valor corrigido da energia de ativação de termólise do dioxetano, E_{QL} , será dado pela expressão:

$$E_{QL} = E_{QL}(\text{obs}) - E_F^A$$

As intensidades fluoreescência de DPA e de perileno praticamente não variam com a temperatura ($E_F^{\text{DPA}} \approx 0$), enquanto a aquela de DBA e de rubreno decrescem com o aumento da temperatura ($E_F^{\text{DBA}} = -4,5 \text{ kcal/mol}$; $E_F^{\text{rubreno}} = -1,9 \text{ kcal/mol}$) (Wilson e Schaaap, 1971; Wilson e colab., 1976). O coeficiente negativo de temperatura para a fluoreescência de DBA é explicado pelo fato de que o estado singlete excitado de DBA (S_1) está localizado poucas kcal abaixo de seu segundo estado triplete (T_2) e, conseqüentemente, um aumento de temperatura resulta no cruzamento intersistema DBA(S_1) $\rightarrow$ DBA(T_2), o qual é mais rápido que DBA(S_1) $\rightarrow$ DBA(T_1) (McGlynn e colab., 1964; Bennett e McCartin, 1966; Lim e Colab., 1966). Estes processos são ilustrados na Fig. II.

Fig. II: Diagrama de níveis de energia para DBA

k_F , k_P , k_{isc} , k_{ic} e k_d são, respectivamente, as constantes de velocidade para os processos de fluoreescên

cia, fosforescência, cruzamento intersistema (transição single-triplete), conversão interna e desativação térmica de $^3\text{DBA}(T_1)$.

A fluorescência do quelato $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$ apresenta um coeficiente negativo de temperatura muito grande e depende também do solvente (Winston e colab., 1963; Filipescu e colab., 1966), o que impõe a necessidade de se determinar experimentalmente ϕ_F do quelato nas temperaturas T_1 e T_2 e no solvente escolhido.

Em geral, os valores experimentais de energia de ativação para a termólise de cada dioxetano, determinados pela projeção de Arrhenius ou pelo "método da queda de temperatura" coincidem dentro de $\pm 1\text{kcal/mol}$.

A inspeção dos parâmetros de ativação da termólise de dioxetanos já isolados, tabelados nos artigos de revisão de Wilson (1976), Adam (1977) e Horn e colab. (1978-1979), indicam que, em geral:

(i) dioxetanos di e trissubstituídos ($E_a \sim 22-24$ kcal/mol) são menos estáveis que dioxetanos tri e tetrasubstituídos ($E_a \sim 25-35$ kcal/mol)

(ii) substituição de grupo alquil por aril não altera significativamente a energia de ativação:

	E_a (kcal/mol) (ref.)
$R_1 = R_2 = \text{Me}$ 23,0 (Richardson e colab., 1972) $R_1 = \text{Me}; R_2 = \text{Ph}$ 22,9 (Richardson e colab., 1972) $R_1 = R_2 = \text{Ph}$ 22,6 (Richardson e colab., 1974d)
$R_1 = R_2 = R_3 = \text{Me}$ 23,5 (Kopecky e colab., 1975) $R_1 = R_2 = \text{Me}; R_3 = \text{C}(=\text{O})\text{Me}$ 26,0 (Horn e Schuster, 1978)
$R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = \text{Me}$ 26 ± 2 (Wilson, 1976) $R_1 = R_2 = \text{Me}; R_3 = R_4 = \text{Ph}$ 25 ± 1 (Umbreit e White, 1976)

(iii) os dioxetanos mais estáveis são aqueles que contêm grupos volumosos, rígidos, que resultem em impedimento estérico:

$E_a = 30,3$ kcal/mol (McCapra e Behesti, 1977)

$E_a = 34,4$ kcal/mol (Schuster e colab., 1975)

$E_a = 28,6 \text{ kcal/mol}$ (Wilson e colab., 1976)

(iv) as dioxetanonas e dioxetanos com substituintes heteroaromáticos (derivados de acridina, por ex.), estruturas-modelo para intermediários "ricos em energia" de sistemas quimi- e bioluminescentes, são menos estáveis:

E_a (kcal/mol)

$R_1 = R_2 = \text{Me}$

14,3 (Adam e Steinmetz, 1972)

$R_1 = \text{H}; R_2 = \text{t-Bu}$

19,4 (Adam e Liu, 1972)

$E_a = 17,2 \text{ kcal/mol}$

(Lee e colab., 1976)

$E_a = 19,7 \text{ kcal/mol}$

(Macapra e colab., 1977)

Enquanto a vida média de α -peroxilactonas e de dioxetanos heteroaromáticos é da ordem de 10 minutos à temperatura ambiente, aquela dos demais dioxetanos é de dias ou anos.

1.6. Cálculos termoquímicos

Richardson e colab. (O'Neal e Richardson, 1970 ; Richardson e O'Neal, 1972; Richardson e colab., 1972, 1974d) calcularam propriedades termodinâmicas e cinéticas para a decomposição térmica de vários dioxetanos di, tri e tetra substituídos, baseados na "aditividade de propriedades de gru-

pos", método desenvolvido por Benson (Benson, 1968; Benson e colab., 1969). Segundo Benson, as propriedades termodinâmicas (ΔH_f^0 , S^0 e C_p^0) de um composto são dadas pela soma das contribuições parciais de propriedades de grupos atômicos. Nos cálculos de ΔH_f^0 são consideradas, além da contribuição de grupos, as correções devido a interações "cis", interações "gauche" e tensão de anel. A entalpia de reação (ΔH_r^0) pode, assim, ser estimada pela diferença $\sum \Delta H_f^0$ (produtos) - $\sum \Delta H_f^0$ (reagentes). Aplicando o "método da aditividade de grupos" à termólise de dioxetanos di, tri e tetrasubstituídos por grupos metil, O'Neal e Richardson (1970, 1971) obtiveram valores de ΔH_r^0 variando na faixa de -59 a -69 kcal/mol. Como o valor do ΔH^0 de tensão do anel dioxetânico não é conhecido, assumiu-se nos cálculos a mesma tensão do anel ciclobutânico (~ 26 kcal/mol) ou oxetânico (25,2 kcal/mol) (Benson, 1968; Eigenmann e colab., 1973). Lembrando-se que os valores experimentais das energias de ativação para termólise daqueles dioxetanos variam entre 23 e 26 kcal/mol, a energia disponível para excitação dos produtos estaria na faixa de 82 a 95 kcal/mol (E_T e E_S de aldeídos e cetonas alifáticas < 85 kcal/mol; Turro, 1969).

Empregando, ainda, métodos termoquímicos, O'Neal e Benson (1968) calcularam os parâmetros de ativação para decomposição de derivados ciclobutânicos em dois fragmentos etilênicos; assumiram um mecanismo via diradical para estas clivagens (veja eq. 1 abaixo. Os valores estimados de $\log A$ e E_a concordaram com os valores observados, dentro dos

limites de erro experimental ($\pm 0,3$ para $\log A$ e $\pm 1,5$ kcal/mol para E_a). O'Neal e Richardson (1970), de modo análogo, examinaram as exotermicidades das reações competitivas do di-radical tetrametileno (XVIII, na eq. 1) em relação às reações correspondentes para os dioxi-radicais (XVIX) que postularam como intermediários na termólise de dioxetanos (eq. 2, a seguir), tendo encontrado os seguintes valores:

$$\Delta H_{-3,3}^{\circ} = 56,5 \text{ kcal/mol}$$

$$\Delta H_{-4,4} = -36 \text{ kcal/mol}$$

$$E_{-3} = 6,7 \text{ kcal/mol e } E_4 = 6,5 \text{ kcal/mol,}$$

onde E é a energia de ativação da etapa.

$$\Delta H_{-1,1}^{\circ} = 13 \text{ a } 16 \text{ kcal/mol}$$

$$\Delta H_{-2,2}^{\circ} = -(68 \text{ a } 85) \text{ kcal/mol}$$

Os dois sistemas eram termoquimicamente semelhantes (etapas 1 e 3, endotérmicas e etapas 2 e 4, exotérmicas). Baseando-se na relação de Evans-Polanyi (1938) e em postulados de Hammond (1955), O'Neal e Richardson concluíram que $E_{-1} > E_{-3}$

e $E_2 < E_4$. Considerando que as entropias de ativação para as reações competitivas nos dois sistemas deveriam ser similares e como $E_{-3} \approx E_4$ ($\sim 6,5$ kcal/mol), aqueles autores postularam que a velocidade de termólise de dioxetanos é determinada pela clivagem do anel dioxetânio formando um intermediário diradicalar.

As energias de ativação para termólise dos dioxetanos metílicos foram calculadas por O'Neal e Richardson pela expressão:

Equação II:

$$E_a = \Delta H_{1,-1}^0 + E_{-1}$$

onde E_{-1} representa uma barreira energética para recombinação do diradical.

Os valores de $\Delta H_{1,-1}^0$ para cada dioxetano foram calculados a partir das tabelas de Benson (1968) e E_{-1} foi avaliado como $\sim 8,5$ kcal/mol, obtido a partir do valor experimental da E_a para o trimetildioxetano (E_a (exp.) = $23,7$ kcal/mol; $\Delta H_{1,-1}^0$ (calc.) = $15,2$ kcal/mol).

Ao aplicar a relação de Evans-Polanyi aos valores experimentais observados para derivados de ciclobutano, O'Neal e Richardson obtiveram $E_{-1} = -0,104 \Delta H_{1,-1}^0 + 12,2$. A energia de ativação calculada para o trimetildioxetano por esta equação ($E_{-1} = 10,6$) seria $25,8$ kcal/mol. Aqueles autores concluem que o cálculo de E_a por esta equação fornece va

lores máximos.

Os valores de E_a para dioxetanos metílicos, calculados por O'Neal e Richardson e corrigidos para o valor mais recente da tensão do anel oxetânico (25,2 kcal/mol; Eigenmann e colab., 1973), são muito consistentes quando comparados aos valores experimentais (tabela I). Fazendo-se esta correção E_a é dada pela expressão: $E_a = \Delta H_{1,-1}^0 + 9,3$. A figura III ilustra as idéias de O'Neal e Richardson sobre a termoquímica da clivagem de trimetildioxetano e a energia de excitação disponível para excitação dos produtos, interpretadas por Horn e colab. (1978-79).

Tabela I: Energias de ativação (E_a) calculadas para a termólise de dioxetanos (O'Neal e Richardson, 1970).

$$E_a = \Delta H_{1,-1}^0 + 9,3$$

Dioxetano	E (calc.) kcal/mol	E (exp.) kcal/mol	Ref.
$R_1=R_2=R_3=R_4=H$	21,8	$22,3 \pm 1,3$	Bogan et al (1976)
$R_1=R_2=Me; R_3=R_4=H$	23,7	$23,0 \pm 1$	Richardson e colab. (1972)
$R_1=R_2=R_3=Me; R_4=H$	24,5	$(23,5 \pm 0,5)$	Kopecky e colab. (1975)
$R_1=R_2=R_3=R_4=Me$	25,5	26 ± 1	Wilson (1976)

Figura III: Termoquímica da clivagem de trimetrildioxetano, segundo Horn e colab., (1978-79).

1.7. Multiplicidade e rendimentos quânticos de produtos excitados ($^3\phi$ e $^1\phi$)

A luminescência azulada ($\lambda_{\text{max}} \sim 400\text{nm}$) emitida por solução aerada aquecida de TMD foi atribuída por Turro e Lecht em (1972) à fluorescência de acetona (singlete) produzida na termólise. Sob N_2 , a emissão foi intensificada de cerca de 30 a 100 vezes e deslocada para $\sim 435\text{nm}$ (Turro e colab., 1973b). A magnitude do deslocamento e a supressão desta nova emissão por O_2 , dienos conjugados e acrilonitrila conhecidos desativadores de cetonas tripletes (Wagner, 1967) levaram-nos a concluir que se tratava de emissão fosforescente de acetona.

Os rendimentos quânticos de singletes e triple-

tes, $^1\phi$ e $^3\phi$, respectivamente, foram avaliados a partir da relação de intensidades de quimiluminescência sob O_2 e sob N_2 ($I_F/I_P = 0,01 - 0,03$), da relação de intensidades de a cetona fotoexcitada sob O_2 e sob N_2 ($I_F^*/I_P^* = 1,5$) e do rendimento absoluto de quimiluminescência sob O_2 (via actinometria com ferrioxalato):

$$^1\phi \sim 0,5\% \quad \text{e} \quad ^3\phi \sim 50\%$$

Outras metodologias de maiores precisão e sensibilidade foram desenvolvidas posteriormente para "contagem" dos singletes e dos tripletes gerados na decomposição térmica de dioxetanos. Distinguimos, aqui:

(i) métodos fotofísicos, que se baseiam na medida da quimiluminescência direta (Turro e colab., 1973b) ou a quimiluminescência indireta, na presença de aceptores e eficientemente fluorescentes adicionados ao sistema: DBA e $Eu(TTA)_3Phen$, por ex., para dosagem de tripletes e DPA e perileno, como "contadores" de singletes (Wilson e Schaap, 1971; Steinmetzer e colab., 1973; White e colab., 1973).

(ii) métodos fotoquímicos, ou "contagem química", os quais se baseiam na medida de fotoprodutos (FP) formados (a) por conversão fotoquímica, intramolecular, da cetona excitada, (b) por reação da cetona excitada com um aceptor (sequestrador) adicionado ao sistema ou (c) pela conversão fotoquímica num acceptor adicionado, induzido pela acetona excitada (Esquema IV).

Esquema IV:

1.7.1. Determinação de $^3\phi$ e $^1\phi$ via medida de quimiluminescência indireta

Os estudos de Vassil'ev (1967) sobre transferência de energia de acetofenona triplete para DBA foram ponto de partida para que se desenvolvesse um método muito conveniente para determinação dos rendimentos quânticos absolutos de espécies singletes ($^1\phi$) e de tripletes ($^3\phi$), geradas na termólise de dioxetanos (Wilson e Schaap, 1971 ; Steinmetzer e colab., 1973; Wilson, 1976). O método se baseia em medidas da fluorescência emitida por aceptores específicos adicionados, em várias concentrações, à solução de dioxetano. Os aceptores são energizados por transferência da energia de excitação dos produtos de termólise:

e eficiência unitária. Com DBA, a transferência TS (2) ocorreria a uma velocidade controlada por difusão ($k_{TS} \approx 10^9 M^{-1} s^{-1}$) com uma eficiência de 0,03 (Belyakov e Vassil'ev, 1970) ou 0,3 (Berenfel'd e colab., 1970). Belyakov e Vassil'ev (1970) concluíram que a transferência TS para DPA como acceptor ("proibida" pela regra do spin) era cerca de 10^2 vezes mais lenta que para DBA (efeito do átomo pesado). Turro e Steinmetzer (1974) e Adam e colab. (1978), baseados em estudos de transferência de energia TS em matrizes de poliestireno, sugeriram que este processo poderia ocorrer a longa distância, com $k_{TS} \sim 10^9 M^{-1} s^{-1}$.

(iv) Na eq. (3), $\phi_F^{DPA} \approx 1$ e independente da temperatura (Parker e Joyce, 1967); $\phi_F^{DBA} = 0,10$ a $20^\circ C$ e apresenta um coeficiente de temperatura negativo ($E(^1DBA^*) = -4,5 \text{ kcal/mol}$) (Wilson e Schaap, 1971).

Quando soluções de dioxetanos e dioxetanonas são aquecidas na presença de DBA e de DPA, em igual concentração, geralmente $I_{DBA} \gg I_{DPA}$ (Wilson, 1976). Esta é, sem dúvida, indicação de que $^3\phi \gg ^1\phi$, considerando-se os argumentos (iii) e (iv) discutidos anteriormente (ϕ_{TS}^{DBA} e ϕ_F^{DBA} são $<$ e ϕ_{SS}^{DPA} e $\phi_F^{DPA} \approx 1$). Pode-se demonstrar, por tratamento de estado estacionário (veja Apêndice I), que a intensidade de emissão oriunda de solução de dioxetano na presença de DBA e DPA como aceptores (A), a uma dada temperatura, é dada pela expressão:

Equação III:

$$I = \frac{k_1 [D] {}^3\phi \phi_F^A k' [A]}{k'' + k_{TE} [A]}$$

onde, k_1 = constante de termólise do dioxetano a uma dada temperatura;

$[D]$ e $[A]$ = concentração de dioxetano e de acceptor, respectivamente;

${}^3\phi$ ou ${}^1\phi$, rendimentos quânticos de tripletes ou singletes;

k'' = soma das constantes de velocidade dos processos de desativação não radiativa do doador singlete ou triplete; desativação térmica, supressão por O_2 , supressão pelo solvente, etc); $1/k'' = \tau$, vida média da espécie excitada, na ausência de acceptor;

k' = constante de transferência TS (DBA) ou SS (DPA);

k_{TE} = soma das constantes dos processos de transferência de energia do doador para acceptor.

No caso de DBA como acceptor:

Equação IV:

$$I_{DBA} = \frac{k_1 [D] {}^3\phi \phi_F^{DBA} k_{TS} [DBA]}{k_T + k_{TE} [DBA]}$$

$k_{TE} = k_{TS} + k_{TT} + k'_{TS}$, referindo-se aos processos competitivos:

O quociente $k_{\text{TS}}/(k_{\text{TS}} + k_{\text{TT}} + k'_{\text{TS}})$ é a eficiência de transferência de energia levando a ${}^1\text{DBA}^*$ ($\phi_{\text{TE}}^{\text{DBA}}$), o qual emite em seguida a fluorescência.

No caso de DPA como acceptor:

Equação V:

$$I_{\text{DPA}} = \frac{k_1 [\text{D}] {}^1\phi \phi_{\text{F}}^{\text{DPA}} k_{\text{SS}} [\text{DPA}]}{k_{\text{S}} + k_{\text{TE}} [\text{DPA}]}$$

$$k_{\text{TE}} \sim k_{\text{SS}}, \text{ já que } k_{\text{SS}} \gg k_{\text{ST}}, k'_{\text{SS}}$$

$$\phi_{\text{F}}^{\text{DPA}} \text{ e } \phi_{\text{TE}}^{\text{DPA}} \approx 1$$

Projetando-se as intensidades de emissão I_{DBA} e I_{DPA} , medidas em condições de concentração de dioxetano e de temperatura constantes, para várias concentrações de acceptor, obtém-se uma curva de saturação do tipo Michaeliana. A projeção dos inversos de intensidade I_{DBA} versus concentração de acceptor, fornece uma reta correspondente à equação:

Equação VI:

$$\frac{1}{I_{\text{DBA}}} = \frac{1}{k_1 [\text{D}] {}^3\phi \phi_{\text{F}}^{\text{DBA}} \phi^{\text{DBA}}} + \frac{k_{\text{T}}}{k_1 [\text{D}] {}^3\phi \phi^{\text{DBA}} k_{\text{TS}}} \times \frac{1}{[\text{DBA}]}$$

O coeficiente linear da reta (Y_{int}), que representa o valor de intensidade extrapolado para concentração infinita de acceptor, permite o cálculo de ${}^3\phi$; k_1 , $[D]$, ϕ_F^{DBA} e ϕ_{TE}^{DBA} são conhecidos. Portanto,

Equação VII:

$${}^3\phi_{obs}^{DBA} = \frac{1}{k_1 [D] Y_{int}} \quad \text{e} \quad {}^3\phi = \frac{{}^3\phi_{obs}^{DBA}}{\phi_{TE}^{DBA} \times \phi_F^{DBA}}$$

Wilson (1976) reinvestigou o sistema acetofenona triplete/DBA, em benzeno deaerado, pelo método de Berenfel'd e colab. (1970), e encontrou para este par $\phi_{TS} = 0,20 \pm 0,05$. Usando ciclohexanona triplete como doador, Belyakov e Vassil'ev (1970) chegaram a um valor de ϕ_{TS}^{DBA} menor (fator de 0,63) que aquele determinado para acetofenona. Os valores de ϕ_{TS} para diversos pares cetona triplete/DBA, em vários solventes, não são conhecidos. Para todos os casos, tem-se assumido que $\phi_{TS}^{DBA} \sim 0,20$.

No caso de DPA como acceptor, assumindo-se $k_{TE} = k_{SS}$,

Equação VIII:

$$\frac{1}{I_{DPA}} = \frac{1}{k_1 [D] {}^1\phi} + \frac{k_S}{k_1 [D] {}^1\phi} \times \frac{1}{[DPA]}$$

Assim, ${}^1\phi$ pode ser calculado diretamente do coeficiente linear (y_{int}) da projeção dos inversos de intensidade versus

concentração de DPA (ϕ_F e $\phi_{TE} \approx 1$):

Equação IX:

$$\phi_{obs}^{DPA} = \phi \frac{1}{k_1 [D] Y_{int}}$$

A "projeção dos inversos" fornece ainda informações importantes sobre a vida média da espécie excitada, τ , sendo interceptada pelo acceptor, nas condições da experiência:

Com DBA como acceptor:

$$\frac{Y_{int}}{\text{Tangente}} = k_{TE} \tau_T, \text{ em } M^{-1} \quad \text{e} \quad \tau_T = \frac{1}{k_T} = \frac{Y_{int}}{\text{Tg} \times k_{TE}}, \text{ em s.}$$

$$k_{TE} = k_{TS} + k_{TT} + k'_{TS} = 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ em benzeno (Berenfeld e colab., 1970).}$$

Com DPA como acceptor:

$$\tau_S = \frac{1}{k_S} = \frac{Y_{int}}{\text{Tg} \times k_{SS}}$$

$$k_{SS} > 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \quad (\text{Turro e colab., 1973})$$

Wilson e colab. (1976) obtiveram os seguintes valores de $k_{TE}\tau$ determinados pelo "método da projeção dos inversos", para o caso do TMD em benzeno aerado:

	$k_{ET}\tau, \text{M}^{-1}$	$\tau, \text{s (calc.)}$	$\tau, \text{s (lit.)}$
DBA	380	8×10^{-8}	$3 \text{ a } 5 \times 10^{-8}$ (acetona triplete) ^(a)
DPA	70	$< 7 \times 10^{-9}$	2×10^{-9} (acetona singlete) ^(b)

(a) valor obtido por extrapolação de estudos realizados por Porter e colab. (1973) e Loufty e Yip (1973);

(b) Steinmetzer e colab., 1973.

Estes dados confirmam que a espécie doadora para excitação de DBA é acetona triplete e para DPA, acetona singlete.

White e colab. (1973) introduziram o uso do quelato de európio, $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$, para "contagem" de tripletes gerados na termólise de dioxetanos, baseando-se em trabalhos de Belyakov e Vassil'ev (1970), Crosby e colab. (1961) e El-Sayed e Bhaumik (1963). Wilson (1976) discutiu em seu artigo de revisão as limitações do uso deste acceptor, apontando como problemas mais sérios a dependência não linear de ϕ_F do quelato com a temperatura, a incerteza de ϕ_F determinado fotofisicamente ser o mesmo que no sistema dioxetano/quelato e a pequena estabilidade do complexo a temperaturas acima da ambiente.

A Tabela II contém os parâmetros ${}^3\phi$ e ${}^1\phi$ determinados para alguns dioxetanos pelo "método da projeção de inversos". Examinando-se esta tabela, vemos que a termólise de dioxetanos e dioxetanonas gera preferencial e eficientemente produtos no estado triplete (${}^3\phi/{}^1\phi \sim 10 - 10^3$). Os dioxetanos mais estáveis da série apresentada na tabela, isto é, o tetrametóxidioxetano ($E_a = 28,6 \text{ kcal/mol}$; Wilson e colab., 1976) e o biadamantilideno dioxetano ($E_a = 34,4 \text{ kcal/mol}$;

Schuster e colab., 1975) foram os que apresentaram, relativamente, maior rendimento de singletes ($\sim 1\%$). Discutiremos, posteriormente, a importância histórica e consequências destes resultados.

Outra observação importante diz respeito ao padrão de luz usado na calibração dos fotômetros para determinação dos rendimentos absolutos $^3\phi$ e $^1\phi$. Geralmente são usados o padrão radiativo de Hastings e Weber (1963, 1965) e, com menor frequência, o padrão baseado na reação quimiluminescente de luminol com H_2O_2 /hemina (Lee e Seliger, 1965). Os rendimentos $^3\phi$ e $^1\phi$ quando determinados com o padrão de luminol (veja na tabela II - $^3\phi$ e $^1\phi$ para trimetil- e tetrametildioxetano) são sistematicamente inferiores por um fator de 0.5. A baixa reprodutibilidade associada ao uso do padrão de luminol é atribuída às dificuldades experimentais para medida da oxidação quimiluminescente deste composto ($\tau_{1/2} \sim 1$ min) e à pureza do oxidante, hemina (Wilson, 1976; "Workshop on Chemi- and Bioenergized Processes", Instituto de Química da USP, São Paulo, agosto de 1978).

Finalmente, a produção preferencial de tripletes (não emissivos) na termólise de dioxetanos e dioxetanonas questiona a hipótese de que estes compostos são os intermediários responsáveis pela etapa de quimiexcitação em sistemas quimi- e bioluminescentes clássicos, onde ocorre produção eficiente de espécies singletes (emissivas).

TABELA II - $^3\phi$ e $^1\phi$ determinados para diversos dioxetanos pela projeção
 $1/I$ versus $1/|\text{aceptor}|$; aceptores: DBA e DPA.

Compostos	Solvente	$^1\phi$	$^3\phi$	$^3\phi/^1\phi$	Ref.
CCl/benzeno	-	0,50	-	Wilson e colab. (1973)
benzeno	2×10^{-3}	0,50	250	Turro e colab. (1974)
	tolueno	7×10^{-5a}	0,12	1700	Kopecky, citado por Wilson (1976)
benzeno	$2,5 \times 10^{-3}$	0,50	200	Turro e colab. (1974)
	tolueno	$2,5 \times 10^{-4a}$	0,22 ^a	900	
	benzeno	$1,5 \times 10^{-3}$	0,30	200	Wilson e colab. (1976)
tolueno	2×10^{-4a}	0,17 ^a	900	Kopecky, citado por Wilson (1976)
benzeno	1×10^{-4}	0,30	3000	Wilson e colab. (1976)
xilenos	0,01	0,10	10	Wilson e colab. (1976)
5×10^{-4}	0,05	100	Adam e colab. (1974)
5×10^{-4}	0,15	300	Adam e colab. (1974)
(0,02) ^b	0,15	7,5	Schuster e colab. (1975)

a - $^1\phi$ e $^3\phi$ determinados contra padrão de luminol.

b - $^1\phi$ determinado por "contagem" química.

1.7.2. Determinação química de $^3\phi$ e $^1\phi$

A produção de estados excitados, gerados na termólise de dioxetanos pode, em princípio, ser avaliada pela dosagem de fotoprodutos (geralmente, via cromatografia gás-líquido) originados de transformações fotoquímicas no próprio produto excitado ou num aceptor adicionado ao sistema.

Turro e Lechtken (1972) introduziram o uso de dicianoetileno (DCE) para "contagem" química de acetona singlete e triplete formadas na termólise de TMD. A viabilidade do método se baseava na dosagem do produto de cicloadição de acetona singlete a trans-DCE e de cis-DCE, isomerizado por acetona triplete:

Determinados os rendimentos fotoquímicos de isomerização de

trans-DCE ($\phi_{\text{fotoq.}} \approx 0,10$) e da cicloadição ($\phi_{\text{fotoq.}} \approx 0,08$), e dosados estes produtos, formados durante termólise de TMD, Turro e Lechtken obtiveram $^3\phi = 0,48$ e $^1\phi = 0,0018$. Estes resultados foram consistentes com aqueles determinados via quimilunescência sensibilizada por DPA e DBA ($^1\phi = 0,0025$ e $^3\phi = 0,50$; Turro e colab., 1974). Recentemente, durante o "Workshop on Chemical and Bioenergized Processes" (São Paulo, 1978), foi comunicado por vários de seus participantes o fato de que os resultados de Turro e colab. obtidos por "titulação química" com DCE não puderam ser reproduzidos.

A Tabela III mostra a inconsistência dos valores de $^3\phi$ obtido por diferentes métodos, fotofísicos e fotoquímicos, para a termólise de trimetildioxetano.

Tabela III. Rendimento quântico de acetona triplete ($^3\phi$) produzida na termólise de trimetildioxetano.

Método	Ref.	$^3\phi$
Isomerização de <u>trans</u> -estilbeno	White e colab. (1970, 1973)	0,04*
Eu(TTA) ₃ Phen	White e colab. (1973)	0,14
	e Turro e colab. (1973a)	
DBA	Turro e colab. (1974)	0,50

* Dado não reprodutível (A.L. Baumstark, Georgia State University, Atlanta, Ge., USA; comunicação pessoal)

A fonte provável de erro na determinação exata e precisa de $^3\phi$ e $^1\phi$ por "contagem química" parece estar na necessidade de se assumir que o conteúdo de energia eletrônica e vibracional do estado excitado não altera sua reatividade química. Em outras palavras, no cálculo dos rendimentos $^3\phi$ e $^1\phi$ via química, assume-se que o rendimento de transformação fotoquímica ($\phi_{\text{fotoquim.}}$) é o mesmo quer a espécie seja excitada fotofisicamente (irradiação) ou quimicamente (termólise do dioxetano).

Dois outros trabalhos de grande repercussão na área, onde foi usada "contagem química" de espécies excitadas, foram de Darling e Foote (1974) e o de Zimmerman e colab. (1975, 1976).

Darling e Foote (1974) comunicaram que a clivagem térmica do 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano (DMDBD), em decalina como solvente, produz 5% de 2-hexanona no estado singlete e 3,5% de 2-hexanona triplete. Estes rendimentos foram determinados a partir da dosagem de fotoprodutos (acetona e cis,trans-1,2-dimetilciclobutanol) formados por abstração γ de H e clivagem β na 2-hexanona excitada formada na termólise (clivagem Norrish tipo II) e dos rendimentos fotoquímicos da clivagem.

O dioxetano DMDBD ($^3\phi/^1\phi \sim 0,7$) contrariava, assim, a regra geral de formação preferencial de tripletes manifestada por todos os dioxetanos sintetizados até a época. Este dioxetano se comportava de modo análogo ao tetrametóxidioxetano, na medida em que, em ambos os casos, o rendimento total de quimiexcitação (8,5% para DMDBD e 11% para tetrametóxidioxetano) era relativamente mais baixo que o observado para os dioxetanos alquílicos ($\phi_{\text{total}} \simeq 20 - 30\%$) e a relação $^3\phi/^1\phi$ era 0,7 e 10, respectivamente, ao invés de $10^2 - 10^3$ (veja tabela II). Estes resultados levantaram a possibilidade de que substituição apropriada em dioxetanos com grupos "flexíveis" poderia resultar num aumento relativo de $^1\phi$ (Wilson e colab., 1976). Deste modo, fez-se uma previsão demasiadamente otimista, porque sugeria que dioxetanos-modelo estáveis para quimi- e bioluminescência poderia ser sintetizados por simples substituição alquílica. A probabilidade de êxito era pequena, porque os compostos quimiluminescentes clássicos e as luciferinas de vagalume, do crustáceo Cypridina e dos coelenterados Renilla e

Aequorea (McCapra, 1970) têm estrutura aromática, rígida, planar, o que poderia estar associado à grande eficiência na produção de singletes.

Zimmerman e colaboradores (1975, 1976) prepararam, via fotooxigenação, uma série de dioxetanos substituídos com um anel 1,4-ciclohexadiênico (XVIII) e estudaram suas propriedades. O aquecimento destes dioxetanos levou a uma mistura dos produtos esperados da clivagem (XIX e XX) e do fotoproduto (XXI) resultante de "fotoquímica" no fragmento ciclohexadienônico (XX).

Aqueles autores verificaram, através da dosagem do fotoproduto, que a natureza do substituinte R teve pouca influência sobre os rendimentos de ciclohexanona excitada (triplete): 12 a 17%. A excitação preferencial do fragmento ciclohexadienônico no caso do dioxetano com substituinte β-naf -

til (XVIIIc) foi inesperada, porque a excitação triplete da ciclohexadienona (XX) (configuração $n\pi^*$) requer mais energia que a excitação triplete do outro fragmento - β -acetonaftona (XIXc) (configuração $\pi\pi^*$):

$E_T(4,4\text{-difenil-2,5-ciclohexadienona})$: 68,5 kcal/mol

$E_T(\beta\text{-acetonaftona})$: 59 kcal/mol

Duas observações merecem destaque neste ponto:

(i) os autores não fizeram nenhuma menção a quimiluminescência; na verdade, não investigaram se a termólise daqueles dioxetanos era quimiluminescente ou não (comunicação pessoal de G.E. Keck, Harvard University, Cambridge, USA). Assim, não se pode excluir a possibilidade de que tenha ocorrido partição da energia de excitação entre os dois fragmentos, tal como acontece com o 1,1-dimetil-2-acetildioxetano (Horn e Schuster, 1978), e a emissão luminescente de acetonaftona tenha passado despercebida.

(ii) a síntese daqueles dioxetanos, com altos rendimentos (54 a 86%), pelo método da fotooxigenação, é surpreendente. A fotooxigenação de olefinas com hidrogênios alílicos leva geralmente à formação quase quantitativa do hidroperóxido alílico (adição-1,3) (Kearns, 1971; Foote, 1968), a não ser que haja rigidez na molécula impedindo formação da ligação dupla (Shuster e colab., 1975):

A conclusão mais significativa do trabalho de Zimmerman e colab., dentro da perspectiva de síntese de dioxetanos-modelo para quimi- e bioluminescência, foi que a clivagem térmica de dioxetanos favorece a formação de uma espécie excitada de configuração $n\pi^*$, mesmo que haja um estado $\pi\pi^*$ disponível, de mais baixa energia. Em quimi- e bioluminescência clássicas, o produto excitado tem caráter predominantemente $\pi\pi^*$ (Hastings e Wilson, 1976; McCapra, 1976)

1.8. Mecanismos de clivagem de dioxetanos

Anteriormente ao isolamento do primeiro dioxetano por Kopecky e Mumford (1968), McCapra (1968) já havia postulado que a clivagem "concerted" de um dioxetano deveria ser quimiluminescente. Segundo este mecanismo, durante a clivagem do dioxetano, a quebra das ligações O-O e C-C ocorrem simultaneamente à formação das carbonilas:

Os diagramas de correlação de orbitais de simetria e de es-

tado de Kearns (1969, 1971) e de McCapra (1968, 1970), baseados nas regras de Hoffmann-Woodward (1968), mostraram que a configuração eletrônica do dioxetano no estado fundamental somente poderia ser correlacionado com um estado eletronicamente excitado do produto carbonílico. Para que ocorresse produção de cetona apenas no estado fundamental, o dioxetano precisaria estar duplamente excitado. Os cálculos de Kearns previam ainda que deveria ocorrer formação preferencial de espécies tripletes na termólise.

Por outro lado, Richardson e colab. (1972, 1974b) propuseram um mecanismo via diradical para clivagem de dioxetanos:

Alguns dos argumentos em favor deste mecanismo (Horn e colab., 1978-79; Wilson, 1976), sucintamente, são:

(i) a estabilidade dos dioxetanos não é significativamente alterada pela substituição de grupos metil por grupos fenil ou acil (veja conclusões do item 1.5). No mecanismo "concerted" a estabilidade do dioxetano deveria ser reduzida por substituintes em conjugação com a carbonila sendo formada no estado de transição; no diradical de Richardson, não há conjugação com os substituintes.

(ii) os dioxetanos mais estáveis contêm grupos

volumosos (item 1.5). A presença de grupos volumosos não deveria afetar a estabilidade do dioxetano, se os dois fragmentos se afastam "simultaneamente"; por outro lado, impedimento estérico deveria favorecer a recombinação do diradical, resultando em maior estabilidade.

(iii) substituição de H por D no anel do tetrafenildioxetano não produziu efeito isotópico secundário mensurável na cinética de sua termólise (Koo e Schuster, 1977). O mecanismo "concerted" prevê um efeito isotópico pois no estado de transição ocorre mudança de hibridização do anel de sp^3 para sp^2 .

(iv) as energias de ativação de 1,2-dietóxido-dioxetano e p-dioxeno dioxetano são quase idênticas (Wilson e colab., 1976), apesar das 3-4 kcal/mol de tensão de anel incorporada no dioxetano bicíclico. Esta observação indica que a tensão é "aliviada" após o estado de transição (diradical) ter sido atingido.

$$E_a = 24,6 \pm 1 \text{ kcal/mol}$$

$$E_a = 24,4 \pm 1 \text{ kcal/mol}$$

(v) cálculos teóricos e semi-empíricos posteriores aos de Kearns e McCapra (veja citações em Adam, 1977) mostraram que a abertura do anel dioxetânico formando um diradical era preferida sobre uma clivagem "concerted" e que deveria ocorrer produção preferencial de tripletes na termólise.

lise.

1.9. Dioxetanos hipotéticos em quimi- e bioluminescência

O problema central e mais difícil na investigação de sistemas quimiluminescentes (a) e bioluminescentes (b) reside na caracterização do intermediário "rico em energia" e do mecanismo pelo qual, na etapa de quimi - excitação, ele gera o produto eletronicamente excitado (singlete):

Na maioria dos casos, a identificação do emissor, ${}^1\text{P}^*$, não oferece dificuldades pois o espectro de luminescência frequentemente coincide com o espectro de fluorescência do produto. O isolamento do intermediário, por sua vez, é extremamente difícil, se não impossível do ponto de vista experimental, dado a sua alta instabilidade, condição esta necessária para que a luminescência seja intensa, brilhante. Usando de cromatografia de papel a baixa temperatura ($< -20^\circ\text{C}$) em etilenoglicol-tampão fosfato (1:1), Hastings e colab. (1973) conseguiram isolar e caracterizar parcialmente o intermediário do sistema bioluminescenen

te, "in vitro", de bactérias Photobacterium fisherii, isoladas do órgão luminoso do "peixe-lanterna" (Photoblepharon palpebratus). A estrutura postulada para o intermediário (Eberhard e Hastings, 1972), foi recentemente confirmada por espectros de ressonância magnética de ^{13}C (J.W. Hastings, Harvard University, Cambridge, USA; comunicação pessoal).

Rauhut (1969 e ref. aí citadas) e McCapra e Richardson (1964, 1965) foram os primeiros a sugerir, independentemente, que certas decomposições de peróxidos numa única etapa ("concerted") poderiam acomodar os requisitos energéticos e cinéticos necessários à proposição de um modelo para quimiluminescência eficiente. Ambos os grupos selecionaram o sistema quimiluminescente de acridina e seus derivados como ponto de partida, em virtude da síntese fácil, da formação quase quantitativa de produtos e do alto rendimento quântico de fluorescência do produto responsável pela emissão. A reação quimiluminescente do sal de N-metilacridí¹nio (XXII) com H_2O_2 , em meio alcalino e THF como solvente, foi interpretada por Rauhut e McCapra segundo mecanismos diferentes (Esquema V).

Esquema V:

A identificação de N-metilacridona (NMA) excitada no estado singlete como emissor neste sistema foi inquestionável, na medida em que o espectro de quimiluminescência coincidiu com o espectro de fluorescência da acridona, obtido via irradiação. Os argumentos de McCapra (1970, e McCapra e colab., 1965) em favor de um intermediário cíclico (via a) -

dioxetanona (XXIII) - eram baseados no ataque intramolecu-
lar do grupo hidroperóxido, provavelmente mais favorecido,
e na maior nucleofilicidade deste grupo ($\sim 10^4$ vezes maior
que do íon hidróxido). O mecanismo de Rauhut envolvendo hi-
droperóxido linear (XXIV) (via b) postulava ataque externo
de OH^- . Em contrapartida, Rauhut e colab. (1965) observa-
ram que o sistema conservava as propriedades luminescentes
quando H_2O_2 era substituído por peróxidos orgânicos (R-OOH),
o que excluía a viabilidade do mecanismo de McCapra.

A oxidação de ésteres fenílicos de N-metila-
cridina reduzida (XXV) por O_2 em DMSO/t-butóxido (McCapra,
1970) produziu CO_2 e N-metilacridona. Considerando-se que
 $\phi_F^{\text{NMA}} = 0,42$, o rendimento de quimiexcitação no processo
foi calculado em 10-12%. McCapra interpretou estas reações
através de um mecanismo dia dioxetanona (Esquema VI)

Esquema VI:

A analogia entre os sistemas de acridina e os sistemas luciferina/luciferase de vagalume (McCapra e colab., 1968; White e colab., 1967) e do crustáceo Cypridina (McCapra e Chang, 1968) era evidente (Esquema VII). Em ambos os casos (sistemas quimi- e os bioluminescentes), o substrato ou luciferina contem um grupo metilênico "ativado" pela carbonila ($\text{CH}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-$, onde o H tem relativa acidez) e na oxidação leva à clivagem C-C, com formação de CO_2 e um produto carbonílico excitado responsável pela emissão.

Esquema VII:

Vagalume (Photinus pyralis)

Cypridina hilgendorffii:

O mecanismo comum, postulado por McCapra, para os processos quimiluminescentes de derivados de acridina e para os processos bioluminescentes, acha-se ilustrado abaixo. A formação de carbânion da luciferina seria promovida por grupos básicos no sítio ativo da luciferase (White e Branchini, 1975).

A controvérsia surgida entre McCapra e Rauhut-mecanismo via peróxido cíclico ou via peróxido linear? - para sistemas quimiluminescentes foi transportada para a área de bioluminescência. DeLuca e colab. (1971, 1976), através de experiências com marcação isotópica de oxigênio em O_2 e H_2O , obtiveram resultados para os sistemas luciferina-luciferase e para modelo de luciferina/ O_2 /ROO⁻/DMSO que apontavam a formação de um peróxido intermediário linear:

Os resultados de White e colab. (1975) com modelo de luciferina de vagalume/ O_2 / ROO^- /DMSO e aqueles de Shimomura e Johnson (1968, 1971, 1973, 1975) usando luciferina/lucifere-se, através das mesmas técnicas de marcação isotópica de oxigênio, favoreceram o mecanismo via dioxetanona:

Os diferentes resultados obtidos pelos dois grupos (DeLuca e Shimomura), atribuídos principalmente a dificuldades experimentais na determinação da extensão de troca de oxigênio-18

(entre CO_2 e H_2O , foram esclarecidos recentemente por Shimomura e Johnson (1977, 1978) em favor do intermediário dioxetanônico. Estes autores, em 1978, relataram seus resultados com luciferinas marcadas com ^{13}C (carbono carbonílico), $^{18}\text{O}_2$ e CO_2 contaminante do meio de reação substituído por $^{13}\text{CO}_2$, com os quais comprovaram inequivocamente o mecanismo postulado por McCapra no início da década de sessenta.

Paralelamente a estes estudos, foram feitas inúmeras tentativas de isolamento de dioxetano ou dioxetanona modelo para os sistemas luminescentes clássicos (veja, por ex., preparação de bis-N-metilacrilidenodioxetano por Lee e colab., 1976). Os requisitos para o modelo eram: estabilidade térmica suficiente para seu isolamento, produção eficiente e preferencial de espécies singletes e alto rendimento quântico de fluorescência do produto excitado (configuração $\pi\pi^*$). Entretanto, as tentativas esbarravam em dificuldades pela não compreensão de como estavam interligados estabilidade x mecanismo de clivagem x partição da energia de excitação em singletes e tripletes x natureza preferencial do estado excitado ($n\pi^*$ ou $\pi\pi^*$) (Hastings e Wilson, 1976). Dos trabalhos publicados na área de dioxetanos até meados de 1977, emergiram diversas "regras":

i - a clivagem térmica dos dioxetanos e dioxetanonas isolados produz com altos rendimentos espécies tripletes em detrimento a singletes ($^3\phi/^1\phi \sim 10 - 10^3$; item 1.7). A única exceção à regra era a termólise de 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano (Darling e Foote, 1974), onde $^1\phi/^1\phi \sim 1$.

ii - na termólise de dioxetanos, há formação preferencial de espécies excitadas de configuração $n\pi^*$, mesmo que haja a possibilidade e seja favorecida energeticamente a produção de uma espécie $\pi\pi^*$ (Zimmerman e Keck, 1975)

iii - dioxetanos hipotéticos cuja clivagem leva a espécies excitadas de natureza $\pi\pi^*$ são instáveis, e portanto seu isolamento seria extremamente difícil (Singer e Colab., 1976).

Hastings e Wilson (1976), em seu artigo de revisão "Bioluminescence and Chemiluminescence" externaram com pessimismo que "the goal of synthesising a stable dioxetane (or dioxetanone) able to generate a high yield of excited singlet carbonyls of high emission efficiency is perhaps unattainable".

Recentemente, McCapra e colab. (1977) refutaram numa comunicação, as três "regras" formuladas anteriormente, com a síntese e o estudo de três dioxetanos derivados de N-metilacridina (XXVI) (Esquema VIII).

Esquema VIII:

Dioxetano	Ea, kcal/mol	${}^1\phi^*$ (NMA)	ϕ^* (C)
a, $R_1 = H$ e $R_2 = Ph$	19,7	0,25	-
b, $R_1 + R_2 = 1\text{-adamantil}$	26,3	0,12	-
c, $R_1 + R_2 = $	-	0,059	0,013

Os três dioxetanos acima produziram preferencialmente N-metilacridona no estado singlete ($\pi\pi^*$) e apresentaram estabilidade comparável a dos dioxetanos e dioxetanonas já conhecidos. Com o dioxetano XXVIc mostraram que, ao contrário das conclusões do estudo de Zimmerman e Keck (1975), ocorreu uma distribuição da energia de excitação entre os dois fragmentos favorecendo ${}^1\text{NMA}^*$ cujo caráter é predominantemente $\pi\pi^*$ e de menor conteúdo energético que o fragmento ciclohexadienônico ($n\pi^*$).

Outro resultado importante deste trabalho foi a descoberta de que o dioxetano mais estável da série (XXVIb ,

$E_a = 26,3 \text{ kcal/mol}$) se decompõe rapidamente no contacto com sólidos como Al_2O_3 , SiO_2 , MgO . Excluída a possibilidade de catálise por contaminantes metálicos (Cu^{2+} , etc), a velocidade de termólise deste dioxetano aumentou de 2.5×10^6 vezes quando na presença de Al_2O_3 ; o rendimento observado de $^1\text{NMA}^*$ diminuiu de apenas 10 vezes. Trata-se portanto de uma catálise que resulta relativamente num aumento da eficiência de emissão. McCapra e colab. sugeriram então a possibilidade que a ligação do dioxetano hipotético à luciferase exerceria um efeito catalítico similar; quando isolados teriam uma vida média alta demais para produzir a emissão rápida ("flash") típica de organismos bioluminescentes.

Baseando-se nestes resultados e no fato de que a quimiluminescência de ésteres de ácido oxálico com H_2O_2 é catalisada por hidrocarbonetos de baixo potencial de oxidação (Rauhut, 1969), McCapra (1977) sugeriu que dioxetanos substituídos por, ou reagindo com compostos contendo grupos fortemente doadores de eletrons se decompõe via íons radicais e que a excitação ocorre por transferência de eletrons. Assim, algumas das reações já comentadas anteriormente se processariam segundo um mecanismo comum, mostradas no esquema IX:

Esquema IX:

A etapa de excitação consistiria na transferência de elétrons entre os dois íons-radicais tal como ocorre em eletroquimiluminescência (Visco e Chandross, 1964; Faulkner, 1974) e sistemas químicos luminescentes por transferência de elétrons (Hercules, 1969, White e colab., 1974). Nestes processos os potenciais redox das espécies envolvidas são cruciais para a eficiência. A excitação pode ocorrer por remoção de um elétron de um ânion-radical (i), pela adição de

elêtron a um cátion radical (ii) ou pela aniquilação cátion-ânions (iii) (Esquema X). Reações por transferência de elétrons constituem um tipo ímpar de quimiexcitação, pois não envolvem quebra ou formação de ligações, daí a maior possibilidade de alta eficiência de produção de espécies excitadas.

ESQUEMA X

C^* e A^* = singlete ou triplete

HOMO = "highest occupied molecular orbital"

LUMO = "lowest unoccupied molecular orbital"

Deve-se notar que o novo modelo de McCapra envolvendo quimiexcitação por transferência de elétrons posterior à clivagem do anel dioxetânico, e favorecendo a produção de singletes, não afeta o "status" daqueles dioxetanos que não contêm grupos facilmente oxidáveis. O mecanismo via diradical de Richardson e colab. continua sendo aplicável ao TMD e demais dioxetanos estáveis que não contêm grupos heteroaromáticos (Secção 1.8).

Independentemente, Schmidt e Schuster (1978) observaram que a termólise de dioxetanonas substituídas por grupos alquílicos era acelerada pela presença de hidrocarbonetos aromáticos de baixo potencial de oxidação. A velocidade e eficiência de emissão de luz aumentava linearmente com o decrêscimo do potencial de oxidação do hidrocarboneto adicionado. Estes autores sugeriram então, analogamente a McCapra, um mecanismo de clivagem de dioxetanonas iniciado por transferência de elétrons do hidrocarboneto (ArH) para a ligação peroxídica (Esquema XI). Este mecanismo, denominado pelos autores de CIEEL ("Chemically initiated electron exchange luminescence"), foi extendido aos intermediários dioxetanônicos postulados para sistemas luminescentes químicos e biológicos (Esquema XII).

Esquema XII - Mecanismo via transferência de eletrons proposto para o sistema bioluminescente de vagalume.

XXVII

(a) Koo, Schmidt e Schuster (1978)

(b) McCapra (1977)

O mecanismo de clivagem proposto por McCapra, isto é, quebra das ligações O-O e C-C no estado de transição pode ser criticado em dois aspectos importantes: (i) se o radical quinóide (XXVII) e CO_2^- são duas espécies moleculares distintas (via b), dever-se-ia esperar que os spins se equilibrassem (inversão) nos radicais e assim resultar maior proporção de produto no estado triplete e (ii) ao ser clivada a ligação C-C, forma-se um par de radicais de maior conteúdo energético que o estado excitado a ser formado. Assim, se a molécula tem uma escolha - gerar a espécie excitada diretamente via perda concomitante de CO_2 (via a) ou produzir intermediariamente um par de alta energia (via b) - a molécula deveria escolher a primeira possibilidade.

Concluindo, os dioxetanos mais estáveis são a aqueles substituídos por grupos não oxidáveis; sua clivagem - "concerted" ou via "diradical" - leva preferencialmente a produtos no estado triplete. Em bioluminescência e quimiluminescência, os dioxetanos ou dioxetanonas postulados como intermediários, na etapa de quimiexcitação sofreriam transferência intramolecular de elétrons, diminuindo assim sua vida média e promovendo produção preferencial de singletes.

2. OBJETIVOS

Dioxetanos e dioxetanonas têm sido propostos como os precursores ricos em energia responsáveis pela produção de espécies eletronicamente excitadas em sistemas luminescentes químicos e biológicos (McCapra 1976, 1977) e em sistemas biológicos "escuros" (Cilento, 1974, 1975; White e colab., 1974). Em bioluminescência, as funções da emissão de luz são evidentes na maioria dos casos: servem à comunicação entre indivíduos da mesma espécie, à corte sexual, ou à formação de bandos, à predação ou fuga de predadores, etc. (Hastings e Michelson, 1974; Morin e colab., 1975). Cilento e White e colab., por outro lado, apontaram a possibilidade de que estados excitados não emissivos (tripletes) poderiam ser gerados em várias reações enzimáticas. Em virtude de sua vida média relativamente longa e de sua alta reatividade química, estados tripletes, se produzidos "in vivo", poderiam promover uma série de transformações tipicamente fotoquímicas em biomoléculas ("fotobiologia sem luz" ou "fotobiologia no escuro"), com consequências normais ou lesivas à célula.

Como vimos na introdução desta tese, na termô-lise de dioxetanos, a eficiência na produção de espécies excitadas e a partição da energia de quimiexcitação em singletes e tripletes, dependem fundamentalmente da natureza dos grupos substituintes. Dioxetanos contendo grupos de alta

densidade eletrônica e de baixo potencial de oxidação são instáveis e sua clivagem térmica leva à produção quase exclusiva de espécies singletes, emissivas (McCapra 1977, McCapra e colab. 1977). Estes dioxetanos seriam, portanto, modelos para as espécies transientes postuladas para a etapa de quimiexcitação de sistemas quimi- e bioluminescentes. Dioxetanos substituídos por grupos alquil, alcoil, acil, homoaril, etc., por sua vez, são estáveis e sua termólise gera preferencialmente espécies tripletas. Constituiriam, assim, modelos para processos "foto"-biológicos no escuro.

Considerando-se (i) a importância biológica do estudo do efeito de substituintes na estabilidade de dioxetanos e na natureza das espécies excitadas (singletes e/ou tripletas) geradas em sua termólise, (ii) as conclusões de Darling e Foote (1974) sobre a produção quase preferencial de espécies singletes na termólise de 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano, quando a totalidade dos dioxetanos favorece a formação de estados tripletas e (iii) as dificuldades de ordem teórica e experimental na determinação precisa e exata dos rendimentos quânticos de espécies excitadas, decidimos investigar, por medidas de quimiluminescência, as propriedades cinéticas, termodinâmicas e de produção de espécies excitadas da seguinte série de dioxetanos:

tetraetildioxetano
(TED)

1,2-dimetil-1,2-di-
-n-butildioxetano
(DBDBD)

bisciclohexili-
denodioxetano
(BCHD)

Demonstraremos que dioxetanos substituídos por grupos alquil, flexíveis ou não, sempre produzem em sua termólise eficiente e preferencialmente espécies tripletas, ao contrário das conclusões do trabalho de Darling e Foote (1974) e das sugestões de Wilson (1976). O efeito de substituintes na estabilidade dos dioxetanos foi avaliado por medidas da energia de ativação da termólise. As energias de quimiexcitação foram estimadas por cálculos termoquímicos e a vida média das espécies excitadas, por estudos de supressão da quimiluminescência com dienos. Analisaremos, ao longo deste trabalho, as fontes prováveis de erro na determinação segura dos rendimentos quânticos de espécies excitadas, via contagem química e medidas de quimiluminescência.

Resultados preliminares do estudo de TED e da reinvestigação do DMDBD, descrito originalmente por Darling e Foote (1974), foram já publicados em forma de comunicação no J. Am. Chem. Soc. (Bechara e colab., 1976). Nesta tese, apresentaremos os resultados globais da investigação dos tres dioxetanos, sendo que o TED e BCHD foram sintetizados originalmente pelo autor desta tese.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Abreviações:

TMD - tetrametil-1,2-dioxetano

TED - tetraetil-1,2-dioxetano

DMDBD - 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano

BCHD - bisciclohexilideno-1,2-dioxetano

DBA - 9,10-dibromoantraceno

DPA - 9,10-difenilantraceno

Eu(TTA)₃Phen - europium tris (tenoiltrifluoroacetona-
to)-1,10-fenantrolina

PD - cis-1,3-pentadieno

DMHD - 2,5-dimetil-2,4-hexadieno

CPGL - cromatografia de partição gás-líquido

RNM - ressonância nuclear magnética protônica

3.2. Drogas Adquiridas no Comércio ou como Donativos:

Aldrich: 3-pentanona; 2-hexanona; ciclohexanona; 9,10-dibromantraceno; 9,10-difenilantraceno; perileno; rubreno; ácido m-cloroperbenzôico; 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina; 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octano.

Fisher: trifenilfosfina

Alfa-Ventron: LiAlH_4 ; TiCl_3

Chemical Samples: 2,5-dimetil-2,4-hexadieno; 2,3-dimetil-2-butenos (tetrametiletilenos).

Columbia Organic: cis-1,3-pentadieno (piperileno).

Merk: EDTA (sal dissódico)

Arapahoe: 1,3-diiodo-5,5-dimetilhidantoina

FMC Corporation: H_2O_2 98%

Woelm: sílica gel (grau I)

MCB: N-bromosuccinimida

MDC: CDCl_3 , benzeno- D_6

Carlo Erba: H_2O_2 31,5%

O quelato de európio $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$, foi-nos doado gentilmente pelo Prof. Dr. Alfons L. Baumstark (Georgia State University, Dept. Chemistry, Atlanta, Georgia, USA).

A pureza dos dienos, cis-1,3-pentadieno e 2,4-dimetil-2,4-hexadieno, foi confirmada por CPGL e ambos foram previamente tratados com EDTA; 9,10-dibromoantraceno, perileno e rubreno foram recristalizados de xilenos.

3.3. Solventes:

Os solventes orgânicos, da Fisher Chemical Co., foram previamente tratados com EDTA. Decalina foi tratada durante um dia com H_2SO_4 conc., sob agitação, lavada com água, solução de NaHCO_3 , secada sobre CaH_2 e, então, destilada sob pressão reduzida. Éter super sêco, usado nas preparações de peróxidos, foi comprado da Mallinckrodt Chem..

3.4. Aparelhagem:

As medidas de absorção de luz no UV e visível foram feitas num espectrofotômetro Cary-15 e os espectros de fluorescência traçados num espectrofluorímetro Perkin-Elmer MPF-4; em ambos os casos, usou-se celas de quartzo de um centímetro de caminho ótico. Os espectros de RNM foram traçados num espectrômetro Varian T-60 e, quando especificado, num espectrômetro Varian XL-100 com capacidade de transformação Fourier. As análises por CPGL foram realizadas num cromatógrafo Varian Aerograph-920. As medidas de

quimiluminescência foram feitas em fotômetros tipo Mitchell-Hastings (1971), providos de termostatização e calibrados contra o padrão radiativo de Hastings-Weber (1963).

3.5. Métodos Analíticos:

3.5.1. Preparo de soluções de aceptores emissivos:

As concentrações de DBA, DPA, perileno, rubreno e $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$ foram determinadas por pesagem e, eventualmente, confirmadas pela absorbância do λ_{max} correspondente. As soluções, fotosensíveis, foram guardadas no escuro.

3.5.2. Dosagem de dioxetanos nas soluções-estoque:

Os dioxetanos preparados e estudados nesta tese tiveram suas concentrações determinadas nas soluções-estoque pelos tres métodos descritos a seguir:

- (i) Titulação iodométrica: as soluções de dioxetano foram tituladas em anidrido acético pelo procedimento indicado por Nozaki (1946) e Schaap e Wilson (1971), do seguinte modo: pipetou-se para um erlenmeyer de tampa esmerilhada, em banho de gelo e no escuro 5 ml de anidrido acético e 1 ml de NaI a 10% em anidrido acético. Adicionou-se uma alíquota ($< 100 \mu\text{l}$)

da solução estoque de dioxetano e deixou-se em repouso, no escuro, durante 15 minutos. Finalmente, adicionou-se 2 ml de H_2O e a solução foi titulada, contra um branco, com solução 0,01N de $Na_2S_2O_3$ até viragem da cor de amarelo claro para incolor, sob agitação vigorosa.

- (ii) RNM: a concentração de dioxetano em cerca de 0,5 ml de $CDCl_3$ ou CCl_4 foi determinada por integração dos sinais dos protons correspondentes em relação a um padrão interno (benzeno ou CH_2Cl_2) adicionado ao sistema (conc. 10^{-1} a $10^{-2}M$).
- (iii) CPLG: neste caso, a concentração foi determinada por interpolação da área do pico no cromatograma, correspondente à cetona formada por termólise na coluna, numa curva de calibração obtida com amostra de solução de concentração conhecida da cetona. A contaminação da solução estoque pela cetona correspondente pôde ser subtraída por comparação dos cromatogramas obtidos com a solução original e a solução tratada previamente com trifenilfosfina (Bartlett e colab., 1973). Este composto transforma o dioxetano num epóxido e permite assim que a cetona presente inicialmente na solução estoque possa ser diferenciada da cetona resultante da termólise de dioxetano.

O método escolhido para a dosagem de dioxetano em soluções - estoque diluídas ($< 10^{-1}M$) foi o cromatográfico, em virtude deste método ser mais reprodutível ($\pm 5\%$) e, provavelmente, mais exato, como mostram os dados na tabela 1:

TABELA 1: Dosagem de TED em 0,5 ml de solução em CCl_4 .

Método	Conc.Molar	Erro Aprox.	Fonte provável de erro
Titulação iodométrica	4×10^{-2}	$\pm 50\%$	reação muito lenta (tendência à <u>super</u> titulação)
NMR (CH_2Cl_2 como padrão interno)	$2,5 \times 10^{-2}$	$\pm 20\%$	micropipetagem do padrão interno; <u>in</u> tegração de protons de contaminantes, <u>es</u> pecialmente a cetona correspondente ; desvio de linha base
NMR (após <u>termô</u> lise total em <u>tu</u> bo selado)	$2,2 \times 10^{-2}$	$\pm 20\%$	idem
CPGL	$1,8 \times 10^{-2}$	$\pm 10\%$	microinjeção da amostra

Nota: A titulação iodométrica das soluções de bromohidroperóxido não apresentou maiores dificuldades, dada a alta concentração de peróxidos (0,1-0,5M) naquelas soluções e ao fato de serem mais reativos com I^- .

3.5.3. Análises por RNM e CPGL:

A não ser quando especificado, as análises cromatográficas foram feitas com uma coluna de 3 m de comprimento, empacotada com 20% Silicon Rubber DC 710, e usando-se um fluxo de argônio de 1 ml/s.

Os deslocamentos químicos de bandas dos espectros via RNM (δ) foram dados em partes por milhão, ppm, em referência a TMS. As letras d, t, g e m usadas na descrição dos espectros representam, respectivamente, dublete, triplete, quarteto e multiplete.

3.5.4. Determinação de rendimentos quânticos de fluorescência (ϕ_F) dos aceptores emissivos:

Quando não tabelados (Engel e Monroe, 1971) os valores de ϕ_F foram determinados experimentalmente, irradiando-se no espectro fluorímetro, a uma determinada temperatura e comprimento de onda igual ou próximo do $\lambda_{\max}$, soluções de mesma absorbância do aceptor (A) em análise e de um padrão (P) cujo ϕ_F é conhecido, num determinado solvente, e comparando-se os espectros de emissão. Se as medidas são feitas no mesmo solvente,

$$\phi_F^A = \phi_F^P \times \frac{I_F^A}{I_F^P} \quad (\text{Demas e Crosby, 1971})$$

onde I_F^A e I_F^P representam as áreas dos espectros de emissão.

Nos casos em que ϕ_F^A era dependente da temperatura (Eu(TTA)₃Phen, DBA, rubreno, perileno), os valores de ϕ_F^A a cada temperatura foram determinados simplesmente por comparação das intensidades de emissão em relação à intensidade numa temperatura onde ϕ_F^A é conhecido.

3.5.5. Medidas de quimiluminescência:

O fotômetro e acessórios usados para medidas de intensidade de luz emitida acham-se descritos por Wilson e Schaap (1971). O sistema consiste num suporte de cela de reação dentro de caixa preta, fotomultiplicadora (EMI9558B, resposta S-20), fonte de tensão Northeast, um eletrômetro Keithley e um registrador Texas Instrument. O sistema foi calibrado contra o padrão radiativo de Hastings-Weber (1963). Este padrão, usualmente preparado com soluções cuidadosamente degasificadas de hexadecano-1-¹⁴C e um cintilador (PPO e POPOP, $\lambda_{\max} = 416$ nm) mantém um fluxo constante de fótons durante anos.

Todas as medidas de quimiluminescência foram realizadas em amostras de 0,6 ml (volume total), contidas em tubos de Pyrex (11 x 0,5 cm de diâmetro interno), fixados numa posição reprodutível dentro de um Dewar de Pyrex, contendo uma janela não prateada voltada para a fotomultiplicadora. Estes tubos eram descartáveis para evitar pro-

blemas de contaminação. A temperatura da solução era controlada circulando-se no Dewar óleo transparente de silicone (Dow-Corning), termostatizado a escolher por um de dois banhos Tomson ou auda K-21R. Os dois banhos eram mantidos a diferentes temperaturas, ambos conectados através de um sistema de válvulas ao Dewar, de tal modo a permitir rápida, conveniente e reprodutivelmente a mudança da temperatura. As medidas de temperatura das misturas de reação foram feitas com um par termoelétrico cobre-constantan ($\pm 0,2^{\circ}\text{C}$), mergulhados na cela contendo um solvente qualquer e em gelo/água, respectivamente.

O processo de calibração do fotômetro consistiu simplesmente em substituir-se a cela de reação quimiluminescente (0,6 ml) por igual volume de padrão radiativo contido em tubo selado e comparando-se as leituras de intensidade de luz emitida, mantidas constantes as condições geométricas e elétricas. As leituras de intensidade, em amperes, foram transformadas em $\text{hv ml}^{-1} \text{ s}^{-1}$, multiplicando-as pelo fator $6 \times 10^{17} \text{ hv ml}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ A}^{-1}$.

3.5.5.1. Determinação de parâmetros cinéticos:

As constantes de velocidade de termólise dos dioxetanos (k_1 , em s^{-1}) foram obtidas em várias temperaturas, pela queda da quimiluminescência, com e sem acceptor emissivo adicionado, acompanhada no registrador acoplado

ao sistema. Os valores de intensidade (I) nos diferentes tempos (t) foram projetados em papel semi-logarítmico e as constantes (k_1) obtidas da inclinação das retas ($2,30 \log (I_1 - I_2/(t_2 - t_1))$). A projeção dos valores calculados de k_1 para cada dioxetano, em função do inverso das temperaturas absolutas ($1/T$) em papel semi-logarítmico (Arrhenius), permitiu o cálculo da energia de ativação de termólise (E_a) e do valor de $\log A$:

inclinação:
$$E_a = \frac{4,58 \log (k_1/k_2)}{(1/T_2 - 1/T_1)}$$

coeficiente linear:
$$\log A = \log k_1 + \frac{E_a}{4,58T}$$

Método da queda brusca de temperatura (Wilson e Schaap, 1971): a determinação da energia de ativação (E_{QL}) por este método foi feita num tubo de Pyrex (11x0,5cm) contido dentro de uma jaqueta de vidro de ~20 cm de diâmetro, fundida ao tubo, por onde circula o óleo termostatizado. Através do sistema de válvulas, pode-se mudar rápida e reprodutivelmente a temperatura da cela de reação. As soluções-estoque de dioxetano e de acceptor foram micropipetadas diretamente na cela de reação contendo solvente normalmente aerado (volume total 0,60 ml), a uma temperatura T_1 . Em seguida, submeteu-se a solução a um resfriamento rápido (~30 s) até uma temperatura T_2 (cerca de 15° abaixo de T_1).

A energia de ativação de termólise foi então calculada a partir das intensidades de emissão I_1 e I_2 e das temperaturas T_1 e T_2 :

$$E_{QL} \text{ (obs)} = \frac{4,58 \log (I_1/I_2)}{(1/T_2 - 1/T_1)}$$

No caso da termólise ter sido monitorada pela emissão fluorescente de sensibilizadores adicionados ao sistema (DBA, DPA, perileno, etc.), a energia de ativação observada foi corrigida para a variação de ϕ_F do acceptor com a temperatura.

$$E_{QL} = E_{QL} \text{ (obs)} - E_{\phi_F}$$

E_{ϕ_F} para DPA e perileno ≈ 0 ; E_{ϕ_F} para DBA = 4,5 kcal/mol.

3.5.5.2. Determinação dos rendimentos quânticos de quimiexcitação, $^3\phi$ e $^1\phi$:

Os rendimentos quânticos de produtos excitados, gerados na clivagem térmica dos dioxetanos, foram determinados pelo método da projeção dos inversos das intensidades máximas de emissão (I) versus inversos das concentrações de acceptor (10^{-2} a 10^{-5} M) adicionado a soluções de concentração constante de dioxetano ($< 10^{-3}$ M) (Wilson e

colab., 1976). A temperatura, mantida constante durante as medidas, foi escolhida de modo que não ocorresse decomposição apreciável do dioxetano e, conseqüentemente, o valor de I se mantivesse razoavelmente constante durante 5 a 10 min. As determinações foram feitas, geralmente, em xilenos normalmente aerado como solvente. Usou-se, como aceptores, DBA e $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$ para dosagem de produtos tripletes e DPA e perileno para dosagem de singletes (veja item 1.7.1. desta tese). Pipetou-se para uma série de celas de reação volumes conhecidos de solução estoque de acceptor, adicionou-se 10 a 50 μl de solução estoque de dioxetano e completou-se o volume com o solvente para 0,60 ml.

Os rendimentos quânticos observados de produto excitado (ϕ_{obs}) foram calculados do coeficiente linear da reta ($Y_{\text{int.}}$) definida pela projeção dos inversos $I \times |\text{acceptor}|$, pela expressão:

$$\phi_{\text{obs}} = (k_1 |D| Y_{\text{int}})^{-1}, \text{ em } h\nu/\text{molec. ou Einstein/mol.}$$

Os rendimentos observados são, a seguir, transformados em rendimentos de quimiexcitação $^3\phi$ e $^1\phi$, levando-se em conta as eficiências de transferência de energia do produto quimiexcitado para o acceptor (ϕ_{TE}) e de fluorescência do acceptor (ϕ_{F}) na temperatura da experiência:

$$\phi = \frac{\phi_{\text{obs}}}{\phi_{\text{TE}} \times \phi_{\text{F}}}$$

No caso de DPA e perileno como aceptores, ϕ_{TE} e ϕ_F são praticamente unitários e independentes da temperatura (veja secção 1.7.1), logo

$$^1\phi = \phi_{obs}^{DPA \text{ ou perileno}}$$

Com DBA, assumiu-se $\phi_{TE} = 0,20$ (Wilson e colab., 1976) e ϕ_F^{DBA} na temperatura da experiência foi calculado a partir de ϕ_F^{DBA} a $20^\circ\text{C} = 0,10$ e $E_F^{DBA} = -4,5 \text{ kcal/mol}$. Logo,

$$^3\phi = \frac{\phi_{obs}^{DBA}}{0,20 \phi_F^{DBA}}$$

Com $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$, assumiu-se $\phi_{TE} = 1,0$ e ϕ_F do quelato na temperatura da experiência foi determinado segundo Demas e Crosby (1971), usando-se rodamina B como padrão ($\phi_F = 0,97$; Demas e Crosby, 1971). As intensidades de emissão das soluções de dioxetano na presença do quelato de európio ($\lambda_{\text{max}} \sim 611 \text{ nm}$) como aceptor, foram corrigidas para a pequena sensibilidade da fotomultiplicadora naquele comprimento de onda (fator ~ 3). Assim, com este aceptor,

$$^3\phi = \frac{\phi_{obs}^{Eu}}{\phi_F^{Eu}}$$

3.5.5.3. Supressão da quimiluminescência com dienos:

Os estudos tipo Stern-Volmer, com o intuito de se obter informações sobre a vida média das espécies excitadas produzidas na termólise dos dioxetanos e, consequentemente, sobre sua multiplicidade (singlete ou triplete), foram realizados do seguinte modo:

Adicionou-se, sucessivamente, pequenos volumes (10 a 50 μ l) de solução concentrada de 2,5-dimetil-2,4-hexadieno (1,24 M) ou de cis-1,3-pentadieno puro a 0,60 ml de solução diluída de dioxetano (10^{-3} a 10^{-4} M) e de acceptor (10^{-3} a 10^{-4} M). As intensidades de emissão foram registradas antes (I_0) e após cada adição (I). Os valores de I foram corrigidos, levando-se em conta a diluição, a supressão do acceptor singlete pelo dieno (determinada separadamente) e a intensidade residual, não suprimível.

Os valores de I_0/I foram projetados em função de [dieno]. Pode-se, demonstrar, que nos casos simples de apenas um tipo de espécie excitada sendo suprimida, a tangente da reta obtida, em unidades de M^{-1} , é o produto da constante de velocidade de supressão (k_q) pela vida média da espécie excitada (τ) nas condições de experiência (solvente, temperatura) - equação de Stern-Volmer (Wagner, 1967; apêndice 2).

$$\frac{\phi_0}{\phi} = \frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau [\text{dieno}]$$

3.6. Métodos Sintéticos:

3.6.1. Síntese de Olefinas

As olefinas simétricas tetraetiletileno, 1,2-dimetil-1,2-di-n-butiletileno (cis e trans, 1:1) e bisciclohexilideno foram preparadas segundo o método geral de McMurry (McMurry e Fleming, 1974; McMurry, 1974) pela redução copulativa de, respectivamente, 3-pentanona, 2-hexanona e ciclohexanona com $\text{TiCl}_3\text{-LiAlH}_4$ (Esquema 1).

Esquema 1:

Seguiu-se o seguinte procedimento para síntese das olefinas:

Adicionou-se lentamente 3,8 g de LiAlH_4 (0,10 moles) a uma solução, sob vigorosa agitação, de 32,6 g de TiCl_3 (0,23 moles) dissolvido em cerca de 800 ml de THF seco (refluxado sobre LiAlH_4 e destilado), em atmosfera de N_2 seco e à temperatura ambiente. CUIDADO ! TiCl_3 é inflamável. A pesagem e adição de TiCl_3 ao frasco de reação devem ser feitas sob N_2 seco. A suspensão negra resultante foi agitada durante uma hora à temperatura ambiente ou cerca de 15min, sob refluxo. Adicionou-se, então, gota a gota, 0,10 moles de cetona e a mistura de reação foi aquecida sob refluxo durante cerca de 8 h e, em seguida, deixada à temperatura ambiente durante a noite. O hidreto residual foi destruído por adição de ~20 ml de metanol e, em seguida, diluiu-se a mistura de reação com cerca de 400 ml de água. Esta solução foi extraída com 5 porções de 200 ml de éter de petróleo. Os extratos etéricos combinados foram então exaustivamente lavados com água, solução saturada de NaCl e, finalmente, secou-se a solução etérica sobre MgSO_4 anidro. Removeu-se o solvente num evaporador rotatório e o resíduo oleoso, contendo a olefina, foi submetido à purificação segundo as indicações abaixo:

Tetraetiletileno (3a): o resíduo oleoso, recristalizado em éter de petróleo a -78°C (gelo seco), forneceu 2,1 g de tetraetiletileno (30% de rendimento:

P.E. $155-157^\circ\text{C}$ (lit. 158°C ; Koch e Hibberath, 1940)

RMN (CCl_4) δ 2,03 (q, 3H, CH_3) e 0,97 (t, 2H, CH_2), $J_{\text{AB}} = 7,2 \text{ Hz}$.

CPGL: apenas um pico, de tempo de retenção ~10,5 min (coluna 135^o, injetor 200^oC e detector, 240^oC).

1,2-Dimetil-1,2-di-n-butiletileno (3b): cromatografou-se o resíduo oleoso em uma coluna de sílica gel (30 g, 24x1,6cm), preparada em pentano. Recolheu-se 20 frações de 10 ml durante a eluição com pentano. As frações de números 3 a 10, após remoção do solvente, forneceram 1,9 g da olefina (23% de rendimento):

CPGL: dois picos simétricos parcialmente recobertos correspondentes a mistura 1:1 dos isômeros cis e trans (tempos de retenção, 14,5 e 15,5 min (coluna 150^o, injetor 205^o e detector 240^oC).

NMR(CCl₄) δ 1,97 (t distorcido, 2H, α-CH₂), 1,62 (s, 3H, CH₃) e 0,8 a 1,5 (m, 7H).

Bisciclohexilideno (3c): o resíduo foi cromatografado em uma coluna contendo 45 g de sílica gel, obtendo-se a olefina nas frações (20 ml) de números 5 a 10, durante eluição com CH₂Cl₂: éter de petróleo (1:4): 1,6 g de olefina (20% de rendimento).

CPGL: apenas um pico com tempo de retenção ~6,2 min (coluna 247^o, injetor 207^o e detector 237^oC).

RMN(CDCl₃) δ 2,3 (banda larga, 2H, α-CH₂) e 1,5 (banda larga, 3H, β e γ CH₂) (lit.(CCl₄) 2.2(2H) e 1,5 (3H); Leermakers e colab., 1964).

Nota: o rendimento de olefina na reação de McMurry depende do tempo de refluxo da cetona com o reagente $\text{TiCl}_3\text{-LiAlH}_4$. Com um refluxo de cerca de 20 horas, o rendimento de 1,2-dimetil-1,2-di-n-butiletileno foi de 90 a 95%. O refluxo prolongado é necessário para eliminação quantitativa de TiO_2 do intermediário cíclico glicol-titânio 2 (Esquema 1) (McMurry, 1974), a qual constitui a etapa determinante da velocidade. Daí o fato de que a preparação de olefina por este método frequentemente vem acompanhada do glicol correspondente.

3.6.2. Síntese de Derivados de Tetraetiletileno:

Vários derivados alílicos (alcool, hidropéroxido e haleto) e epóxido são produtos laterais formados durante a síntese de bromohidropéroxidos e de dioxetanos a partir de olefinas (Kopecky e colab., 1975). Assim, decidimos preparar alguns daqueles compostos e caracterizá-los pelos respectivos espectros de RNM, com o objetivo de se permitir sua identificação nos espectros RNM de preparações brutas de bromohidropéroxidos e dioxetanos. Os seguintes derivados de tetraetiletileno foram preparados:

4-Hidroperóxi-3,4-dietil-2-hexeno (4):

Dissolveu-se em 0,5 ml de CCl_4 , num tubo para RNM, 50 mg (0,37mmoles) de tetraetiletileno e alguns cristais de tetrafenilporfina ($< 1,0$ mg). Esta solução foi irradiada a 0°C , com uma lâmpada de 500W e com filtro para eliminar UV, sob contínuo borbulhamento com O_2 . A fotooxidação da olefina foi seguida por CPGL, pelo desaparecimento do pico correspondente, injetando-se, em diferentes tempos, 5 ou $10\mu\text{l}$ da solução irradiada no cromatógrafo a gás (coluna 205°C , injetor 200°C e detector, 245°C). Após 15 min., a olefina remanescente representou menos de 1% da quantidade inicial. O cromatograma apresentou, além do pico correspondente à olefina, mais tres componentes, dois deles identificados por análise RNM do material coletado do cromatógrafo como 3-pentanona e 3,4-dietil-2,4-hexadieno. Estes produtos são esperados da termólise do hidroperóxido alílico na coluna (Frimer, 1974):

O espectro de RNM da solução irradiada, em CCl_4 , apresentou bandas a 7,0 ppm (s largo, 1H, OOH), 5,42 (q, 1H, = CH-) e diversos multipletes em campo mais alto que 2,3 ppm (~20 H). A presença de peróxido na solução irradiada foi confirmada pelo teste positivo com iodeto.

A mistura de reação, cromatografada em coluna de sílica gel (~2 g), revelou formação quase quantitativa do hidroperóxido alílico, identificado por RNM:

Nota: a possibilidade de que traços de tetraetildioxetano foram formados durante a fotooxigenação foi sugerida pela luminescência observada quando uma alíquota da mistura irradiada foi aquecida a 90°C na presença de DBA, em xilenos. (Veja em Resultados, item 4.1).

4-Hidróxi-3,4-dietil-2-hexeno (5):

Adicionou-se porções de 30 mg (0,11 mmoles) de trifenilfosfina (PPh_3) à solução fotooxigenada de tetraeti-

letileno (0,37 mmoles) em CCl_4 , contida em tubo para RNM, e o espectro RNM foi traçado após cada adição (Baumstark, 1974). Após a quarta adição, o espectro mostrou além do multiplete aromático em 7,4 a 7,9 ppm atribuído a trifenilfosfóxido (POPh_3), o multiplete atribuído a excesso de trifenilfosfina (7,1 a 7,3 pm) e um conjunto de multipletes esperados para o álcool formado na redução:

$\delta(\text{CCl}_4)$

d - 5,35 (q, 1H)

c - 2,93 (s largo, 1H)

f - 2,02 (q, 2H)

e - 1,62 (d)

a, b e g - multipletes em campo mais alto que 1,7 ppm.

A mistura de reação, injetada no cromatógrafo a gás, produziu um traçado constituído de apenas um pico (excluídos, evidentemente, o solvente e os derivados de fósforo, cujo tempo de retenção é longo), identificado pelo espectro de RNM da amostra coletada como 3,4-dietil-2,4-hexadieno:

δ (CCl_4)

b - 5,35 (q, 1H)

d - 2,13 (q, 2H)

a - 1,65 (d, 3H)

c - 0,88 (t, 3H)

Tetraetileneno epóxido (7)

O epóxido foi preparado pelo tratamento de tetraetileneno com ácido m-cloroperbenzônico, segundo o mesmo procedimento indicado por Fieser e Fieser (1969). O espectro de RNM do produto de reação em CCl_4 mostrou: $\delta \sim 1,5$ (dois q, 2H metilênicos magneticamente não equivalentes) e 0,93 (t, 3H, CH_3).

4-Bromo-3,4-dietil-2-hexeno (6):

Este haleto foi preparado a partir de tetraetileneno pelo tratamento com N-bromosuccinimida (Mathur e Narang, 1975; Fieser e Fieser, 1966). O quarteto a 5,10 ppm (1H) e o dublete (3 a 4H) a 1,77 ppm, além de vários outros multipletes, observados no espectro de RNM do produto bruto

de reação sugerem que o produto principal é o haleto em estudo:

δ (CCl_4)

c - 5,10 (q, 1H)

d - 1,77 (d, 3 a 4H)

vários multipletes

3.6.3. Síntese de α -Bromohidroperóxidos e Dioxetanos correspondentes.

Tetraetildioxetano, 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano, bisciclohexilidenodioxetano e tetrametildioxetano foram preparados via α -bromohidroperóxido pelo método geral de Kopecky e colab. (1975), a partir das olefinas correspondentes (Esquema 2).

~10 min. cada extração, com ~20 ml de éter etílico. As camadas etéricas foram transferidas com pipeta (alisada no bico de Bunsen) para outro erlenmeyer e secas sobre MgSO_4 anidro. A titulação iodométrica de 0,50 ml desta solução (Kolthoff e Sandell, 1952) revelou uma concentração de H_2O_2 igual a 1,3M. Borbulhou-se N_2 seco na solução etérica (em banho de gelo-água) até que seu volume foi reduzido de 3 a 4 vezes. Por nova titulação iodométrica, verificou-se que a concentração de H_2O_2 em éter era de 4,5M. Esta solução, novamente seca sobre MgSO_4 anidro, é suficientemente concentrada para síntese dos α -bromohidroperóxidos pelo método de Kopecky.

3.6.3.1. 2-Bromo-3-hidroperóxi-2,3-dimetilbutano (9d):

Adicionou-se 4,2 g (3 ml, 120 mmoles) de H_2O_2 a 98% a uma solução de 2,0 g (2,8 ml, 24 mmoles) de tetrametiletileno em 20 ml de éter anidro a -40°C (banho de gelo seco/acetona), sob agitação magnética e no escuro. Seguiu-se a adição lenta de 3,4 g (12 mmoles) de 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina num período de 10 a 15 min. Cessou-se a adição de gelo seco ao banho e esperou-se que a temperatura atingisse 0 a 5°C . A mistura de reação foi então lavada 2 vezes com 25 ml de solução saturada de NaHCO_3 , 3 vezes com 25 ml de água e uma vez com solução saturada de NaCl . Todas estas soluções haviam sido mantidas em banho de gelo. A camada etérica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e, a seguir, o sol

vente removido no evaporador rotatório, em banho de gelo-água. O resíduo sólido foi recristalizado 2 vezes em pentano, obtendo-se 3,6 g do bromohidroperóxido (74% de rendimento).

NMR(CCl_4) δ 1,47 (s, 6H, $\text{C}(\text{OOH})(\text{CH}_3)_2$), 1,83 (s, 6H, $\text{CBr}(\text{CH}_3)_2$) e 7,6-8,2 (s, largo, 1H, OOH); de acordo com a literatura (Kopecky e colab., 1968).

Duas gramas (10 mmoles) do bromohidroperóxido correspondente a TMD, dissolvidas em 10 ml de CH_2Cl_2 , foram adicionadas a uma suspensão de 6 g (36 mmoles) de acetato de prata anidro (recém preparado) em 40 ml de CH_2Cl_2 , sob vigorosa agitação magnética, à temperatura ambiente e no escuro. Após cerca de 25 min, a suspensão amarela (dioxetano em solução e AgBr precipitado) foi filtrada e o precipitado lavado com pequenas porções de CH_2Cl_2 . O filtrado recolhido foi então lavado, sucessivamente, com 2 porções de 30 ml de solução de NaOH 1,0 N, 2 porções de 30 ml de água e 30 ml de solução saturada de NaCl . A camada orgânica foi secada sobre Na_2SO_4 anidro e o solvente removido no evaporador rotatório, com banho de gelo-água. A recristalização do resíduo em cerca de 2 ml de n-pentano, a -78°C , forneceu 100 mg de agulhas amarelas (10% de rendimento):

NMR(CCl_4) δ 1,45 (s, CH_3); de acordo com a literatura (Kopecky e colab., 1968, 1975).

Nota: Preparação de acetato de prata: em sala escura, gotejou-se solução de acetato de sódio (6,1 g em 40 ml de água) sobre solução agitada magneticamente de AgNO_3 (8,5 g em 50 ml de água). Após 10 a 15 minutos o precipitado foi filtrado e lavado, sucessivamente, com água gelada, acetona e éter etílico. O sólido foi secado a vácuo e pesou 6,8g (81% de rendimento).

3.6.3.3. 3-Bromo-4-hidroperóxi-3,4-dietilhexano (9a):

Adicionou-se 0,50 g (21 mmoles) de H_2O_2 98% a 0,50 g (3,6 mmoles) de tetraetiletileno em 10 ml de éter anidro a -40°C , com agitação magnética e no escuro. Seguiu-se lenta adição (~45 min.) de 0,52 g (1,8 mmoles) de 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina. Após cerca de 75 min, a mistura de reação foi diluída ao dobro com éter, aquecida a $0-5^\circ\text{C}$, lavada rapidamente com 4 porções de 20 ml de água/gelo e então seca sobre Na_2SO_4 anidro. Titulação iodométrica em anidrido acético do extrato etérico mostrou um rendimento de cerca de 35% de "peróxidos totais". O espectro de RNM em CCl_4 foi dominado pelo hidroperóxido alílico, álcool alílico e outro peróxido identificado posteriormente como um bromoperóxido cíclico-1,3 (11)

(CCl_3 (δ) 5,46 (q)

δ 5,40 (q)

δ 11; 4,85 (q)

A presença do α -bromohidroperóxido desejado no produto bruto de reação foi indicado pela quimiluminescência quando uma amostra desta preparação, previamente tratada com acetato de prata, foi aquecida na presença de DBA.

Falharam todas as tentativas de isolamento do α -bromohidroperóxido via (Kopecky e colab., 1975): (i) recristalização em pentano ou éter de petróleo a -78°C , (ii) precipitação na forma de sal com DABCO (1,4-diazobiciclo [2.2.2]octano e (iii) cromatografia em coluna de sílica gel. O produto bruto de reação escurece rapidamente quando aquecido acima de 0°C , especialmente se em solução concentrada. Outras tentativas de preparação e isolamento do α -iodohidroperóxido correspondente (Kopecky e colab., 1975) também falharam dada a baixa reatividade da olefina à adição de I^{+} e H_2O_2 , a instabilidade do produto de reação acima de -20°C (liberação de I_2) e, conseqüentemente, a multiplicidade de produtos laterais.

Decidimos assim submeter o produto bruto de reação à ciclização com acetato de prata e postergar a separação dos produtos contaminantes para o procedimento de purificação do dioxetano correspondente.

3.6.3.4. Tetraetildioxetano (10a, TED)

O produto bruto de reação, em 20 ml de éter seco, obtido a partir de 0,50 g de tetraetiletileno, H_2O_2 e

1,3-dibromo-3,5-dimetilhidantoina, foi tratado com 0,50 g (3 mmoles) de acetato de prata anidro, sob agitação vigorosa, durante 10 min a 0°C e 20 min à temperatura ambiente. A suspensão amarelada resultante foi filtrada e o precipitado lavado com porções de 2 ml de pentano. Os filtrados foram combinados e lavados, sucessivamente, com 10 ml de NaOH 1,0 N contendo 0,1% de Na₂ EDTA, duas vezes com 10 ml de água e uma vez com solução saturada de NaCl. O extrato orgânico foi então seco sobre Na₂SO₄ anidro e submetido a pressão reduzida no evaporador rotatório. Obteve-se um resíduo amarelo oleoso que foi dissolvido em 2 ml de pentano para purificação por cromatografia de coluna.

Procedimento de purificação (1):

O produto bruto de reação, em 2 ml de pentano, foi aplicado a uma coluna de 15 g de sílica gel e 200 mg de Na₂ EDTA (12,5 x 1,5 cm), preparada em pentano, em câmara fria (4 a 7°C). Eluiu-se a coluna com cerca de 60 ml de pentano (frações 1 a 6; 8 a 10 ml cada), 200 ml de pentano: CH₂Cl₂, 1:1 (frações 7 a 44; ~5 ml) e, finalmente, 100 ml de CH₂Cl₂ (frações 45 a 54; ~10 ml). A eluição dos produtos de reação foi monitorada por:

- (i) intensidade de emissão de luz ao aquecer-se 200 µl de cada fração com solução saturada de DBA em xilenos a 94°C, para seguir a eluição do dioxetano; e

- (ii) espectros de RNM de frações combinadas, em CCl_4 , contendo benzeno como padrão interno, para identificação e quantificação dos produtos.

A tabela 2 reúne os resultados obtidos na separação cromatográfica.

Identificação de TED: a presença deste dioxetano nas frações 45 e 46 foi sugerida por:

- (i) espectro NNM próximo daquele do epóxido 7;
- (ii) teste positivo com iodeto;
- (iii) emissão intensa de luz quando uma alíquota foi aquecida em xilenos na presença de DBA e supressão da luminescência por tratamento com PPh_3 (Baumstark, 1974);
- (iv) componente principal no cromatograma (CPGL) com mesmo tempo de retenção que 3-pentanona, produto de termólise de TED, e supressão do pico correspondente por pré-tratamento com PPh_3 .

Quantificação de TED: o rendimento de TED, calculado com base aos picos integrados do espectro de RNM (benzeno como padão interno) e baseado na olefina de partida foi ~8%. Por titulação iodométrica: ~6%. Com base à área do pico identificado como 3-pentanona, no traçado cromatográfico (mais preciso e exato; veja Métodos): ~3%.

TABELA 2 - Análise cromatográfica em coluna de sílica gel: Na₂EDTA (15: 0,2 g; 12 x 1,5 cm) dos produtos presentes na preparação bruta de TED. Eluição monitorada por NMR(CCl₄) e quimiluminescência (I) por aquecimento na presença de DBA.

Número da fração	I, unidades arbitrárias	NMR(CCl ₄) , ppm	Composto (a) (rendimento) ^(b)
1 a 6	-	-	-
7 a 40	-	-	-
41 a 43	0,5	4,86 (q, 1H); 1,85 (q, 6H); 0,8 a 1,3 (d e t, 12H)	<u>11</u> (20%)
44	6,0	4,85 (q) e 0,8 a 2,2 (m)	<u>11 e 10a</u>
45 e 46	10	0,92 (t); 0,84 (t) e m centrados em 1,8	<u>10a + 7</u>
47	2	-	-
48 a 51	-	5,48 (q)	<u>4</u>
		5,42 (q)	<u>4 + 5 ~18%</u>
		2,38 (q)	<u>5</u>
		e outros multipletes	<u>1a</u> (18%)

(a) A atribuição de bandas RNM aos compostos sugeridos baseou-se em dados obtidos na síntese destes compostos.
 (b) Os rendimentos são baseados em "peróxidos totais" na preparação bruta do bromohidroperóxido e foram determinados via RNM com benzeno como padrão interno.

(c) A estrutura do peróxido cíclico 11 foi proposta com base nos seguintes dados adicionais: (i) análise elementar calculada para C₁₀H₁₉BrO₂: C, 47,82%; H, 7,62% e Br, 31,82%; (ii) titulação iodométrica revelou 95% de teor em peróxido para C₁₀H₁₉BrO₂; (iii) espectro IR (pastilha de NaCl) não mostrou frequências para grupos hidroxil e carbonila; (iv) espectro de massa inconclusivo para M⁺, porém mostrou fragmentos contendo Br-79 e Br-81; (v) CPGL mostrou dois picos, um deles identificado como 3-pentanona, produto esperado da termólise de XI.

Procedimento de purificação (2):

Em virtude da fração de dioxetano vir contaminada com epóxido no procedimento (1), tentou-se, com êxito, alcançar maior resolução na separação cromatográfica em coluna de sílica gel, usando-se um gradiente linear de polaridade na eluição. O produto bruto obtido na preparação de TED, em 2 ml de pentano, foi aplicado em uma coluna de sílica gel: Na₂ EDTA (25: 0,2) preparada em pentano, a 4 - 7°C. A coluna foi eluída com um gradiente linear de pentano (200 ml) e CH₂Cl₂ (200 ml), com um fluxo de ~3 ml/min. Coletaram-se 60 frações de 6 ml. A eluição do dioxetano foi seguida por emissão de luz ao aquecer-se a 90°C uma alíquota da fração (50 µl) em 0,6 ml de DBA 4 x 10⁻³M em xilenos. A eluição dos produtos também foi acompanhada por análise RNM. Os resultados seguintes mostram a alta resolução obtida com o gradiente: o peróxido cíclico-1,3 (11) foi eluído nas frações 10-29, o epóxido (7) nas frações 32-38, o dioxetano TED nas frações 42-47 e os contaminantes mais polares (álcool e hidroperóxido alílicos, 5 e 6, e 3-pentanona, 1a) só foram eluídos ao se "lavar" a coluna com cerca de 50 ml de CH₂Cl₂.

Identificação de TED nas frações combinadas 42-47:

(i) Análise por RNM:

Espectrômetro T-60: (CCl_4) δ 1,90 (m, 2H, CH_2) e 0,83 (t, 3H, CH_3).

Espectrômetro XL-100: espectro de padrão ABC.

(benzeno- D_6) δ 1,733 e 1,861 (dois q, 2H não equivalentes, CH_2) e 0,626 (t, 3H, CH_3).

(CDCl_3) δ 1,959 e 1,986 (dois q, 2H não equivalentes, CH_2 , $\delta = 7,2$ e 7,7 Hz) e 0,838 (t, 3H, CH_3 , $\delta = 7,4$ Hz)

Um terço da solução em CDCl_3 , diluída cerca de 4 vezes com este mesmo solvente e selada num tubo, foi aquecida a 98°C durante ~2 h, quando não mais se detectou quimiluminescência no fotômetro. A análise espectral no XL-100 revelou 3-pentanona como único produto de termólise, quando comparado ao espectro de uma amostra autêntica desta cetona:

(CDCl_3) δ 2,425 (q, 2H, CH_2 , $\delta = 7,2$ Hz) e 1,059 (t, 3H, CH_3 , $\delta = 7,2$ Hz).

(ii) Análise por CPGL:

A injeção de uma alíquota da solução de TED em CCl_4 no cromatógrafo (coluna 205° , injetor 200° e detector 240°C) mostrou, além dos picos correspondentes ao solvente e padrões internos adicionados à amostra, apenas um pico com o mesmo tempo de retenção que 3-pentanona autêntica. O pré-tratamento da solução com PPh_3 suprimiu completamente a quimiluminescência na presença de DBA e o pico correspondente à cetona no cromatograma.

Quantificação de TED nas frações 42-47:

A dosagem de TED na solução final em CCl_4 revelou os seguintes resultados:

Titulação iodométrica: $4 \times 10^{-2}\text{M}$ ($\pm 50\%$)

NMR (CH_2Cl_2 como padrão interno): $2,4 \times 10^{-2}\text{M}$ ($\pm 20\%$)

CPGL : $1,8 \times 10^{-2}\text{M}$ ($\pm 10\%$)

Os erros na dosagem via RNM e titulação iodométrica foram discutidos na secção de Métodos. O rendimento na preparação de TED, baseado na dosagem por CPGL e no teor de peróxidos anterior à ciclização com acetato de prata, foi de aproximadamente 2,5%.

3.6.3.5. 5-Bromo-6-hidroperóxi-5,6-dimetildecano (9b): eritro e treo

Adicionou-se 0,50 g (3 mmoles) de 1,2-dimetil-1,2-di-n-butiletileno (cis, trans 1:1) a uma solução de 0,44 ml (18 mmoles) de H_2O_2 98% em 8 ml de éter etílico anidro, a -40°C , sob agitação e no escuro. Em seguida, 0,43 g (1,5 mmoles) de 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina foram lentamente adicionados (~30 min) e a mistura de reação agitada durante cerca de 1 h. Permitiu-se que a solução atingisse a temperatura ambiente para que fosse trabalhada segundo as indicações para o bromohidroperóxido correspondente a TMD. Titulação iodométrica da solução etérica, seca previamente sobre Na_2SO_4 anidro, revelou um rendimento de cerca de 50% de peróxidos totais. A análise via RNM do produto de reação não mostrou a presença de derivados alílicos (região de 4 a 6 ppm). As bandas em 1,40 e 1,37 ppm (CBrCH_3) e 1,90 e 1,97 (C(OOH)CH_3) são os singletes esperados para as conformações eritro e treo do bromohidroperóxido 9b. A presença de α -bromohidróxido e α -dibrometo correspondentes foi sugerida pelos singletes a 1,08 (C(OH)CH_3) e 1,78 (C BrCH_3) (Umbreit e White, 1976; Kopecky e colab., 1975). O produto

de reação foi usado como tal, sem purificação, para síntese do dioxetano DMDBD (10b).

3.6.3.6. 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano (10b; DMDBD):

cis, trans

A preparação bruta do bromohidroperóxido 9b, em 10 ml de éter anidro, foi tratada com 0,70 g (4,2mmoles) de acetato de prata durante 10 min a 0°C e 50 min à temperatura ambiente. A mistura de reação foi, em seguida, tratada segundo o indicado para TMD e o resíduo oleoso, amarelo, foi dissolvido em 2 ml de pentano. Esta solução foi cromatografada em coluna de sílica gel: Na₂EDTA (15:0,2 g; 15 x 1,6cm), usando-se pentano: CH₂Cl₂ (1:1) como eluente, na câmara fria. Trinta frações de 10 ml foram recolhidas e testadas (50 µl) para emissão de luz durante aquecimento a 82°C na presença de DBA 4 x 10⁻²M, em xilenos como solvente. As frações de números 11 a 20, cujo aquecimento emitiu luminescência mais intensa, foram combinadas e concentradas em CDCl₃ para análise por RNM no espectrômetro XL-100:

RNM (CDCl₃) δ 2,000 e 1,773 (dois t, 2H, α-CH₂ cis e trans), 1,553 e 1,483 (dois s, 2:1, 3H, α-CH₃ cis e

trans), 1,1 a 1,6 (m, 4H, β e γ -CH₂) e 0,925 (t distorcido, 3H, δ -CH₃). Após aquecimento de uma amostra a 60°C, em tubo selado, durante a noite, o espectro RNM resultante foi idêntico ao obtido com amostra autêntica de 2-hexanona. O cromatograma apresentou 2-hexanona como componente principal; o pico correspondente foi suprimido completamente pelo tratamento prévio com PPh₃. O rendimento de DMDBD, baseado no "bromohidroperóxido" de partida e na dosagem por CPGL, foi de ~8%.

3.6.3.7. Bisciclohexilidenodioxetano (10c, BCHD):

O bromohidroperóxido 9c foi preparado a partir de 0,50 g (3,6 mmoles) de bisciclohexilideno (em 20 ml de éter anidro), seguindo-se o procedimento indicado para 9d. A titulação iodométrica do produto bruto de reação mostrou 40% de peróxidos totais. O espectro de RNM em CDCl₃ mostrou duas absorções largas centradas em 2,2 e 1,7 ppm e nenhum próton vinílico. A análise do espectro foi dificultada em virtude da solução tornar-se rapidamente amarelada (liberação de Br₂) quando aquecida à temperatura ambiente.

A preparação do dioxetano 10c seguiu o procedimento descrito para TMD. O produto de reação com acetato de prata, em 2 ml de pentano, foi cromatografado em coluna de sílica gel: Na₂EDTA (25:0,2 g), preparada em pentano. O dioxetano foi eluido com um gradiente de pentano: CH₂Cl₂ (250:250 ml) e as frações recolhidas (33 frações de ~6 ml e 17 frações de ~15 ml) foram testadas para emissão de luz em DBA/xilenos a 82°C. As frações de número 29 a 37, as quais apresentaram quimiluminescência quando aquecidas, foram combinadas. O solvente foi removido no evaporador rotatório e o resíduo oleoso amarelo dissolvido em 0,8 ml de CDCl₃ para análise por RNM:

RNM(CDCl₃) δ duas bandas longas centradas em 1,56 ppm (3H, β e γ-CH₂) e em 2,18 ppm (2H, α-CH₂).

Um quarto desta solução foi tomado em 0,5 ml de CCl₄ (NMR δ 1,50 e 2,06 ppm) e aquecido em tubo selado a 77°C durante 5 horas. O espectro RNM resultante foi idêntico ao obtido com amostra autêntica de ciclohexanona. Análise por CPGL (coluna 190°, injetor 205° e detector 230°C) mostrou apenas um pico de mesmo tempo de retenção que amostra de ciclohexanona autêntica (~3,8 min). Pré-tratamento da solução de dioxetano com PPh₃ suprimiu completamente a quimiluminescência e o pico de ciclohexanona no cromatograma. O rendimento de dioxetano, calculado com base a "peróxidos" de partida e na dosagem por CPGL, foi de ~10%.

Dosagem do dioxetano na solução em CDCl₃:

RNM (benzeno como padrão interno): 0,19M

CPGL: 0,16M

4. RESULTADOS

4.1 Síntese de dioxetanos

Os dioxetanos estudados nesta tese (10a-c: TED, DMDBD e BCHD) foram preparados pelo método geral de Kopecky em duas etapas (Kopecky e colab., 1968, 1975) (Esquema 3):

- a) - preparação de α -bromohidroperóxido (9a-c) pelo tratamento da olefina correspondente (3a-c) com H_2O_2 e 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoina (DBDMH); e
- b) - ciclização eliminativa do α -bromohidroperóxido com acetato de prata.

a, $R_1 = R_2 = C_2H_5$

a, TED

b, $R_1 = CH_3$ e $R_2 = n-C_4H_9$

b, DMDBD

c, $R_1 = R_2 = (CH_2)_4$

c, BCHD

A preparação e purificação de DMDBD e BCHD foram imediatas, seguindo-se o procedimento geral indicado por Kopecký e colab. Entretanto, a síntese de TED apresentou sérias dificuldades, entre elas, a pequena reatividade da olefina de partida (3a). De fato, Grosjean e colab. (1976) verificaram recentemente a importância de efeitos estéricos na

nética de adição de Br_2 a etilenos tetrasubstituídos; a velocidade de adição a $\text{Me}_2\text{C} = \text{CMe}_2$, $\text{EtMeC} = \text{CMeEt}$ (cis e trans) e $\text{MeEtC} = \text{CEt}_2$ foi cerca de, respectivamente, 35, 14 e 4 vezes mais rápida que aquela observada para $\text{Et}_2\text{C} = \text{CEt}_2$ (3a). Outra dificuldade encontrada durante a preparação de TED foi a alta instabilidade do bromohidroperóxido correspondente (9a). Este intermediário da síntese não pôde ser isolado por nenhuma das técnicas indicadas por Kopecky e colab. (1975). Decompõe-se rapidamente com liberação de Br_2 , especialmente em solução concentrada, alcalina e acima de 0°C , produzindo o hidroperóxido alílico 4 e outros produtos, detectados via análise por RNM. O esquema 4 sugere algumas das possíveis origens dos produtos laterais.

Finalmente, o isolamento de TED da mistura de reação foi complicado pela multiplicidade de produtos laterais (4, 5, 11, o epóxido 7, 3-pentanona), especialmente o epóxido 7, de comportamento cromatográfico semelhante ao do dioxetano, e o peróxido cíclico-1,3 (11), formado em rendimento relativamente alto (21%). Excelente resolução na separação cromatográfica, com obtenção de TED puro, foi alcançada por eluição da coluna de sílica gel com um gradiente linear de polaridade (pentano: CH_2Cl_2).

A tabela 3 apresenta os rendimentos de preparação dos três dioxetanos, sua identificação por espectros de RNM e os produtos de sua termólise, identificados por RNM e CPGL.

Tabela 3: Síntese de dioxetanos: identificação e rendimentos

Dioxetano	RNM (CDCl ₃) δ, ppm	Rendimento (a) aprox., %	Produtos de termólise
<p><u>TED</u></p>	1,96 e 1,99 (dois q, 2H não equiv., CH ₂) e 0,84 (t, 3H, CH ₃)	3	3-pentanona
<p><u>cis, trans -DMDBD</u></p>	2,00 e 1,77 (dois t, 2H, α-CH ₂ , <u>cis e trans</u>); 1,55 e 1,48 (dois s, 3H, α- CH ₃ , <u>cis e trans</u>); 1,1 a 1,6 (m, 4H) e 0,93 (, 3H, δ-CH ₃)	8	2-hexanona
<p><u>BCHD</u></p>	1,56 (largo, 3H, β e - CH ₂) e 2,18 (largo, 2H, α-CH ₂)	10	ciclohexanona

a. Rendimento de preparação de TMD: 10% (lit.: 10%, Baumstark, 1974; 30%, Kopecky e colab., 1975).

4.2 Fotooxigenação de tetraetiletileno (3a)

A fotooxigenação da olefina 3a, sensitizada por tetrafenilporfina (TPP), produziu quantitativamente o hidroperóxido alílico 4, identificado e dosado por RNM. Entretanto, quando uma aliquota da solução fotooxigenada foi aquecida no fotômetro a 90°C, na presença de DBA, detectou-se emissão de luz e 3-pentanona foi identificada como o produto principal de termólise. A velocidade de queda da quimiluminescência foi cerca de 1,5 vezes mais rápida que aquela observada com solução de TED purificado e a energia de ativação deste processo (E_{QL}), determinada pelo "método da queda brusca de temperatura" (Wilson e Schaap, 1971), coincidiu, dentro dos limites de erro experimental, com o valor observado com TED (Tabela 4):

Tabela 4. Energias de ativação para quimiluminescência emitida por solução fotooxigenada de 3a e por solução de TED purificado, na presença de DBA e DPA como sensibilizadores.

	(a) k_1 a 90°C, s^{-1}	E_{QL} (DBA), $kcal\ mol^{-1}$	E_{QL} (DPA), $kcal\ mol^{-1}$
<u>3a</u> + 1O_2	6×10^{-4}	27 ± 1	30 ± 2
TED ^(b)	$4,2 \times 10^{-4}$	$27,4 \pm 0,3$	$31,2 \pm 0,2$

a - constante de velocidade de queda de quimiluminescência, sensibilizada por DBA.

b - dados cinéticos para TED na Secção 4.3.

Estes resultados, à primeira vista, poderiam ser interpretados como consequência de rearranjo do hidroperóxido alílico 4 ao dioxetano TED, seguido de clivagem térmica com produção de luz e 3-pentanona (via b, no esquema 5). Esta possibilidade foi excluída por extração do hidroperóxido 4 da

Esquema 5:

solução orgânica irradiada com NaOH 2N. Após extração, a intensidade de quimiluminescência observada com a mesma alíquota de camada orgânica não foi significativamente alterada, enquanto o aquecimento da camada aquosa alcalina produziu 3-pentanona num processo não quimiluminescente. Concluiu-se, assim, que a fotooxigenação de 3a produziu TED em quantidades-traço (via a no esquema 5), responsável pela emissão de luz sob termólise. O rendimento deste processo, baseado na intensidade de emissão, foi estimado em 0.2%. A relevância destes resultados no contexto geral da síntese e identificação de dioxetanos será analisada na secção de Discussão.

4.3 Parâmetros cinéticos

As velocidades de decomposição térmica dos dioxetanos TED, DMDBD e BCHD foram monitoradas pela queda de quimiluminescência, na ausência ou, mais frequentemente, na presença de aceptores fluorescentes adicionados às soluções de dioxetano. As medidas foram feitas em solventes orgânicos não polares normalmente aerados, na sua maioria em xilenos (mistura de isômeros). Sempre foi observada uma queda de quimiluminescência de primeira ordem, algumas vezes seguida durante 4 ou 5 meias vidas. Para cada dioxetano, a velocidade observada a uma dada temperatura não foi significativamente ($\pm 15\%$) afetada pela presença de nenhum dos aceptores emissivos adicionados (DBA, DPA, $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$, Perileno e Rubreno) ou pelo solvente (xilenos, benzeno, CDCl_3 , CCl_4 e, no caso do DMDBD, decalina), como mostra a tabela 5. Por outro lado, a velocidade também não foi afetada pela passagem de N_2 pela solução de dioxetano/aceptor. As concentrações de dioxetano e de aceptores fluorescentes, quando adicionados, foram mantidas abaixo de 10^{-2} M para prevenir autocatálise induzida pelo produto e/ou pelo acceptor ambos excitados (Wilson e Schaap, 1971; Lechtken e colab., 1973).

A Figura 1 mostra as projeções tipo Arrhenius para os três dioxetanos, obtidas a partir das constantes de velocidade de termólise (k_1), determinadas em diferentes temperaturas (numa faixa de 40 a 50°C) e em diferentes condições experimentais de concentração, solvente e natureza do

Tabela 5. Constantes de velocidade de termólise (k_1) dos dioxetanos TED, DMDBD e BCHD, na ausência e presença de diferentes aceptores fluorescentes, e em diferentes solventes.

Temp., °C	Aceptor a	Solvente b	k_1, s^{-1}		
			TED	BCHD	DMDBD
61,5	DBA	xilenos	-	$4,8 \times 10^{-5}$	$0,9 \times 10^{-4}$
	DPA	xilenos	-	$4,6 \times 10^{-5}$	$1,0 \times 10^{-4}$
	Rubeno	xilenos	-	-	$1,0 \times 10^{-4}$
73,0	-	$CDCl_3$	$6,0 \times 10^{-5}$	-	$3,5 \times 10^{-4}$
	-	CCl_4	-	$2,0 \times 10^{-4}$	-
	DBA	xilenos	$5,8 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-4}$	$3,8 \times 10^{-4}$
	DBA	decalina	-	-	$3,5 \times 10^{-4}$
	DPA	xilenos	$6,8 \times 10^{-5}$	$1,8 \times 10^{-4}$	$3,6 \times 10^{-4}$
	DPA	decalina	-	-	$3,0 \times 10^{-4}$
99,0	Perileno	benzeno	$6,2 \times 10^{-5}$	-	-
	$Eu(TTA)_3Phen$	xilenos	-	-	$3,5 \times 10^{-4}$
	-	CCl_4	$0,9 \times 10^{-3}$	-	-
	DBA	xilenos	$1,3 \times 10^{-3}$	$3,1 \times 10^{-3}$	$4,2 \times 10^{-3}$
	Rubeno	xilenos	$1,2 \times 10^{-3}$	-	-
	-	-	-	-	-

a - [aceptor] e [dioxetano] $< 10^{-2}$ M.

b - Em $CDCl_3$ e CCl_4 , as medidas de k_1 foram feitas em tubos selados; apenas nestes casos [dioxetano] $\approx 10^{-2}$ M.

FIGURA 1 - Projeções de Arrhenius para as constantes de velocidade de primeira ordem (k_1) das termólises dos dioxetanos TMD, DMDBD e BCHD, monitoradas pela queda de quimiluminescência na ausência (X) ou presença de DBA (● e ○) DPA (■ e □), $Eu(TTA)_3Phen$ (▼), Perileno (▲) e Rubreno (◆). Os solventes foram $CDCl_3$ ou CCl_4 (X), xilenos (marcas cheias) e decalina (marcas vazias). Faixa de concentração dos dioxetanos e dos aceptores $< 10^{-2}$ M. As retas tracejadas foram reproduzidas da lit. (Wilson e colab., 1976) e referem-se aos dioxetanos TMD e TMOD.

aceptor. Os valores de k_1 usados nestas projeções foram obtidos com os dioxetanos purificados; as velocidades com preparações brutas não foram significativamente diferentes. Para comparação, incluiu-se na Figura 1 as projeções determinadas por Wilson e colab. (1976) para o tetrametildioxetano (TMD) e tetrametóxodioxetano (TMOD).

TMD

TMOD

A tabela 6 reúne os parâmetros cinéticos da termólise dos três dioxetanos estudados (E_a , $\log A$ e vida média a 80°C , τ_{80°) e, para comparação os parâmetros já conhecidos de TMD e TMOD.

A Figura 1 (ou Tabela 6) mostra que o dioxetano mais estável da série alquílica é o TED; a 80°C sua vida média é $\sim 2\text{h}$, enquanto aquelas de BCHD e DMDBD são 38 e 22 min., respectivamente (τ_{80° de TMD ≈ 14 min).

Tabela 6. Parâmetros cinéticos da termólise de TED, BCHD, DMDBD e, para comparação, os valores correspondentes a TMD e TMOD^(b)

Dioxetano	Produto de termólise	τ_{80° , min.	Log A ^(a)	$E_a^{(a)}$, kcal mol ⁻¹
TED	3-pentanona	122	15,2	30,8 ± 1
BCHD	ciclohexanona	38	13,8	27,7 ± 0,5
DMDBD	2-hexanona	22	12,8	25,7 ± 0,5
TMD ^(b)	acetona	14	14,1	27,6 ± 1
TMOD ^(b)	carbonato de metila	840	12,9	28,6 ± 1

(a) calculados das velocidades correspondentes às retas na Fig. 1

(b) Wilson e colab., 1976

As energias de ativação de termólise dos dioxetanos também foram determinadas pelo "método da queda brusca de temperatura" (Wilson e Schaap, 1971), baseado na medida de intensidades de emissão quando a solução de dioxetano, com ou sem aceptor, é submetida a um resfriamento rápido ($\Delta T \sim 15^\circ\text{C}$). Os valores observados na presença de aceptor, E_{QL} , foram corrigidos levando-se em conta o coeficiente negativo de temperatura no rendimento de fluorescência do aceptor (E_F^A): ~ 0 para DPA, -1 kcal mol⁻¹ para perileno e $-4,5$ kcal mol⁻¹ para DBA (Wilson e Schaap, 1971) e $-1,9$ kcal mol⁻¹ para rubreno, determinado experimentalmente ($\log \phi_F$ versus $1/T$). A fluorescência de $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$ é muito depen-

dente da temperatura e do solvente e a projeção $\log \phi_F$ versus $1/T$ não é linear (Winston e colab., 1963; Filipescu e colab., 1966; Bhaumik e Telk, 1964). Consequentemente, as intensidades medidas na presença deste quelato nas duas temperaturas, foram corrigidas através da projeção não linear, obtida experimentalmente no solvente usado (xilenos). Assim, os valores de energia de ativação baseados em medidas de intensidade de emissão, E_{QL} , foram calculados pela expressão:

$$E_{QL} = E_{QL}(\text{obs}) - E_F^A$$

As Tabelas 7, 8 e 9 contêm os valores de E_{QL} determinados para TED, DMDBD e BCHD, respectivamente, em diferentes condições de concentração, solvente, presença ou não de aceptor e faixa de temperatura onde foi realizado o resfriamento rápido. Para facilitar a comparação dos valores de energia de ativação determinados pelos dois métodos, incluiu-se nas tabelas os valores baseados em medidas de constantes de velocidade (Arrhenius). As faixas de erro que acompanham os valores de E_{QL} referem-se à reprodutibilidade das medidas; o erro absoluto é estimado em $\pm 1 \text{ kcal mol}^{-1}$, causado principalmente pela imprecisão na medida das temperaturas.

As Tabelas 7, 8 e 9 mostram em geral excelente concordância, dentro dos limites de erro experimental, entre os valores de E_a e E_{QL} . Aparecem apenas duas exceções: nos casos de TED e BCHD, os valores de E_{QL} obtidos com a-

ceptores de energia triplet (DBA e $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$ são cerca de 4 e 2 kcal, respectivamente, mais baixos que aqueles determinados na ausência e presença de aceptores de singletes (DPA e perileno) e pela projeção de Arrhenius.

Tabela 7. Termólise de TED^(a): energias de ativação, em kcal/mol⁻¹, baseadas em intensidades (E_{QL}) e em velocidades de queda de quimi luminescência (E_a).

Aceptor, M ⁻¹	Solvente (número de determinações)	E_{QL} (temp., °C) (c)	(d) E_a
-	CDCl ₃ (4)	31,7 ± 0,8 (75-94)	30,8 ± 1
DPA, 3 x 10 ⁻³	xilenos (6)	31,2 ± 0,2 (67-99)	
DPA, 4 x 10 ⁻³	benzeno (2)	31,2 ± 0,2 (54-65)	
Perileno, 1 x 10 ⁻³	xilenos (2)	31,0 ± 0,2 (67-80)	
DBA, 4 x 10 ⁻³	xilenos (3)	27,1 ± 0,3 (78-100)	
DBA, 4 x 10 ⁻³	benzeno (3)	27,7 ± 0,3 (54-65)	
Eu(TTA) ₃ Phen, 3 x 10 ⁻⁴	xilenos (2)	27,8 ± 0,2 (44-57)	

(a) [TED] = 10⁻⁵ a 10⁻⁴ M com aceptor e 10⁻² M sem aceptor.

(b) Determinada entre temperaturas diferindo de ~ 15°C.

(c) Faixa de temperatura onde foram feitas as medidas.

(d) Valor obtido da Fig. 1.

Tabela 8. Termólise de DMDBD^(a): E_{QL} e E_a , em kcal mol⁻¹.

Aceptor, M ⁻¹	Solvente (número de determinações)	E_{QL} (temp., °C (c))	E_a (d)
DPA, 5 a 1 x 10 ⁻³	xilenos (2)	26,0 ± 0,4 (40-62)	25,7 ± 0,5 (e)
DPA, 4 x 10 ⁻³	decalina (2)	26,6 ± 0,2 (44-57)	
Perileno, 3 x 10 ⁻³	xilenos (2)	26,0 ± 0,2 (45-62)	
Rubreno, 2 x 10 ⁻³	xilenos (2)	26,3 ± 0,2 (45-62)	
DBA, 4 x 10 ⁻³	xilenos (2)	25,6 ± 0,2 (40-61)	
DBA, 2 x 10 ⁻³	decalina (2)	25,5 ± 0,2 (54-65)	
Eu(TTA) ₃ Phen, 4 x 10 ⁻³	xilenos (2)	26,3 ± 0,2 (45-62)	

(a) [DMDBD] = 10⁻³ a 10⁻⁴ M.

(b), (c) e (d), como na tabela 7.

(e) Em concordância com $E_a = 25,5$ kcal/mol, calculada da lit. (Darling e Foote, 1974) a partir de $\Delta H^* = 24,8 \pm 0,3$ e $\Delta S^* = -3,6 \pm 1,0$ cal/grau.

Tabela 9 . Termólise de BCHD (a) : E_{QL} e E_a , em kcal mol⁻¹.

Aceptor, M ⁻¹	Solvente (número de determinações)	$E_{QL}^{(b)}$ (temp., °C) (c)	$E_a^{(d)}$
-	C Cl ₄ (3)	27,9 ± 0,4 (56-71)	27,7 ± 0.5
DPA, 3 a 5 x 10 ⁻³	xilenos (3)	27,6 ± 0,2 (64-71)	
DBA, 4 x 10 ⁻³	xilenos (5)	25,8 ± 0,5 (62-77)	

(a) [BCHD] = 10⁻⁴ a 10⁻³ M com aceptor e 6 x 10⁻² M sem aceptor.

(b), (c) e (d), como na tabela 7.

4.4 Cálculos termoquímicos:

O calor de termólise (ΔH_r^0) de cada dioxetano foi calculado pelo método da aditividade de propriedades de grupo de Benson (1968) e as energias de ativação, estimadas pelo processo de O'Neal e Richardson (1970), por sua vez baseado no trabalho de Benson e colab. (1969; O'Neal e Benson, 1968). O mecanismo de reação assumido nestes cálculos envolve a formação lenta de um intermediário diradicalar, seguida de clivagem rápida C-C dando os produtos carbonílicos (Esquema 5).

Esquema 5:

$$\Delta H_r^0 = 2 \Delta H_f^0 (c) - \Delta H_f^0 (D)$$

$$E_a = \Delta H_{1,-1}^0 + E_{-1}, \text{ onde}$$

$$\Delta H_{1,-1}^0 = \Delta H_f^0 (DR) - \Delta H_f^0 (D)$$

e,

$$E_{-1} = -0,104 \Delta H_{1,-1}^0 + 12,2$$

Os valores de ΔH_r^0 e E_a para a termólise de

TED, DMDBD e BCHD, e, para comparação, de TMD, foram estimadas para as conformações abaixo ilustradas, com base nas seguintes premissas:

a - A tensão de anel em todos os dioxetanos é igual à tensão do anel oxetânico, isto é, $25,2 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Eigenmann e colab., 1973).

b - No cálculo dos valores de E_a , a barreira interna rotacional para reciclagem do diradical, E_{-1} , foi assumida como $\pm 9,3 \text{ kcal mol}^{-1}$ para todos os casos. O valor de E_{-1} foi estimado originalmente por O'Neal e Richardson (1970), a partir de $\Delta H_{1,-1}^0$ calculado para a termólise de trimetildioxetano e o valor experimental de sua energia de ativação ($23,6 \text{ kcal mol}^{-1}$), em $+ 8,5 \text{ kcal mol}^{-1}$. Este valor foi reavaliado com base em tabelas mais recentes de tensão de anéis (Eigenmann e colab., 1973).

c - Os valores de E_{-1} também foram estimados pela relação de Evans-Polanyi, calculada por O'Neal e Richardson (1970) para a clivagem de ciclobutano e derivados, como:

$$E_{-1} = -0,104\Delta H_{1,-1}^0 + 12,2$$

Assume-se portanto, nestes cálculos, que a clivagem de dioxetanos é semelhante em todos os aspectos termodinâmicos e cinéticos à clivagem de ciclobutanos.

d - Assume-se que o intermediário diradicalar se estabiliza durante a clivagem por rotação ao longo do eixo C-C do anel, adquirindo as conformações representadas abaixo por projeções de Newman:

TED

cis-DMDBD BCHD
(anéis em "cadeira")

e - As interações gauche óxi-alquil, estimadas por O'Neal e Richardson (1970) para óxi-metil como +0,35 kcal, foram avaliadas levando-se em conta o tamanho dos grupos em interação. Para as correções usamos os parâmetros E_s de Taft (1963) que medem efeitos estéricos de grupos substituintes na hidrólise ácida de ésteres metílicos. Do mesmo modo, as interações gauche alquil-alquil (+ 0,8 kcal; Benson, 1968) foram corrigidas usando-se os valores de E_s de Taft .

f - Nota: os valores das entalpias de formação de grupos (ΔH_f^0) foram retirados de tabelas dos trabalhos de Benson (Benson, 1968; Benson e colab., 1969; Eigenmann e colab., 1973) e ΔH_f^0 para o grupo C-($\dot{O}$)(C)₃, +8,6 kcal,

de O'Neal e Richardson (1970). Os valores calculados para o calor de termólise dos dioxetanos, ΔH_r^0 , acham-se relacionados na Tabela 10. A Tabela 11 contém os valores estimados das energias de ativação de termólise, os valores experimentais correspondentes e os valores da energia de termólise disponível para quimiexcitação dos produtos,

$$(E_2 - (\Delta H_r^0 + \Delta H_{1,-1}^0))$$

onde E_2 representa a energia de ativação de clivagem do diradical a produtos ($E_2 < 6,5$ kcal) (Wilson, 1976). Para ilustrar os cálculos termoquímicos realizados nesta tese, o Apêndice 3 contém as etapas de cálculo para o dioxetano TED.

TABELA 10 - Cálculo do Calor de Termólise (ΔH_r^O), em kcal mol⁻¹, dos Dioxetanos TED, DMDBD e BCHD e, para Comparação, de TMD, pelo Método da Aditividade de Grupos^(a) (Benson, 1968).

ΔH^O (kcal/mol)	TMD $\xrightarrow{\Delta} 2$		TED $\xrightarrow{\Delta} 2$		DMDBD $\xrightarrow{\Delta} 2$		BCHD $\xrightarrow{\Delta} 2$	
i) - $\Sigma \Delta H_f^O$ de grupos	-62,5	-51,6	-82,4	-62,0	-92,3	-66,7	-71,7	-55,75
ii) - Correções "cis"	+ 3,0	-	+ 3,0	-	+ 3,0	-	+ 3,0	-
iii) - Correções "gauche"	-	-	+ 3,4	+ 1,0	+ 2,2	+ 0,5	-	-
iv) - Tensão de anel ^(b)	+25,2	-	+25,2	-	+25,2	-	+25,2	+ 2,2 ^(c)
ΔH_f^O (D) e ΔH_f^O (C) = i + ii + iii + iv	-34,3	-51,6	-50,8	-61,0	-61,9	-66,2	-43,5	-53,55
$\Delta H_r^O = \Delta H_f^O$ (C) - ΔH_f^O (D)	-68,9 ^(d)		-71,2		-70,5		-63,6	

(a) - Cálculos parciais e natureza das correções exemplificados para TED no Apêndice 3.

(b) - Assumiu-se para o anel dioxetânico a mesma tensão do anel oxetânico (25,2 kcal mol⁻¹).

(c) - Eigenmann e colab., 1973.

(d) - 68,8 kcal mol⁻¹, em O'Neal e Richardson (1971).

TABELA 11 - Valores Estimados de E_a e da Energia Disponível para Excitação dos Produtos, em kcal mol^{-1} , na Termólise de TED, DMDBD, BCHD e, para Comparação, de TMD. Mecanismo de Clivagem Assumido (O'Neal e Richardson, 1970):

	$\xrightleftharpoons[-1]{1}$		$\xrightarrow{2}$	$\xrightarrow{2}$
Dioxetano	ΔH_F^O (D)	ΔH_F^O (DR)	$\Delta H_{1,-1}^O$	$E_a^{(a)}$	$E_a^{(b)}$	$E_a^{(c)}$ (exp.) $E_2 - (\Delta H_F^O - \Delta H_{1,-1}^O)$
TED	-50,8	-34,5	16,3	25,6	26,8	30,8 94,2
DMDBD	-61,9	-45,8	16,1	25,2	26,6	25,7 93,1
BCHD	-43,5	-29,3	14,2	23,5	24,9	27,7 84,3
TMD	-34,3	-20,1	14,2	23,5 ^(e)	24,9	27,6 ^(f) 89,6

(a) $E_a = \Delta H_{1,-1}^O + 9,3$

(b) $E_a = \Delta H_{1,-1}^O + (-0,104 \Delta H_{1,-1}^O + 12,2)$

(c) Valores obtidos das projeções tipo Arrhenius (tabelas 7, 8 e 9).

(d) Energia disponível para excitação dos produtos, calculados segundo Wilson (1976); ΔH_f^O obtidos da Tabela 10.

(e) 24,7 kcal mol^{-1} segundo cálculos de O'Neal e Richardson (1971).

(f) Wilson e colab., 1976.

4.5 Rendimentos quânticos de produtos excitados ($^3\phi$ e $^1\phi$)

Os rendimentos de produtos excitados gerados pela termólise de TED, DMDBD e BCHD foram calculados a partir das projeções dos inversos das intensidades de emissão na presença de acceptor fluorescente versus concentração de acceptor, mantida constante e baixa ($< 10^{-3}$ M) a concentração de dioxetano (Wilson e colab., 1976). As temperaturas foram suficientemente baixas para que não ocorresse decomposição significativa de dioxetano durante o período de tempo de cada medida. As determinações foram feitas em "xilenos" normalmente aerado e, apenas no caso de DMDBD, em decalina. DPA e perileno foram usados para determinar os rendimentos de produtos no estado singlete excitado ($^1\phi$) e DBA e Eu(TTA)₃Phen para dosagem dos tripletes ($^3\phi$). Trabalhou-se sempre numa faixa de concentração de acceptor suficientemente larga, de tal modo que se pôde observar a esperada tendência à saturação quando as intensidades foram projetadas versus concentração de acceptor (Eq. 1 do Apêndice 1). Este tipo de projeção acha-se ilustrado na Figura 2 para o caso de BCHD, monitorada a quimiluminescência por DBA e DPA.

FIGURA 2 - Efeito da concentração de DPA e DBA na intensidade de quimi-luminescência (I , em amperes) gerada na termólise de BCHD ($5,3 \times 10^{-4} \text{M}$) em xilenos, a 57°C .

Para todos os dioxetanos as projeções dos inversos de intensidades de emissão em função dos inversos das concentrações de acceptor foram lineares. A Figura 3 mostra a "projeção dos inversos" correspondente à Figura 2, obtida com BCHD, e a Figura 4 contém as retas determinadas por este método para DMDBD, na presença de vários aceptores.

Os valores de $^3\phi$ foram calculados a partir dos coeficientes lineares das retas (Y_{int}) obtidas na "projeção dos inversos" com DBA e a quelato de európio (eq. 2 do Apêndice 1):

Equação 2:

$$\frac{1}{I_{DBA}} = \frac{k_T}{k_1 [D] \phi_F^{DBA} \phi_{TS}^{DBA}} \times \frac{1}{[DBA]} + \frac{1}{k_1 [D] \phi_F^{DBA} \phi_{TE}^{DBA}}$$

$$\phi_{obs}^{DBA} = \frac{1}{k_1 [D] Y_{int}} \quad e \quad ^3\phi = \frac{\phi_{obs}^{DBA}}{\phi_F^{DBA} \times \phi_{TE}^{DBA}}$$

Nos cálculos de $^3\phi$, assumiu-se que a eficiência de transferência de energia triplete para DBA, produzindo $^1DBA^*$, é igual a 0,2 (Wilson, 1976), enquanto ϕ_F^{DBA} na temperatura da experiência foi calculado a partir de ϕ_F^{DBA} a $20^\circ C = 0,10$ e $E_F^{DBA} = -4,5 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Liu e Edman, 1969; Wilson e Schaap, 1971). Para o quelato de európio, assumiu-se $\phi_{TE} = 1$ e ϕ_F^{Eu}

FIGURA 3 - Projeção dos inversos de intensidade de emissão versus concentração de aceptor, correspondente à Figura 2.

FIGURA 4 - Efeito da concentração de aceptor na intensidade de quimiluminescência gerada na termólise de DMDBD ($\bullet$ e $\circ$, $1,1 \times 10^{-3} \text{ M}$; $\blacksquare$ e $\square$, $8 \times 10^{-4} \text{ M}$, em xilenos a 47°C .

a cada temperatura foi obtido de curva experimental. Os valores de $^1\phi$ foram estimados das "projeções dos inversos" com DPA e perileno. No caso destes aceptores $^1\phi_{\text{obs}} = ^1\phi$, já que $\phi_{\text{TE}} = \phi_{\text{SS}} \approx 1$ e $\phi_{\text{F}} \approx 1$ (Engel e Monroe, 1971).

A Tabela 12 contem os valores de $^3\phi$ e $^1\phi$ determinados por este método para cada dioxetano e os quocientes Yint/tangente calculados das retas. Estes quocientes, pode-se demonstrar, são o produto da vida média da espécie excitada na ausência de aceptor pela constante de velocidade de transferência de energia: $k_{\text{TE}}\tau$ (Apêndice 1). O erro nos valores de $^3\phi$ reflete principalmente o erro na determinação de Yint; é estimado em cerca de 20%. Por outro lado, os valores de $^1\phi$ têm significado apenas na sua ordem de grandeza. Os dados da Tabela 12 mostram que, para todos os dioxetanos estudados, a relação $^3\phi/^1\phi$ varia na faixa de 10^2 a 10^3 , seguindo portanto a regra geral de formação preferencial de espécies tripletes (Adam, 1976; Wilson, 1976). O dioxetano TED, com um rendimento de tripletes de cerca de 60%, é o mais eficiente entre os dioxetanos estudados até o presente na química excitação dos produtos (Horn e colab., 1978-79).

4.6 Supressão de produtos excitados com dienos

Steinmetzer e colab. (1973) e Wilson e colab. (1976) demonstraram que dienos conjugados e acrilonitrila interceptam diretamente espécies tripletes geradas na termólise de dioxetanos, desativando-as. Dienos conjugados têm ener

Tabela 12. Rendimentos de produtos excitados gerados na termólise de TED, DMDBD e BCHD

Dioxetano ^(a)	Aceptor ^(b)	Solvente (temp., °C)	$\gamma_{\text{int/tangente}}$ M^{-1}	$^1\phi$	$^3\phi$
TED	DPA	xilenos (69 e 81°)	55 e 46	2×10^{-3}	
	DBA	xilenos (69 e 81°)	500 e 380		0,60 ^(c)
DMDBD	DPA	xilenos (47°)	15	8×10^{-4}	
	Perileno	xilenos (47°)	10	3×10^{-4}	
	DPA	decalina (46°)	25	6×10^{-4} (f)	
	DBA	xilenos (47°)	270		0,22 ^(c)
	Eu(TTA) ₃ Phen	xilenos (47°)	210		0,38 ^(d)
	DBA	decalina (60°)	60		0,09 ^(f)
BCHD	DPA	xilenos (57°)	60	4×10^{-4}	
	DBA	xilenos (57°)	750		0,21 ^(e)
	Eu(TTA) ₃ Phen	xilenos (41°)	290		0,45 ^(d)

(a) Conc. de dioxetanos na faixa $0,2 - 2,0 \times 10^{-3}$ M, determinadas por CPGL.

(b) Faixa de conc. de aceptores: DPA, 2×10^{-3} a $1,5 \times 10^{-2}$ M para TED e BCHD e 7×10^{-4} a 3×10^{-2} M para DMDBD; Perileno, 2×10^{-3} a 3×10^{-2} M para DMDBD; DBA, 5×10^{-4} a 8×10^{-3} M para TED, 5×10^{-4} a 1×10^{-2} M para BCHD e 4×10^{-4} a 2×10^{-2} M para DMDBD; Eu(TTA)₃Phen, 1×10^{-4} a 3×10^{-3} M para DMDBD e 8×10^{-5} a 2×10^{-3} M para ECHD.

(c) No cálculo de $^3\phi$ assumiu-se $\phi_{TE} = 0,20$ para TED e DMDBD (Wilson, 1976), o qual foi determinado para o par acetofenona triplete/DBA.

(d) As intensidades de quimiluminescência foram corrigidas (fator de 3) para a baixa sensibilidade espectral da fotomultiplicadora no λ_{max} de emissão de Eu^{3+} , ~ 613 nm.

(e) Usou-se no cálculo de $^3\phi$, $\phi_{TE} = 0,13$ pois:

ϕ_{TE} para ciclohexanona/DBA = 0,63 ϕ_{TE} para acetofenona/DBA; Belyakov e Vassil'ev, 1970.

(f) Em decalina, valores citados na lit. $^1\phi = 0,05$ e $^3\phi = 0,035$ (Darling e Foote, 1974).

gia triplete ($S_0 \rightarrow T_1$) igual ou abaixo de 60 kcal mol^{-1} (Lamola, 1969; Wagner, 1976), o que os torna compostos extremamente úteis como supressores de cetonas tripletes ($E_T \approx 60$ a 80 kcal mol^{-1} ; Turro, 1969). O processo de supressão tem natureza colisional e ocorre, portanto, à velocidade de difusão num dado solvente e determinada temperatura (Wagner, 1976).

$$k_{\text{dif}} = \frac{8RT}{3000\eta} \quad (\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}) \quad (\text{Lamola, 1969})$$

onde η é a viscosidade do solvente em poises. Para os solventes orgânicos típicos à temperatura ambiente, as constantes k_{dif} são da ordem de 10^9 a $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Nos estudos de supressão de determinada espécie excitada emissora, as projeções I/I_0 versus $[Q]$ (I_0 e I são, respectivamente, intensidades de emissão na ausência e presença de concentrações crescentes de supressor, "quencher" (Q)) fornecem uma reta, definida pela equação de Stern-Volmer (Wagner, 1967):

$$\frac{\phi_0}{\phi} = \frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau [Q]$$

onde k_q é a constante de velocidade de supressão ($\approx k_{\text{dif}}$) e τ é a vida média da espécie excitada na ausência de supressor, isto é, τ engloba todos os processos de desativação da espécie excitada, exceto a supressão.

Como esperado, a adição de cis-1,3-pentadieno e de 2,5-dimetil-2,4-hexadieno (DMHD) a soluções aquecidas dos dioxetanos na presença de DBA e $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$ resultou na supressão eficiente da quimiluminescência. O fator de supressão (I_0/I) observado com 0,5 M de dieno chegou a 100 no caso de DMDBD e TED, e a 200 quando os estudos foram feitos com BCHD. Por outro lado, a quimiluminescência sensibilizada por DPA ou perileno não foi relativamente alterada pela adição de dienos a estas soluções; em geral, o fator de supressão foi de apenas 2, isto é, 50% de supressão, com concentrações de dieno em torno de 1 M. Estes dados confirmam, evidentemente, que DBA e $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$ monitoram a formação de tripletes na termólise de dioxetanos, enquanto DPA e perileno são "contadores" de singletes.

A Figura 5 mostra os resultados observados no estudo da supressão da quimiluminescência gerada pelo sistema dioxetano/DBA por adição de até 0,20 M de DMHD. Surpreendentemente, obteve-se curvas em vez de retas, o que poderia significar que outro tipo de espécie excitada responsável por emissão estava sendo também suprimida por dieno. Por outro lado, as projeções de Stern-Volmer observadas para os dioxetanos DMDBD e BCHD, usando-se até 0,20 M de pentadieno foram rigorosamente lineares, feitas as correções para a pequena diluição resultante das micropipetagens sucessivas de dieno para a solução de dioxetano/DBA. Estes resultados excluíam assim a possibilidade de que outro tipo de espécie doadora excitada gerada pelos dioxetanos ou supressão química eram responsáveis pela curvatura nos estudos com DMHD.

FIGURA 5 - Efeito supressor do dieno DMHD na intensidade de quimiluminescência dos dioxetanos TED, DMDBD e BCHD, na presença de DBA, em "xilenos" aerados. I_0 e I são as intensidade sem e com dieno, respectivamente. (-x-x-): $[BCHD] = 9,3 \times 10^{-4} M$, $[DBA] = 8,0 \times 10^{-4} M$, a $50^\circ C$; (-x---x--): $[BCHD] = 1,8 \times 10^{-3} M$, $[DBA] = 1,7 \times 10^{-3} M$, a $50^\circ C$; (-●-●-): $[DMDBD] = 9,8 \times 10^{-4} M$, $[DBA] = 1,1 \times 10^{-3} M$, a $41^\circ C$; (-o-o-): $[TED]$ e $[DBA] = 5,4 \times 10^{-4} M$, a $69^\circ C$.

Decidiu-se então investigar a supressão de DBA fotoexcitado por irradiação, pelos dienos. A Figura 6 mostra que $^1\text{DBA}^*$ não é praticamente suprimido por pentadieno enquanto, com DMHD, a supressão foi eficiente e mostrou acentuada dependência na temperatura (E_a de supressão $\approx -4,1$ kcal, calculada a partir da figura 6). Assim, a curvatura das projeções Stern-Volmer pôde ser, pelo menos parcialmente, explicada pela dependência de ordem quadrática na concentração de dieno (Apêndice 2).

$$\frac{I_0}{I} = (1 + k_q^{\text{DBA}} \tau^{\text{DBA}} [Q]) (1 + k_q^{\text{C}} \tau^{\text{C}} [Q])$$

onde o primeiro termo representa a supressão por dieno de $^1\text{DBA}^*$ e o segundo, da cetona triplete gerada na termólise. As Figuras 7 e 8 mostram as projeções Stern-Volmer após feitas as correções, usando-se as retas da Figura 6, para a supressão "extra" de $^1\text{DBA}^*$. A figura 8 mostra que, mesmo após as correções para a supressão de $^1\text{DBA}^*$, as projeções continuaram curvas, nos casos de BCHD e DMDBD, que a curvatura diminui com o aumento da concentração de DBA e que as tangentes iniciais das curvas coincidem com os valores das inclinações das retas obtidas com pentadieno (Figura 7). Descobrimos posteriormente que a curvatura resulta principalmente de artefato da técnica de adição sucessiva de solução estoque de DMHD à solução de dioxetano. No caso de pentadieno (líquido à temperatura ambiente; $P = 42^\circ\text{C}$, "Handbook of

FIGURA 6 - Supressão por DMHD (○) e por cis-1,3-pentadieno (●) da fluorescência de DBA ($2 \times 10^{-4} M$) em "xilenos" aerado. Excitação de DBA feita com $\lambda = 372 \text{ nm}$ e intensidade de emissão (I) medidas em 436 nm .

FIGURA 7 - Supressão da quimiluminescência dos dioxetanos BCHD, DMDBD e TED com 1,3-cis-pentadieno (●) e com DMHD (○), após correção para supressão de $^1DBA^*$ pelos dienos. Condições de concentração de DBA e de dioxetano bem como de temperatura, especificadas na Figura 5.

FIGURA 8 - Efeito supressor de DMHD sôbre a intensidade de quimiluminescência dos dioxetanos TED, DMDBD e BCHD, na presença de DBA, após correção para supressão de 1DBA pelo dieno. Condições experimentais especificadas na Figura 5.

Chemistry and Physics", R.C. Weast, ed., Chem. Rubber Co., Ohio, USA) a diluição final na experiência foi muito pequena pois adicionou-se no total menos de 20 μ l de dieno puro à solução (volume inicial, 0,60 ml; diluição < 38%; $|\text{dieno}| \sim 0,3 \text{ M}$). Quando se usou DMHD (líquido viscoso à temperatura ambiente), adicionou-se cerca de 100 a 300 μ l de solução estoque do dieno à solução de dioxetano (30 a 50% de diluição).

A Tabela 13 contém os valores de $k_q\tau$ obtidos a partir das inclinações das retas das Figuras 7 e 8 (neste caso, tangentes iniciais) e, para comparação, os valores de $k_{TE}\tau$ determinados para os três dioxetanos na "projeção dos inversos" (Secção 4.5). Se ambos os processos, supressão e transferência de energia triplete-singlete para DBA, são exotérmicos, controlados por difusão ($k_q = k_{TE} = k_{dif}$) e refletem a interceptação de uma mesma espécie excitada, os dois produtos $k_q\tau$ e $k_{ET}\tau$ deveriam ser da mesma ordem de grandeza.

TABELA 13 - Supressão da Quimiluminescência do Sistema Dioxetano/DBA pelo Dienes Conjugados cis-1,3-Pentadieno (PD) e DMHD, em "Xilenos", normalmente aerado.

Dioxetano (a)	Produto excitado	DBA , M	k _q ^τ , M ⁻¹ (b)		k _{TE} ^τ , M ⁻¹ (c) (temp., °C)
			DMHD	PD	
TED	3-pentanona	5,4 x 10 ⁻⁴	180 (69°)	-	500 (69°)
DMDBD	2-hexanona	1,1 x 10 ⁻³	220 (41°) (40; 470) (e)	210 (41°) -	270 (57°) (60; 600) (e)
BCHD	ciclohexanona	1,7 x 10 ⁻³	340 (50°)	390 (41°)	750 (57°)
TMD (d)	acetona	5 x 10 ⁻⁴	-	200 (38°)	380 (57°)

(a) Concentração molar de dioxetano nos estudos de supressão: TED, 5,4 x 10⁻⁴; DMDBD, 1 x 10⁻³; BCHD, 1,8 x 10⁻³

(b) k_q^τ determinados por projeções Stern-Volmer.

(c) k_E^τ determinados nas "projeções dos inversos" (Secção 4.4)

(d) Dados extraídos da literatura (Wilson e colab., 1976).

(e) Em decalina, como solvente; [DMDBD] = 6,3 x 10⁻⁴ M e [DBA] = 1,1 x 10⁻³ M.

5. DISCUSSÃO

5.1. Fotooxigenação de Tetraetiletileno:

A quimiluminescência proveniente do aquecimento de solução fotooxigenada de tetraetiletileno, somada ao fato que 3-pentanona foi o produto principal de termólise, poderia, à primeira vista, ser interpretada como evidência da formação apreciável de dioxetano durante a fotooxigenação. Demonstramos entretanto que o hidroperóxido alílico 4 formou-se em quantidades quase estequiométricas durante a irradiação, acompanhado de ~0,2% de dioxetano. Estes resultados são muito interessantes sob dois aspectos:

Primeiro, olefinas contendo grupos α -metilênicos sofrem quantitativamente cicloadição-1,3 de $^1\text{O}_2$ formando um hidroperóxido alílico (Foote e Denny, 1971). O comportamento de tetraetiletileno frente a $^1\text{O}_2$, produzindo traços de TED, reflete em escala reduzida a tendência de olefinas com grupos volumosos, com número menor de graus de liberdade de rotação, darem preferencialmente cicloadição-1,2. A importância de efeitos estereoquímicos em reações de adição a tetraetiletileno já foi mencionada anteriormente: adição de Br_2 (Grosjean e colab., 1976) e adição de $\text{Br}^+/\text{H}_2\text{O}_2$, durante a síntese do bromohidroperóxido correspondente a TED.

Segundo, o aquecimento ou tratamento de hidro-

peróxidos alílicos com ácidos de Lewis promove a clivagem não quimiluminescente destes compostos com formação dos mesmos fragmentos carbonílicos produzidos na termólise do dioxetano relacionado. O esquema 6 sugere as etapas envolvidas na clivagem do hidroperóxido 4, com base nos mecanismos de clivagem-Hock sugeridos por Frimer (1974).

Esquema 6:

Portanto, a identificação de dois fragmentos carbonílicos como produtos de termólise não constitui per si evidência suficiente para caracterização de um precursor como tendo natureza dioxetânica. Do mesmo modo, nem toda reação quimiluminescente se processa via um intermediário dioxetânico: reações quimiluminescentes de 4a-hidroperóxiflavinas (Kemal e Bruice, 1976), de luminol (White e Roswell, 1970), de trioxanos (McCapra e Burford, 1977; McCapra e colab.,

1976), de peróxido de difenoila (Koo e Schuster, 1977), de peranidrido ftálico (Schuster, 1977). Considerando-se ainda que a fotooxigenação de algumas olefinas pode levar a quantidades-traço de dioxetano, porém com alta eficiência na produção de estados excitados, acompanhando o produto principal (hidroperóxido alílico), concluiu-se que pelo menos tres requisitos devem ser necessariamente satisfeitos para caracterização de um composto como dioxetânico: produção de fragmentos carbonílicos, quimiluminescência e evidência espectral consistente (NMR, por exemplo). A não observação destes requisitos pode resultar em situações embaraçosas, como, por exemplo:

Akutagawa e colab. (1976) relataram a extraordinária síntese de um aminodioxetano por reação de 9-amino-antraceno com isobutiraldeído na presença de oxigênio atmosférico. O produto de reação, identificado pelos autores como um dioxetano com base em interpretação incorreta do espectro de RNM, era quimiluminescente, estável, e gerava na termólise os produtos esperados da clivagem de um dioxetano. Até então todas as tentativas de isolamento de um aminodioxetano haviam falhado; tais compostos seriam extremamente instáveis (Foote e Lin, 1968; Ando e colab., 1975). Goto e Nakamura (1976) demonstraram posteriormente que o "dioxetano" de Akutagawa e colab. era na verdade um trioxano. Por outro lado, Foote e Darling (1975) e Zimmerman e Keck (1975) chegaram a conclusões demonstradas posteriormente como incorretas (Bechara e colab., 1976; McMapra e colab., 1977) pro-

vavelmente por não terem se preocupado com o estudo da quimiluminescência de seus dioxetanos.

5.2. Estabilidade dos Dioxetanos:

A Figura 1 e Tabelas 7, 8 e 9 mostram que TED é o dioxetano mais estável da série estudada. Sua energia de ativação ($31 \pm 0,5 \text{ kcal mol}^{-1}$) é cerca de 4 kcal maior que aquela observada para o BCHD e TMD e 6 kcal maior que para DMDBD.

TED	BCHD	DMDBD	TMD
E_a (Kcalmol ⁻¹)	31,1 [±] 0,5	27,2 [±] 0,5	25,7 [±] 0,5
		(<u>cis</u> , <u>trans</u>)	27,6 [±] 1
log A	15,2	13,8	12,8
			14,1

As tabelas 7, 8 e 9 também mostram que os valores de energia de ativação calculados pelos dois métodos são geralmente concordantes, dentro dos limites de erro experimental. Apenas duas excessões foram verificadas: nos casos de TED e BCHD, os valores de E_{QL} obtidos com aceptores de energia triplete (DBA e $\text{Eu(TTA)}_3\text{Phen}$) foram cerca de 4 e 2 kcal, res

pectivamente, mais baixos que aqueles determinados na ausência de acceptor, na presença de aceptores de singletes (DPA e perileno) e pela projeção de Arrhenius. Valores mais baixos de E_{QL} poderiam resultar da contribuição de uma via catalítica, bimolecular, de decomposição do dioxetano e, portanto com energia de ativação mais baixa (via (3) no Esquema 7). Esta via catalítica estaria ocorrendo em paralelo com a excitação do acceptor promovida por transferência de energia da cetona excitada (2), gerada na termólise do dioxetano (1):

Esquema 7:

Alguns argumentos contrários à possibilidade de processo competitivo, catalítico, de decomposição do dioxetano seriam:

a) é improvável que dois aceptores tão diferentes como DBA e $Eu(TTA)_3Phen$ resultassem, por coincidência, no mesmo valor de E_{QL} para termólise do dioxetano TED (27,1 a 27,7 com DBA e 27,8 com o quelato de európio);

b) se um processo catalítico (3) está operando, a quimiluminescência não deveria ser suprimida completamente por supressores de cetonas tripletes, como veremos na Secção 4.5.

c) evidentemente, a velocidade de termólise do dioxetano medida na presença de DBA e $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$ deveria mostrar dependência na concentração de acceptor; tal não acontece, pelo menos na faixa de concentração de acceptor em que as medidas foram feitas.

É mais provável que os baixos valores de E_{QL} obtidos com os aceptores de energia triplete tenham sua origem num efeito da temperatura na vida média da cetona triplete, como veremos a seguir:

Baseando-se em tratamento de estado estacionário (apêndice 1), a intensidade de quimiluminescência obtida da termólise de dioxetanos na presença de aceptores é dada pela expressão (apêndice 1):

$$I_{\text{QL}} = k_1 [\text{D}] [\text{A}] \phi_{\text{F}}^{\text{A}} * \phi \frac{k_{\text{TE}}}{k_2 + k_{\text{TE}} [\text{A}]}$$

onde $\phi_{\text{F}}^{\text{A}}$ é o rendimento quântico de fluorescência do acceptor; $*\phi$, o rendimento de cetona excitada gerada por molécula de dioxetano e k_2 (k_{S} ou k_{T}) é a soma das constantes de todos os processos de desativação da espécie excitada (desativação térmica, supressão pelo solvente, supressão por O_2),

excluídos os processos de transferência de energia para o acceptor (k_{TE}). O inverso de k_2 é a vida média da espécie excitada singlete ou triplete na ausência de acceptor (τ_S ou τ_T).

Feitas estas considerações, torna-se evidente que o valor de E_{QL} , sendo baseado em medidas de intensidade em duas temperaturas diferentes, somente irá refletir as diferentes constantes de velocidade de termólise (k_1) se os demais fatores da expressão de I_{QL} forem independentes da temperatura. Desde que a vida média de cetonas excitadas singletes não deve ser afetada pela temperatura ou pelo solvente e k_{TE} para a transferência SS ($^1C^* + DPA \longrightarrow C + ^1DPA^*$) também é independente da temperatura e viscosidade do solvente (Turro e colab., 1973a), deve-se esperar que os valores de E_{QL} determinados para qualquer par acceptor de singlete/solvente coincidam entre si e com o valor de E_a . As tabelas 7, 8 e 9 mostram a observação a estes fatos.

Diferente situação se apresenta com aceptores de energia triplete. Em xilenos, a vida média de cetonas tripletes é provavelmente determinada pelo solvente, em vez de pelo O_2 dissolvido, como assumido anteriormente por Wilson e colab. (1976). Acetona triplete (Porter e colab., 1973; Loufty e Yip, 1973) e 4-metil-2-pentanona (E. Lissi, Universidad Tecnica del Estado Santiago, Chile, comunicado pessoal), por exemplo, são suprimidas por benzeno e tolueno com constantes de velocidade bimolecular da ordem de

$2 \text{ a } 6 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à temperatura ambiente e energias de ativação de supressão da ordem de 4 a 8 kcal mol⁻¹. Assim, a interpretação de E_{QL} obtida com o uso de aceptores de energia triplete (DBA, Eu(TTA)₃Phen) fica complicada pelo efeito simultâneo da temperatura no valor de k_{T} , porque altera a velocidade de supressão de cetona tripletes pelo solvente, e no valor de k_{TE} , porque, ocorrendo à velocidade de difusão, a transferência de energia triplete-singlete ($^3\text{C}^* + \text{DBA} \xrightarrow{k_{\text{TE}}} \text{C} + ^1\text{DBA}^*$; $E_{\text{TE}} \sim 2 \text{ kcal}$) dependerá da viscosidade do solvente. Concluindo, a diferença entre os valores de E_{QL} e E_{a} determinados na presença de aceptores de tripletes dependerá do par cetona triplete/solvente. Principalmente no caso de TED, os baixos valores de E_{QL} com DBA e o quelato de európio resultariam assim de um efeito maior da temperatura na vida média do produto triplete (3-pentanona) e, conseqüentemente, na sua concentração em "steady state", na velocidade de excitação de acceptor e, por fim, na intensidade de quimiluminescência.

Mecanismo de clivagem térmica:

Os parâmetros de ativação observados para os quatro dioxetanos da série alquílica (Fig. 1 e tabelas 6, 7, 8 e 9) - TED, DMDBD, BHCD e, para comparação, TMD- mostram que TED é o mais estável. Sua energia de ativação é cerca de 6 kcal mais alta que de DMDBD e ~4 kcal maior que de BCHD ou TMD. Estes resultados são, em princípio, consistentes

com o mecanismo de termólise em etapas, passando por um intermediário dirradicalar, proposto por Richardson e colab. (Richardson e O'Neal, 1972; Horn e colab. 1978-79; Wilson, 1976) para a clivagem de dioxetanos "estáveis" a produtos carbonílicos excitados $n\pi^*$:

Segundo este modelo, repulsão estérica entre os substituintes deveria dificultar a distensão da ligação O-O levando à clivagem (1) e a estabilização do dirradical por rotação em torno da ligação C-C. Deste modo a recombinação do dirradical seria favorecida (-1) e, conseqüentemente, resultaria em maior estabilidade para o dioxetano. Esta situação se apresenta crítica no caso do bisadamantilideno dioxetano de Schuster e colab. (1975), o qual pode permanecer durante anos à temperatura ambiente sem decomposição apreciável ($E_a \sim 34$ kcal/mol). O mecanismo de clivagem via dirradical explicaria, do mesmo modo, a maior estabilidade de TED em relação aos demais dioxetanos estudados nesta tese. Imaginando-se uma situação dinâmica de rotação dos grupos etil no dirradical de TED, repulsão estérica entre estes grupos dificultaria a estabilização do dirradical, lembrando assim a situação estática existente no bisadamantilideno-dioxirradi

cal (Schuster e colab., 1975):

O objetivo central da escolha de BCHD no estudo comparativo dos dioxetanos foi o de confirmar as idéias acima expostas. A previsão era de que este dioxetano seria menos estável que TED, em virtude da restrição imposta à rotação pela existência de anel e da conformação preferida "em cadeira" do anel ciclohexânico. De fato, este dioxetano é cerca de 4 kcal mol^{-1} menos estável que TED (Fig. 1 e tabelas 6 a 9).

Do mesmo modo, dever-se-ia esperar que DMDBD fosse menos estável que TED. Naquele dioxetano, os grupos metil não ofereceriam resistência à rotação em torno do eixo C-C do anel. O DMDBD de fato é menos estável, mas é também menos estável de cerca de 2 kcal mol^{-1} que BCHD e TMD. Talvez interações entre os átomos de oxigênio do anel e os hidrogênios- γ dos grupos butil desestabilizem o anel dioxetânico:

Ainda nesta linha de raciocínio, torna-se interessante comparar os parâmetros de ativação de TED com aqueles observados por Wilson e colab. (1976) para o tetrametóxidioxetano (TMOD) e TMD (Fig. 1 e Tab. 6). A previsão seria, considerando-se apenas efeitos estéricos, que TED e TMOD tivessem a mesma estabilidade térmica, dada a semelhança geométrica entre estes dois dioxetanos. Entretanto, TMOD é cineticamente muito mais estável que TED, como mostram os dados abaixo:

τ 80°C	2 h	14 h	14 min.
E_a (kcal mol ⁻¹)	31 $\pm$ 1	28,6 $\pm$ 1	27,6 $\pm$ 1
log A	15,2	12,9	14,1
ΔH_r° (calc) (kcal mol ⁻¹)	-71	-120	-69

(a) Tabelas 6 e 10

(b) Wilson e colab., 1976.

Ambos os dioxetanos TMOD e TED são mais estáveis que TMD, mas por diferentes razões: fatores entrópicos parecem importantes no caso de TMOD (menor log A) e limitações de ordem entálpica seriam determinantes na maior estabilidade de TED.

• Por outro lado, simples considerações geométricas não podem explicar a maior estabilidade de TMOD (τ a $80^{\circ}\text{C} = 14 \text{ h}$) Este dioxetano, do ponto de vista energético, é diferente de TED e de TMD em dois aspectos principais:

- a) devido aos grupos metóxi, a termólise de TMOD é consideravelmente mais exotérmica que aquela dos dioxetanos alquílicos ($\Delta H_r^{\circ}(\text{TMOD}) - \Delta H_r^{\circ}(\text{TED ou TMD}) \approx -50 \text{ kcal mol}^{-1}$), e,
- b) os estados excitados de carbonato de metila gerado na termólise de TMOD têm maior conteúdo energético que aqueles de cetonas (Turro, 1969) e sua configuração eletrônica deve ter alguma contribuição $\pi\pi^*$ (Johnson e colab., 1971). Não se pode, entretanto, com base apenas nestes fatores dar uma explicação clara, consistente, para a maior estabilidade de TMOD.

Resta a possibilidade de que este comportamento divergente de TMOD se deva a uma mudança no mecanismo de clivagem para "concerted" (McCapra, 1968) ou via "transferência de eletrons" (McCapra, 1977; Koo e Schuster, 1977). Baumstark e colab. (1976) sugeriram que a pequena estabilidade do 3,3-(9,9-fluorenil)-4-metoxidioxetano ($E_a = 21 \pm 1 \text{ kcal mol}^{-1}$) em relação a 3,3-difenil-4-metoxidioxetano

($E_a = 25 \pm 1 \text{ kcal mol}^{-1}$) era provavelmente devido à diferença na configuração eletrônica dos produtos correspondentes ($\pi\pi^*$, em vez de $n\pi^*$) o que resultaria numa mudança do mecanismo de "diradical" para "concerted". A outra possibilidade, mais interessante, seria uma mudança do mecanismo de clivagem de "diradical" para CIEEL "chemically initiated electron exchange luminescence"; Koo e Schuster, 1977). Segundo este modelo, o seguinte mecanismo poderia ser postulado para TMOD (Esquema 8):

Esquema 8:

ArH = aceptor

Se este mecanismo é operante, deveríamos esperar que a velocidade de termólise do dioxetano fosse dependente da natureza

za e da concentração de acceptor (Koo e Schuster, 1977). A Fig. 1 do artigo de Wilson e colab. (1976) mostra que as velocidades de termólise de TMD monitoradas pela queda de quimiluminescência na presença de DPA são sistematicamente inferiores aquelas observadas com DBA e que "a reta correspondente à projeção de Arrhenius foi "forçada" com a ajuda do valor de E_{QL} ", dado ao grande espalhamento dos valores observados de k_1 (dependência na concentração de acceptor ?). Estes fatos sugerem a viabilidade de mecanismo CIEEL para clivagem de TMD.

Termoquímica:

Os resultados dos cálculos termoquímicos efetuados para TED, DMDBD e BCHD (e, para comparação, TMD), baseados em mecanismo de clivagem via dirradical, mostram que em geral os valores de E_a (calc) subestimam os valores experimentais de 3 a 5 kcal mol⁻¹ e não explicam satisfatoriamente as diferenças de estabilidade entre aqueles dioxetanos (Tabelas 10 e 11). Os cálculos mostraram apenas que TMD e BCHD deveriam ter a mesma energia de ativação e ser menos estáveis que TED. A maior labilidade de DMDBD se deve provavelmente a razões externas aos cálculos, provavelmente interação entre O e H-γ do dioxetano.

Desde que, no caso de TMD, ΔH_r^O (calc.) concorda muito bem com o valor experimental, é provável que a tensão

de anel tomada como ~25 kcal (tensão do anel oxetânico; Eigeuman e colab., 1973) é uma boa estimativa. Não há, entretanto, nenhuma razão para antecipar que a tensão do anel de TED seja 4 kcal maior que aquela de TMD, para explicar com este argumento as diferenças nos valores de E_a (exp.) para estes dois dioxetanos. Isto sugere que ou a barreira para reciclicização do dirradical (E_{-1}) não é a mesma nos tres dioxetanos ou que o modelo assumido de dirradical estabilizado por rotação ao redor do eixo C-C do anel é incorreto. A primeira hipótese provavelmente não é satisfatória porque assumindo-se E_{-1} como 9,3 kcal mol⁻¹ ou como $-0,104 \Delta H_{1,-1}^0 + 12,2$ (relação de Evans-Polanyi calculada para derivados clobutânicos; O'Neal e Richardson, 1970), que deveria fornecer valores máximos de E_a , não foram alcançados os valores experimentais de E_a . Por outro lado, assumindo-se um dirradical "dinâmico" resultante das contribuições parciais das várias conformações possíveis, os valores calculados de E_a seriam muito próximos dos valores experimentais (veja Nota do Apêndice 3). Deste modo, poder-se-ia explicar mesmo as diferentes estabilidades de TED e DMDBD, com base numa contribuição maior das seguintes conformações, vistas através de projeções de Newman ao longo do eixo C (anel) - C(α):

TED:

DMDBD

4 repulsões R-Me, onde
R é do tipo terc-butílico

2 repulsões R-Me

Assumindo-se que, nas temperaturas de experiência, estas conformações contribuem para a estrutura do dirradical, os valores de E_a calculados para TED e DMDBD seriam ~30 e ~26 kcal mol⁻¹, respectivamente (E_a exp. = 31 e 25,7 kcal mol⁻¹; tabelas 7 e 8).

A tabela 11 mostra também que, em todos os casos, a energia de termólise disponível (84 a 94 kcal mol⁻¹) é suficiente para excitação eletrônica dos produtos ($E_T < E_S < 85$ kcal mol⁻¹ para cetonas alifáticas; Turro, 1969).

5.3. Rendimentos de Quimiexcitação dos Produtos.

Os rendimentos de cetonas excitadas singletes e tripletes ($^1\phi$ e $^3\phi$), relacionados na Tabela 12, claramente mostram que TED, DMDBD e BCHD seguem a tendência geral de produção de espécies tripletes em altos rendimentos e de espécies excitadas singletes em rendimentos inferiores de duas a tres ordens de grandeza. O rendimento $^3\phi$ observado para TED - 60% - é o mais alto encontrado para dioxetanos até agora. A formação preferencial de tripletes é a informação mais significativa da Tabela 12; o erro na determinação dos valores de $^1\phi$ é muito grande (fator de 2 a 3) e os rendimentos de tripletes destes dioxetanos têm um erro absoluto estimado em 15 a 20%. As fontes de erro na determinação de $^3\phi$ e $^1\phi$ por medidas de quimiluminescência são as mais diversas:

- a) - erro na determinação da concentração de dioxetano (método via GPGL é mais preciso e exato que NMR ou titulação iodométrica; secção 3.5),
- b) - erro na constante de velocidade k_1 , já que as determinações de $^3\phi$ e $^1\phi$ são feitas a baixa temperatura para evitar decomposição apreciável de dioxetano; nestas condições catálise "escura" por traços de metal pesado representam sério processo competitivo (Bartlett e colab., 1974;
- c) - os valores de ϕ_{TE} não são conhecidos para todos os trios cetona triplete/DBA ou $Eu(TTA)_3Phen$ /solvente; assume-se nos cálculos $\phi_{TE} = 0,20$, determinado para acetofenona triplete/DBA/benzeno (Berenfel'd e colab., 1970; Wilson, 1976). Felizmente Belyakov e Vassil'ev (1970) haviam relatado que ϕ_{TE} para ciclohexanona triplete/DBA representa 0,63 do valor determinado para acetofenona. Assumiu-se em nossos cálculos ϕ_{TE} unitário para cetona triplete/ $Eu(TTA)_3Phen$.
- d) - erro no traçado da reta resultante da projeção dos inversos de intensidade versus concentração de acceptor; pequenas diferenças na inclinação produzem grandes mudanças (~50%) nos valores de Y_{int} , a ser usado no cálculo de ϕ . Se os estudos são feitos numa faixa larga de concentração de acceptor (fator de 15 a 20 entre a solução mais concentrada e a mais diluída), tais problemas são minimizados.

e) - problemas resultantes da reabsorção da fluorescência pelo acceptor, especialmente na região de alta concentração de acceptor. O grau de reabsorção da luz dependerá evidentemente de quanto "overlap" existe entre o espectro de fluorescência e o espectro de absorção do acceptor.

Os valores de $^3\phi$ determinados para DMDBD e BCHD com DBA como acceptor foram inferiores (fator de 2) àqueles determinados com $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$. (Tabela 12). No caso do quelato de európio o problema de reabsorção é praticamente inexistente pois o λ_{max} de absorção para este composto é em 380 nm, enquanto o λ_{max} de fluorescência é em 613 nm. Ao contrário, DBA tem bandas de absorção e de emissão muito próximas (405 e 420 nm, respectivamente). Com o uso de filtros, avaliou-se a correção dos valores de $^3\phi$ obtidos com DBA, para reabsorção de luz, em um fator de 1,3 a 1,4. Fazendo-se estas correções no caso dos dioxetanos DMDBD e BCHD, os respectivos valores de $^3\phi$ determinados com DBA seriam 0,31 e 0,29 (0,38 e 0,45, respectivamente, com $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$). Desta maneira se explicariam parcialmente as diferenças em $^3\phi$ para cada dioxetano, medidos com aqueles dois aceptores.

Foote e Darling (1975), através da dosagem de fotoprodutos produzidos a partir de 2-hexanona triplete gerada na termólise de DMDBD em decalina, determinaram $^1\phi$ e $^3\phi$ como 5,0 e 3,5% respectivamente. Estes dados foram surpreendentes na medida em que a produção preferencial de tri

pletos ($^3\phi/^1\phi \sim 10^2-10^3$) e em rendimentos de 20 a 50% havia sido observada na termólise de todos os dioxetanos e dioxetanonas conhecidos. Os resultados de Darling e Foote, somados à observação de Wilson e colab. (1976) de que a termólise de TMD fornece $^3\phi = 10\%$ e $^1\phi = 1\%$, levaram estes últimos pesquisadores a sugerir que "substituents with a larger number of degrees of freedom than the methyl groups of TMD appear to reduce the total yield of excited products while increasing the yield of singlets". Fazia-se assim uma previsão de que substituição adequada com grupos "flexíveis" poderia levar a dioxetanos-modelo estáveis para intermediários de processos quimi- e bioluminescentes, onde, como já visto, a luminescência intensa resulta da produção eficiente de espécies singletes. Nossos resultados, entretanto, mostram que DMDBD segue a regra geral de produção eficiente e preferencial de tripletes e, na seção 5.2 (sob o subtítulo Mecanismo de Clivagem), apresentamos fortes argumentos em favor de um mecanismo de clivagem via transferência de elétrons (CIEEL) para TMD, o que poderia explicar a baixa relação $^3\phi/^1\phi$ para este dioxetano.

Possíveis razões para a discordância entre nossos resultados e os de Darling e Foote (1974) são analisadas a seguir:

O método de dosagem de $^1\phi$ e $^3\phi$ de Darling e Foote baseou-se: (a) na dosagem por CPGL de cis e trans-1,2-dimetilciclobutanol (CB) e de acetona (A) formados pela fotólise química Norrish tipo II em 2-hexanona excitada, gerada na

termólise de DMDBD e (b) na determinação dos rendimentos fotoquímicos de rearranjo em 2-hexanona, irradiada > 360 nm. (Esquema 9):

cis - CB: 0,47%

trans - CB: 0,67%

onde α_3 e α_1 , são os rendimentos de quimiexcitação dos produtos em tripletes e singletes, respectivamente.

(b)

Assim, a formação de 2-hexanona excitada singlete daria um rendimento maior de fotoprodutos ($^1\phi_A + ^1\phi_{CB} = 0,108$) mas um rendimento relativamente mais alto de acetona que 2-hexanona triplete. Os rendimentos térmicos observados de acetona e ciclobutanol gerados na termólise de DMDBD (ϕ_A^D e ϕ_{CB}^D) foram relacionados com os rendimentos de quimiexcitação (α_3 e α_1) em termos dos parâmetros medidos no sistema fotoquímico:

$$\phi_A^D = \alpha_1 (^1\phi_A + \phi_{ST} ^3f_A) + \alpha_3 ^3f_A$$

$$\phi_{CB}^D = \alpha_1 (^1\phi_{CB} + \phi_{ST} ^3f_{CB}) + \alpha_3 (^3f_{CB})$$

Substituindo-se neste sistema de equações ϕ_A^D e ϕ_{CB}^D pelos rendimentos de fotoprodutos dosados por CPGL (3,0 e 1,14% respectivamente) e os demais parâmetros fotoquímicos apontados no Esquema 9 (b), α_1 e α_3 (em nossa nomenclatura, $^1\phi$ e $^3\phi$) foram calculados em 5,0 e 3,5% respectivamente. Entretanto, o método de Darling e Foote não tem provavelmente precisão analítica suficiente para distinguir produtos singletes de tripletes, pois consiste na dosagem cromatográfica (CPGL) de teores muito baixos de fotoprodutos, especialmente de ciclobutanol (1,14% de (cis + trans), provavelmente aparecendo no traçado cromatográfico como dois picos). Um erro positivo de apenas 10% na determinação de ϕ_{CB}^D , isto é, se a dosagem revelasse 1,25% de (cis + trans) ciclobutanol em vez de 1,14%, as soluções do sistema de equações seriam $\alpha_1 = 2\%$

e $\alpha_3 = 5\%$. Um erro de +15% na dosagem ($\phi_{CB}^D = 1,31\%$) daria $\alpha_1 \sim 0\%$ e $\alpha_3 = 5\%$, isto é, revelaria formação exclusiva de tripletes !

Admitindo-se que o método cromatográfico é suficientemente preciso, a divergência entre nossos resultados ($^1\phi = 6 \times 10^{-4}$ e $^3\phi = 0,09$, em decalina: Tabela 12), obtidos por medidas de quimiluminescência e aqueles de Darling e Foote ($^1\phi = 0,05$ e $^3\phi = 0,035$), determinados por "contagem química" em decalina como solvente, poderia ter outras origens. Pode-se especular, por exemplo, que o método baseado em medidas de luminescência "conta" cetonas tripletes relaxadas, enquanto as reações de fotoeliminação e ciclização poderiam resultar de 2-hexanona triplete excitada também vibracionalmente ("estados quentes"). Assim, aqueles tripletes excitados que não tiveram a chance de sofrer os processos tipo II podem não ter sido "contados" no trabalho de Darling e Foote. Este argumento não poderia porém explicar a discrepância no valor de $^1\phi$, extremamente mais alto que o determinado por quimiluminescência. Outra possibilidade seria que os rendimentos quânticos e eficiências de cruzamento inter-sistema para os processos tipo II são diferentes quando cetonas excitadas são geradas fotoquimicamente ou na termólise de dioxetanos.

É interessante notar que os resultados de Darling e Foote sobre o rendimento total de espécies excitadas ($^1\phi + ^3\phi = 8,5\%$) e a supressão de 2-hexanona triplete por

1,3-hexadieno ($k_q \tau = 30 \text{ M}^{-1}$), também realizado por "contagem" química em decalina, coincidem razoavelmente com nossos resultados: $^1\phi + ^3\phi \approx 9,0\%$ e $k_T \tau \sim 60 \text{ M}^{-1}$. A diferença nos valores de $k_q \tau$ obtidos pelos dois métodos pode não ser significativa; a informação importante destes resultados é que, em ambos os sistemas, o dieno intercepta uma espécie excitada de vida média da ordem de 10^{-8} s ($k_q \approx k_{\text{dif}} \sim 1 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para decalina). Por outro lado, nenhuma explicação podemos oferecer no presente para o baixo rendimento de $^3\phi$ determinado para DMDBD em decalina/DBA, o qual é cerca de 3,5 vezes inferior ao determinado em xilenos. Por coincidência, decalina é cerca de 3,5 vezes mais viscoso que xilenos (Hogenboom e colab., 1967 e "Handbook of Chemistry and Physics", R.C. Weast, ed., C.R.C., Cleveland, Ohio, p. F-42), porém a diferença de viscosidade não poderia explicar os diferentes valores de $^3\phi$ porque afetaria igualmente k_{TS} e k_{TE} na eq. 2. Deve-se, entretanto, lembrar que assumimos nos cálculos de $^3\phi$, $\phi_{TE} = 0,20$ (valor observado para acetofenona triplete/DBA em benzeno; Wilson, 1976) para ambos os solventes, na falta de dados da literatura. Estamos assim assumindo que as características da "cage" de solvente no momento de formação do par cetona triplete/DBA não afeta a eficiência de transferência de energia.

5.4. Vida Média das Espécies Excitadas Geradas na Termólise. Supressão por Dienos.

Os valores de $k_{TE} \tau$ determinados nos estudos de

transferência de energia para cada dioxetano confirmam a natureza singlete das espécies interceptadas por DPA e perileno e a natureza triplete daquelas desativadas por DBA e $\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$. A tabela 12 mostra que os valores de $k_{\text{TE}}\tau$ ($= Y_{\text{int}}/\tau$) obtidos com DPA são inferiores como esperado para a vida média mais curta de singletes, aqueles determinados com DBA de pelo menos uma ordem de grandeza.

Se o processo de transferência de $^3\text{C}^*$ para DBA ocorre durante colisões entre estas espécies, a constante k_{TE} será controlada por difusão através do solvente (Wilson, 1976): $k_{\text{TE}} = k_{\text{TS}} + k'_{\text{TS}} \approx k_{\text{dif}} \approx 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ em benzeno. Por outro lado, segundo Turro e colab. (1973a) a transferência singlete-singlete para DPA ocorre por mecanismo tipo Förster, a longa distância, com $k_{\text{TE}} = k_{\text{ss}} > 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Assumindo-se estes valores de k_{TE} , as vidas médias das espécies excitadas doadoras, para cada dioxetano estudado, poderiam ser estimadas (Tab. 12):

<u>Dioxetano</u>	<u>Produto</u>	$\tau_{\text{T}}, \text{ s}$	$\tau_{\text{S}}, \text{ s}$
TED	3-pentanona	$\sim 9 \times 10^{-8}$	$< 5 \times 10^{-9}$
DMDBD	2-hexanona	$\sim 5 \times 10^{-8}$	$< 1,5 \times 10^{-9}$
BCHD	ciclohexanona	$\sim 1,5 \times 10^{-7}$	$< 6 \times 10^{-9}$

Estes valores de τ determinados com DBA e DPA, quando comparados às informações disponíveis na literatura, se mostram razoavelmente consistentes com aqueles esperados para as es

pécies tripletes e singletes, respectivamente, geradas na termólise do dioxetano correspondente. Weiss e colab.(1970) obtiveram os seguintes resultados com ciclohexanona fotoexcitada, em benzeno:

$$\tau_T \sim 1 \times 10^{-7} \text{ s} \quad \text{e} \quad \tau_S \sim 3 \times 10^{-9} \text{ s}$$

Dubois e Cox (1963) determinaram, por estudos de supressão de 3-pentanona fotoexcitada com biacetilo, em ciclohexano como solvente, τ_S para a cetona igual a 4×10^{-9} s. Wilson e colab. (1976) estimaram, por estudos de transferência de energia para DBA, τ_T de acetona $\approx 4 \times 10^{-8}$ s. No caso de 2-hexanona, devido à fotoquímica tipo II (abstração γ de hidrogênio), as espécies singletes e tripletes têm vida média mais curta (Darling e Foote, 1974). Por outro lado, a natureza colisional do processo de transferência de energia de $^3C^*$ para DBA ou $Eu(TTA)_3Phen$ foi evidenciada pelo efeito da viscosidade do solvente no valor de $k_{TE}\tau$ obtido para DMDBD. A Tabela 12 mostra que $k_{TE}\tau$ diminui de 3 a 4,5 vezes ao se passar de xilenos para decalina (decalina/ xilenos $\approx 3,5$; secção 5.3).

Os estudos realizados com cis-1,3-pentadieno e DMHD, condensados na Tabela 13, mostraram que estes dienos efetivamente suprimem a quimiluminescência de DBA através da interceptação dos doadores carbonílicos tripletes gerados na termólise dos dioxetanos. Se, novamente, tomamos k_q

$\approx k_{\text{dif.}} \approx 5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Wagner, 1976; Wilson, 1976) o cálculo da vida média das espécies tripletes sendo suprimidas em cada caso fornece valores coincidentes na ordem de grandeza com aqueles determinados via $k_{\text{TE}}\tau$. A rigor, não se deveria esperar que os valores de τ_{T} determinados pelos dois métodos apresentassem boa concordância, pois a vida média da espécie triplete obtida das projeções Stern-Volmer também é limitada pela concentração de acceptor (no caso, DBA):

(Apêndice 1) "Projeção dos inversos $\rightarrow k_{\text{TE}}\tau$, onde $\tau = \frac{1}{k_{\text{T}}}$

(Apêndice 2) Projeção Stern-Volmer $\rightarrow k_{\text{q}}\tau$, onde $\tau = \frac{1}{k_{\text{T}} + k_{\text{TS}}[\text{DBA}]}$

Portanto, apenas no caso de $k_{\text{T}} \gg k_{\text{TS}}[\text{DBA}]$, $k_{\text{TE}}\tau = k_{\text{q}}\tau$.

Os valores relativos de k_{T} e $k_{\text{TS}}[\text{DBA}]$ também poderiam explicar, pelo menos parcialmente, a não linearidade das projeções de Stern-Volmer, mesmo após as correções para supressão adicional de DBA* por DMHD (Fig. 8). Especialmente no caso de BCHD ($k_{\text{T}} \sim 0,7 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ e $k_{\text{TS}}[\text{DBA}]$ inicial $\sim 0,8 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, assumindo-se $k_{\text{TE}} \sim k_{\text{TS}}$, controlados por difusão), a diluição da solução inicial de dioxetano por adição sucessiva de solução estoque de DMHD 1,24M (diluição final $\sim 30\%$) causaria um aumento sucessivo da inclinação resultando a curvatura. Em concordância com esta hipótese, a Fig. 8 mostra no caso de BCHD, que a curvatura é dependente da concentração de DBA. A Fig. 7, por outro lado, mostra que as projeções Stern-Volmer obtidas com cis-1,3-pentadieno fo

ram rigorosamente lineares e os valores de $k_q\tau$ coincidem, dentro do erro experimental com as tangentes iniciais das projeções com DMHD (Tabela 13). Cis-pentadieno puro (~10M) foi usado durante a experiência e a diluição final foi insignificante (< 3%). Estes resultados alertam para a incorreção da técnica de adição sucessiva de dieno em estudos tipo Stern-Volmer, monitorando-se a supressão pela quimiluminescência de acceptor adicionado. A correção para diluição não é direta e, dependendo da magnitude da vida média da espécie excitada em estudo ($1/k_T$) em relação a $k_{TE}[A]$, a projeção pode apresentar curvatura.

6. CONCLUSÕES FINAIS. - IMPLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Decidiu-se sintetizar o dioxetano TED com o intuito original de se comparar suas propriedades com aquelas do tetrametóxidioxetano (TMOD). Sendo isoeletrônicos e possuindo a mesma geometria, antecipávamos com base no mecanismo de clivagem via dirradical de Richardson e O'Neal (1972) que eles tivessem a mesma estabilidade térmica e produziriam na termólise rendimentos similares de espécies singletes e tripletes. Nossos resultados mostraram, contudo, que TED é muito menos estável que TMOD (τ 80°C são 2 h e 14 h, respectivamente) e produz cerca de 6 vezes a mais estados tripletes. A maior estabilidade de TMOD é devida principalmente ao fator preexponencial mais baixo ($\log A = 12,9$, comparado a 15,2 para TED). O comportamento divergente de TMOD, em relação a série alquílica estudada (TED, DMDBD e BCHD), poderia ser atribuído a uma mudança no mecanismo de clivagem térmica. Postulamos para TMOD, com base a (i) alguma contribuição $\pi\pi^*$ para os estados excitados de compostos carboxílicos (Johnson e colab., 1971) e (ii) dependência da velocidade de termólise da natureza e concentração de aceptor, sugerida pelos resultados de Wilson e colab. (1976), um mecanismo de clivagem iniciado por transferência de elétrons-CIEEL, "chemically initiated electron exchange luminescence" (Koo e Schuster, 1977).

Inspirados no modelo de reação via dirradical, onde repulsão estérica entre os substituintes dificultariam o estiramento da ligação O—O e a estabilização do dirradical por rotação em torno da ligação C—C, prevíamos que TED seria mais estável que TMD. Imaginando-se uma situação de orientação ao acaso dos grupos etil no dirradical de TED estes grupos interagiriam entre si e dificultariam a rotação em torno da ligação C—C. Isto criaria uma situação dinâmica semelhante à situação estática no bisadamantilideno-dioxirradical (Schuster e colab., 1975). O BCHD foi escolhido para confirmar estas idéias. Neste dioxetano a existência dos anéis ciclohexânicos, na conformação mais estável "em cadeia", impediria a repulsão estérica no dioxirradical e, consequentemente, a estabilidade deste dioxetano deveria ser igual àquele de TMD. Todas estas previsões foram confirmadas pelos valores experimentais de E_a : TED é cerca de 4 kcal mais estável que BCHD e TMD ($E_a = 27,7 \text{ kcal mol}^{-1}$ para os dois últimos). A menor estabilidade de DMDBD ($E_a = 25,7 \text{ kcal mol}^{-1}$) não foi antecipada; sugerimos que interação dos átomos de O do anel com os átomos de H- γ do grupo n-butil torne o anel dioxetânico menos estável. Os cálculos termoquímicos, segundo as indicações de O'Neal e Benson (1968) e O'Neal e Richardson (1970), não permitiram entretanto avaliar corretamente as diferentes energias de ativação para estes dioxetanos. Este tipo de cálculos permitiu estimar valores de E_a bem próximos daqueles observados experimentalmente mas não antecipou satisfatoriamente a maior estabilidade de TED.

O modelo de reação assumido - clivagem via dirradical - é provavelmente correto, mas bastante limitado em dois aspectos principais: (i) assume-se nos cálculos a mesma barreira energética (E_{-1}) para reciclização do dirradical transiente em todos os casos e (ii) o modelo de Richardson assume um dirradical estabilizado por rotação ao redor do eixo C-C. É concebível, talvez, que na medida que a temperatura aumenta, a população de rotâmeros de mais alta energia e o conteúdo vibracional dos substituintes também aumentem, tornando-se mais difícil relativamente a quebra da ligação O-O e, uma vez clivada, o afastamento dos átomos de O por rotação ao redor do eixo C-C. No apêndice 3 demonstramos que se a contribuição de conformações de mais alta energia for considerada para os casos dos dirradicais hipotéticos correspondentes a TED e DMDBD, pode-se estimar uma diferença de ~4 kcal na estabilidade destes dois dioxetanos e os valores calculados de E_a concordam, dentro dos limites de erro experimental, com os valores de E_a determinados pela projeção de Arrhenius.

Foi enfatizado na secção precedente que todos os três dioxetanos estudados são fontes muito eficientes de cetonas tripletes ($^3\phi = 30$ a 60%). Estes altos rendimentos e a preferência por cetonas tripletes permanecem como a propriedade mais intrigante dos dioxetanos substituídos por grupos alquila. Se o nível energético do estado de transição e os rendimentos de excitação são determinados pelo cruzamento da superfície de potencial do dioxetano no estado funda-

mental com as superfícies dos estados excitados de um hipotético dirradical transiente (Turro e Devaguet, 1975 e Harding e Goddard, 1977), quais são os fatores que afetam a posição dos pontos de cruzamento e as velocidades de cruzamento? Não está ainda satisfatoriamente esclarecido como as propriedades estabilidade versus rendimento de quimiexcitação estão inter-relacionadas. Por outro lado, demonstramos nesta tese que as propriedades de DMDBD seguem o padrão geral para dioxetanos alquílicos, em termos de estabilidade e da produção preferencial de tripletes, ao contrário das conclusões de Darling e Foote (1974).

Dioxetanos substituídos por grupos alquila, sendo relativamente estáveis e fontes de espécies tripletes, não preenchem os requisitos para serem postulados como intermediários na fase de quimiexcitação de processos bioluminescentes (Hastings e Wilson, 1976). Entretanto, existem evidências de que intermediários dioxetânicos com propriedades semelhantes às das dos dioxetanos estudados nesta tese são formados em sistemas biológicos "escuros" (Cilento, 1975; Cilento e colab., 1978) e, neste caso, a produção de espécies tripletes poderia ser responsável por "fotobiologia sem luz" (White e colab., 1974; Cilento, 1974). A maioria dos sistemas enzimáticos investigados "in vitro" por Cilento e colab. (1978) envolve a oxidação aeróbica de vários substratos catalisada por peroxidase de rabanete (HRP), uma hemoproteína. Os substratos geralmente contêm um grupo metileno vizinho a carbonila (metileno "ativado") e sua oxida-

ção enzimática resulta na ruptura da ligação C-CO com formação dos produtos esperados de um dioxetano precursor (Esquema 10). A analogia com sistemas de luciferina-luciferase é evidente (McCapra, 1976).

X = H, OH, SR

R₂ = H ou R

Os substratos estudados são das mais diversas naturezas: auxinas de plantas, acetoacetato, bases de Schiff, piruvatos, aldeídos e ácidos carboxílicos, etc. Cilento (1975) apontou também a possibilidade deste tipo de mecanismo ser operante na α -peroxidação de lípidos, onde um ácido graxo é convertido ao aldeído com (n-1) átomos de C e CO₂, na conversão de ácido linoleico catalisada por lipooxygenase em produtos carbonílicos, etc. Em todos os casos estudados por Cilento e colab., 1978 foram obtidas evidências indiretas para formação dos produtos num estado eletronicamente excitado, geralmente tripleto. O sistema investigado com maior

profundidade foi a oxidação aeróbica de isobutanal/peroxidase:

Evidências diretas e indiretas foram obtidas para demons-
trar a formação de acetona triplete neste sistema ($^3\phi \sim 3$ a
10%; Faria Oliveira e colab., 1978; Bechara e colab., 1979).
Entre elas:

- a) - espectro de emissão coincidente com espectro de fosfo-
rescência de acetona triplete gerada na termólise de
TMD ou por fotoexcitação ($\lambda_{\text{max}} \sim 440 \text{ nm}$), em meio aquo
so sob N_2 ;
- b) - detecção de isopropanol ($\sim 7\%$) na mistura final de rea-
ção, produto de redução de acetona foto- ou quimiexci-
tada;
- c) - transferência de energia triplete-singlete para 9,10-
dibromoantraceno-2-sulfonato (DBAS) mas não para antraa
ceno ou 9,10-difenilantraceno sulfonados (AS e DPAS,
respectivamente);
- d) - transferência de energia triplete-triplete para biace-
tilo; e
- c) - estudos de supressão da luminescência direta por acri-
lonitrila e ácido 2,4-hexadienóico.

É interessante notar que adição de agentes quelantes (EDTA ou pirofosfato) ao sistema enzimático intensifica a emissão de cerca de 100 vezes, a ponto de ela poder ser vista a olho nu adaptado ao escuro. Estes resultados são consistentes com um dioxetano hipotético como intermediário, para o qual a catálise por traços de íons de metais de transição representa um processo competitivo de decomposição não quimiluminescente (Wilson e colab., 1973). O resultado mais surpreendente foi a observação de emissão fosforescente de acetona no sistema aerado. É fato conhecido que cetonas triplete são desativadas termicamente por O_2 (Lechtken e colab., 1973; Wilson e Schaap, 1971). Estes resultados foram interpretados postulando-se a formação de acetona triplete dentro da enzima, portanto "protegida" da ação supressora de O_2 . De fato, os estudos tipo Stern-Volmer efetuados com acrilonitrila e ácido 2,4-hexadienóico como supressores, somados à curva de supressão por O_2 durante a reação enzimática e os estudos de transferência triplete-triplete com biacetilo, revelaram que o processo de supressão da acetona triplete é relativamente impedido, isto é, ocorre a uma velocidade inferior à constante de difusão em H_2O ($k_{dif.} \sim 10^{10} M^{-1} s^{-1}$) (Bechara e colab., 1979). A vida média da acetona triplete gerada enzimaticamente foi estimada em $10^{-5} s$ por estudos de transferência para DBAS (τ acetona em H_2O , sob $N_2 = 2,2 \times 10^{-5} s$, Porter e colab., 1971; τ acetona em H_2O , aerada $\sim 2 \times 10^{-6} s$, obtido da projeção dos inversos $1/I$ versus $1/[DBAS]$ com TMD em meio aquoso aerado; Bechara e colab., 1979). Em traba-

lhos publicados recentemente, situações análogas a esta, envolvendo uma barreira colisional à supressão são descritas para sistemas micelares (Turro e colab., 1978) e enzimáticos (Saviotti e Galley, 1974; Alpert e Lindqvist, 1975; Alpert e Lopez-Delgado, 1976; Eftink e Ghiron, 1977).

Em vista da discussão precedente, torna-se óbvia a importância bioquímica da investigação das propriedades de dioxetanos, quais sejam, estabilidade, rendimentos de quimiexcitação e natureza das espécies excitadas. Além das informações de ordem teórica necessárias à interpretação de fenômenos biológicos afins, novas técnicas de abordagem e métodos têm sido desenvolvidos no decorrer da investigação de dioxetanos-modelo.

A importância potencial da formação de espécies excitadas tripletes "in vivo" reside principalmente na alta reatividade química e vida média relativamente longa destas espécies. Uma vez formadas, elas poderiam transferir a energia de excitação para diversos tipos de aceptores biológicos, seguida ou não de conversões aparentemente fotoquímicas (rearranjos, clivagens Norrish tipos I e II, dimerização, redução por abstração de H, etc.; Turro, 1969). Estas possibilidades foram verificadas com modelos químicos por White e colab. (1974) em meio orgânico e com aceptores naturais como DNA (Lamola, 1971; Meneghini e colab., 1978), flavinas (Haun e colab., 1978), fitocromo (Augusto e colab., 1978), clorofila (Augusto e Cilento, 1970) e hormônios ti-

roideanos (Rivas e colab., 1979).

A verificação desta teoria "in vivo" ("fotobiologia sem luz"; Cilento, 1974, 1975 e White e colab., 1974) constitui um difícil desafio. Uma grande soma de trabalho experimental, pesquisa básica e esforço pessoal será certamente exigida no ataque a este problema. Em seguida aos artigos em que os Profs. E.H. White (Johns Hopkins, University, Baltimore, USA) e Cilento (Instituto de Química da USP, São Paulo, Brasil) reavivaram as idéias sobre a ocorrência biológica de estados excitados, propostas anteriormente por Szent-Györgi (1941), Steele (1963) e Cilento (1965), White e colab. (D.F. Roswell, E.J. Breaux, C.J. Watkins, M. Umbreit e E.J.H. Bechara) optaram por investigar sistemas de alcalóides de plantas cuja composição inclui o alcalóide-precursor e o alcalóide-fotoproduto. Através do uso de filtros, de incorporação de precursor "marcado" (radiativo), de crescimento das plantas sob luz difusa, de exposição de folhas à luz e proteção contra ela, etc., pretendiam verificar se a conversão precursor-fotoproduto na planta era um processo fotoquímico ou se ocorria no escuro, promovida por espécies excitadas formadas em reações enzimáticas. Escolheu-se como método analítico a cromatografia líquido-líquido sob alta pressão (HPLC) para análise dos extratos de planta. Os sistemas investigados foram (i) a conversão do sesquiterpeno-lactona, santonina em lumisantonina, em folhas de Artemisia, (ii) a conversão do alcalóide orensina em santiaguina, em folhas de Adenocarpus foliosus e (iii) a conversão colchina-

-lumicolchicinas na planta Colchicum Autumnale L.. Os resultados com o sistema (i) sugeriram que lumisantonina é produto de excreção da planta na superfície das folhas, provavelmente formada sob ação da luz solar (E.J. Breaux e D. F. Roswell , comunicação pessoal, não publicado). Os resultados com o sistema (ii) foram inconclusivos (C.J. Watkins e M. Umbreit, comunicação pessoal). Com o sistema colchicina-lumicolchinina conseguiu-se demonstrar em extratos de bulbos da planta que os níveis de lumialcalóides aumentavam durante a fase de vida não vegetativa, quando a planta não estava portanto exposta a raios solares (E.J.H. Bechara, não publicado). Estes resultados vêm de encontro aos objetivos propostos inicialmente, mas não são absolutamente evidência suficiente de que a conversão colchicina-lumicolchinas ocorrem no escuro por transferência de energia de espécies excitadas formadas em reações enzimáticas.

SUMÁRIO

É fato conhecido que a decomposição térmica de 1,2-dioxetanos - peróxidos cíclicos de anel tetraatômico - produz dois compostos carbonílicos, um deles num estado eletronicamente excitado. Dioxetanos e dioxetanonas têm sido sugeridos como os precursores "ricos em energia" na fase de quimiexcitação de sistemas bioluminescentes e alguns sistemas biológicos "escuros". Dioxetanos-modelo para o primeiro caso são geralmente instáveis e devem ser necessariamente capazes de gerar com eficiência estados singletes excitados de configuração $\pi\pi^*$; para o segundo, dioxetanos-modelo são relativamente estáveis e produzem estados tripletes de caráter $\pi\pi^*$, com altos rendimentos.

Uma série de três dioxetanos simétricos e estruturalmente relacionados, substituídos com grupos alquila, foram sintetizados: tetraetildioxetano (TED), bisciclohexilidenodioxetano (BCHD) e 1,2-dimetil-1,2-di-n-butildioxetano. A termólise quimiluminescente destes dioxetanos produz, respectivamente, 3-pentanona, ciclohexanona e 2-hexanona como únicos produtos. Os parâmetros de ativação observados foram: $E_a = 31,1 \pm 0,5 \text{ kcal mol}^{-1}$, $\log A = 15,6$ para TED; $E_a = 27,7 \pm 0,5 \text{ kcal mol}^{-1}$, $\log A = 13,8$ para BCHD e $E_a = 25,7 \text{ kcal mol}^{-1}$, $\log A = 12,8$ para DMDBD. Em xilenos como solvente, os rendimentos de cetonas tripletes ($^3\phi$), determinados a partir da intensidade de quimiluminescência sensibilizada por 9,10-dibromoantraceno (DBA) ou tris(tenoiltrifluoroacetato) - 1,0-fenantrolina Európio III ($\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$), são 0,6, 0,3 e 0,3 ($\pm 20\%$). A razão $^3\phi/^1\phi$ (> 100 em todos os casos), sendo $^1\phi$ determinado na presença de 9,10-difenilantraceno (DPA) ou perileno, está de acordo com a produção preferencial de estados tripletes, manifestada por dioxetanos estáveis.

Assim, TED, além de ser o mais estável da série estudada (E_a de TED é $\sim 6 \text{ kcal}$ maior que DMDBD) é o mais eficiente na quimiexcitação (60% de tripletes). A maior estabilidade de TED é interpretada com base no mecanismo "diradical" para clivagem de dioxetanos, sugerido pela primeira vez por Richardson. A repulsão estérica entre os grupos etil no diradical "dinâmico" favoreceria a reciclagem. Não são claros os fatores que determinam a eficiência de quimiexcitação.

SUMMARY

The thermal decomposition of 1,2-dioxetanes - cyclic four membered ring peroxides - has been shown to produce two carbonyl fragments, one of them in an electronic excited state. Dioxetanes and dioxetanones have been suggested to be the "energy rich" precursors in the chemiexcitation step of both bioluminescent systems and some "dark" biological processes. Model dioxetanes for the first case must necessarily be capable of efficient generation of excited singlet states with $\pi\pi^*$ configuration; for the latter case, model dioxetanes should be relatively stable and produce high yields of triplet states with $n\pi^*$ character.

A series of three closely related, symmetric, alkyl substituted dioxetanes were synthesized: tetraethyldioxetane (TED), bis-cyclohexylidenedioxetane (BCHD) and 1,2-dimethyl-1,2-di-n-butyldioxetane. Their chemiluminescent thermolyses give, respectively, 3-pentane, cyclohexanone and 2-hexanone as sole products. The activation parameters are: $E_a = 31.1 \pm 0.5 \text{ kcal mol}^{-1}$, $\log A = 15.6$ for TED; $E_a = 27.7 \pm 0.5 \text{ kcal mol}^{-1}$, $\log A = 13.8$ for BCHD and $E_a = 25.7 \text{ kcal mol}^{-1}$, $\log A = 12.8$ for DMDBD. In xylenes, the yields of excited triplet ketones from TED, BCHD and DMDBD, determined from the intensity of chemiluminescence in the presence of 9,10-dibromoanthracene (DBA) or tris(thenoyltrifluoroacetate)-1,10-phenanthroline europium (III) ($\text{Eu}(\text{TTA})_3\text{Phen}$), are 0.6, 0.3 and 0.3 ($\pm 20\%$). The ratio of triplet to singlet excited ketones (> 100 in all cases), determined with 9,10-diphenylanthracene (DPA) or perylene, conform to the established pattern of preferential generation of triplets.

Thus, TED in addition of being more stable than either BCHD or DMDBD (E_a of TED is $\sim 6 \text{ kcal}$ higher than that of DMDBD) gives rise to a two-fold higher yield of excited products upon thermolysis. The higher stability of TED is interpreted within the framework of the diradical mechanism for dioxetane cleavage, first suggested by Richardson - steric repulsion between ethyl groups in a "dynamic" diradical favoring recyclization. No immediate reasons for the higher yield of triplets from TED are obvious.

8. APÊNDICES

Apêndice 1:

Equações de Intensidade de Químiluminescência
para Termólise de Dioxetanos na Presença de DBA e DPA
(Wilson, 1976):

Equações 1:

$$I_{DBA} = \frac{k_1 [D]^3 \phi \phi_F^{DBA} k_{TS} [DBA]}{k_T + k_{TE} [DBA]}$$

$$I_{DPA} = \frac{k_1 [D]^1 \phi k_{SS} [DPA]}{k_S + k_{SS} [DPA]}$$

Equações 2:

$$\frac{1}{I_{DBA}} = \frac{k_T}{k_1 [D]^3 \phi \phi_F^{DBA} k_{TS}} \times \frac{1}{[DBA]} + \frac{1}{k_1 [D]^3 \phi \phi_F^{DBA} \phi_{TE}^{DBA}}$$

$$\frac{1}{I_{DPA}} = \frac{k_S}{k_1 [D]^1 \phi k_{SS}} \times \frac{1}{[DPA]} + \frac{1}{k_1 [D]^1 \phi}$$

Considere os ESQUEMAS 1, 2 e 3:

ESQUEMA 1

Decomposição térmica de dioxetano (D) a cetonas (C) em solvente aerado:

$$k_d + k_P + k_{\text{solv}} [\text{solv}] + k_{O_2} [O_2] = k_T$$

$1/k_T = \tau_T$, vida média de cetona triplete em solução aerada.

$$\phi_F^C = \frac{k_F}{k_F + k_{isc}} , \text{ rendimento de fluorescência de cetona singlete}$$

ESQUEMA 2

Termólise do dioxetano na presença de DBA:

Aos processos fotofísicos do Esquema 1, somam-se os seguintes:

$k_{TS} + k_{TT} + k'_{TS} = k_{TE}$, constante de transferência de energia de $^3C^*$ para DBA.

$k_{TS}/k_{TE} = \phi_{TE}^{DBA} \approx 0,2$, eficiência de transferência de energia produzindo DBA fluorescente ($^1DBA^*$).

$k_{7a}/k_{7a} + k_{7b} + k_{7c} = \phi_F^{DBA} = 0,10$ a $20^\circ C$, rendimento quântico de fluorescência de DBA.

ESQUEMA 3

Termólise do dioxetano na presença de DPA:

Aos processos fotofísicos do esquema 1, somam-se os seguintes:

$k'_{SS} \gg k_{ST}$, regra da conservação do spin.

$$k'_{SS}/k'_{SS} + k_{ST} + k''_{SS} = \phi_{TE}^{DPA} \simeq 1$$

$$k_{11a}/k_{11a} + k_{11b} + k_{11c} = \phi_F^{DPA} \simeq 1$$

Dedução das Equações 1 e 2 com DBA (Esquemas 1 e 2):

Premissas:

- a - despreza-se etapas das quais singlete participa (etapas 1b e 2).
- b - despreza-se a excitação de DBA via transferência de energia de $^1\text{C}^*$ (6), pois idênticas concentrações de DBA e DPA adicionados a solução de dioxetano resultam numa intensidade de emissão cerca de 10^2 vezes maior com DBA, apesar dos baixos valores de $\phi_{\text{TE}}^{\text{DBA}}$ e de $\phi_{\text{F}}^{\text{DBA}}$ - indicação qualitativa que $^3\phi \gg ^1\phi$.
- c - despreza-se a fosforescência de cetona (3b), pois a adição de DBA amplifica a intensidade de emissão de pelo menos 20 vezes.
- d - despreza-se etapa 4, pois trabalha-se em condições de baixa concentração de dioxetano ($< 10^{-3}\text{M}$) e a velocidade de decomposição não é alterada por deaeração do solvente.

A intensidade observada de quimiluminescência, ao se aquecer solução de dioxetano contendo DBA, é dada por:

$$I_{\text{DBA}} = k_{7a} [^1\text{DBA}^*] \quad (1.1)$$

Velocidade de formação de $^1\text{DBA}^*$:

$$\frac{d}{dt} [^1\text{DBA}^*] = k_{\text{TS}} [\text{DBA}] [^3\text{C}^*]$$

Velocidade de desativação de $^1\text{DBA}^*$:

$$\frac{-d}{dt} [^1\text{DBA}^*] = (k_{7a} + k_{7b} + k_{7c}) [^1\text{DBA}^*]$$

$$k_{7a} + k_{7b} + k_{7c} = k_7$$

Tratamento "steady state" para $^1\text{DBA}^*$:

$$k_{\text{TS}} [\text{DBA}] [^3\text{C}^*] = k_7 [^1\text{DBA}^*]$$

$$[^1\text{DBA}^*] = \frac{k_{\text{TS}} [\text{DBA}] [^3\text{C}^*]}{k_7} \quad (1.2)$$

$^3\text{C}^*$ em "steady state":

$$\frac{d}{dt} [^3\text{C}^*] = k_1 {}^3\phi [\text{D}]$$

$$\frac{-d}{dt} [^3\text{C}^*] = k_{\text{T}} [^3\text{C}^*] + k_{\text{TE}} [^3\text{C}^*] [\text{DBA}]$$

$$[^3\text{C}^*] = \frac{k_1 {}^3\phi [\text{D}]}{k_{\text{T}} + k_{\text{TE}} [\text{DBA}]} \quad (1.3)$$

Substituindo-se equações (1.2) e (1.3) em (1.1), obtem-se:

$$I_{DBA} = k_{7a} \times \frac{k_{TS} [DBA]}{k_7} \times \frac{k_1 {}^3\phi [D]}{k_T + k_{TE} [DBA]}$$

$$k_{7a}/k_7 = \phi_F^{DBA}$$

$$I_{DBA} = \frac{k_1 [D] {}^3\phi \phi_F^{DBA} k_{TS} [DBA]}{k_T + k_{TE} [DBA]} \quad \text{Equação 1}$$

Invertendo-se os termos da Equação 1 e substituindo-se k_{TS}/k_{TE} por ϕ_{ET} , obtêm-se a Equação 2:

$$\frac{1}{I_{DBA}} = \frac{k_T}{k_1 [D] {}^3\phi \phi_F^{DBA} k_{TS}} \times \frac{1}{[DBA]} + \frac{1}{k_1 [D] {}^3\phi \phi_F^{DBA} \phi_{TE}^{DBA}}$$

A projeção dos inversos das intensidades de emissão versus inversos da concentração de DBA, em condições de concentração constante de dioxetano a uma dada temperatura e num determinado solvente, permite portanto calcular os valores de ${}^3\phi$ e $k_{TE}\tau_T$:

Do coeficiente linear (Y_{int}):

$${}^3\phi = \frac{1}{k_1 [D] Y_{int} \phi_F^{DBA} \phi_{TE}^{DBA}}$$

$$^3\phi_{\text{obs}} = \frac{1}{k_1 [D] [Y_{\text{int}}]} \quad \text{e} \quad ^3\phi = \frac{^3\phi_{\text{obs}}}{\phi_{\text{F}}^{\text{DBA}} \times \phi_{\text{TE}}^{\text{DBA}}}$$

Do quociente $Y_{\text{int}}/\text{tangente}$:

$$\frac{Y_{\text{int}}}{\text{tg}} = k_{\text{TE}} \tau_{\text{T}}, \quad \text{em } \text{M}^{-1}$$

Tratando-se de processo colisional,

$$k_{\text{ET}} = k_{\text{dif}} \approx 10^9 \text{ a } 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}, \text{ para solventes usuais à temperatura ambiente.}$$

$$\tau_{\text{T}} = 1/k_{\text{T}}, \text{ vida média da espécie triplete na ausência de acceptor.}$$

Equações 1 e 2 com DPA (Esquemas 1 e 3)

As equações que relacionam as intensidades de emissão com a concentração de DPA ou de outros aceptores emissivos adicionados à solução de dioxetano, podem ser deduzidas seguindo-se a mesma linha de raciocínio indicada para o caso de DBA. Com DPA como acceptor fluorescente, o rendimento $^1\phi$ é aproximadamente igual ao valor $^1\phi_{\text{obs}}$ na medida em que (i) o processo de transferência de energia singlete-singlete (etapa 9a) é muito eficiente, tratando-se de processo exotérmico, permitido pelo spin e ocorrendo "a longa

distância" (mecanismo tipo Förster) ($\phi_{TE}^{DBA} \sim 1$) e o rendimento de fluorescência de DPA é quase unitário e independente da temperatura ($\phi_F^{DPA} \sim 1$).

Equação 1 :

$$I_{DPA} = \frac{k_1 [D] \phi k_{SS} [DPA]}{k_S + k_{SS} [DPA]}$$

Equação 2:

$$\frac{1}{I_{DPA}} = \frac{k_S}{k_1 [D] \phi k_{SS}} \times \frac{1}{[DPA]} + \frac{1}{k_1 [D] \phi}$$

APÊNDICE 2

Supressão da Quimiluminescência de Dioxetanos/DBA por Dienos Conjugados.

Esquema 4: Na presença de supressor, Q:

Vamos chamar:

$$k_p + k_d + k_s [\text{solv.}] + k_{O_2} [O_2] = k_T$$

Nas condições de a) - DBA presente e b) - $[O_2] \ll [\text{solv.}]$

$$k_T = k_d + k_s [\text{Solv.}] \text{ e } 1/k_T = \tau_T$$

Na ausência de quencher:

$$I_O = k_F [{}^1\text{DBA}^*] \quad (2.1)$$

Tratamento "steady state":

$$\frac{d [{}^1\text{DBA}^*]}{dt} = 0$$

$$k_{TS} [{}^3\text{C}] [\text{DBA}] = (k_F + k_D) [{}^1\text{DBA}^*]$$

$$[{}^1\text{DBA}^*] = \frac{k_{TS}}{k_F + k_D} [\text{DBA}] [{}^3\text{C}^*] \quad (2.2)$$

$$\frac{d [{}^3\text{C}^*]}{dt} = 0$$

$$k_1 {}^3\phi [D] = (k_T + k_{TS} [\text{DBA}] + k_{TT} [\text{DBA}]) [{}^3\text{C}^*]$$

$$[{}^3\text{C}^*] = \frac{k_1 {}^3\phi [D]}{k_T + k_{TS} [\text{DBA}] + k_{TT} [\text{DBA}]} \quad (2.3)$$

Substituindo-se as equações 2.2 e 2.3 em 2.1,

$$I_O = k_F \times \frac{k_{TS} [DBA]}{k_F + k_D} \times \frac{k_1 {}^3\phi [D]}{k_T + k_{TS} [DBA] + k_{TT} [DBA]}$$

$$\frac{k_F}{k_F + k_D} = \phi_F^{DBA} \quad k_{TS} + k_{TT} = k_{TE}$$

$$I_O = \frac{\phi_F^{DBA} k_{TS} [DBA] k_1 {}^3\phi [D]}{k_T + k_{TE} [DBA]} \quad (2.4, \text{Eq. 1})$$

Na presença de quencher:

$$I_Q = k_F [{}^1DBA^*] \quad (2.5)$$

Tratamento "steady state":

$$\frac{d [{}^1DBA^*]}{dt} = 0$$

$$k_{TS} [DBA] [{}^3C^*] = (k_F + k_D + k'_Q [Q]) [{}^1DBA^*]$$

$$[{}^1DBA^*] = \frac{k_{TS} [DBA] [{}^3C]}{k_F + k_D + k'_Q [Q]} \quad (2.6)$$

$$\frac{d [{}^3C^*]}{dt} = 0$$

$$k_1 {}^3\phi [D] = (k_T + (k_{TS} + k_{TT}) [DBA] + k_Q [Q]) [{}^3C^*]$$

$$[{}^3C^*] = \frac{k_1 {}^3\phi [D]}{k_T + k_{TE} [DBA] + k_Q [Q]} \quad (2.7)$$

Substituindo-se eq. (2.5) e eq. (2.6) em 2.7:

$$I_Q = k_F \times \frac{k_{TS} [DBA]}{k_F + k_D + k'_Q [Q]} \times \frac{k_1 {}^3\phi [D]}{k_T + k_{TE} [DBA] + k_Q [Q]} \quad (2.8)$$

Dividindo-se (2.4) por (2.8):

$$\frac{I_O}{I_Q} = \frac{k_F + k_D + k'_Q [Q]}{k_F + k_D} \times \frac{k_T + k_{TE} [DBA] + k_Q [Q]}{k_T + k_{TE} [DBA]}$$

$$\frac{I_O}{I_Q} = \left(1 + \frac{k'_Q [Q]}{k_F + k_D}\right) \left(1 + \frac{k_Q [Q]}{k_T + k_{TE} [DBA]}\right)$$

$$1/(k_F + k_D) = \tau_{DBA}, \text{ vida média de } {}^1DBA^*$$

$$1/(k_T + k_{TE} [DBA]) = \tau_T, \text{ vida média da cetona triplete}$$

nas condições de experiência, na
ausência de supressor.

Portanto:

$$\frac{I_O}{I_Q} = (1 + k'_Q \tau_{DBA} [Q]) (1 + k_Q \tau_T [Q])$$

onde o primeiro termo representa a supressão de ${}^1DBA^*$ pelo supressor e o segundo, a supressão de estados tripletes gerados na termólise de dioxetano.

APÊNDICE 3

Cálculo de ΔH_f^O e E_a para termólise de TED

(Benson, 1968, 1969; Eingenmann e colab., 1973; O'Neal e Richardson, 1970).

a) - Cálculo de ΔH_f^O (D)

Contribuição de grupos (em kcal mol⁻¹):

$$C - (H)_3(C) : 4 (-10,1) = -40,4$$

$$C - (H)_2(C)_2 : 4 (-4,95) = -19,8$$

$$C - (O)(C)_3 : 2 (-6,60) = -13,2$$

$$O - (O)(C) : 2 (-4,5) = -9,0$$

$$\text{sub-total} = -82,4$$

Interações cis:

(etil-etil, no

eixo a)

Interações gauche:

(metil-etil, nos 4

eixos b)

Correções (em kcal mol⁻¹):

$$\text{Tensão do anel} : + 25,2$$

$$2 \text{ interações } \underline{\text{cis}} : + 3,0$$

$$4 \text{ interações } \underline{\text{gauche}} : + 3,2$$

$$\text{sub-total} + 31,4$$

$$\Delta H_f^O (D) = -51,0 \text{ kcal mol}^{-1}$$

b) - Cálculo de ΔH_f^O (C)

Contribuição de grupos (em kcal mol⁻¹)

$$C - (H)_3 (C) : 2 (-10,1) = -20,2$$

$$C - (H)_2 (CO) (C) : 2 (-5,2) = -10,4$$

$$CO - (C)_2 : 1 (-31,4) = -31,4$$

$$\text{sub-total} = -62,0$$

Correções (em kcal mol⁻¹):

2 interações gauche-carbonila : + 1,0

$$\Delta H_f^O (C) = -61,0 \text{ kcal/mol}$$

$$\begin{aligned} c) - \Delta H_f^O (D) &= 2 \Delta H_f^O (C) - \Delta H_f^O (D) \\ &= -71,0 \text{ kcal mol}^{-1} \end{aligned}$$

d) - Cálculo de ΔH_f^O (DR)

Contribuição de grupos (em kcal mol⁻¹):

$$C - (H)_3 (C) : 4 (-10,1) = -40,4$$

$$C - (H)_2 (C)_2 : 4 (-4,95) = -19,8$$

$$C - (\dot{O}) (C)_3 : 2 (+8,6) = +17,2$$

$$\text{sub-total} = -43,0$$

Correções (em kcal mol⁻¹):

Ao longo do eixo a : 2 gauche etil-etil : +1,6

4 gauche oxi-etil : +1,4

Ao longo dos 4 eixos b : 4 gauche metil-etil : +3,2

4 gauche oxi-metil : +1,4

sub-total : +7,6

$$\Delta H_f^O (DR) = 35,4 \text{ kcal mol}^{-1}$$

e) Cálculo de E_a ($= \Delta H_{1,-1}^O + E_{-1}$) Segundo Richardson ($E_{-1} = 9,3 \text{ kcal mol}^{-1}$)
 $E_a = 24,9 \text{ kcal mol}^{-1}$
 $\Delta H_{1,-1}^O = \Delta H_f^O (\text{DR}) - \Delta H_f^O (\text{D}) = 15,6 \text{ kcal mol}^{-1}$ Segundo relação Evans-Polanyi
 $(E_{-1} = -0,104 \Delta H_{1,-1}^O + 12,2)$,
 $E_a = 26,2 \text{ kcal mol}^{-1}$

Nota: Se considerarmos que (i) as interações gauche entre grupos de diferentes volumes (efeitos estéricos) devem contribuir diferentemente para o calor de formação do dioxetano e do radical e assumindo-se os valores de E_S de Taft (1963) para avaliar as correções; e (ii) a conformação do dirradical ao longo do eixo b seja, por razões estéricas na molécula como um todo, aquela mostrada abaixo,

então,

$\Delta H_f^O (\text{DR})$ será dado por:

Contribuição de grupos:	- 43,0 kcal mol ⁻¹	E_S (Taft)
Correções <u>gauche</u> ao longo do eixo <u>a</u> :	etil-etil: 1,6 x 1,36 = + 2,2	
	oxi-etil : 1,4 x 1,07 = + 1,5	
Correções <u>gauche</u> ao longo do eixo <u>b</u> :	oxi-metil: 1,4 x 1,00 = + 1,4	
((*) E_S para interação metil-terc-butil)metil-R:	3,2 x 2,5* = + 8,0	
	sub-total = +13,1	

$$\Delta H_f^O (\text{DR}) = -29,9 \text{ kcal mol}^{-1}$$

ΔH_f^O (D) será dado por:

Contribuição de grupos : $-82,4 \text{ kcal mol}^{-1}$

Correções cis : $+ 3,0 \times 1,36 = + 4,1$

Correções gauche : $+ 3,2 \times 1,07 = + 3,4$

Tensão de anel $= +25,2$

sub-total = +32,7

$$\Delta H_f^O \text{ (D)} = 49,7 \text{ kcal mol}^{-1}$$

e, $\Delta H_{1,-1}^O = (-29,9) - (-49,7) = +19,8 \text{ kcal mol}^{-1}$

Assim, $E_a = \Delta H_{1,-1}^O + E_{-1} = +19,8 + 9,3 = 29,1 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Richardson)

$= +19,8 + 10,1 = 29,1 \text{ kcal mol}^{-1}$ (Evans-Polanyi)

$$E_a \text{ (experimental)} = 31 \pm 1 \text{ kcal mol}^{-1}$$

APÊNDICE 4

Normas de segurança para trabalho com H_2O_2 conc., bromohidroperóxidos e dioxetanos.

Bibliografia recomendada:

E.S. Shanley e F.P. Greenspan (1947), Industrial and Engineering Chemistry 39, 1536.

E.S. Shanley (1972) em Organic Peroxides, "Organic Peroxides: Evaluation and Management of Hazards", D. Swern, ed., Wiley-Interscience, New York, N.Y., p. 341.

Inorganic Chemical Division, FMC Corporation, Bulletin Nº 46, "Concentrated Hydrogen Peroxide".

Algumas observações mais importantes:

- a- Todas as operações de manuseio de H_2O_2 conc. ($> 80\%$) devem ser realizadas sob luz difusa, na capela, sob rigorosas medidas de segurança: óculos de proteção, luvas de amianto e placa de segurança entre operador e frascos.
- b- Soluções conc. de H_2O_2 ou soluções de H_2O_2 em éter etílico ($\geq 20\%$) são altamente sensíveis a choques, ranhuras, faíscas, superfícies esmerilhadas e arestas cortantes - perigo de explosão. Vidraria deve ser rigorosamente lisa e limpa.

- c- Soluções conc. de H_2O_2 nunca devem ser guardadas no congelador ($-20^{\circ}C$) e sim no refrigerador ($0-5^{\circ}C$), para evitar cristalização de H_2O_2 . Cristais de H_2O_2 são altamente sensíveis a choques e explosivos. Quando soluções de H_2O_2 em éter ($\geq 10\%$) são resfriadas abaixo de $-50^{\circ}C$, também pode ocorrer precipitação de cristais de H_2O_2 .
- d- Nunca pipete H_2O_2 conc. diretamente da garrafa. Entorne pequenas quantidades da solução num recipiente limpo e liso. Transfira daí com pipeta para outro frasco para ser pesada.
- e- Alfa-bromohidroperóxidos e dioxetanos, assim como quaisquer peróxidos, devem ser preparados em pequena escala (2 g no máximo) e armazenados em frações separadas no congelador. Eventualmente decomposições rápidas ou mesmo explosivas podem ocorrer durante a preparação.
- f- Todas as operações de extração com éter etílico de H_2O_2 a partir de H_2O_2 30% devem ser feitas em banho de gelo, no escuro, obedecendo às recomendações de segurança indicadas em (a) e (b).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adam, W. (1977) em Advances in Heterocyclic Chemistry, vol. 21, Academic Press, New York, N.Y., p. 437.
- Adam, W. e J.C. Liu (1972) J.Am.Chem.Soc. 94, 2894
- Adam, W. e H.-C. Steinmetzer (1972) Angew.Chem. 84, 590.
- Adam, W., G.A. Simpson e F. Yany (1974) J.Phys.Chem. 78, 2559.
- Adam, W., E.M. Cancio e O. Rodriguez (1978) Photochem.Photobiol. 27, 617.
- Akutagawa, M., H. Aoyama, Y. Omote e H. Yamamoto (1976) J.C.S. Chem.Comm., 180.
- Alpert, B. e Lindqvist (1975) Science 187, 836.
- Alpert, B. e R. Lopez-Delgado (1976) Nature 263, 445.
- Ando, W., T. Saiki e T. Migita (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 5028.
- Augusto, O. e G. Cilento (1979) Photochem.Photobiol., no prelo.
- Augusto, O., G. Cilento, J. Jung e P.-S. Song (1978) Biochem. Biophys.Res.Comm. 83, 963.

Bartlett, P.D. e A.P. Schaap (1970) J.Am.Chem.Soc. 92, 3223.

Bartlett, P.D., A.L. Baumstark e M.E. Landis (1973) J.Am.Chem.Soc. 95, 6486.

Bartlett, P.D., A.L. Baumstark, M.E. Landis e C.L. Lerman (1974) J.Am.Chem.Soc. 96, 5267.

Baumstark, A.L. (1974), PhD Thesis, Harvard University, Cambridge, Mass., U.S.A.

Baumstark, A.L., T. Wilson, M.E. Landis e P.D. Bartlett (1976) Tetrahedron Lett., 2397.

Bechara, E.J.H., A.L. Baumstark e T. Wilson (1976) J.Am.Chem.Soc. 98, 4648.

Bechara, E.J.H., O.M.M. Faria Oliveira, N. Durán, R.C. de Baptista e G. Cilento (1979), Photochem.Photobiol., no prelo.

Belyakov, V.A. e R.F. Vassil'ev (1970) Photochem.Photobiol. 11, 179.

Bennett, R.G. e P.J. McCartin (1966) J.Chem.Phys. 44, 1969.

Benson, S.W. (1968) Thermochemical Kinetics, John Wiley, New York, N.Y.

Benson, S.W., F.R. Cruickshank, D.M. Golden, G.R. Haugen, H.E. O'Neal, A.S. Rodgers, R. Shaw e R. Walsh (1969) Chem.Rev. 69, 279.

Berenfel'd, V.M., E.V. Chumaevskii, M.P. Grinev, Y.I.

Kuryatnikov, E.T. Artem'ev e R.V. Dzhagatspanyan (1970)

Bull.Acad.Sci.USSR, Ser.Phys. 3, 597.

Bhaumik, M.L. e C.L. Telk (1964) J.Opt.Soc.Am. 54, 1211.

Blitz, H. (1897) Ann. 296, 238.

Bogan, D.J., R.S. Sheinson e F.W. William (1976) J.Am.Chem.

Soc. 98, 1034.

Campbell, B.S., D.B. Denney, D.Z. Denney e L.S. Shih (1975)

J.Am.Chem.Soc. 97, 3850.

Cilento, G. (1974) Quart.Rev.Biophys. 6, 485.

Cilento, G. (1975a) J.Theor.Biol. 52, 255.

Cilento, G. (1975b) J.Theor.Biol. 55, 471.

Cilento, G., N. Durán, K. Zinner, C.C.C. Vidigal, O.M.M.

Faria Oliveira, M. Haun, A. Faljoni, O. Augusto, R.C.

de Baptista e E.J.H. Bechara (1978) Photochem.Photobiol.

28, 445.

Criegee, R., H. Pilz e H. Flygare (1939) Chem.Ber. 72, 1799.

Crosby, G.A., R.E. Whan e R.M. Alire (1961) J.Chem.Phys. 34

743.

Darling, T.R. e C.S. Foote (1974) J.Am.Chem.Soc. 96, 1625.

DeLuca, M., M.E. Dempsey, K. Hori, J.E. Wampler e M.J.

Cormier (1971) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S. 68, 1648.

- DeLuca, M., M.E. Demsey, K. Hori e M.J. Cormier (1976) Biochem.Biophys.Res.Comm. 69, 262.
- Demas, J.N. e G.A. Crosby (1971) J.Phys.Chem. 75, 991
- Douzou, P., R. Sireix e F. Travers (1970) Proc.NatlAcad. Sci. U.S. 66, 787.
- Douzou, P., G.H.B. Hoa e G. Petsko (1975) J.Mol.Biol. 96, 367.
- Douzou, P., P. Debey e F. Franks (1978) Biophys.Acta 523, 1.
- Dubois, J.T. e M. Cox (1963) J.Chem.Phys. 38, 2536.
- Eberhard, A. e J.W. Hastings (1972) Biochem.Biophys.Res. Commun. 47, 348.
- Eftink, M.R. e C.A. Ghiron (1977) Biochemistry 16, 5546.
- Eigenmann, H.K., D.M. Golden e S.W. Benson (1973) J.Phys. Chem. 77, 1687.
- El-Sayed, M.A. e M.L. Bhaumik (1963) J.Chem.Phys. 39, 2391.
- Engel, P.S. e B.M. Monroe (1971) em Advances in Photochemistry, Vol. 8, J.N. Pitts, G.S. Hammond e W.A. Noyes, eds., Wiley-Interscience, New York, N.Y., p. 245.
- Evans, M.G. e M. Polanyi (1938) Trans.Faraday Soc. 34, 11.
- Faria Oliveira, O.M.M., M. Haun, N. Durán, P.J.O'Brien, C. R. O'Brien, E.J.H. Bechara e G. Cilento (1978) J.Biol. Chem. 253, 4707.

- Faulkner, L.R. (1976), em Chemical Kinetics, série 2, D.R. Herschbach, ed., M.T.P. Int.Rev.Sci., Butterworth, London.
- Fieser, L.F. e M. Fieser (1966) Reagents for Organic Synthesis, Vol. I, John Wiley and Sons Inc., New York, N.Y., p. 78.
- Fieser, L.F. e M. Fieser (1969) Reagents for Organic Synthesis, Vol. I, John Wiley and Sons Inc., New York, N.Y., p. 136.
- Filby, J.E. (1973), PhD Thesis, University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Filipescu, N., G.W. Mushrush, C.R. Hurt e N. McAvoy (1966) Nature 211, 960.
- Foote, C.S. (1968) Acc.Chem.Res. 1, 104.
- Foote, C.S. e T.R. Darling (1975) Pure Appl.Chem. 41, 495.
- Foote, C.S. e R.W. Denny (1971) J.Am.Chem.Soc. 93, 5162, 5168.
- Foote, C.S. e J.W.-P. Lin (1968) Tetrahedron Lett. 3267.
- Foote, C.S., S. Wexler, W. Ando e R. Higgins (1968) J.Am. Chem.Soc. 90, 975.
- Frimer, A.A. (1974), PhD Thesis, Harvard University, Cambridge, Mass., USA.
- Gollnick, K., D. Haisch e G. Schade (1972) J.Am.Chem.Soc. 94, 1747.

- Goto, T. e Y. Kishi (1968) Angew.Chem.Int.Ed. 7, 407.
- Goto, T. e H. Nakamura (1976) Tetrahedron Lett., 4627.
- Grosjean, D., G. Mouvier e J.E. Dubois (1976) J.Org.Chem. 41, 3872.
- Hammond, G.S. (1955) J.Am.Chem.Soc. 77, 334.
- Harding, L.B. e W.A. Goddard III (1977) J.Am.Chem.Soc. 99, 4520.
- Hastings, J.W. e A.M. Michelson (1974), La Recherche , 51.
- Hastings, J.W. e G. Weber (1963) J.Opt.Soc.Am. 53, 1410.
- Hastings, J.W. e G. Weber (1965) Photochem.Photobiol. 4, 1049.
- Hastings, J.W. e T. Wilson (1976) Photochem.Photobiol. 23, 461.
- Hastings, J.W., C. Balny, C. LePeuch e P. Douzou (1973) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S. 70, 3468.
- Hasty, N.M. e D.R. Kearns (1973) J.Am.Chem.Soc. 95, 3380.
- Haun, M., N. Durán e G. Cilento (1978) Biochem.Biophys.Res. Commun. 81, 779.
- Hercules, D.M. (1969), Acc.Chem.Res. 2, 301.
- Herzberg, G. (1966), em Molecular Spectra and Molecular Structure. III. Electronic Spectra and Electronic Structure of Polyatomic Molecules, van Nostrand, Princeton, N.J., p.518.

- Hock, H. e O. Schrader (1936) Angew.Chem. 39, 365.
- Hoffmann, R. e R.B. Woodward (1968) Acc.Chem.Res. 1, 17.
- Hogenboom, D.L., W. Webb e J.A. Dixon (1967) J.Chem.Phys. 46, 2586.
- Hopkins, T.A., H.H. Seliger, E.H. White e M.W. Cass (1967) J.Am.Chem.Soc. 89, 7148.
- Horn, K.A. e G.B. Schuster (1978) J.Am.Chem.Soc. 100, 6649.
- Horn, K.A., J.-Y. Koo, S.P. Schmidt e G.B. Schuster (1978-79) Mol.Photochem. 9, 1.
- Johnson, L.W., H.J. Maria e S.P. McGlynn (1971) J.Chem.Phys. 54, 3823.
- Johnson, F.H., O. Shimomura, Y. Saiga, L.C. Gershman, G.T. Reynolds e J.R. Waters (1962) J.Cell.Comp.Physiol. 60, 85.
- Kearns, D.R. (1969) J.Am.Chem.Soc. 91, 6554.
- Kearns, D.R. (1971) Chem.Rev. 71, 395.
- Kemal, C. e T.C. Bruice (1976) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S. 73, 995.
- Koch, H. e F. Hilderath (1940) Ber. 73B, 1171.
- Kohler, E.P. (1906) Am.Chem.J. 36, 177.

- Kolthoff, I.M. e E.B. Sandell (1952) Textbook of Quantitative Inorganic Analysis, 3rd.ed., McMillan Co., New York, N.Y., p.600.
- Koo, J.-Y. e G.B. Schuster (1977) J.Am.Chem.Soc. 99, 6107.
- Koo, J.-Y., S.P. Schmidt e G.B. Schuster (1978) Proc.Natl. Acad.Sci.U.S. 75, 30.
- Kopecky, K.R. e C. Mumford (1968) "Abstracts, 51st Annual Conference of the Chemical Institute of Canada", Vancouver, Canada, Junho, p.41.
- Kopecky, K.R. e C. Mumford (1969) Can.J.Chem. 47, 709.
- Kopecky, K.R., J.H. van de Sande e C. Mumford (1968) Can. J.Chem. 46, 25.
- Kopecky, K.R., P.A. Lockwood, J.E. Filby e R.W. Reid (1973) Can.J.Chem. 57, 468.
- Kopecky, K., J.E. Filby, C. Mumford, P.A. Lockwood e J.-Y. Ding. (1975) Can.J.Chem. 53, 1103.
- Lamola, A.A. (1969) em Technique of Organic Chemistry. XIV. Energy Transfer and Organic Photochemistry, P.A. Leermakers e A. Weissberger, eds., Wiley-Interscience, New York, N.Y., p. 17.
- Lamola, A.A. (1971) Biochem.Biophys.Res.Commun. 43, 893.
- Landis, M.E. (1974), PhD Thesis, Harvard University, Cambridge, Mass., U.S.A..

- Lechtken, P., A. Yekta e N.J. Turro (1973) J.Am.Chem.Soc. 95, 3027.
- Lee, J. e H.H. Seliger (1965) Photochem.Photobiol. 4, 1105.
- Lee, K.-W., L.A. Singer e K.D. Legg (1976) J.Org.Chem. 41, 2685.
- Leermakers, P.A., G.F. Vesley, N.J. Turro e D.C. Neckers (1964) J.Am.Chem.Soc. 86, 4213.
- Lim, E.C., J.D. Laposa e J.M.H. Yu (1966) J.Mol.Spectrosc. 19, 412.
- Liu, R.S.H. e J.R. Edman (1969), J.Am.Chem.Soc. 91, 1492.
- Loufty, R.O. e R.W. Yip (1973) Can.J.Chem. 51, 1881.
- Mathur, N.K. e Narang, C.K. (1975) Determination of Organic Compounds with N-Bromosuccinimide and Allied Reagents, Academic Press, London, p. 22.
- Matsumoto, M. e K. Kondo (1977) J.Am.Chem.Soc. 99, 2393.
- Mazur, S. e C.S. Foote (1970) J.Am.Chem.Soc. 92, 3223 e 3226.
- McCapra, F. (1968) J.C.S.Chem.Comm., 155.
- McCapra, F. (1970) Pure Appl.Chem. 24, 611.
- McCapra, F. (1976) Acc.Chem.Res. 9, 201
- McCapra, F. (1977) J.C.S.Chem.Comm., 946.

- McCapra, F. e I. Beheshti (1977) J.C.S.Chem.Comm., 517.
- McCapra, F. e A. Burford (1977) J.C.S.Chem.Comm., 874.
- McCapra, F. Y.C. Chang (1966) J.C.S.Chem.Comm., 522.
- McCapra, F. e Y.C. Chang (1967) J.C.S.Chem.Comm., 1011.
- McCapra, F. e D.G. Richardson (1964) Tetrahedron Lett.,
3167.
- McCapra, F., D.G. Richardson e Y.C. Chang (1965) Photochem.
Photobiol. 4, 1111.
- McCapra, F. Y.C. Chang e V.P. François (1968) J.C.S.Chem.
Commun., 22.
- McCapra, F., Y.C. Chang e A. Burford (1976) J.C.S.Chem.
Commun., 608.
- McCapra, F., I. Beheshti, A. Burford, R.A. Hann e K.A.
Zaklika (1977) J.C.S.Chem.Comm., 944.
- McGlynn, T. Azumi e M. Kasha (1964) J.Chem.Phys. 40, 507.
- McMurry, J.E. (1974) Acc.Chem.Res. 7, 281.
- McMurry, J.E. e M.P. Fleming (1974) J.Am.Chem.Soc. 96,
4708.
- Meneghini, R., M.E. Hoffman, N. Durán, A. Faljoni e G.
Cilento (1978) Biochim.Biophys.Acta 518, 177.
- Mitchell, G.W. e J.W. Hastings (1971) Anal.Biochem. 39, 243.

- Morin, J.G., A. Harrington, K. Nealson, N. Krieger, T.O. Baldwin e J.W. Hastings (1975) Science 190, 74.
- Nozaki, K. (1946) Ind.Eng.Chem.Anal.Ed. 18, 583.
- O'Neal, H.E. e Benson (1968) J.Phys.Chem. 72, 1866.
- O'Neal, W.H. e H.E. Richardson (1970), J.Am.Chem.Soc. 92, 6553; errata em 93, 1828 (1971).
- Parker, C.A. e T.A. Joyce (1967) J.C.S.Chem.Comm., 744.
- Porter, G., R.W. Yip, J.M. Dunston, A.J. Cessna e S.E. Sugamori (1971) Trans.Faraday Soc. 67, 3149.
- Porter, G., S.K. Dogra, R.O. Loufty, S.E. Sugamori e R.W. Yip (1973) J.C.S. Faraday Trans.I 69, 1462.
- Rauhut, M.M. (1969) Acc.Chem.Res. 2, 80.
- Rauhut, M.M., D. Sheehan, R.A. Clarke, B.G. Roberts e A. M. Semsel (1965) J.Org.Chem. 30, 3587.
- Richardson, H.E. e W.H. O'Neal (1972) J.Am.Chem.Soc. 94, 8665.
- Richardson, W.H., M.B. Yelvington e H.E. O'Neal (1972) J.Am.Chem.Soc. 94, 1619.
- Richardson, W.H., V.F. Hodge, D.L. Stiggall, M.B. Yelvington e F.C. Montgomery (1974a), J.Am.Chem.Soc. 96, 6652.
- Richardson, W.H., G. Ranney e F.C. Montgomery (1974b) J.Am. Chem.Soc. 96, 4688.

- Richardson, W.H., F.C. Montgomery, M.B. Yelvington e H.E. O'Neal (1974d) J.Am.Chem.Soc. 96, 7525.
- Richardson, W.H., F.C. Montgomery, M.B. Yeluington e G. Ranney (1974c) J.Am.Chem.Soc. 96, 4045.
- Rivas-Suarez, E., N. Durán e G. Cilento (1979) Photochem. Photobiol., no prelo.
- Roberts, J.D. e M.C. Caserio (1965), "Basic Principles of Organic Chemistry", W.A. Benjamin, ed., New York, N.Y.
- Saviotti, M.L. e W.C. Galley (1974) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S. 71, 4154.
- Schaap, A.P., P.A. Burns e K.A. Zaklika (1977) J.Am.Chem.Soc. 99, 1270.
- Schmidt, S.P. e G.B. Schuster (1978) J.Am.Chem.Soc. 100, 318.
- Schuster, G.B. (1977) J.Am.Chem.Soc. 99, 651.
- Schuster, G.B., N.J. Turro, H.-C. Steinmetzer, A.P. Schaap, G. Faler, W. Adam e J.-C. Liu (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 7110.
- Seliger, H.H. e W.D. McElroy (1959), Biochem.Biophys.Res. Commun. 1, 21.
- Seliger, H.H. e W.D. McElroy (1960), Arch.Biochem.Biophys. 88, 136.

- Shanley, E.S. (1972) em Organic Peroxides, Vol.III, D. Swern, ed., Wiley-Interscience, New York, N.Y., p.341.
- Shimomura, O. e F.H. Johnson (1968), Biochemistry 7, 1734-2574.
- Shimomura, O. e F.H. Johnson (1971) Biochem.Biophys.Res. Commun. 44, 340.
- Shimomura, O. e F.H. Johnson (1973) Biochem.Biophys.Res. Commun. 51, 558.
- Shimomura, O. e F.H. Johnson (1975) Anal.Biochem. 64, 601.
- Shimomura, O. e F.H. Johnson (1978) Abstracts International Conference on Chemi- and Bioenergized Processes, Guarujá, São Paulo, Agosto, p. 29.
- Shimomura, O., T. Goto e F.H. Johnson (1977) Proc.Natl.Acad. Sci. U.S. 74, 2799.
- Steele, R.H. (1963) Biochemistry 2, 529.
- Steinmetzer, H.-C., P. Lechtken e N.J. Turro (1973) Justus Liebigs Ann.Chem., 1984.
- Stephens, H.N. (1928), J.Am.Chem.Soc. 50, 568.
- Szent-Györgi, A. (1941) Science 93, 609.
- Taft, R.W. Jr. (1963) em Steric Effects in Organic Chemistry, M.S. Newman, ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., p. 556.

- Turro, N.J. (1969), em Technique of Organic Chemistry.
XIV. Energy Transfer and Organic Photochemistry, P.A. Leermakers e A. Weissberger, eds., Wiley-Interscience, New York, N.Y., p. 133.
- Turro, N.J. e Devaquet, A. (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 3859.
- Turro, N.J. e P. Lechtken (1972) J.Am.Chem.Soc. 94, 2886.
- Turro, N.J. e P. Lechtken (1973) J.Am.Chem.Soc. 95, 264.
- Turro, N.J. e H.C. Steinmetzer (1974) J.Am.Chem.Soc. 96, 4677 e 4679.
- Turro, N.J., P. Lechtken, N.E. Shore, G. Schuster, H.C. Steinmetzer e A. Yekta (1973a) Acc.Chem.Res. 7, 97.
- Turro, N.J., H.C. Steinmetzer e A. Yekta (1973b), J.Am.Chem.Soc. 95, 6468.
- Turro, N.J., P. Lechtken, G. Schuster, J. Orell, H.C. Steinmetzer e W. Adam (1974) J.Am.Chem.Soc. 96, 1627.
- Turro, N.J., K.-C. Liu, M.-F. Chow e P. Lee (1978) Photochem. Photobiol. 27, 523.
- Umbreit, M.A. e E.H. White (1976) J.Org.Chem. 41, 479.
- Vassil'ev, R.F. (1962) Nature 196, 668.
- Vassil'ev, R.F. (1967) Progr.React.Kinet. 4, 305.
- Visco, R.E. e E.A. Chandross (1964) J.Am.Chem.Soc. 86, 5350.

- Wagner, P.J. (1967) J.Am.Chem.Soc. 89, 5715.
- Wagner, P.J. (1976) Topics Current Chem. 66, 1.
- Wasserman, H. e I. Saito (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 905.
- Weiss, D.S., N.J. Turro e J.C. Dalton (1970) Mol.Photochem. 2, 91.
- White, E.H. e B.R. Branchini (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 1243.
- White, E.H. e D.F. Roswell (1970) Acc.Chem.Res. 3, 54.
- White, E.H., M.W. Cass, T.A. Hopkins e H.H. Seliger (1967)
J.Am.Chem.Soc. 89, 7148.
- White, E.H., J. Wiecko e C.C. Wei (1970) J.Am.Chem.Soc. 92, 2167.
- White, E.H., P.D. Wildes, J. Wiecko, H. Doshan e C.C. Wei
(1973) J.Am.Chem.Soc. 95, 7050.
- White, E.H., J.D. Miano, C.J. Watkins e E.J. Breaux (1974)
Angew.Chem.Int.Ed. 13, 229.
- White, E.H., J.D. Miano e M. Umbreit (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 198.
- Wieringa, J.H., J. Strating, H. Wynberg e W. Adam (1972)
Tetrahedron Lett., 169.
- Wilson, T. (1976) em Chemical Kinetics, série 2, D.R.
Herschbach, ed., M.T.P. Int.Rev.Sci., Butterworth,
London, p. 265.

Wilson, T. e A.P. Schaap (1971) J.Am.Chem.Soc. 93, 4126.

Wilson, T., M.E. Landis, A.L. Baumstark e P.D. Bartlett
(1973) J.Am.Chem.Soc. 95, 4765.

Wilson, T., D.E. Golan, M.S. Harris e A.L. Baumstark (1976)
J.Am.Chem.Soc. 98, 1086.

Winston, H., O.J. Marsh, C.K. Suzuki e C.L. Telk (1963)
J.Chem.Phys. 39, 267.

Zimmerman, H.E. e G.E. Keck (1975) J.Am.Chem.Soc. 97, 3527.

Zimmerman, H.E., G.E. Keck e J.L. Pfloderer (1976) J.Am.
Chem.Soc. 98, 5574.