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

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

Fabio Nery de Assis

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

RIBEIRÃO PRETO -SP

2019

FABIO NERY DE ASSIS

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

Versão corrigida

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

Área: Química

Orientadora: Profa. Dra. Laura Tiemi Okano

Ribeirão Preto

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assis, Fabio Nery de.
Estudo sobre o mecanismo de fotólise por radiação UV do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico e compostos análogos. / Fabio Nery de Assis; orientadora, Laura Tiemi Okano. – 2019
141 p. : il. ; 30cm

Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de concentração: Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019
Versão corrigida

1. Ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico. 2. Fotólise. 3. Radical fenoxila. 4. Mecanismo. 5. Nitro compostos.

Nome: ASSIS, Fabio Nery de.

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

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

Aprovado em: __/__/_____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedico esta Dissertação de Mestrado à minha
Mãe Denise e à minha Tia Salete.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Denise e Leocádio e minha irmã Juliana, por todo amor incondicional, paciência, apoio e pela possibilidade de ter tido SEMPRE a melhor educação possível mesmo nos momentos em que houve dificuldades.

Aos meus tios Salete e Roberto, por estarem sempre ao meu lado, continuamente me ensinando, incentivando e motivando. Sem vocês não seria possível estar aqui.

À Professora Laura, por ter me acolhido em seu laboratório ao longo dos últimos sete anos. Sou infinitamente agradecido por TODA atenção, liberdade, paciência (e a falta dela quando necessário), conselhos e ensinamentos no campo das ciências e da vida.

À Dona Clélia e Rubão (in memoriam), por todo o acolhimento, atenção e carinho cedidos desde que cheguei em Ribeirão Preto.

Aos amigos que iniciaram comigo essa jornada em 2012 na graduação Rafael (GV), Luiz (Luizona), Fernando, às minhas calouras de estimação Tamires (Tekila/Cachalote), Cynthia (Cy). Aos amigos que ganhei ao longo deste mestrado Douglas (Dodô) e Me. Gilberto (Geraldo). Possivelmente estou esquecendo alguém, mas desde já me desculpo!

Aos Professores Ricardo Lourenço Vessecchi, Luiz Alberto Beraldo de Moraes (Beto), Luis Gustavo Dias (LG), Grégoire J.-F. Demets (Greg) e a Professora Yassuko Iamamoto por influenciarem, transformarem de forma inspiradora o meu jeito de enxergar a química e por serem exemplos da dedicação às atividades de ensino e pesquisa.

Aos colegas que dividem e dividiram comigo o espaço do Laboratório 42.

Ao Laboratório de Espectrometria de Massas Aplicada a Química de Produtos Naturais e ao técnico Eduardo José Crevelin, pela realização de todas as análises de espectrometria de massa indispensáveis para este trabalho.

Ao Laboratório de Síntese Orgânica (LSO) coordenado pelo Prof. Dr. Paulo Marcos Donate, por ceder toda a infraestrutura indispensável para que a etapa de síntese pudesse ser realizada e ao Dr. Daniel Previdi (o Cara) por todo auxílio, ensinamentos e diálogos.

Ao Vinicius Palaretti, pelos espectros de RMN.

Aos demais funcionários e técnicos do Departamento de Química desta Faculdade.

À CAPES pela bolsa concedida.

“... desde a aurora da civilização as pessoas não se dão por satisfeitas com a noção de que os eventos são desconectados e inexplicáveis. Sempre ansiamos por compreender a ordem subjacente do mundo. Hoje, ainda almejamos saber por que estamos aqui e de onde viemos. O desejo profundo da humanidade pelo conhecimento é justificativa suficiente para nossa busca contínua. E nossa meta não é nada menos do que uma descrição completa do universo.”

(HAWKING, S. Uma Breve História do Tempo, Intrínseca: Rio de Janeiro, 2015, 25).

Sumário

Pág.

Resumo..... i
Abstract..... ii
Lista de Figuras..... iii
Lista de Esquemas..... v
Lista de Tabelas..... vii
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos..... ix

Capítulo 1: Introdução e objetivos..... 1
1.1. Introdução..... 1
1.1.1. Ácidos 2-hidroxibenzoico e seus derivados – histórico, aplicações e os problemas ambientais associados..... 1
1.1.2. Ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**..... 3
1.1.3. Processos Oxidativos Avançados. 5
1.1.4. Fotofísica e fotoquímica do ácido 2-hidroxibenzoico e seus derivados.... 7
1.1.5. Monitoramento de intermediários formados ao longo da fotodegradação e proposição de mecanismos de fotodegradação..... 9

1.2. Objetivos..... 11
1.2.1. Objetivo geral 11
1.2.2. Objetivos específicos..... 11

Capítulo 2: Síntese, purificação e caracterização do ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (11) e do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (7) 12
2.1. Primeira reação de nitração 15
2.2. Reações de redução..... 19
2.3. Reações de acetilação..... 21
2.4. Segunda reação de nitração..... 22
2.5. Reação de hidrólise em meio ácido 23

Capítulo 3: Estudos sobre fotoquímica e mecanismos de fotólise..... 25
3.1. Reações de fotólise e caracterização dos produtos de reação 25
3.1.1. Fotólise do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** 25
3.1.2. Fotólise do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** 28
3.1.3. Fotólise do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** 30
3.1.4. Fotólise do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** 32
3.1.5. Fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** 34
3.1.6. Fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** 37
3.2. Entalpia de dissociação de ligação (BDE) 41
3.3. Estabilidade de radicais fenoxila e mecanismos de fotólise..... 50
3.4. Monitoramento de reação de fotólise..... 60
3.5. Efeito do grupo funcional ácido carboxílico em reações de fotólise..... 65

4. Capítulo 4: Considerações finais..... 70

5. Capítulo 5: Perspectivas futuras..... 72

6. Referências bibliográficas..... 73

Apêndice A - *Procedimento experimental referente à síntese*..... *1A*
Apêndice B - *Procedimento experimental dos estudos de fotodegradação*..... *5A*
Anexo A - *Seção de espectros relativos à caracterização dos produtos de síntese*..... *9A*
Anexo B - *Seção de espectros dos produtos de fotodegradação*..... *19A*
Anexo C - *Dados computacionais sobre densidade de spin de Mulliken*..... *37A*

RESUMO

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

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

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

ABSTRACT

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

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

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

Lista de Figuras

Pág.

Figura 1.1 – Diagrama de Jablonski para a formação de radicais..... 9

Figura 2.1 – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz, em DMSO-d6) do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico..... 24

Figura 3.1 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** no início (t = 0 min) e após 240 min sob radiação UV..... 26

Figura 3.2 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** em t = 0 e 240 min sob radiação UV..... 28

Figura 3.3 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** no início e após 240 min sob radiação UV..... 30

Figura 3.4 – Espectro de absorção normalizado do ácido 2,3-dihidroxibenzoico **(1d = 3a)**, produzido durante a fotólise dos ácidos 2-hidroxibenzoico **(1)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**..... 31

Figura 3.5 – Sobreposição dos cromatogramas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxi-3,5-dnitrobenzoico **(DNS)** em t = 0 e t = 240 min sob radiação UV..... 32

Figura 3.6 – Espectros de absorção UV/Vis normalizados do ácido 2,3-dihidroxi-5-nitrobenzoico **(2b = DNSc)** e do 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(3b = DNSd)**, obtidos durante a fotólise dos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e **DNS**..... 34

Figura 3.7 – Sobreposição dos cromatogramas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** em 0 e 240 min sob radiação UV..... 35

Figura 3.8 – Espectro de absorção normalizado do ácido 2,5-dihidroxibenzoico **(1b = 2a = 4a)**, obtido na fotólise do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**..... 36

Figura 3.9 – Sobreposição dos cromatogramas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** em 0 e 240 min sob radiação UV..... 37

Figura 3.10 – Espectro de absorção normalizado do ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico **(7c)** e do ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4-dieno-1-carboxílico) **(7e)** obtidos na fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**..... 41

Figura 3.11 – Comparação entre os valores de energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica, BDE(Ar-OH) (kcal mol^{-1}), obtidos por ciclo termodinâmico (azul) e por reação isodésmica (vermelho)..... 46

Figura 3.12 – Correlação entre as energias de dissociação de ligação (O-H) de hidroxila fenólica $BDE_{isodésmica}$ (Ar-OH) (kcal mol^{-1}) calculada para cada composto da **Tabela 3.7** versus a variação da energia de dissociação de ligação (O-H) de hidroxila fenólica de compostos com substituintes nas posições 3 (ΔBDE_3) e 5 (ΔBDE_5) com a energia de dissociação de ligação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**..... 47

Figura 3.13 – Espectro de absorção normalizado de soluções aquosas na concentração de 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**.. 49

Figura 3.14 – Espectro de emissão de lâmpada de vapor de mercúrio..... 49

Figura 3.15 – Densidade de spin de Mulliken obtidos por meio de cálculos teóricos (DFT-B3LYP-3-61+G(d,p)) dos radicais fenoxila do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** submetidos a fotólise (regiões em cor azul possuem densidade de spin positiva, enquanto regiões em verde correspondem a densidade de spin negativa). Isovalor = 0,02..... 53

Figura 3.16 – Representação ilustrativa dos orbitais HOMO, LUMO e SOMO..... 57

Figura 3.17 – Gráfico de variação de energia ΔE (eV) entre os orbitais SOMO-HOMO e SOMO-LUMO..... 58

Figura 3.18 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução 1,0 mmol L^{-1} em acetonitrila de: **A** – ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e **B** – ácido 2-hidroxi-3,5-dnitrobenzoico **(DNS)** no início e após 240 min sob radiação UV..... 59

Figura 3.19 – Sobreposição dos cromatogramas de solução 1,0 mmol L^{-1} em 9:1 acetonitrila:água de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** no início e após 240 min sob radiação UV..... 60

Figura 3.20 – Quantidades relativas, relativas, representadas por ln (Área/$Área_0$), dos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** em função do tempo de radiação UV..... 61

Figura 3.21 – Gráfico do monitoramento de produtos de fotólise dos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** em função do tempo de radiação UV..... 64

Figura 3.22 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de **A –** *orto*-nitrofenol **(*o*-NF) e B –** *para*-nitrofenol **(*p*-NF)** no início e após 240 min sob radiação UV..... 65

Figura 3.23 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 5-nitro-ftálico **(5-NFt)** no início e após 240 min sob radiação UV..... 68

Lista de Esquemas

Pág.

Esquema 1.1 – Mecanismo da reação de carboxilação de Kolbe-Schmitt para o preparo do ácido 2-hidroxibenzoico utilizando fenolatos..... 1

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

Esquema 1.3 – Equilíbrio químico entre a forma acíclica da *D*-glicose e hemiacetal..... 4

Esquema 1.4 – Produtos da adição eletrofílica de radicais hidroxila a ligações π..... 6

Esquema 1.5 – Mecanismo de transferência de próton no estado excitado para o ácido 2-hidroxibenzoico. 7

Esquema 2.1 – Proposta de redução seletiva de nitrocompostos..... 12

Esquema 2.2 – Rota sintética para obtenção dos ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**. 14

Esquema 2.3 – Mecanismo para a reação de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** com nitrato de isopropila para sintetizar ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**. 16

Esquema 2.4 – Segunda proposta de mecanismo de reação de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico com nitrato de isopropila. Optou-se por mostrar apenas a formação do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** 16

Esquema 2.5 – Mecanismo de redução do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** por hidrogenação catalítica..... 20

Esquema 2.6 – Mecanismo para a formação do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)** 21

Esquema 2.7 – Mecanismo de hidrólise ácida do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** 23

Esquema 3.1 – Mecanismo de fragmentação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** por ESI(-)/MS 26

Esquema 3.2 – Estrutura química do dímero $[M-Na-M]^-$..... 27

Esquema 3.3 – Estruturas químicas dos intermediários potencialmente formados ao longo da fotodegradação do 2-hidroxibenzoico **(1)** 27

Esquema 3.4 – Estrutura química do catecol **(1a)** 27

Esquema 3.5 – Mecanismo de fragmentação proposto para o ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** por ESI(-)/MS 28

Esquema 3.6 – Compostos potencialmente formados durante a fotodegradação do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** 29

Esquema 3.7 – Mecanismo de fragmentação proposto para o ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** por ESI(-)/MS 30

Esquema 3.8 – Mecanismo de fragmentação do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** por ESI(-)/MS 33

Esquema 3.9 – Estruturas químicas do 2-hidroxi-3,5-dinitrofenol **(DNSa)** e do 2,4-dinitrofenol **(DNSb)** 33

Esquema 3.10 – Mecanismo de fragmentação do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** por ESI(-)/MS 35

Esquema 3.11 – Mecanismo de fragmentação do ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(6-oxociclohexa-1,4- dieno-1-carboxílico) **(4b)** por ESI(-)/MS 37

Esquema 3.12 – Mecanismo de fragmentação do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** por ESI(-)/MS 38

Esquema 3.13 – Mecanismo de fragmentação do ácido 2,5-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7a = 3b = DNSd)** por ESI(-)/MS 38

Esquema 3.14 – Mecanismo de fragmentação do ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'dicarboxílico **(7c)** por ESI(-)/MS 39

Esquema 3.15 – Mecanismo de fragmentação do Ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4-dieno-1-carboxílico) **(7e)** por ESI(-)/MS 40

Esquema 3.16 – Formação do radical fenoxila a partir de: **(A)** ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e **(B) DNS**. 42

Esquema 3.17 – Ciclo termodinâmico para obtenção de BDE (*Bond Dissociation Enthalpy*) para a ligação da hidroxila fenólica. 43

Esquema 3.18 – Reação isodésmica modelo utilizada para obtenção de entalpia de dissociação de ligação (BDE) para a ligação hidroxila fenólica. 44

Esquema 3.19 – Estruturas canônicas de ressonância do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e ácido 2-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**. 50

Esquema 3.20 – Compostos iniciais que formam por fotólise o **(A)** 2,5-dihidroxibenzoico **(1b = 2a = 4a)** e **(B)** ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(DNSb = 3b = 7a)**. 51

Esquema 3.21 – Mecanismo de formação do ácido 2,5-dihidroxibenzoico por reação de substituição em radical fenoxila gerado por fotólise por radiação UV 54

Esquema 3.22 – Mecanismo de formação do ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico via radical fenoxila gerado por fotólise do composto **(7)** 54

Esquema 3.23 – Mecanismo de descarboxilação e descarboxilação-hidroxilação fotoinduzida no composto **(DNS)**. 55

Esquema 3.24 – Mecanismo de formação do composto ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4-dieno-1-carboxílico) **(7e)**. 56

Esquema 3.25 – Mecanismo para formação do ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'dicarboxílico **(7c)** através de eliminação de nitrogênio molecular. 56

Esquema 3.26 – Mecanismo de fotólise do *orto*-nitrofenol. 66

Esquema 3.27 – Mecanismo de fotólise do *para*-nitrofenol. 67

Esquema 3.28 – Mecanismo de descarboxilação do do ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)**. 69

Lista de Tabelas

Pág.

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

Tabela 2.1 – Dados experimentais e espectrais ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** 17

Tabela 2.2 – Efeito do uso de hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (HSTBA) no rendimento de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** com nitrato de isopropila, após 4 h de reação. 18

Tabela 2.3 – Rendimento da reação de hidrogenação catalítica em pressão de 250 psi de H_2, com diferentes catalisadores e temperatura reacional 19

Tabela 2.4 – Dados experimentais e espectrais do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e ácido 3-amino 2-hidroxibenzoico **(8)** 20

Tabela 2.5 – Dados experimentais e espectrais do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)** 22

Tabela 2.6 – Dados experimentais e espectrais do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)** 22

Tabela 2.7– Dados experimentais e espectrais do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** 24

Tabela 3.1 – Características espectrométricas dos produtos **1a-d** obtidos na reação de fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** 26

Tabela 3.2 – Características espectrométricas dos produtos intermediários **2a-c** gerados na fotólise UV de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**. 29

Tabela 3.3 – Características espectrométricas dos produtos intermediários **3a-c** oriundos da fotólise UV de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** . 31

Tabela 3.4 – Características espectrométricas dos intermediários **DNSa-e** formados ao longo da fotólise da solução aquosa de 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** 32

Tabela 3.5 – Características espectrométricas dos intermediários **4a** e **4b** gerados na fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** 37

Tabela 3.6 – Características espectrométricas dos intermediários **7a-e** produtos da fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** 38

Tabela 3.7 – Parâmetros termoquímicos de acidez em fase gasosa (ΔH_{acidez}, kcal mol^{-1}), afinidade eletrônica do radical fenoxila (AE, kcal mol^{-1}), variação de entalpia de reação ($\Delta H_{reação}$, kcal mol^{-1}) utilizados para a obtenção da entalpia de dissociação da ligação hidroxila fenólica dos compostos deste trabalho por ciclo termodinâmico (BDE_{CT}, kcal mol^{-1}) e por reação isodésmica ($BDE_{isodésmica}$, kcal mol^{-1}) calculados por teoria de funcional de densidade (DFT) nível B3LYP/6-31+G (d,p).e por reação isodésmica por química computacional (DFT) com nível de teoria DFT (B3LYP/6-31+G (d,p)) 45

Tabela 3.8 – Relação de intermediários produtos de hidroxilação obtidos por reações de substituição mediada por água, durante a fotólise dos reagentes de partida 51

Pág.

Tabela 3.9 – Energias (eV) dos orbitais de fronteira (HOMO-LUMO) dos compostos neutros e seus respectivos radicais fenoxila (SOMO) determinadas por DFT com conjunto de base B3LYP/6-31+G (d,p) ....,..... 58

Tabela 3.10 – Dados da cinética da fotodegradação de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** 63

Tabela 3.11 – Comparação entre comprimentos de ligação (Å) C-NO2 de compostos nitrados e seus análogos nitrofenóis determinadas por cálculos computacionais DFT com nível B3LYP/6-31+G (d,p) 68

Tabela 3.12 – Características espectrométricas do produto **(5-Nfta)** gerado na fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)** 69

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

≠ - Estado de transição.

AE – Afinidade eletrônica, kcal mol^{-1}.

ArO• – Radical fenoxila.

BDE – Energias de entalpia de dissociação de ligação *(Bond Dissociation Enthalpy)*

CLAE- EM – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas.

DAS – Ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico.

dd – Duplo dubleto

DEPT 135 – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*.

DFT – Teoria do Funcional de Densidade *(Density Functional Theory).*

DNSM – 3,5-dinitro-2-hidroxibenzoato de metila.

EI – Potencial de ionização**,** kcal mol^{-1}.

E_{S1} – Energia do primeiro estado singleto.

ESI(-)/MS – Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray em modo negativo (*Eletrospray Ionization* (–)/*Mass Spectrometry*).

ESIPT – Transferência de Próton no Estado Excitado (*Excited-state Intramolecular Proton Transfer*).

E_{T1} – Energia do primeiro estado tripleto.

HOMO – Orbital molecular ocupado de maior energia ***(****Highest Occupied Molecular Orbital).*

HSTBA – Hidrogenossulfato de tetrabutilamônio.

***J* –** Constante de acoplamento (*Hz).*

$k'_{obs.}$ – Constante de velocidade observada.

LUMO – Orbital molecular não ocupado de menor energia *(Lowest Unoccupied Molecular Orbital).*

$[M-H]^-$ – Molécula desprotonada.

$[M-Na-H]^-$ – Dímero.

m/z - relação massa/carga

RMN ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono.

RMN ^{1}H – Ressonância Magnética Nuclear de Próton.

s - Singleto

SOMO – Orbital molecular unicamente ocupado *(Singly Occupied Molecular Orbital).*

T – Temperatura.

t – Tempo (min ou s).

t – Tripleto

UV/Vis – Radiação Ultravioleta/Visível.

ΔH_{acidez} **–** Acidez em fase gasosa, kcal mol^{-1}.

$\Delta_{LUMO-HOMO}$ **–** Diferença de energia entre orbitais LUMO e HOMO.

$\Delta_{SOMO-HOMO}$ **–** Diferença de energia entre orbitais SOMO e HOMO.

$\Delta_{SOMO-LUMO}$ **–** Diferença de energia entre orbitais SOMO e LUMO.

δ **–** Deslocamento químico (*ppm*).

$\varepsilon(S_0\text{-}S_1)$ **–** Coeficiente de absortividade molar entre estados S_0-S_1.

$\varepsilon(S_0\text{-}S_1)$ **–** Coeficiente de absortividade molar entre estados S_0-T_1.

ρ^s **–** Densidade de spin de Mulliken (total).

ρ^α **–** Densidade de spin de Mulliken de elétrons com spin α.

ρ^β **–** Densidade de spin de Mulliken de elétrons com spin β.

$\tau_{1/2}$ **–** Tempo de meia-vida (s).

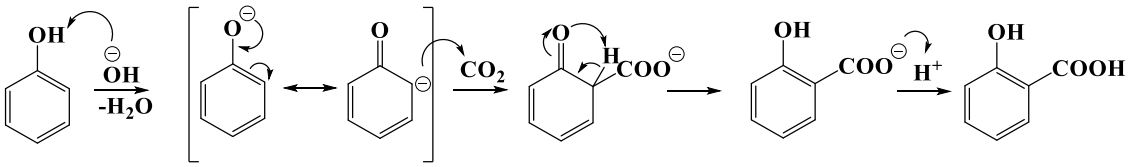
Capítulo 1: Introdução e objetivos

1.1 Introdução

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

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

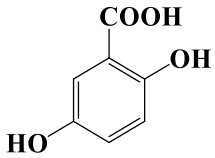
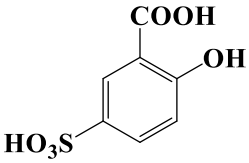
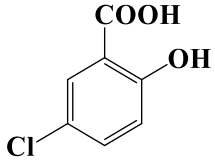
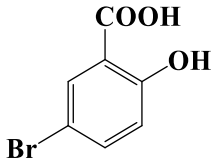
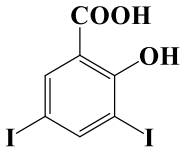
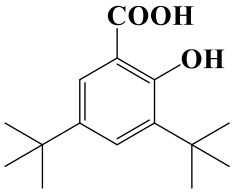
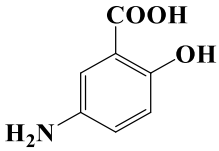
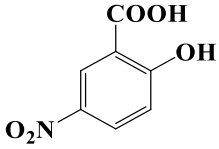
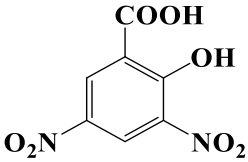
Em 1828, Buchner realizou a extração do ácido 2-hidroxibenzoico do extrato salicina (MINER & HOFFHINES, 2007). No ano de 1860, Kolbe, e em 1885, Schmitt independentemente, desenvolveram a síntese do ácido 2-hidroxibenzoico reagindo fenolatos com gás carbônico em altas pressões **(Esquema 1.1)**. Este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



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

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

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

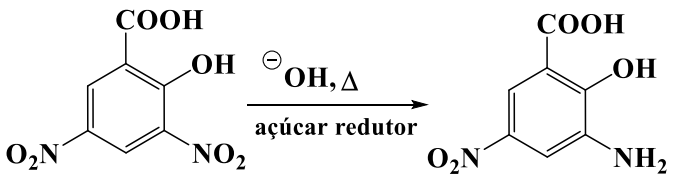
Nome do composto	Estrutura	Aplicação
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico		Fármaco, atua no combate contra artrite reumática e gota (PAUL, SAMANTA & GUCHHAIT, 2010).
Ácido 2-hidroxi-5-sulfobenzoico		Reagente utilizado na quantificação de proteínas em urina (RAPPAPORT & KONFORTI, 1959)
Ácido 5-cloro-2-hidroxibenzoico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

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

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

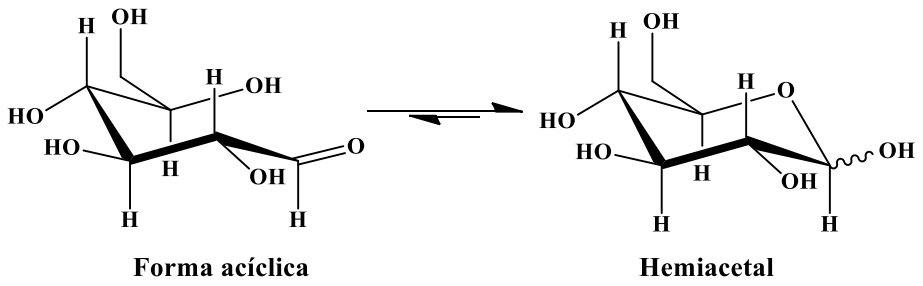
1.1.2. Ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS)

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



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

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



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

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

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

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

1.1.3. Processos Oxidativos Avançados.

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

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

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

Abstração de hidrogênio

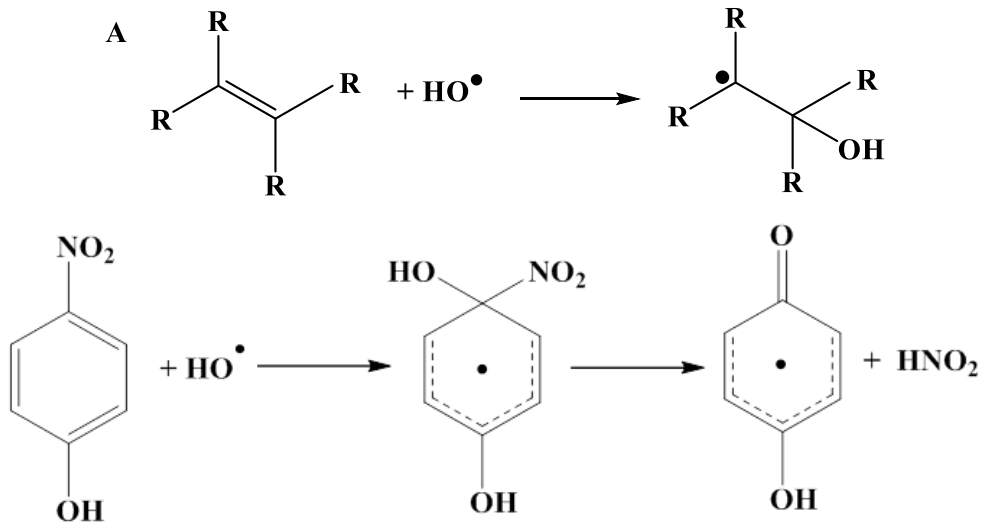
Este mecanismo ocorre com maior frequência em hidrocarbonetos alifáticos, onde os radicais hidroxila abstraem um hidrogênio dando origem aos radicais orgânicos (LEGRINI, OLIVEROS & BRAUN, 1993) **(Equação 1.1)**. Estes, por meio de reações cadeia, levam a conversão da matéria orgânica à CO_2, H_2O e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

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

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

Adição eletrofílica

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



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

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

Transferência de elétrons

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

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

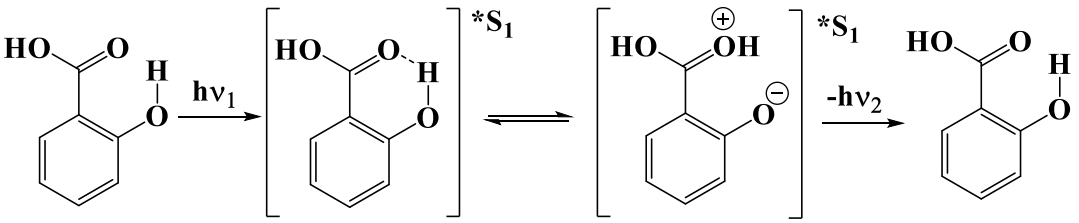
Pela ação do radical •OH, os POA são capazes de transformar completamente os poluentes orgânicos em ânions inorgânicos, gás carbônico e água, a chamada mineralização dos substratos orgânicos (NOGUEIRA *et al.*, 2004). Em outras palavras, nos casos mais favoráveis os POA degradam efetivamente os poluentes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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

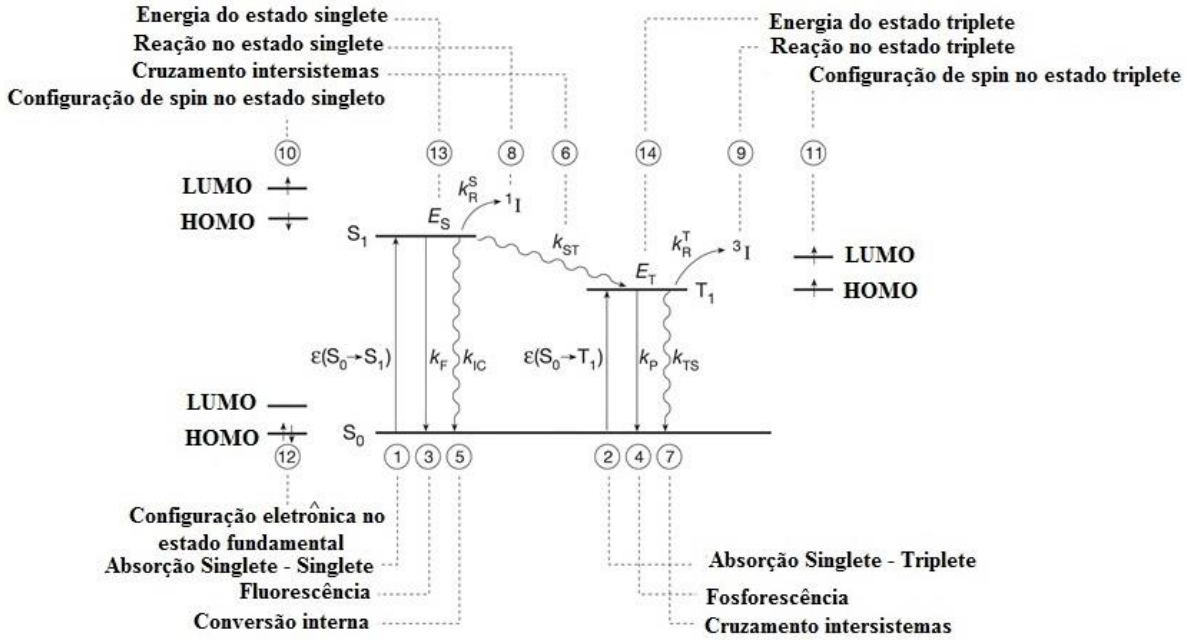


Figura 1.1 - Diagrama de Jablonski adaptado de TURRO,1978.

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

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

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

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

Métodos espectroscópicos

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

Métodos eletroanalíticos

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

Métodos cromatográficos

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

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

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Compreender o mecanismo da reação de fotólise por radiação ultravioleta (UV) do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**.

1.2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar o ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**. Para isso, foi necessário preparar: ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)**, ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)**.

- Identificar e caracterizar os intermediários formados durante as etapas iniciais da fotólise por radiação UV de: ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, compostos **2** a **4** para melhor entender o mecanismo desta reação quando o substrato são o **DNS** e **7**, separadamente;

- Monitorar as variações das concentrações de **2** a **4**, **7** e **DNS** na reação de fotólise por UV e de todos os intermediários produzidos em função do tempo de fotodegradação para determinar suas respectivas constantes de velocidade de decomposição.

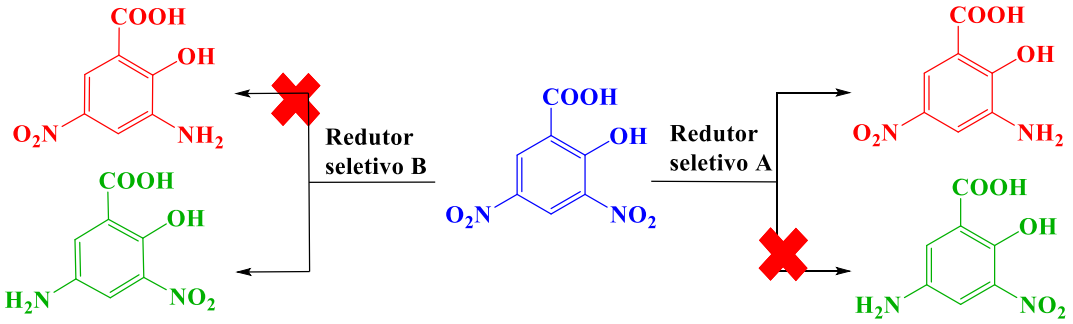
- Avaliar o custo energético envolvido na formação de radicais fenoxila dos compostos **1** a **11**, **DNS**, além do ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)** e 3,5-dinitrobenzoato de metila **(DNSM).** Foram determinadas as energias de dissociação de ligação BDE *(Bond Dissociation Energy)* da hidroxila fenólica, por reações isodésmicas usando a Teoria de Funcional de Densidade (DFT, *Density Funtional Theory)* com o funcional híbrido B3LYP e conjunto de base 6-31G+(d,p).

- Descrever como os diferentes substituintes presentes no anel aromático influenciam no mecanismo da reação de fotólise utilizando cálculos computacionais de DFT *(Density Funtional Theory)* com funcional híbrido B3LYP e conjunto de base 6-31G+(d,p) para os compostos **1** a **11**, **DNS**, além do ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)** e 3,5-dinitrobenzoato de metila**(DNSM).**

Capítulo 2: Síntese, purificação e caracterização do ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (11) e do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (7).

Para que os estudos sobre os mecanismos de fotodegradação pudessem ser realizados os compostos ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** tiveram que ser sintetizados, uma vez que não estavam disponíveis comercialmente.

A princípio foram feitas tentativas para que estes compostos fossem obtidos por meio de reações diretas utilizando como material de partida o ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**. O objetivo era aplicar reações de redução seletivas a apenas um dos grupos nitros da molécula, **Esquema 2.1**.



Esquema 2.1 – Proposta de redução seletiva de nitrocompostos.

Desta forma, dois métodos de redução seletiva de compostos aromáticos polinitrados descritos na literatura foram empregados.

O primeiro método testado usou um açúcar (aldose) que possuía um grupo aldeído em sua estrutura química e que poderia atuar como agente redutor (NELSON, LEHNINGER & COX, 2008). Este método baseou-se na redução de nitrobenzeno na presença de dextrose em solução alcalina (OPOLONICK, 1935) e no próprio método de quantificação de açúcares redutores proposto em 1921 por Sumner (SUMNER, 1921) e por MILLER em 1959. A ideia central é que as reduções de compostos nitroaromáticos produzem compostos azoxiaromáticos, azoaromáticos e/ou anilinas. O controle sobre a formação destes produtos depende, fundamentalmente, da temperatura, pH e concentração do nitrocomposto utilizado como material de partida (OPOLONICK, 1935; NEWBOLD & LE BLANC, 1962). Entretanto, não há na literatura propostas para o mecanismo desta reação.

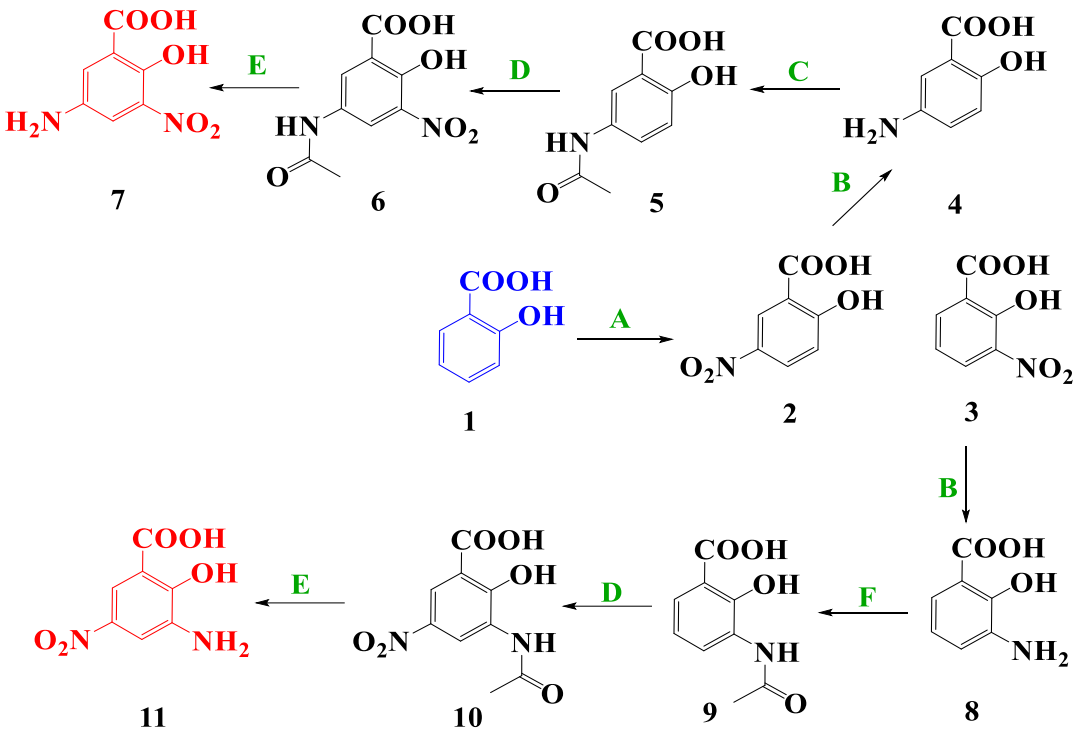
O uso de compostos polinitrados para quantificar açúcares redutores envolve a redução seletiva de apenas um grupo nitro ($-NO_2$) gerando uma nitroanilina, de tal modo que mesmo na presença de um excesso de açúcar redutor não se formam múltiplos produtos, como por exemplo, diaminas aromáticas.

Nestas circunstâncias, foi realizado um teste no qual 10 mmol de uma solução de ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** em $NaOH_{(aq)}$ 5 mol L^{-1} reagiu com 11 mmol de D-glucose em refluxo por 4 horas a 70 °C. O rendimento obtido foi ao redor de 20% com alta preservação do reagente inicial, o ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico, e presença de subprodutos de reação que não puderam ser caracterizados. Sendo assim, o isolamento do ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** não foi possível.

Um segundo método testado utilizou compostos de enxofre como redutores seletivos para síntese orgânica (ISENMANN, 2013; IDOUX, 1970), onde ocorre a oxidação do ânion hidrogenossulfeto para enxofre elementar em meio fortemente alcalino (MAIT, PRADHAN & PATWARDHAN, 2008). O monitoramento da formação e do consumo do enxofre elementar neste método é importante, pois indica a possibilidade de geração de dissulfetos e, também, tióis aromáticos (SHRINER & FUSON, 1956), que interferem no rendimento da reação. Utilizando como material de partida o ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS), foram obtidos rendimentos ao redor de 15% para o ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**, além de identificarmos vários outros subprodutos da reação cuja elucidação não foi possível em decorrência da complexidade da mistura.

As tentativas de aplicar redutores seletivos para a obtenção direta do ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico a partir do DNS mostraram-se ineficazes devido aos baixos rendimentos obtidos (20% e 15%). Além disso, os processos de isolamento e purificação foram dispendiosos e pouco eficientes.

Em uma perspectiva de melhorar os rendimentos para a preparação dos ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**, desenvolveu-se uma rota sintética (**Esquema 2.2**) que apesar de ser composta de uma quantidade maior etapas, proporciona a segurança da obtenção destas substâncias.



Esquema 2.2 – Rota sintética para obtenção dos ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**.

A rota sintética proposta é composta de cinco tipos reações, identificadas no Esquema 2.2 como de **A** a **E,** onde:

A - Reação de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e o respectivo isolamento dos isômeros formados;

B - Reação de redução do ácido 3-nitro-2-hidroxibenzoico **(3)** e do ácido 5-nitro-2-hidroxibenzoico **(2)**;

C - Reação de acetilação do ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)** e do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**;

D - Reação de nitração do ácido 3-acetil-2-hidroxibenzoico **(9)** e do ácido 5-acetil-2-hidroxibenzoico **(5)** e

E - Hidrólise do ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)** e do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)**.

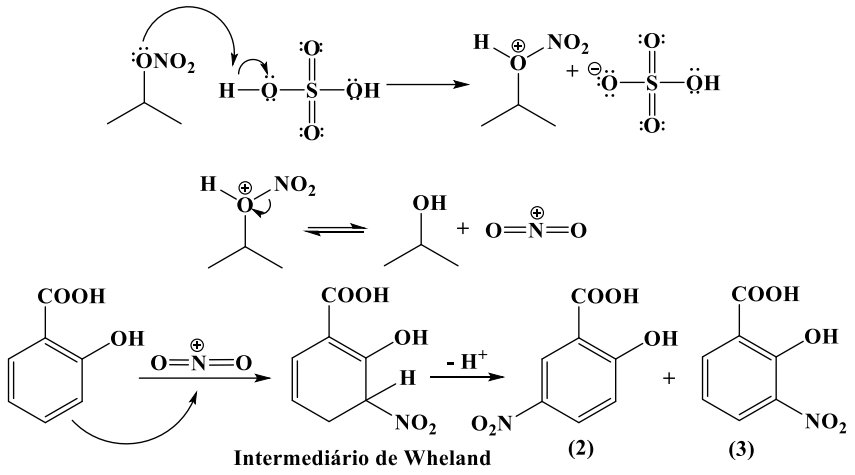
Nas seções a seguir os resultados obtidos referentes a rota sintética proposta serão discutidos e os respectivos procedimentos experimentais de cada uma das reações realizadas estão detalhados no Apêndice A.

2.1. Primeira reação de nitração

O método tradicional de nitração de compostos aromáticos envolve a geração de íons nitrônio (NO_2^+) partindo de misturas ácidas, como HNO_3/H_2SO_4, HNO_3/AcOH e outras derivações (HOGGETT *et al.*, 1971). Porém, estes métodos apresentaram rendimentos insatisfatórios, especialmente para o ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, correspondente à primeira etapa da rota sintética proposta. Por este motivo, neste trabalho, optou-se por empregar o nitrato de isopropila como reagente nitrante do ácido 2-hidroxibenzoico (HUMMEL *et al.*, 2010). Assim, procedeu-se gotejando ácido sulfúrico concentrado sobre uma mistura do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e nitrato de isopropila a 10 °C. O controle do fluxo de adição de H_2SO_4, assim como, a manutenção de temperatura constante foi importante para evitar a formação de subprodutos indesejáveis como eventuais produtos de sulfonação (pelo excesso de H_2SO_4), nitrofenois, polinitrofenois entre outros (ANDREOZZI *et al.*, 2006a; ANDREOZZI *et al.*, 2006b).

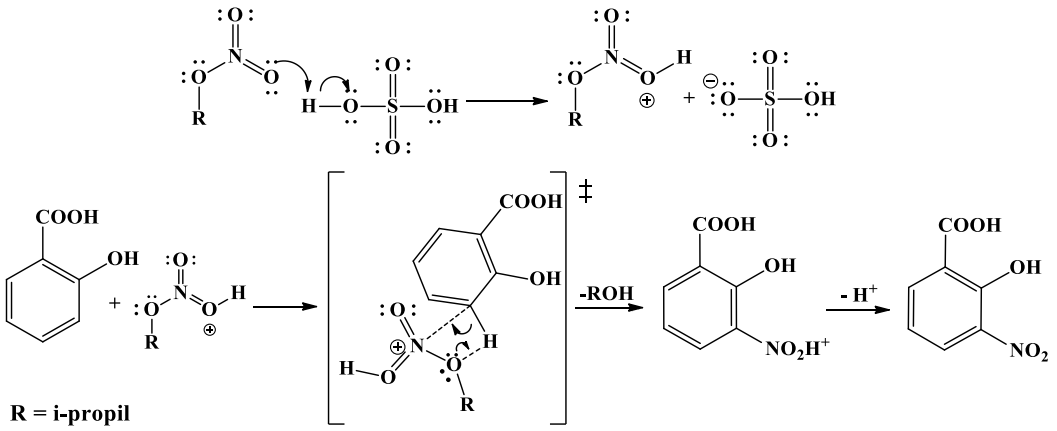
Existem descritas na literatura duas propostas de mecanismos da reação de nitração utilizando nitrato de alquila (nitrato de isopropila) como reagente nitrante (SZABÓ, HORNFELDT & GRONOWITZ, 1992).

No primeiro mecanismo, o íon nitrônio é gerado a partir da protonação (provocada pela adição de H_2SO_4) do oxigênio que está entre os átomos de carbono e nitrogênio do nitrato de isopropila formando um íon oxônio. O íon oxônio que se forma, estabelece no meio reacional um equilíbrio dissociativo cujos demais componentes isopropanol e íon nitrônio são liberados lentamente e em pequenas porções. Por fim, o ataque nucleofílico promovido pela densidade eletrônica do anel aromático ao íon nitrônio produz o intermediário de Wheland. Segue uma desprotonação que leva a formação de uma mistura contendo os compostos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** (ASCHI *et al.*, 1996) (**Esquema 2.3**).



Esquema 2.3 - Mecanismo para a reação de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** com nitrato de isopropila para sintetizar os ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**.

No **Esquema 2.4**, uma segunda proposta sugere que a protonação acontece em um dos oxigênios que estão ligados apenas ao nitrogênio do nitrato de isopropila. Posteriormente, o cátion formado reage com a densidade eletrônica do anel aromático por um mecanismo concertado terminando com uma eliminação de isopropanol seguido de uma desprotonação que leva a formação de uma mistura contendo os compostos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**.



Esquema 2.4 – Segunda proposta de mecanismo de reação de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** com nitrato de isopropila. Optou-se por mostrar apenas a formação do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3).**

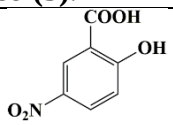
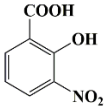
Estudos de espectrometria de massas e de química computacional realizados com alguns nitratos de alquila, tais como nitrato de metila e nitrato de etila, sinalizaram que ambos

mecanismos propostos para a reação de nitração são plausíveis (DE PRETRIS, 1990). Como nesta Dissertação o interesse era pela formação de ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, nenhum dos dois mecanismos foi descartado.

Além de contribuir para o aumento do rendimento global das reações de obtenção de ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**, vale destacar que o uso do nitrato de isopropila como reagente nitrante nas condições nas quais o experimento foi realizado impede a formação de subprodutos indesejáveis. A geração de íon nitrônio é controlada pelo fluxo da adição de H_2SO_4 e pela manutenção da temperatura constantemente baixa durante todo o tempo da reação.

A **Tabela 2.1** exibe alguns dados experimentais e espectroscópicos referentes aos produtos formados na reação após isolamento e purificação.

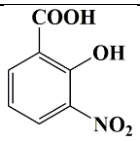
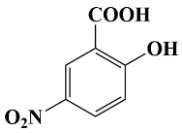
Tabela 2.1 – Dados experimentais e espectrais dos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**.

Propriedade	 Composto **(2)**	 Composto **(3)**
Rendimento (%)	42	37
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm), *J (Hz)*	7,12 (d, 1H, ^3J = 9,17); 8,30 (dd,1H,^3J=9,18,^4J=2,92); 8,54 (d,1H,^4J= 2,92)	8,10 (dd,1H,^3J=7,81,^4J=1,58) 7,06 (t,1H); 8,15 (dd,1H,^3J=8,20,^4J=1,42)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6)		116,51; 155,20; 130,64; 135,53; 118,16; 138,15; 171,00
ESI(-)/MS (*m/z*)	182	182

Outros dois parâmetros adicionais foram analisados com relação ao rendimento da reação. O primeiro ponto refere-se ao uso de hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (HSTBA). No trabalho de HUMMEL *et al.* (2010), usado como ponto de partida para esta reação, uma quantidade pequena e arbitrária de HSTBA foi empregada em seu estudo. Frequentemente, sais de amônio quaternário são usados como catalisadores de transferência de fase (LUCCHESE e MARZORATI, 2000). Na patente depositada por LEARMONTH (2006) para nitração de compostos fenólicos faz-se o uso de HSTBA. Entretanto, nenhuma informação é dita sobre o papel do sal de amônio quaternário nesta reação de nitração. Portanto, realizaram-se alguns ensaios da reação de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** com nitrato de isopropila,

adicionando quantidade variável de HSTBA, para avaliar se os rendimentos de obtenção dos produtos melhoravam **(Tabela 2.2)**.

Tabela 2.2 - Efeito do uso de hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (HSTBA) no rendimento de nitração do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** com nitrato de isopropila, após 4 h de reação.

Quantidade de HSTBA (mmol)	**Rendimento (%)**		**Total (%)**
	 Composto **(3)**	 Composto **(2)**	
0	37,0	42,0	79,0
3,75	37,9	43,5	81,4
7,50	35,1	43,9	79,0

* Reação monitorada por cromatografia em camada delgada, com indicador fluorescente F254. Eluente: diclorometano:metanol (9:1) com 0,1% ácido fórmico.

Os dados da Tabela 2.2 mostram que a presença ou não de HSTBA não influenciou o rendimento da reação. Portanto, retiramos o uso deste reagente em nossa preparação.

O segundo ponto analisado refere-se ao isolamento e purificação dos isômeros nitrados ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**. A separação dos isômeros ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** formados **(Esquema 2.2)** foi realizada por um método distinto daquele descrito na literatura por TABORSKY, KAYE & DARKER (1988). Neste trabalho, o sal 2-hidroxi-3-nitrobenzoato de potássio é obtido por meio da dissolução dos isômeros em uma solução de carbonato de potássio a quente, seguido de um processo de recristalização em banho de gelo. Experimentos feitos por este método produziram rendimentos ao redor de 25% de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, muito baixo. Por esse motivo, procurou-se outras formas de separação destes isômeros.

A alternativa adotada foi filtrar a mistura reacional logo após o término da reação. No filtrado, adicionou-se água deionizada gelada seguido de agitação, provocando a precipitação do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**3**) puro. O sólido retido no filtro continha ao redor de 70% do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**2**) e 30 % de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**3**). A purificação do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**2**) foi feita removendo o contaminante, o outro isômero ácido (**3**), por uma extração em diclorometano com uma vidraria de Soxhlet por 30 minutos **(Anexo A – Figuras 1A – 5A)**.

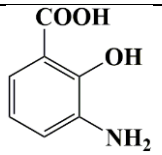
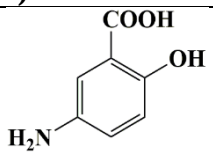
Os esforços em reduzir perdas e melhorar o rendimento da reação de nitração nesta etapa inicial foram importantes para dar sequência a rota proposta.

2.2. Reações de redução

Inicialmente e separadamente, os ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** foram reduzidos com Zn ativado e HCl concentrado formando os ácidos 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**, com rendimentos de 79,1% e 87,6% respectivamente **(Anexo A – Figuras 6A – 8A, 18A e 19A).** As abordagens mais clássicas para este procedimento como, por exemplo, o uso de metais de transição (Zn) em meio fortemente ácido apresenta rendimentos inferiores e dificuldades na purificação. Formam-se compostos de coordenação, pela reação do metal com o reagente e/ou com o produto que atuam como ligantes.

Em uma perspectiva de melhorar o rendimento das reações de redução e simplificar a etapa de purificação, optou-se por realizar as reações de redução de nitrocompostos por meio de reações de hidrogenação catalítica, usando dois catalisadores isoladamente: o 5% Ru/ C e o 5% Pd/C. Os resultados obtidos são mostrados na **Tabela 2.3**.

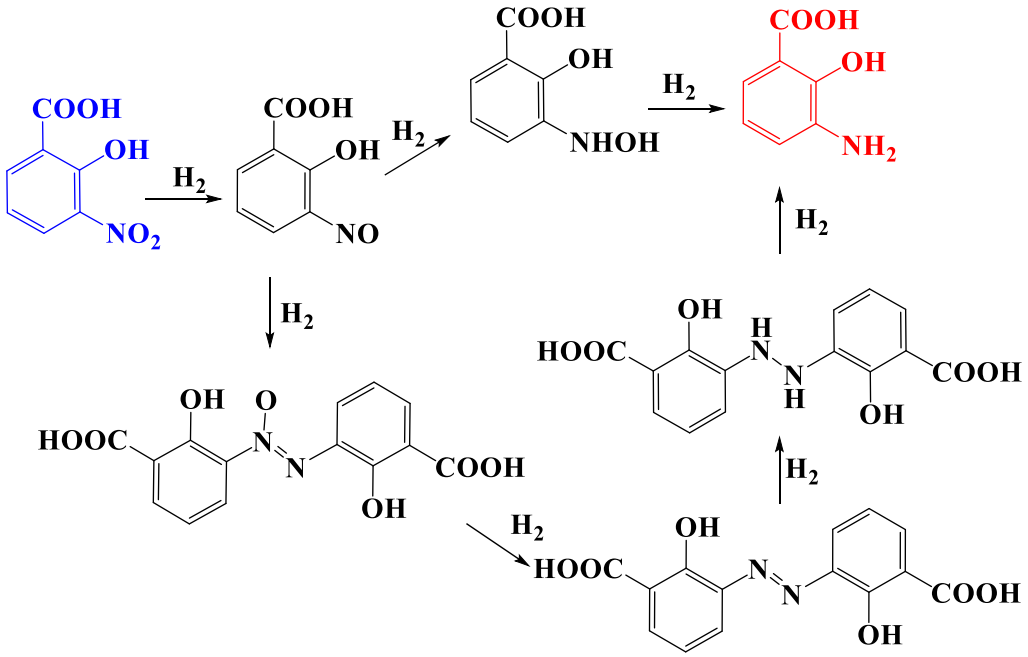
Tabela 2.3 – Rendimento da reação de hidrogenação catalítica em pressão de 250 psi de H_2, com diferentes catalisadores e temperatura reacional

Catalisador (temperatura)	**Rendimento (%)**		**Tempo de reação (h)**
	 Composto **(4)**	 Composto **(8)**	
5% Ru/ C (25° C)	-	-	-
5% Ru/ C (50° C)	98,9	97,0	4
5% Pd/ C (25° C)	99,1	96,8	1

Observa-se que o uso do catalisador 5% Pd/C apresentou o melhor resultado entre os demais realizados de modo que a reação foi realizada em temperatura ambiente e em um menor tempo de reação como pôde ser observado na **Tabela 2.3** (NISHIMURA, 2001).

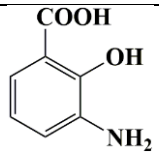
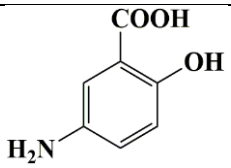
O mecanismo proposto para esta reação de hidrogenação catalítica é demonstrado no **Esquema 2.5** para o ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** baseado na proposta de Nishimura

(2001) (NISHIMURA, 2001). A **Tabela 2.4** mostra dados experimentais e espectroscópicos dos produtos ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**.



Esquema 2.5 – Mecanismo de redução do composto **(3)** por hidrogenação catalítica.

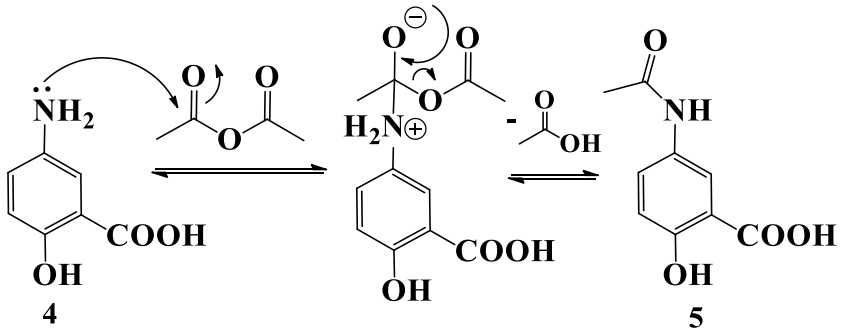
Tabela 2.4 – Dados experimentais e espectrais do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e ácido 3-amino 2-hidroxibenzoico **(8)**.

Propriedade	 Composto **(8)**	 Composto **(4)**
Rendimento (%)	98,9	97,0
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm), *J (Hz)*	6,67 (d,1H,^3J=9,17); 6,88 (dd, 1H, ^3J=9,18, ^4J=2,92); 7,17 (d, 1H, ^4J= 2,92)	8,10 (dd, 1H, ^3J=7,81; ^4J=1,58); 7,06 (t, 1H); 8,15 (dd, 1H, ^3J=8,20; ^4J=1,42)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6)	114,24; 118,88; 123,63; 125,28; 130,83; 160,66; 171,14	116,53; 118,13; 130,59; 135,57; 138,02; 155,25; 171,02
ESI(-)/MS (*m/z*)	152	152

2.3. Reações de acetilação

A presença de grupo amino aumenta a reatividade do anel aromático (CLAYDEN *et al.*, 2012). Para evitar a formação de subprodutos na etapa seguinte de nitração, devido ao aumento de reatividade do ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)** e do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, foram realizadas reações de acetilação no grupo amino formando as amidas correspondentes (WUTS, 2014). O nitrogênio em amidas tem menor efeito ativante sobre o anel aromático, decorrente de uma forte estabilização com a ressonância entre a densidade eletrônica do nitrogênio com a carbonila.

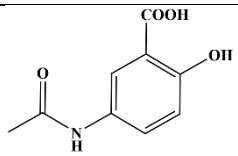
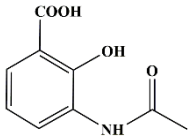
No entanto, o preparo do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)** e o ácido 3-acetilamino 2-hidroxibenzoico **(9)** foram realizadas por métodos distintos. O composto **5** foi preparado por meio de uma substituição nucleofílica em carbonila usando anidrido acético como eletrófilo para a reação (BORGES & CASTLE, 2015) **(Esquema 2.6) (Anexo A – Figuras 9A – 11A e 20A)**.



Esquema 2.6 - Mecanismo para a formação do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)**.

Com relação ao ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)** verificou-se que a sua obtenção foi consideravelmente mais difícil com relação ao seu isômero ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)**, como mostra a **Tabela 2.5**. Essa observação justifica-se pelo fato de a densidade eletrônica no átomo de nitrogênio do grupo amino do ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico estar envolvida em uma série ligações de hidrogênio intramoleculares induzidas por ressonância que contribuem para diminuir a carga negativa do átomo de nitrogênio, reduzindo a sua possibilidade de atuar nucleófilo no ataque a carbonila do anidrido acético.

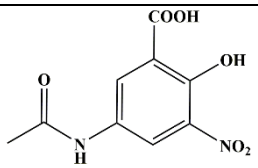
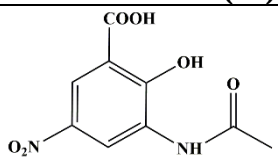
Tabela 2.5 – Dados experimentais e espectrais do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)**.

Propriedade	 Composto **(5)**	 Composto **(9)**
Rendimento (%)	88,9	66,0
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm), *J (Hz)*	2,06 (s, 3H); 6,96 (d, 1H, ^{3}J=9,0); 7,70 (dd, 1H, ^{3}J=9,0; ^{4}J=2,6); 8,15 (d, 1H, ^{4}J=2,6); 9,95 (s, H)	2,10 (s, 1H); 6,88 (t, 1H); 7,54 (d, 1H); 7,54 (d, 1H, ^{3}J=9,0); 8,12 (d, 1H, ^{3}J=9,0)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6)	23,54; 112,22; 116,95; 120,10; 126,74; 130,87; 156,18; 167,90; 171,75; 177,74	24,4; 113,2; 119,0; 125,3; 127,8; 128,2; 153,0; 169,5; 172,9
ESI(-)/MS (*m/z*)	194	194

2.4. Segunda reação de nitração

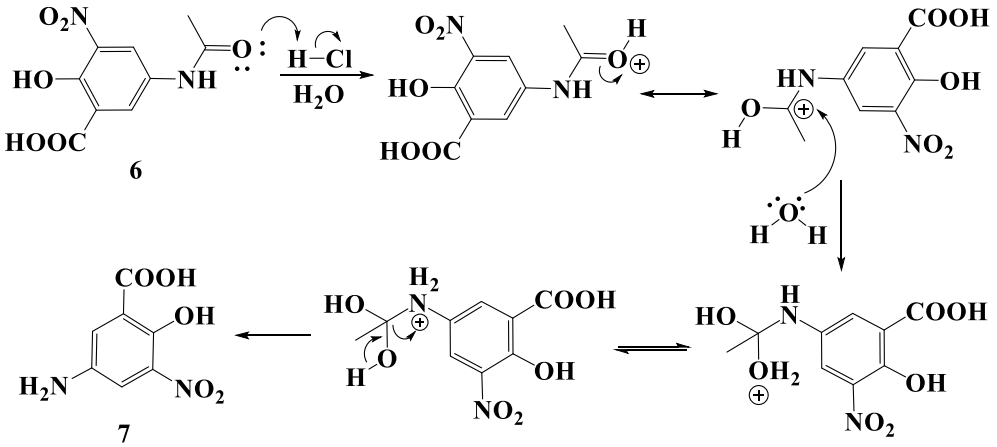
Após a etapa de acilação efetuou-se a segunda reação de nitração, para a formação dos ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**. Neste caso, como se trata de uma reação direta optou-se pelo método clássico de nitração por meio da mistura nitrante de HNO_3/H_2SO_4 1:2, que é bastante satisfatório para a obtenção dos ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** e o ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**. No entanto, este último não foi possível de ser isolado e purificado, **Tabela 2.6 (Anexo A – Figura 12A– 14A)**.

Tabela 2.6 – Dados experimentais e espectrais do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10).**

Propriedade	 Composto **(6)**	 Composto **(10)**
Rendimento (%)	98	–
RMN ^{1}H (300MHz, DMSO-d_6) δ (ppm), *J (Hz)*	1,98(s,3H);7,70(d,1H,^{4}J=2,7);8,15(d, 1H,^{4}J= 2,7); 10,17(s,H)	–
RMN ^{13}C (75MHz, DMSO-d_6)	23,76; 116,40; 120,75; 126,10; 130,01;137,10; 150,82; 168,59; 170,49	–
ESI(-)/MS (*m/z*)	241	–

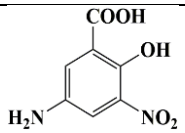
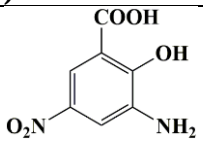
2.5. Reação de hidrólise em meio ácido

A última etapa da rota sintética consistiu na obtenção do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** por meio de hidrólise ácida dos ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**, cujo mecanismo é demonstrado no **Esquema 2.7** apenas para o isômero **(7)**. Após a hidrólise, a solução aquosa contendo os ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** teve o pH ajustado ao redor de 4,5 a 5 para assegurar que todos os grupos -COOH estivessem protonados, diminuindo assim a solubilidade dos compostos. Depois, a solução foi rotaevaporada até secura, de modo que, o sólido formado era constituído de uma mistura dos ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** com NaCl. A remoção do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e do ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** foi realizada por meio de uma extração com vidraria de Soxlet utilizando um solvente capaz de extrair apenas o composto **7** ou **11** e manter o máximo possível de NaCl retido no filtro. Entre os solventes comuns disponíveis a acetona reuniu as melhores condições de uso. A solubilidade de 32 μg de NaCl em 100 mL de acetona foi o menor valor encontrado entre solventes comuns (STEPHEN & STEPHEN 1963). Portanto, os compostos **11** ou **7** foram extraídos com acetona e esta foi facilmente removida após a extração por rotaevaporação. O **Esquema 2.7** mostra o mecanismo da reação de hidrólise em meio ácido, a **Tabela 2.7** e a **Figura 2.1** correspondem a dados experimentais e espectrais de caracterização.



Esquema 2.7 – Mecanismo de hidrólise ácida do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6).**

Tabela 2.7– Dados experimentais e espectrais do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11).**

Propriedade	 Composto **(7)**	 Composto **(11)**
Rendimento (%)	90	-
ESI(-)/MS (*m/z*)	197	197

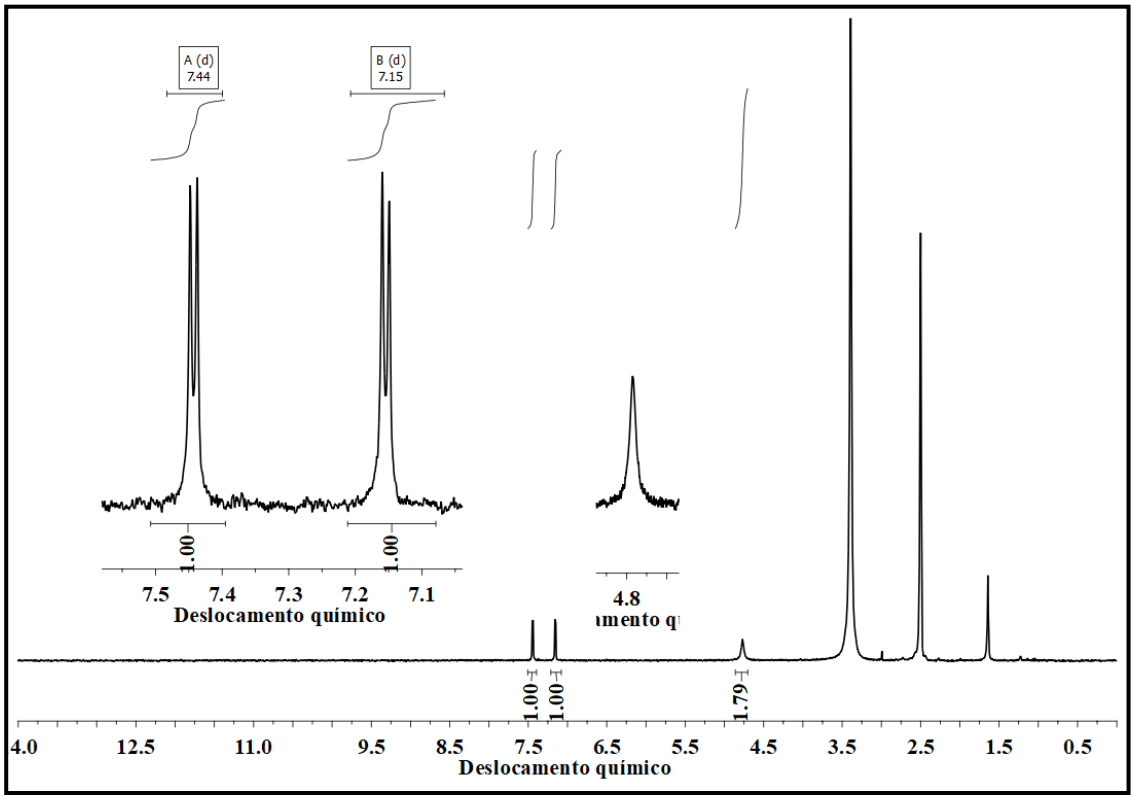


Figura 2.1 - Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d6*) do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico.

Ao final desta etapa sintética, foram obtidos os compostos inéditos ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**, ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** e ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)**. Além disso, otimizamos as etapas de nitração com uso de nitrato de isopropila e de redução com 5%Pd/C obtendo melhores rendimentos para a síntese dos ácido 3-nitro-2-hidroxibenzoico **(3)**, ácido 5-nitro-2-hidroxibenzoico **(2)** e do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**. Todas estas moléculas foram utilizadas como compostos modelos na proposição do mecanismo fotólise por radiação UV como será demonstrado na seção a seguir.

Capítulo 3 – Estudos sobre fotoquímica e mecanismos de fotólise por radiação UV

Inicialmente, estudou-se a fotólise por radiação UV de soluções aquosas de 1,0 mmol L^{-1} dos compostos: ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**. Estas substâncias foram usadas como padrões para melhor compreender o mecanismo de fotólise dos ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**[2] e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**.

A descrição da parte experimental dos experimentos de fotodegradação encontra-se no **Apêndice B**. Usamos uma lâmpada de vapor de Hg sem o bulbo externo de vidro para permitir que a radiação UV emitida pelo seu filamento pudesse realizar a fotólise das soluções aquosas de todos os compostos deste trabalho. Periodicamente, alíquotas foram retiradas ao longo da fotodegradação e submetidas a análises de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM) com ionização em modo negativo (*Electrospray Ionization* – ESI(-)). Os resultados são mostrados e discutidos nos próximos itens.

3.1. Reações de fotólise e caracterização dos produtos de reação

3.1.1. Fotólise do ácido 2-hidroxibenzoico (1)

A **Figura 3.1** mostra a sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, no início e após ser submetida a 240 min de radiação UV. Observa-se a formação de quatro produtos de reação **1a-d**, cujos tempos de retenção são mostrados na **Tabela 3.1**. No **Anexo B**, as **Figuras 1B** a **3B** ilustram os espectros obtidos por ESI(-)/MS dos compostos **1** e **1a-d** eluídos na cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC/MS). Os resultados experimentais estão resumidamente expostos na **Tabela 3.1.**

[2] O ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico é frequentemente chamado ácido 3,5-dinitrosalicílico, também conhecido por DNS.

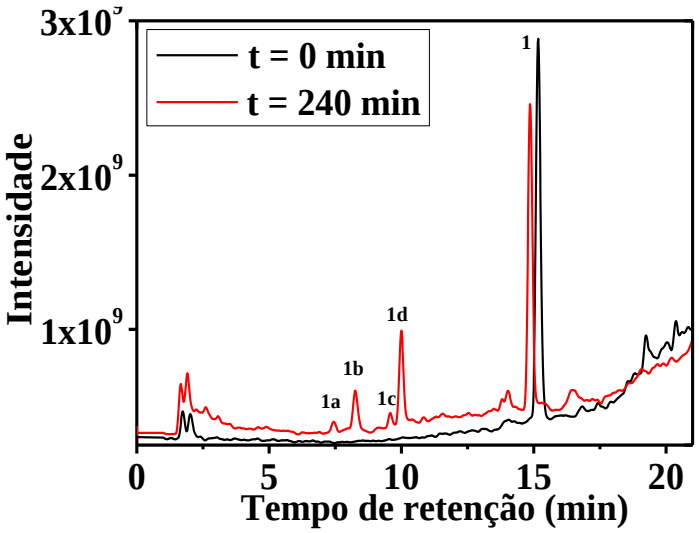
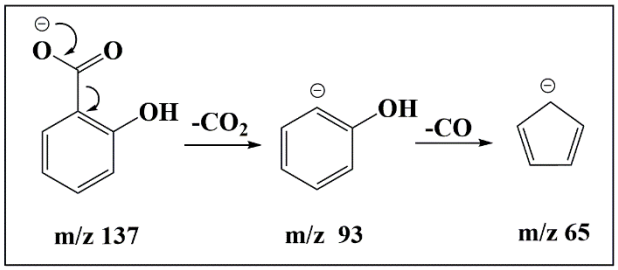


Figura 3.1 - Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** no início (t = 0 min) e após 240 min sob radiação UV.

Tabela 3.1 – Características espectrométricas dos produtos **1a-d** obtidos na reação de fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**.

Composto	Tempo de retenção (min)	Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z*	Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z*	Perdas neutras identificadas
				CO_2
1	15,0	137	297	X
1a	7,30	109	-	-
1b	8,10	153	329	X
1c	9,50	153	329	X
1d	10,0	153	329	X

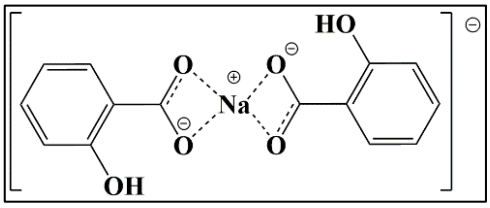
O **Esquema 3.1** mostra o mecanismo de fragmentação do ácido 2-hidroxibenzoico por ESI(-)/MS (HALDER *et al.*, 2015).



Esquema 3.1 – Mecanismo de fragmentação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** por ESI(-)/MS.

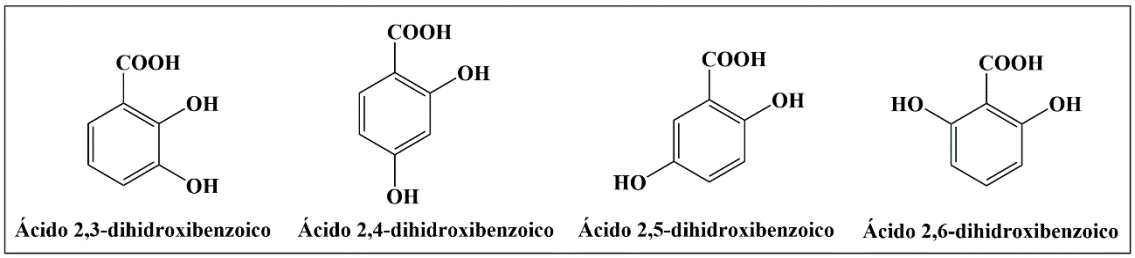
Na **Tabela 3.1**, observa-se uma molécula desprotonada $[M-H]^-$ de *m/z* 153 para os compostos **1b-d**, formados ao longo da fotodegradação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**. Esta

molécula desprotonada (*m/z* 153, $[M-H]^-$) sugere que a fotólise de **1** produz intermediários que conservam em sua estrutura química a função ácido carboxílico/carboxilato (-COOH/-COO^-). Identificam-se nos espectros de massas perdas neutras de CO_2 que são características deste grupo funcional, bem como a formação de dímero $[M-Na-M]^-$, **Esquema 3.2**.



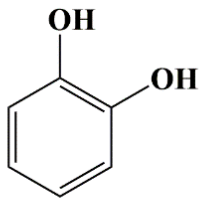
Esquema 3.2 – Estrutura química do dímero $[M-Na-M]^-$.

A variação entre a relação *m/z* do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** (*m/z* 137) e dos produtos da reação **1b-d** (*m/z* 153) é de 16. Isto corresponde a incorporação de um átomo de oxigênio a **1** e permite a formação de isômeros como os mostrados no **Esquema 3.3**.



Esquema 3.3 – Estruturas químicas dos intermediários potencialmente formados ao longo da fotodegradação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1).**

Ainda na **Tabela 3.1**, foi possível identificar a existência do catecol **(1a)**, para o qual não foram identificadas perdas neutras de CO_2 e/ou formação de dímero. Portanto, uma via possível da fotodegradação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** envolve um processo de descarboxilação, seguido de uma incorporação de oxigênio para formação do catecol **(1a)**, **Esquema 3.4**.



Esquema 3.4 - Estrutura química do Catecol **(1a)**

3.1.2. Fotólise do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (2)

A **Figura 3.2** mostra a sobreposição dos cromatogramas obtidos de alíquotas da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico que foi submetida a 240 minutos de radiação UV, comparada com a solução inicial sem fotólise (tempo = 0 min). O pico identificado como 2 trata-se do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e os demais picos **2a-c** correspondem aos produtos intermediários decorrentes de sua reação de fotólise.

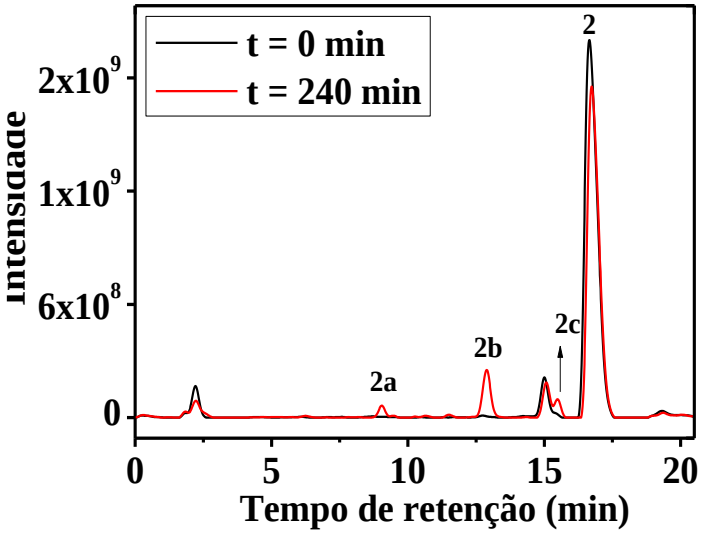
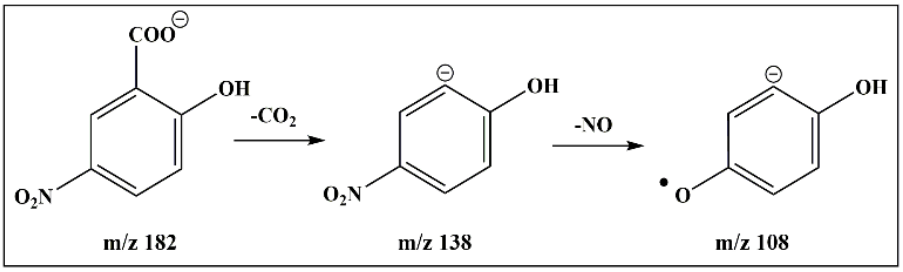


Figura 3.2 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** em t = 0 e 240 min sob radiação UV

No **Anexo B**, as **Figura 4B e 5B** mostram os espectros de massas do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e dos produtos **2a-c** formados durante sua fotólise, enquanto a **Tabela 3.2** resume as principais informações obtidas nestes espectros. O **Esquema 3.5** exibe o mecanismo proposto para o início da fragmentação de **2** (BEYNON, BERTRAND & COOKS, 1973).



Esquema 3.5 - Mecanismo de fragmentação proposto para o ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** por ESI(-)/MS.

Tabela 3.2 – Características espectrométricas dos produtos intermediários **2a-c** gerados na fotólise UV de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**.

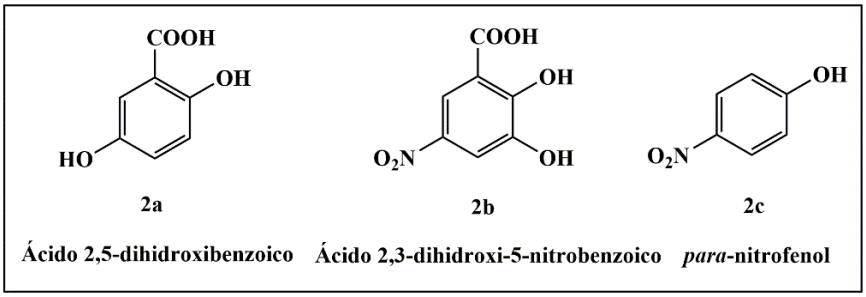
Composto	Tempo de retenção (min)	Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z*	Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z*	Perdas neutras identificadas	
				CO_2	NO
2	16,7	182	387	X	X
2a	9,0	153	329	X	-
2b	12,8	198	419	X	X
2c	15,5	138	-	-	X

O espectro de massas do intermediário **2a** (**Anexo B**, **Figura 4B)** apresenta a molécula desprotonada de *m/z* 153 e a formação de dímero (*m/z* 329). Nota-se a eliminação de CO_2, mas não há perda de NO. Isto confirma que no início da fotodegradação, há ainda a presença do grupo carboxilato (-COOH /-COO^-) nos compostos que levam a formação de **2a**.

Para o composto **2b**, espectro de massas no **Anexo B**, **Figura 5B**, por sua vez, observa-se uma molécula desprotonada *m/z* 198 sem a identificação do dímero (*m/z* 419). Isto pode ser devido à baixa intensidade deste sinal, confundindo-se com o ruído e tornando-o impossível de ser analisado. Porém, foram observadas eliminações de CO_2 e NO indicando que no mecanismo de formação de **2b**, temos as presenças iniciais dos grupos funcionais carboxilato (-COO^-/-COOH) e nitro (-NO_2).

No composto **2c**, espectro de massa no **Anexo B**, **Figura 5B**, identifica-se uma molécula desprotonada *m/z* 138 sem a ocorrência de eliminação de CO_2 e formação do dímero. Identifica-se somente uma eliminação de NO de baixa intensidade.

Com base nestas observações propusemos que os intermediários formados ao longo da reação de fotólise do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** são o ácido 2,5-dihidroxibenzoico **(2a)**, ácido 2,3-dihidroxi-5-nitrobenzoico **(2b)** e *para*-nitrofenol **(2c)**, **Esquema 3.6**.



Esquema 3.6 – Compostos potencialmente formados durante a fotodegradação do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2).**

3.1.3. Fotólise do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (3)

A **Figura 3.3** exibe a sobreposição dos cromatogramas obtidos de alíquotas da solução aquosa de 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** (1,0 mmol L^{-1}) no início e após 240 minutos sob constante exposição à luz UV. Observou-se que ocorre a formação dos compostos identificados como **3a**, **3b** e **3c** além da presença residual de **3** não degradado.

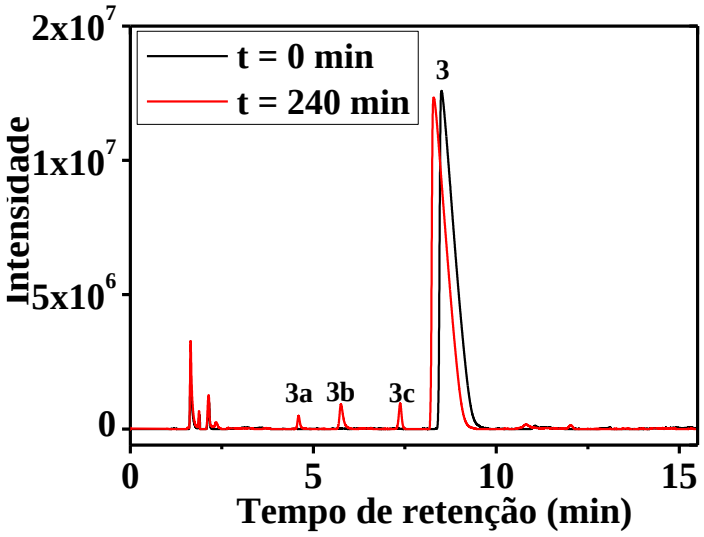
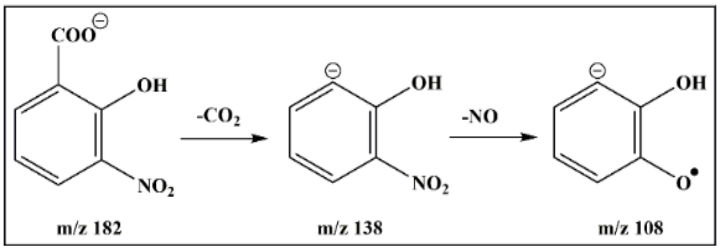


Figura 3.3 - Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** no início e após 240 min sob radiação UV.

No **Anexo B**, **Figura 6B**, apresentamos o espectro de massas do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e o **Esquema 3.7** mostra o mecanismo proposto para sua fragmentação.



Esquema 3.7 – Mecanismo de fragmentação proposto para o ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** por ESI(-)/MS.

As **Figuras 6B e 7B** do **Anexo B** mostram os espectros de massas dos produtos intermediários **3a-c** formados na reação de fotólise do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**. A **Tabela 3.3** mostra a comparação entre os picos dos espectros de massa e a observação ou não de perda de fragmento CO_2 e NO_2 dos compostos **3** e **3a-c.**

Tabela 3.3 – Características espectrométricas dos produtos intermediários **3a-c** oriundos da fotólise UV de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3).**

Composto	Tempo de retenção (min)	Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z*	Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z*	Perdas neutras identificadas	
				CO_2	NO
3	14,5	182	387	X	X
3a	11,2	153	329	X	-
3b	10,3	198	419	X	X
3c		154	-	-	X

Os intermediários **3a** e **3b** apresentam perda de CO_2 e possuem, respectivamente, moléculas desprotonadas *m/z* 153 e 198 e dímeros $[M-Na-M]^-$ de *m/z* 329 e 419 (**Tabela 3.3**). Isto sugere que **3a** e **3b** mantiveram em suas estruturas o grupo funcional carboxilato (-COOH/-COO^-); entretanto, apenas **3b** tinha inicialmente o grupo nitro (-NO_2).

Analisando comparativamente os espectros de absorção UV/vis de **3a** (**Figura 3.4)** e **1d** verificamos que ambos se referem ao mesmo intermediário (ácido 2,3-dihidroxibenzoico) obtido a partir da fotólise dos ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**. Esta atribuição, também, foi confirmada por ambos terem o mesmo comprimento de onda de absorção máxima, 313 nm em solução aquosa, descrito na literatura. (ZHANG *et al.*, 2013).

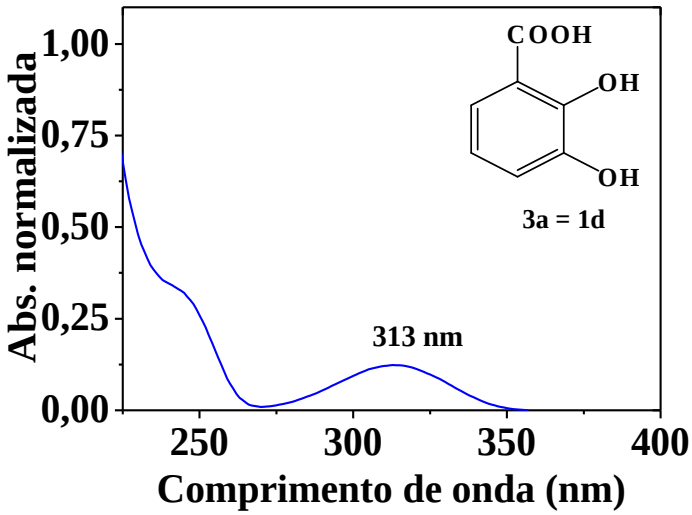


Figura 3.4 – Espectro de absorção normalizado do ácido 2,3-dihidroxibenzoico **(1d = 3a)**, produzido durante a fotólise dos ácidos 2-hidroxibenzoico **(1)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**.

Para o composto **3c** não foram identificadas eliminações de CO_2, mas, permaneceu uma eliminação de NO. A interpretação do espectro de massas sugere que o derivado do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** sofreu uma descarboxilação seguido de uma incorporação de oxigênio.

3.1.4. Fotólise do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS)

A **Figura 3.5** exibe a sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução aquosa do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**, 1,0 mmol L^{-1}, no início e após 240 minutos sob radiação UV e na **Tabela 3.4** encontram-se os dados referentes a fragmentação dos produtos formados durante a reação de fotólise identificados como **DNSa-e** e do **DNS** residual. As **Figuras 8B-10B (Anexo B)** mostram os espectros de massas do **DNS** e dos produtos intermediários **(DNSa-e)**, cujas análises permitiram descrever o perfil de fragmentação proposto no **Esquema 3.8**.

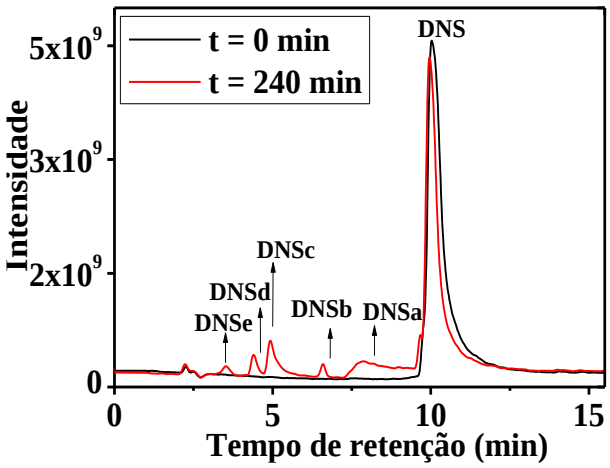
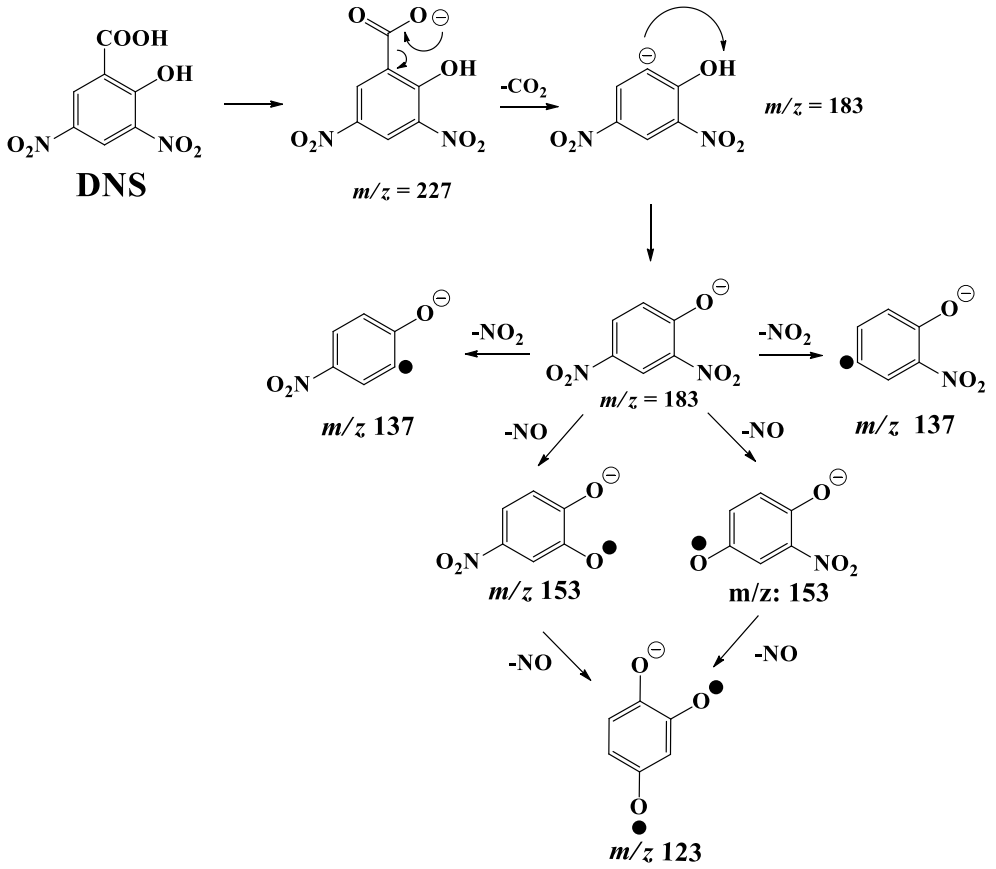


Figura 3.5 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** em t = 0 e 240 min sob radiação UV.

Tabela 3.4 – Características espectrométricas dos intermediários **DNSa-e** formados ao longo da fotólise da solução aquosa de 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**.

Composto	Tempo de retenção (min)	Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z*	Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z*	Perdas neutras identificadas[a]					
				CO_2	NO^5	NO^3	NO_2	H_2O	CO
DNS	7,98	227	477	X	X	X	X	-	-
DNSa	6,33	199	421	-	X	X	-	-	-
DNSb	5,39	183	457	-	X	X	-	-	-
DNSc	4,12	198	419	X	X	-	-	-	-
DNSd	3,68	198	419	X	-	X	-	-	-
DNSe	2,99	-	-	-	-	-	X	X	X

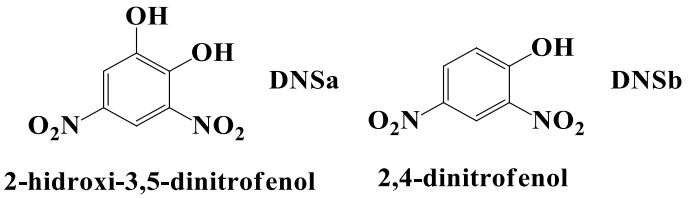
[a] Os índices 3 e 5 dos NO indicam a posição que o substituinte $-NO_2$ ocupa no anel aromático.



Esquema 3.8 – Mecanismo proposto para a fragmentação do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** por ESI(-)/MS .

A formação de dímeros $[M\text{-}Na\text{-}M]^-$ é recorrente em **DNSa-d**, exceto para o **DNSe**, cuja concentração foi muita baixa comparada com os demais, prejudicando a sua resolução no espectro de massas. Neste caso **DNSe** não foi possível identificar uma associação entre *m/z* e molécula desprotonada ou dímeros. Os picos de interesse de baixa intensidade ficaram ocultos sob o ruído do equipamento.

Nos produtos intermediários **DNSa** e **DNSb** observam-se apenas perdas de NO e moléculas desprotonadas com respectivos de *m/z* 199 e 183. Não foram observadas perdas associadas ao CO_2. Isso indica que os produtos formados 2-hidroxi-3,5-dinitrofenol **(DNSa)** e 2,4-dinitrofenol **(DNSb)** já não possuem em sua estrutura o grupo carboxilato, que foi eliminado do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**, durante o processo de radiação com luz UV **(Esquema 3.9).**



Esquema 3.9 – Estruturas químicas do 2-hidroxi-3,5-dinitrofenol **(DNSa)** e do 2,4-dinitrofenol **(DNSb)**.

Na **Figura B7 (Anexo B)**, os espectros de massa de **DNSc** e **DNSd** exibem uma diferença de intensidade nos picos 198 e 154, respectivamente, e a retenção do grupo carboxilato. Observa-se que **DNSc** e **DNSd** são isômeros, pois possuem molécula desprotonada *m/z* 198 e apresentam apenas uma única eliminação de NO. O cromatograma mostrado na **Figura 3.5** no texto sugere que cada um destes isômeros sofre a perda NO em uma posição distinta. Comparando-se os espectros de massas e de absorção UV/Vis destes isômeros com os intermediários ácido 2,3-dihidroxi-5-nitrobenzoico **(2b)** e ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(3b)** gerados durante a fotólise dos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, respectivamente, obtêm-se que **DNSc** e **DNSd** são **2b** e **3b (Figura 3.6)**.

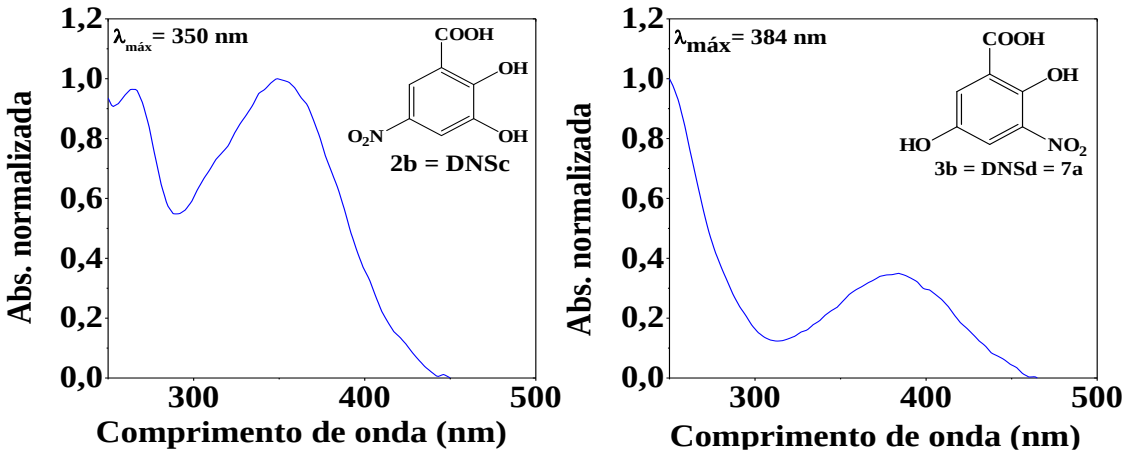


Figura 3.6 – Espectros de absorção UV/vis normalizados do ácido 2,3-dihidroxi-5-nitrobenzoico **(2b = DNSc)** e do 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(3b = DNSd)**, obtidos durante a fotólise dos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e **DNS**.

3.1.5. Fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico (4)

A **Figura 3.7**, mostra a sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução aquosa do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** obtidos no início e depois de 240 minutos da radiação UV. Identifica-se como **4** o pico correspondente ao ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico e **4a** e **4b** são os picos referentes aos intermediários formados durante a fotólise de **4**.

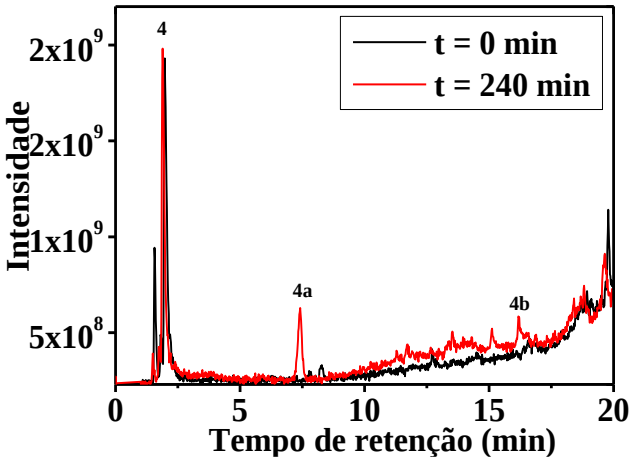
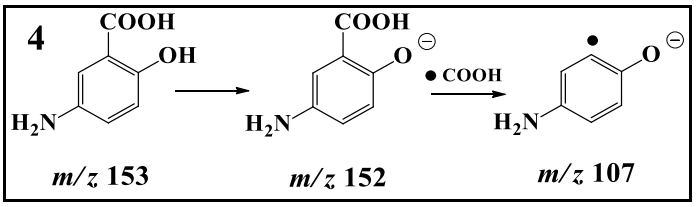


Figura 3.7 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** em 0 e 240 min sob radiação UV.

No **Anexo B**, **Figuras 11B** e **12B**, estão os espectros de massas do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e de seus produtos intermediários **4a,b** em modo negativo do ESI-MS, cujas principais informações estão reunidas na **Tabela 3.5.** Esses dados foram úteis para a elucidação do mecanismo de fragmentação de **4** proposto no **Esquema 3.10**.

Tabela 3.5 – Características espectrométricas dos intermediários **4a** e **4b** gerados na fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**.

Composto	Tempo de retenção (min)	Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z*	Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z*	Perdas neutras identificadas		
				CO_2	•COOH	R•
4	2,0	152	327	-	X	-
4a	7,4	153	329	-	X	-
4b	16,2	299	-	X		X



Esquema 3.10 – Mecanismo de fragmentação do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** por ESI(-)/MS .

O ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** apresenta a molécula desprotonada *m/z* 153 e a formação de dímero *m/z* 329. Neste caso, observou-se a eliminação de radical formila (•COOH)

em detrimento à eliminação CO_2 que costuma ser característica para ácidos carboxílicos. Tal fenômeno é devido ao uso de uma quantidade elevada de energia de colisão, provocando a competição entre a eliminação de radical com a perda neutra (NIESSEN & CORREA, 2016).

Pelas comparações entre os espectros de massas da fotodegradação dos ácidos 2-hidroxibenzoico **(1)** e ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, identificou-se o primeiro produto intermediário **(4a)**, como o ácido 2,5-dihidroxibenzoico **(1b = 2a)**. Além disso, o espectro de absorção UV/vis do ácido 2,5-dihidroxibenzoico apresenta o mesmo comprimento de onda absorção máxima, 327 nm, idêntico ao reportado na literatura em solução aquosa (ZHANG *et al.*, 2013) **(Figura 3.8)**.

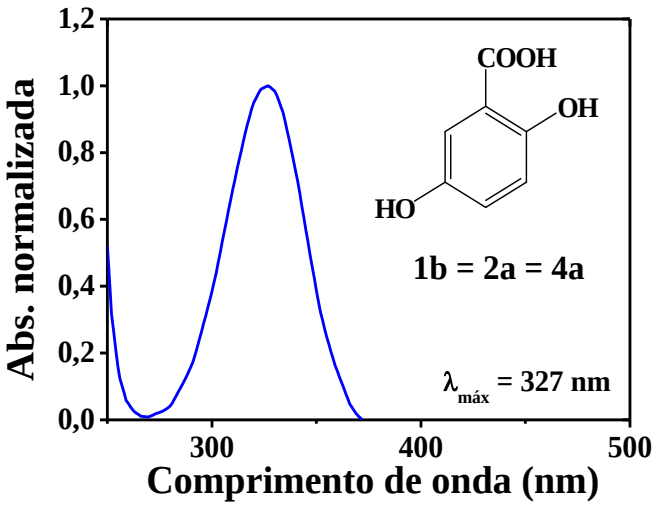
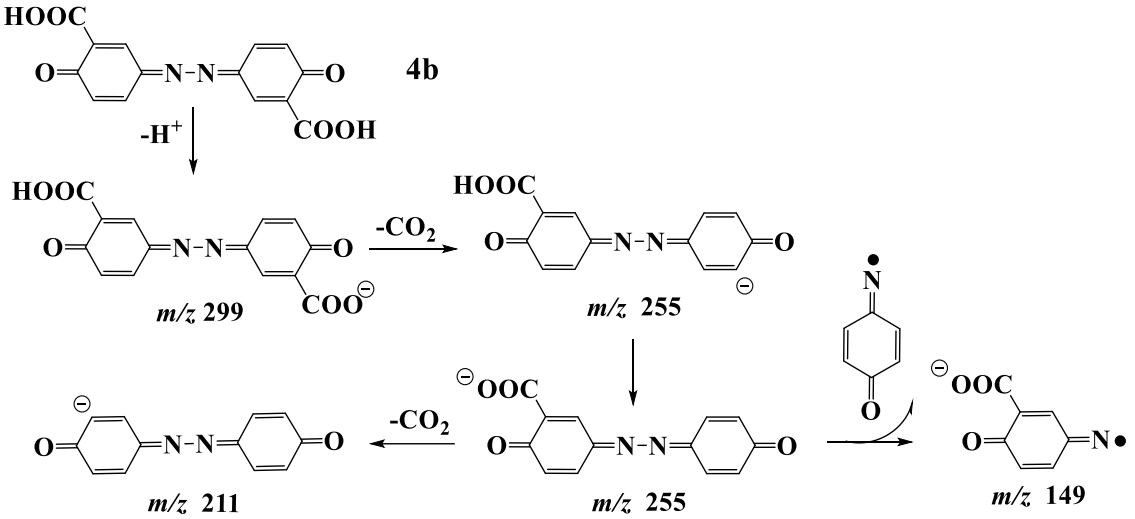


Figura 3.8 – Espectro de absorção normalizado do ácido 2,5-dihidroxibenzoico **(1b = 2a = 4a)**, obtido na fotólise dos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**.

Propõe-se que a estrutura de **4b** é a do ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(6-oxociclohexa-1,4-dieno-1-carboxílico) (**Esquema 3.11**). A perda de próton gera a molécula desprotonada *m/z* 299, seguido de uma perda de CO_2 para produzir o íon *m/z* 255. Este último torna-se o precursor dos íons *m/z* 211 e 149 que correspondem, respectivamente, a uma segunda eliminação de CO_2 e a uma eliminação radicalar. Este mecanismo de fragmentação é semelhante ao observado para um derivado reduzido de **4b** chamado popularmente de Olsalazina, para o qual foram identificadas as eliminações de CO_2 e radicalares (NIESSEN, 2012).



Esquema 3.11 – Mecanismo de fragmentação do ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(6-oxociclohexa-1,4- dieno-1-carboxílico) **(4b)** por ESI(-)/MS .

3.1.6. Fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (7)

A **Figura 3.9** exibe a sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução aquosa 1,0 mmol/L do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** no início e após ser submetida a 240 min de radiação UV. Os produtos da reação de fotólise foram identificados como **7a-e**.

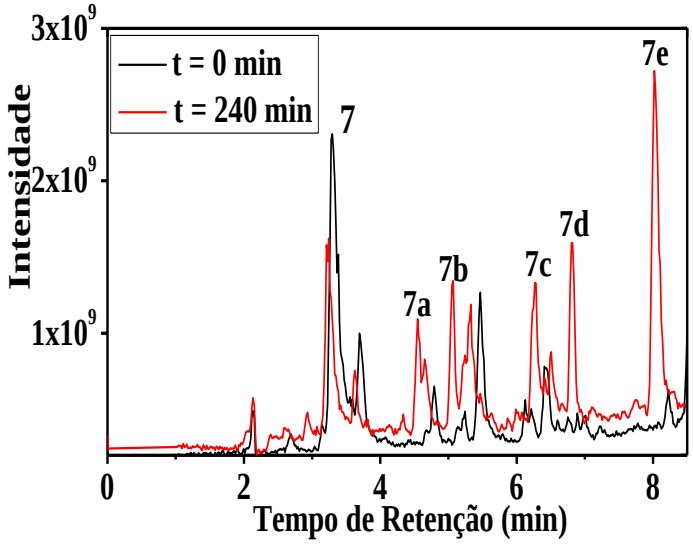


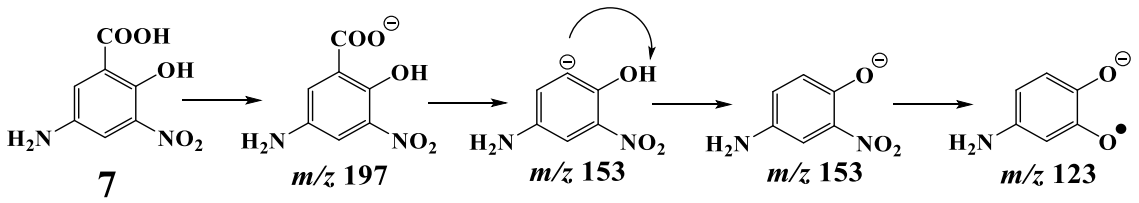
Figura 3.9 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** em 0 e 240 min sob radiação UV.

No **Anexo B**, as **Figuras 13B** a **15B** exibem os espectros de massas do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e intermediários **7a-e** gerados durante a fotólise de **7**. A **Tabela**

3.6 resume o perfil de eliminações que foram observados nos produtos de fotodegradação que permitiram elaborar o mecanismo de fragmentação de **7** (**Esquema 3.12).**

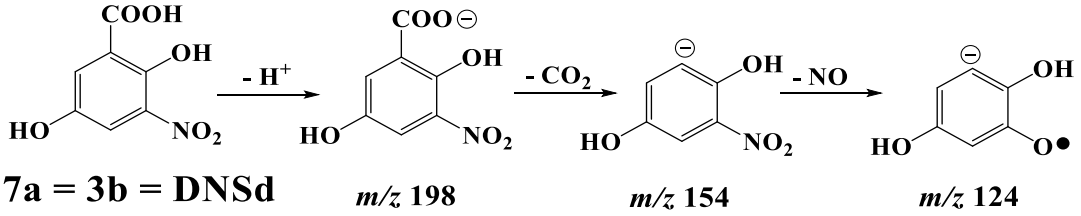
Tabela 3.6 – Características espectrométricas dos intermediários **7a-e** produtos da fotólise da solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**.

Composto	Tempo de retenção (min)	Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z*	Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z*	Perdas neutras identificadas			
				$^1CO_2$	$^2CO_2$	NO_2	R•
7	3,2	197	417	X	-	X	-
7a	4,6	198	419	X	-	X	-
7b	5,1	-	-		-	-	-
7c	6,2	363	N.I	X	X	X	X
7d	6,8	417	N.I	X	X	-	-
7e	8,0	389	N.I	X	X	X	-



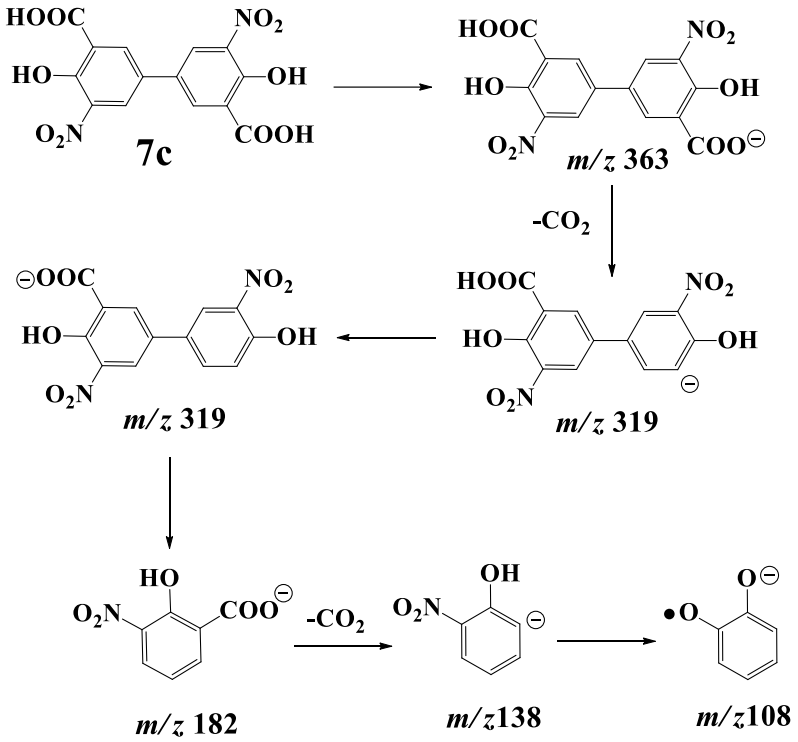
Esquema 3.12 – Mecanismo de fragmentação do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** por ESI(-)/MS .

O composto **7a** possui uma molécula desprotonada *m/z* 198 e um dímero *m/z* 419 característico da presença inicial de -COOH/COO^-, confirmado pela identificação de uma perda de CO_2. Uma eliminação de NO indica também a presença inicial de grupo nitro (-NO_2) mostrando que este composto corresponde ao ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(3b** ou **DNSd) (Figura 3.6)**. O mecanismo de fragmentação é mostrado no **Esquema 3.13**.



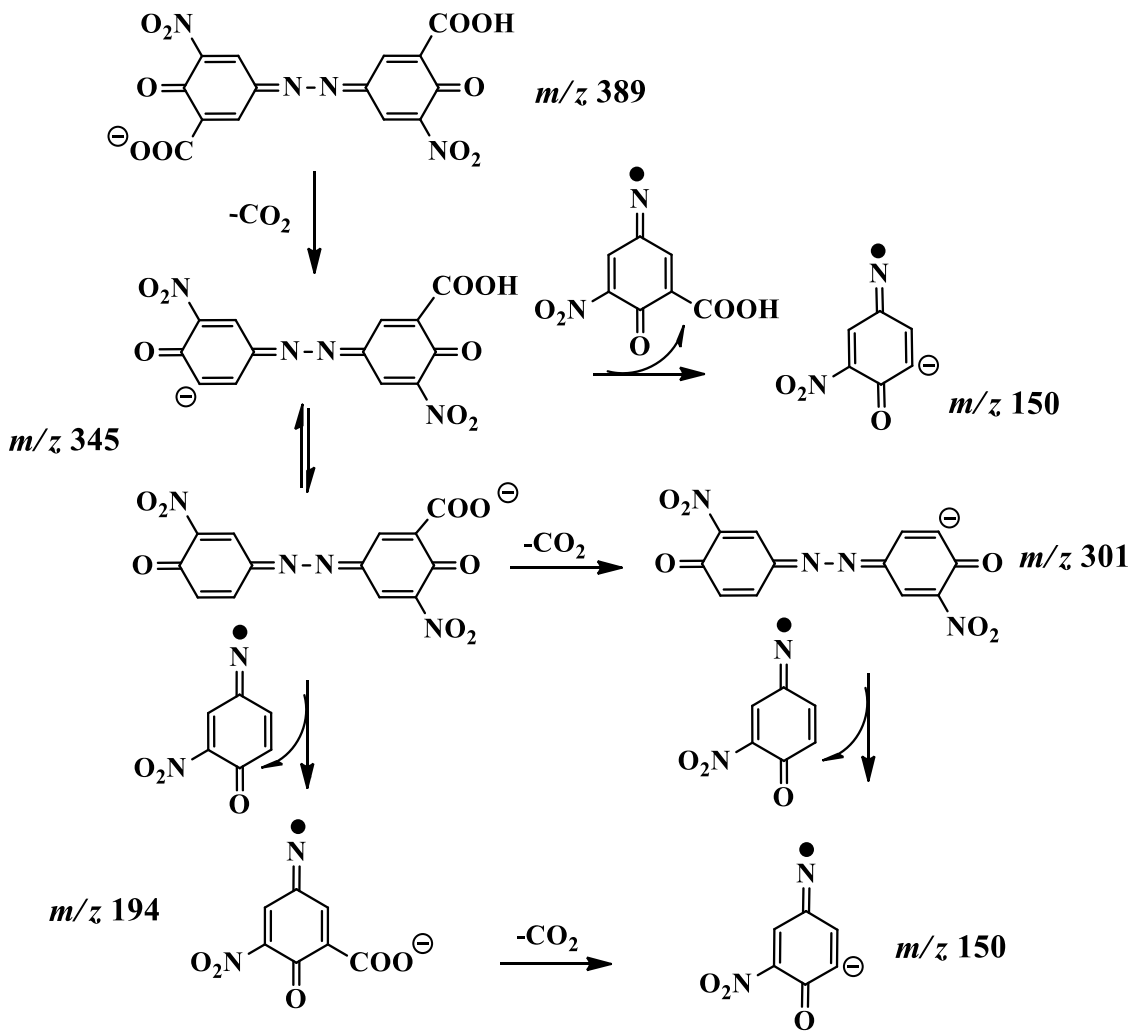
Esquema 3.13 – Mecanismo de fragmentação do ácido 2,5-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7a = 3b = DNSd)** por ESI(-)/MS .

Para **7c** identificou-se a molécula desprotonada *m/z* 363 e foram observadas duas perdas neutras de CO_2 indicando as presenças iniciais de grupos carboxilatos (-COOH/COO^-) na molécula. Entretanto, a análise do espectro de massas sugere que as perdas de CO_2 não ocorrem sequencialmente como é observado em ácidos dicarboxílicos de baixo peso molecular como ácido tereftálico e similares (GILLESPIE *et al.*, 1989). Ao invés disso, as eliminações de CO_2 são intercaladas por uma perda neutra radicalar com uma variação de 137 u e por fim ocorre uma eliminação de NO caracterizando a manutenção do grupo nitro (-NO_2) no ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico **(7c)**. O **Esquema 3.14** exibe o mecanismo de fragmentação proposto para a caracterização do composto **7c**.



Esquema 3.14 – Mecanismo de fragmentação do ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'-dicarboxílico **(7c)** por ESI(-)/MS .

O composto **7e** apresenta molécula desprotonada *m/z* 387. Analogamente ao observado em **7c**, **7e** sofre duas perdas de CO_2 confirmando a presença de dois grupos carboxilatos (-COOH/COO^-) iniciais. As perdas de CO_2 ocorrem intercaladas por perdas neutras radicalares de 195 u e 151 u. Em um primeiro momento, há a perda de um radical do tipo aminila carboxilada que é eliminado do íon *m/z* 345 para formar o ânion radical *m/z* 150. A segunda perda radicalar envolve a eliminação de um radical aminila descarboxilada dos íons *m/z* 345 e 301 formando, respectivamente, os íons *m/z* 194 e 150 (**Esquema 3.15**).



Esquema 3.15 – Mecanismo de fragmentação do ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4- dieno-1-carboxílico) **(7e)** por ESI(-)/MS .

7c e **7e** são ácidos dicarboxílicos. A constatação de que as eliminações de CO_2 não ocorrem sequencialmente corrobora com a proposição de que esses compostos são dímeros gerados a partir do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**. A **Figura 3.9** apresenta a confirmação destes dímeros por meio dos espectros de absorção UV/visível.

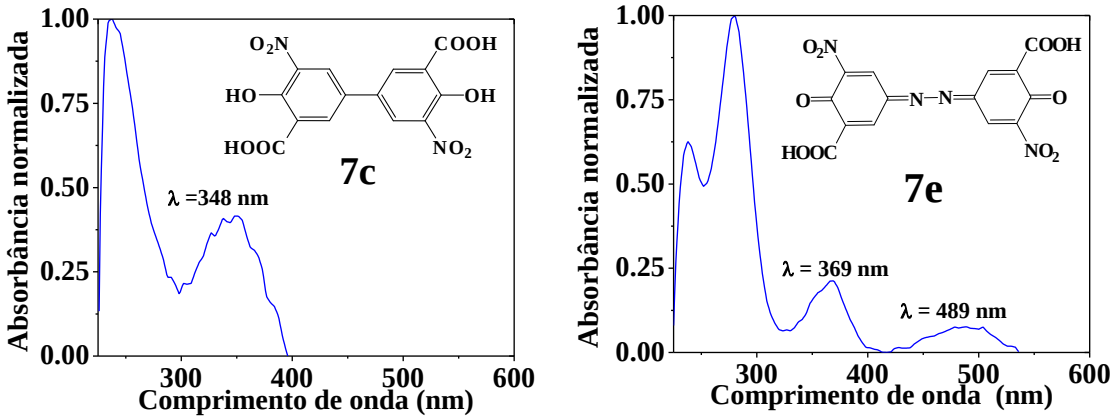


Figura 3.10 – Espectro de absorção normalizado do ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'dicarboxílico **(7c)** e do ácido 3,3'- (hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4-dieno-1-carboxílico) **(7e)** obtidos na fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**.

Não conseguimos relacionar o composto **7b** com seus íons moleculares, nem tampouco descrever seu perfil de fragmentação. Porém, identificamos a molécula desprotonada *m/z* 417 para **7d** e observamos perdas de CO_2 intercaladas. Isto nos fornece suporte para a hipótese de que **7d** seja também uma espécie de dímero oriundo do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**.

3.2. Entalpia de dissociação de ligação (BDE)

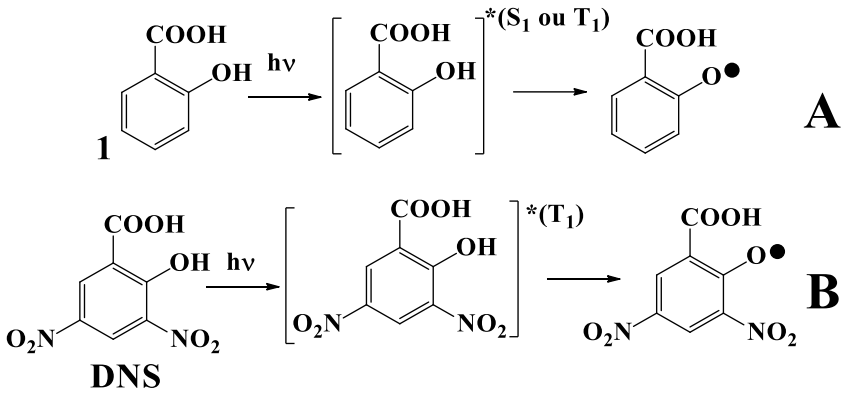
Após a realização e análise dos experimentos de fotólise, agrupamos os compostos deste trabalho em quatro grupos:

1. Produtos de hidroxilação mediada por solvente;
2. Produtos de descarboxilação-hidroxilação;
3. Produtos de descarboxilação e
4. Dímeros.

O ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** assim como todos os seus derivados sintetizados neste trabalho **(Esquema 2.2)** são classificados como compostos fenólicos (ALDRED, 2009). Fazem parte desta classe de compostos, alguns importantes metabólitos secundários como quinonas, antocianinas e os demais ácidos hidroxibenzoicos análogos aos estudados neste trabalho (MURKOVIC, 2003**)**. Os compostos fenólicos são precursores de uma classe de intermediários altamente reativos, denominados radicais fenoxilas ($ArO^{\bullet}$) que, frequentemente, são formados em processos termoquímicos, eletroquímicos, bioquímicos e fotoquímicos (MANDERVILLE, 2009). Estes radicais $ArO^{\bullet}$ são usualmente descritos como espécies transientes, ou seja, seu

tempo de vida é muito pequeno, decorrente da sua elevada reatividade (NETA & GRODKOWSKI, 2005).

Quando os compostos fenólicos (ArOH) sofrem reações fotoquímicas, inicialmente há um processo de excitação do estado fundamental S_0 para o estado excitado singleto (S_1) e/ou tripleto (T_1). No estado excitado ocorre a clivagem homolítica da hidroxila fenólica dando origem ao radical fenoxila ($ArO^{\bullet}$). O **Esquema 3.16** ilustra este processo para o ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e **DNS** (PORTER & WRIGHT, 1955; LAND & PORTER, 1963; LAND, PORTER & STRACHAN, 1961).



Esquema 3.16 – Formação do radical fenoxila a partir de: **(A)** ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e **(B) DNS.**

A determinação da energia necessária para a cisão homolítica da ligação O-H é um parâmetro de grande importância para estabelecermos as condições de geração do radical fenoxila ($ArO^{\bullet}$), principalmente para os compostos que contém diversos tipos de substituintes como os investigados nesta Dissertação de Mestrado. Portanto, foram realizadas medidas de entalpia de dissociação de ligação hidroxila fenólica (BDE – *Bond Dissociation Enthalpy*), para discorrer se a ligação O-H pode quebrar-se homoliticamente nestas substâncias (BENSON, 1965).

Existem várias maneiras de se determinar a entalpia de dissociação da ligação (BDE), tais como, experimentos de ciclo termodinâmico, método cinético, fotólise e/ou método computacionais. Nenhuma delas, entretanto, é facilmente executada, mesmo quando a BDE é considerada apenas como a energia envolvida em uma reação genérica como descrita na **Equação 3.1** (DARWENT, 1970; BLANKSBY & ELLISON, 2003).

$$\mathbf{XH \rightarrow H^{\bullet} + X^{\bullet}} \qquad \textbf{Equação 3.1}$$

No processo de obtenção da BDE podem ocorrer uma série de problemas experimentais. Por exemplo: dificuldades de ajustes das condições ideais quando os experimentos de ciclo termodinâmico, método cinético ou fotólise são realizados. Pode haver problemas de atomização e otimização geométrica para a determinação de BDE por métodos computacionais (LOURENÇO, 2009).

Nesta Dissertação de Mestrado, as entalpias de dissociação da ligação da hidroxila fenólica (BDE) presente nos vários compostos foram calculadas de duas formas, por meio de: um ciclo termodinâmico e de uma reação isodésmica. Ambos cálculos são necessários para validação dos resultados de BDE obtidos pelos dois métodos para os compostos deste trabalho, uma vez que estes dados não se encontram reportados na literatura.

Para que uma BDE seja determinada por ciclo termodinâmico por método computacional basta que sejam conhecidos os dados de acidez dos compostos em fase gasosa (ΔH_{acidez}), o potencial de ionização do próton ($EI(H^+)$ = 313,60 kcal mol^{-1}) e afinidade eletrônica do radical fenoxila (AE) (**Esquema 3.17)** (CARROL, 2011).

$$\mathbf{A\text{-}H \longrightarrow A^{\ominus} + H^{\oplus}} \qquad \mathbf{\Delta H_{acidez}}$$

$$\mathbf{A^{\bullet} + e^{-} \longrightarrow A^{\ominus}} \qquad \mathbf{\Delta H = AE_{radical}}$$

$$\mathbf{H^{\bullet} \longrightarrow H^{\oplus} + e^{-}} \qquad \mathbf{\Delta H = PI_{próton}}$$

$$\mathbf{A\text{-}H \longrightarrow A^{\bullet} + H^{\bullet}} \qquad \mathbf{\Delta H = BDE = \Delta H_{acidez} - EA_{radical} - PI_{próton}}$$

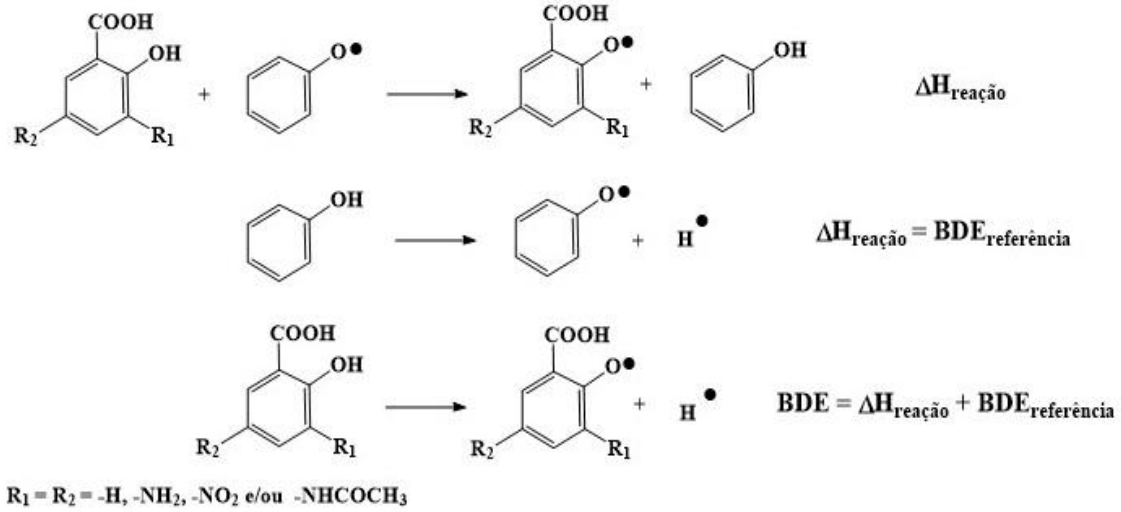
Esquema 3.17 – Ciclo termodinâmico para obtenção de BDE *(Bond Dissociation Enthalpy)* para a ligação da hidroxila fenólica.

Uma reação isodésmica é definida como uma reação real ou irreal na qual a ligação formada no produto é do mesmo tipo que a ligação quebrada no reagente (PONOMAREV & TAKHISTOV, 1997), **Equação 3.2**.

$$\mathbf{X\text{-}H + Y^{\bullet} \longrightarrow Y\text{-}H + X^{\bullet}} \qquad \textbf{Equação 3.2}$$

Utilizando uma reação isodésmica adequada e baseando-se em uma reação de referência cuja BDE seja conhecida (por exemplo, a BDE da ligação O-H do fenol é 88,0 kcal mol^{-1}) é possível determinar a energia de dissociação da ligação hidroxila dos compostos fenólicos deste trabalho (LUO, 2007).

O **Esquema 3.18** mostra o conjunto de etapas utilizado para determinação da BDE por reação isodésmica.



Esquema 3.18 – Reação isodésmica modelo utilizada para obtenção de entalpia de dissociação de ligação (BDE) para a ligação hidroxila fenólica.

Neste trabalho foram determinadas as energias de dissociação da ligação hidroxila fenólica (BDE) de todos os compostos sintetizados e submetidos aos experimentos de fotólise: ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**. Avaliamos também as BDE daquelas substâncias que não foram submetidas aos experimentos de fotólise como: ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**, ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**, ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)**, 3,5-dinitrobenzoato de metila **(DNSM)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)**, ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**. Os valores de BDE de todos os compostos foram relevantes para a análise do efeito dos substituintes. Dados de BDE e dos parâmetros necessários para sua obtenção são mostrados na **Tabela 3.7** e foram obtidos através de cálculos computacionais usando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT - *Density Functional Theory*).

A Teoria do Funcional de Densidade (DFT - *Density Functional Theory*) é um método de química computacional empregado no estudo de estrutura e propriedade eletrônica de

átomos e moléculas através do uso de funcionais[3] de densidade eletrônica (MORGON & CUSTODIO, 1995; BECKE, 1988; LEE, YANG & PARR, 1988). Neste trabalho, a otimização das geometrias e energias de cada composto neutro, ânion ou radical utilizado na construção do ciclo termodinâmico e da reação isodésmica utilizaram o funcional híbrido B3LYP (SOUSA, FERNANDES & RAMOS, 2007) com um conjunto de base 6-31G+(d,p) calculado pelo pacote Gaussian03 (FRISCH *et al.*, 2004). Todos os cálculos teóricos deste trabalho necessários para obtenção dos valores de BDE foram realizados em colaboração com o Prof. Dr. Ricardo Vessecchi Lourenço – DQ/FFCLRP – USP.

Tabela 3.7 – Parâmetros termoquímicos de acidez em fase gasosa (ΔH_{acidez}, kcal mol^{-1}), afinidade eletrônica do radical fenoxila (AE, kcal mol^{-1}), variação de entalpia de reação ($\Delta H_{reação}$, kcal mol^{-1}) utilizados para a obtenção da entalpia de dissociação da ligação hidroxila fenólica dos compostos deste trabalho por ciclo termodinâmico (BDE_{CT}, kcal mol^{-1}) e por reação isodésmica ($BDE_{isodésmica}$, kcal mol^{-1}) calculados por teoria de funcional de densidade (DFT) nível B3LYP/6-31+G (d,p).

Composto	ΔH_{acidez} (kcal mol^{-1})	AE (kcal mol^{-1})	$\Delta H_{reação}$ (kcal mol^{-1})	BDE_{CT} (kcal mol^{-1})	$BDE_{isodésmica}$ (kcal mol^{-1})
1	341,83	-63,87	8,520	92,10	96,52
2	326,37	-88,87	18,06	101,63	106,06
3	327,71	-85,68	16,22	99,79	104,22
4	350,63	-50,95	4,410	87,98	92,41
5	343,99	-61,26	8,080	91,65	96,08
6	328,50	-78,32	9,640	93,22	97,64
7	315,65	-81,13	-0,390	83,18	87,61
8	340,01	-54,08	-3,080	80,49	84,92
9	334,69	-68,62	6,140	89,71	94,14
10	317,41	-91,14	11,38	94,96	99,38
11	325,64	-75,55	4,020	87,59	92,02
DNS	415,82	-0,590	19,24	102,81	107,24
DAS	348,61	-44,550	-4,010	79,56	83,99
DNSM	312,49	-102,41	17,73	101,30	105,73

De modo geral, observou-se que a energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica (BDE) determinada por reações isodésmicas apresentaram valores um pouco maiores do que os obtidos pelo ciclo termodinâmico, com uma diferença correspondente a 4,42 kcal mol^{-1} **(Figura 3.11)**. Como este dado é consideravelmente pequeno, ponderou-se que ambas as

[3] Funcional: toda função que tem como domínio um espaço vetorial. Em DFT o espaço vetorial é definido como o conjunto de funções que descrevem a densidade eletrônica.

medidas são qualitativamente representativas. Desta forma, para a discussão dos valores de BDE, considerou-se somente os obtidos por reações isodésmicas.

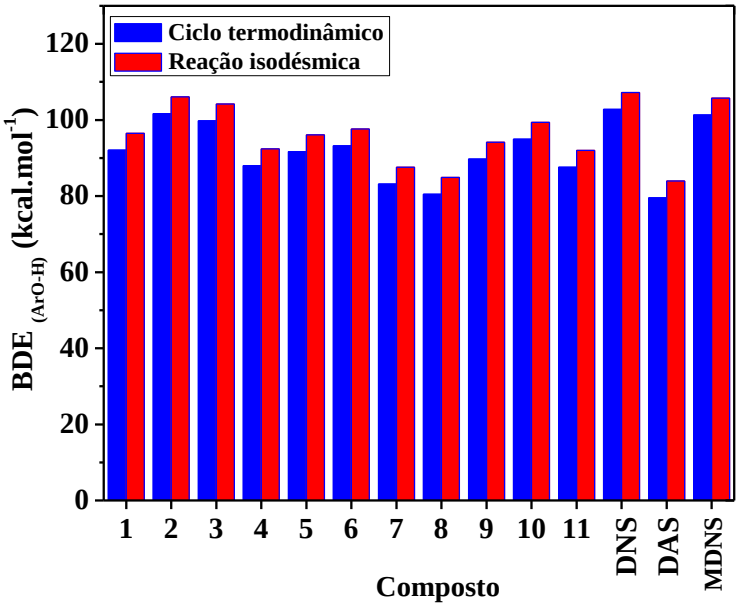


Figura 3.11 – Comparação entre os valores de energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica, BDE(Ar-OH) (kcal mol^{-1}), obtidos por ciclo termodinâmico (azul) e por reação isodésmica (vermelho).

Inicialmente, estudou-se o ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** como composto referência. Depois os demais compostos foram separados de acordo com seus substituintes, os grupos -NH_2, -NO_2 e -$NHCOCH_3$ nas posições 3 e 5. Em seguida, usando a **Equação 3.3** foi possível obter a extensão da contribuição do substituinte para aumentar ou diminuir a energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica, **ΔBDE** sendo que para os substituintes nas posições 3 e 5 temos, respectivamente, $\mathbf{\Delta BDE_3}$ e $\mathbf{\Delta BDE_5}$.

$$\mathbf{\Delta BDE = BDE_{isodésmica} - BDE_1} \qquad \textbf{Equação 3.3}$$

Na Equação 3.3:

$\mathbf{BDE_1}$ **=** energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**;

$\mathbf{BDE_{isodésmica}}$ = energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica do composto com os substituintes -NH_2, -NO_2 e -$NHCOCH_3$ (considerando separadamente as posições 3 e 5) e;

ΔBDE = extensão da contribuição do substituinte para aumentar ou diminuir a energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica.

As relações de energia obtidas são mostradas na **Figura 3.12** e indicam que independentemente da posição do substituinte, os compostos com grupos que possuem forte caráter ativante do anel aromático, como $-NH_2$, tentem a apresentar menores energias de dissociação da ligação hidroxila fenólica (BDE). Por sua vez, compostos que possuem $-NO_2$ como substituinte, que é um grupo fortemente captor de elétrons do anel aromático, possuem BDE maiores. Nota-se, também, que há uma relação linear entre a energia necessária para a clivagem hemolítica da ligação O-H e o tipo de substituinte ligado ao anel aromático nas posições 3 e 5.

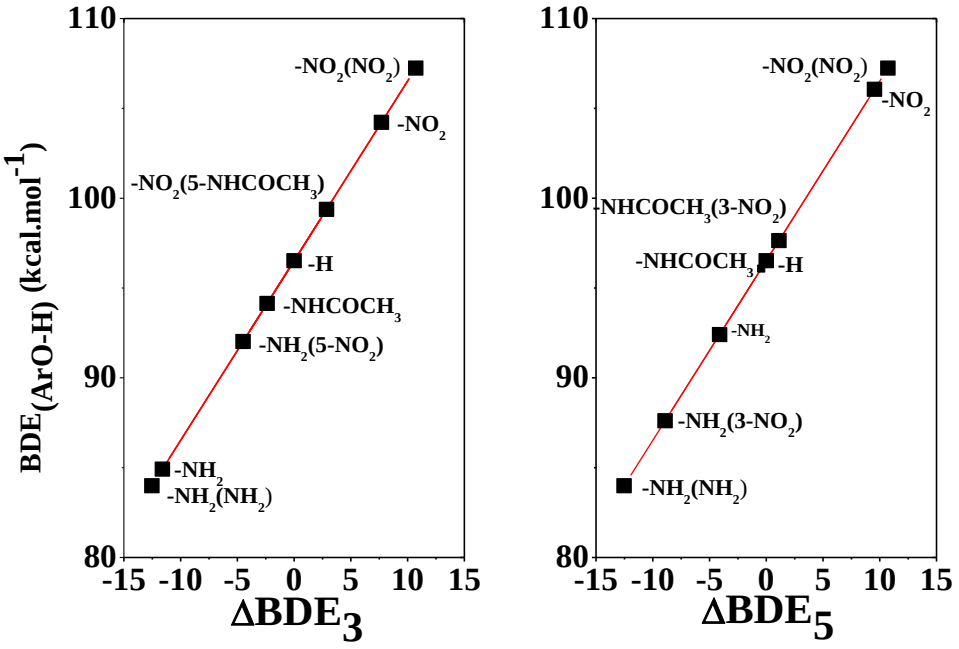


Figura 3.12 – Correlação entre as energias de dissociação de ligação (O-H) de hidroxila fenólica $BDE_{isodésmica}$ (Ar-OH) (kcal mol^{-1}) calculada para cada composto da **Tabela 3.7** versus a variação da energia de dissociação de ligação (O-H) de hidroxila fenólica de compostos com substituintes nas posições 3 (ΔBDE_3) e/ou 5 (ΔBDE_5) com a energia de dissociação de ligação do ácido 2-hidroxibenzoico **(1).**

A tendência observada para os derivados do ácido 2-hidroxibenzoico com relação ao efeito dos substituintes é semelhante ao relatado em estudos por química computacional sobre a energia de dissociação da ligação hidroxila fenólica (BDE) de fenóis monossubstituídos realizados por KLEIN & LUKEŠ, 2006; BRINCK, HAEBERLEIN & JONSSON, 1997; KLEIN, RIMARCIK & LUKEŠ, 2009 determinados por DFT utilizando conjuntos de base B3LYP/6-31+G(d,p) e B3LYP/6-311+G(d,p), semelhantes ao utilizado nesta Dissertação de Mestrado.

Os compostos estudados apresentam maiores valores de BDE do que os análogos fenólicos disponíveis na literatura (DENISOV & DENISOVA, 2011). Por exemplo: *para*-nitrofenol e *orto*-nitrofenol possuem energia de entalpia de dissociação da ligação O-H (BDE_{OH}) de 96,24 e 94,25 kcal mol^{-1}, respectivamente (SENTHILKUMAR, 2019), em comparação aos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** que apresentaram BDE_{OH} de 104,22 e 106,06 kcal mol^{-1}, respectivamente. Similarmente, *para*-aminofenol e *orto*-aminofenol apresentam BDE_{OH} respectivos de 80,90 e 80,62 kcal mol^{-1} (SENTHILKUMAR, 2019), enquanto o ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)** mostraram BDE_{OH} de 84,92 e 92,41 kcal mol^{-1}. Esta diferença pode ser atribuída à presença do grupo desativante COOH vicinal à hidroxila fenólica que contribui para o aumento da BDE_{OH} de maneira semelhante ao observado com o grupo nitro.

Para os compostos que possuem apenas um único substituinte foi possível observar a diminuição da BDE_{OH} dos compostos com substituintes na posição 3 frente aos substituídos na posição 5. Nos compostos ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)** temos os substituintes $-NO_2$ e $-NHCOCH_3$ que são, respectivamente, um forte grupo desativante e um fraco ativante de anéis aromáticos em posições alternadas. Observa-se que o grupo $-NO_2$ é o responsável pelo aumento BDE_{OH} e que o ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)** com $-NO_2$ na posição 3 apresenta uma BDE superior ao seu isômero com $-NO_2$ na posição 5 composto ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**.

Os ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** e ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)** apresentam BDE_{OH} de 107,24 e 83,99 kcal mol^{-1}, respectivamente, que são valores limites dentro do conjunto de moléculas estudadas. O 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoato de metila **(DNSM)** possui BDE de 105,73 kcal mol^{-1} inferior ao **DNS**, com diferença de 1,51 kcal mol^{-1} indicando que não há influência significativa da hidroxila do ácido carboxílico na BDE_{OH} referente a ligação da hidroxila fenólica.

A clivagem homolítica da hidroxila fenólica ocorre na faixa de energia de 90 a 108 kcal mol^{-1} (correspondente a região de 280 a 360 nm). Ainda, nesta região, os compostos investigados absorvem radiação UV **(Figura 3.13)**. Já a energia emitida pelo filamento da lâmpada de vapor de Hg **(Figura 3.14)** localiza-se de 250 a 500 nm, com picos em 302, 312, 334, 365 nm na região do ultravioleta e 405, 546 e 579 nm na parte visível do espectro eletromagnético. Esses resultados comprovam que o início da fotodegradação destes compostos necessita necessariamente de uma radiação UV. Porém, após início desta fotólise por radiação UV, o **DNS** consegue se decompor sob a radiação visível do sol.

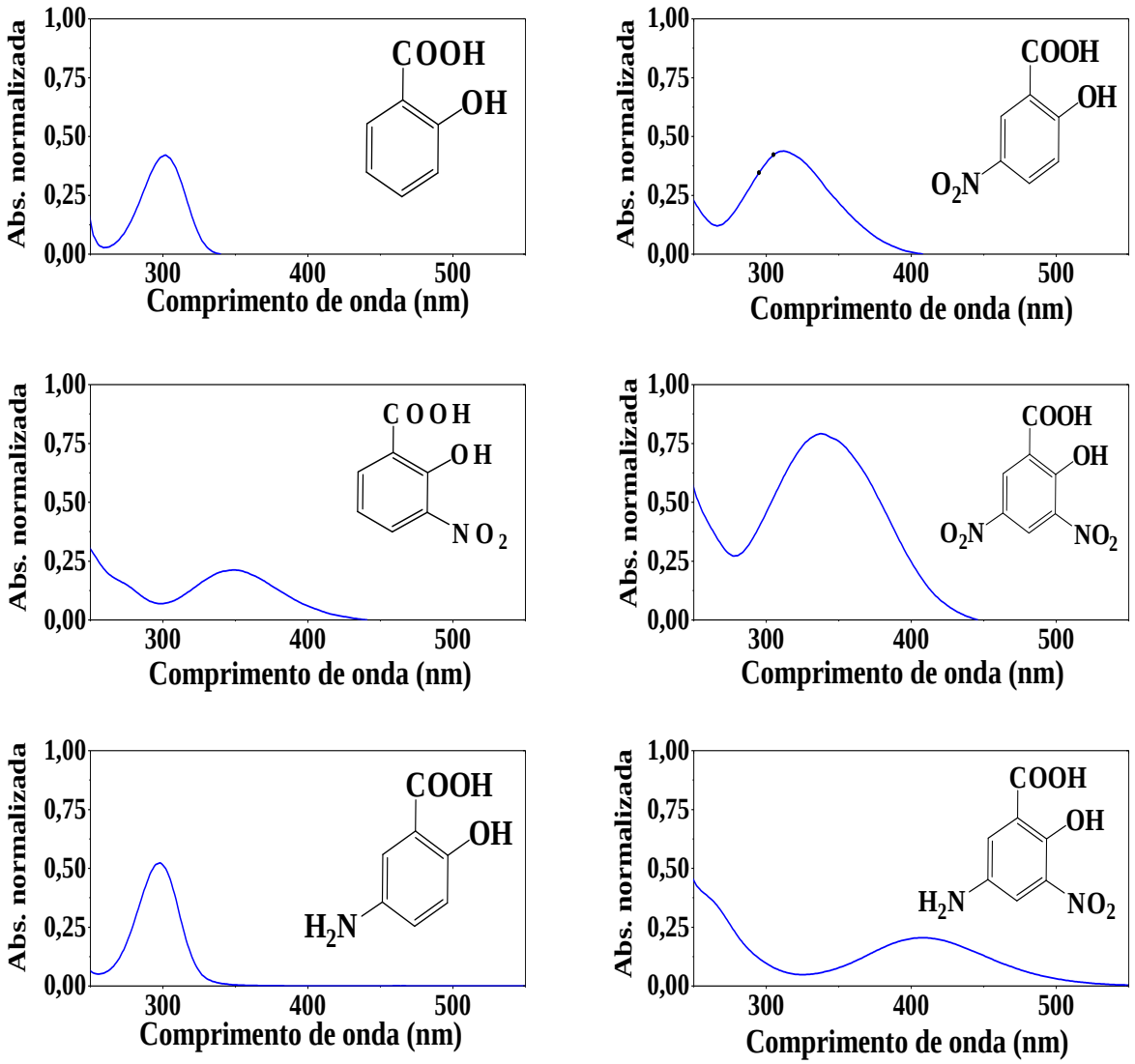


Figura 3.13 – Espectro de absorção normalizado de soluções aquosas na concentração de 1,0 mmol L^{-1} de ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**.

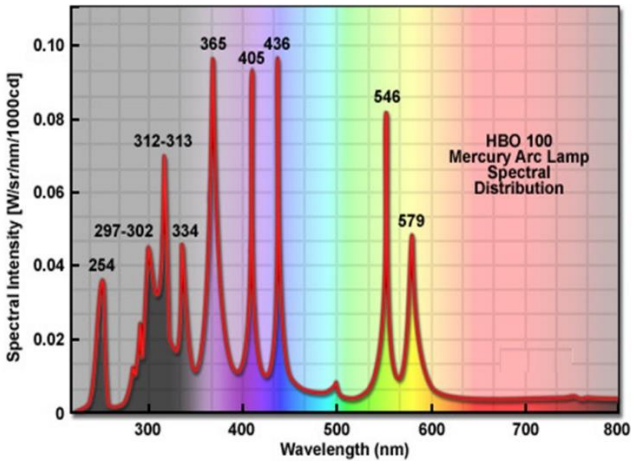
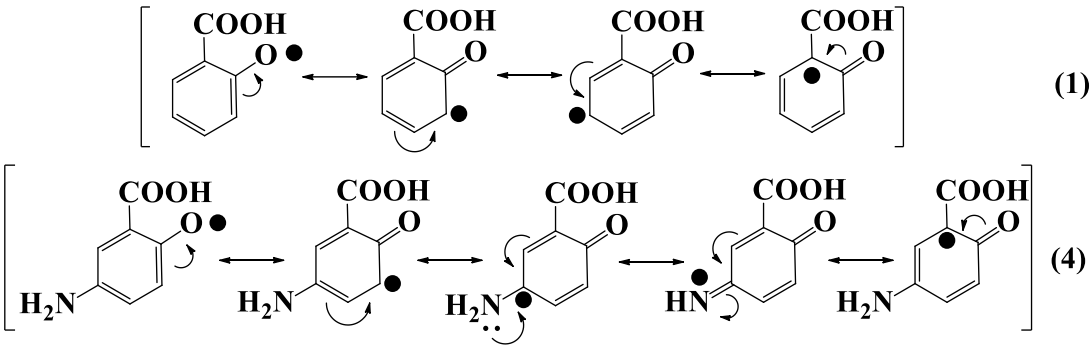


Figura 3.14 – Espectro de emissão de lâmpada de vapor de mercúrio.

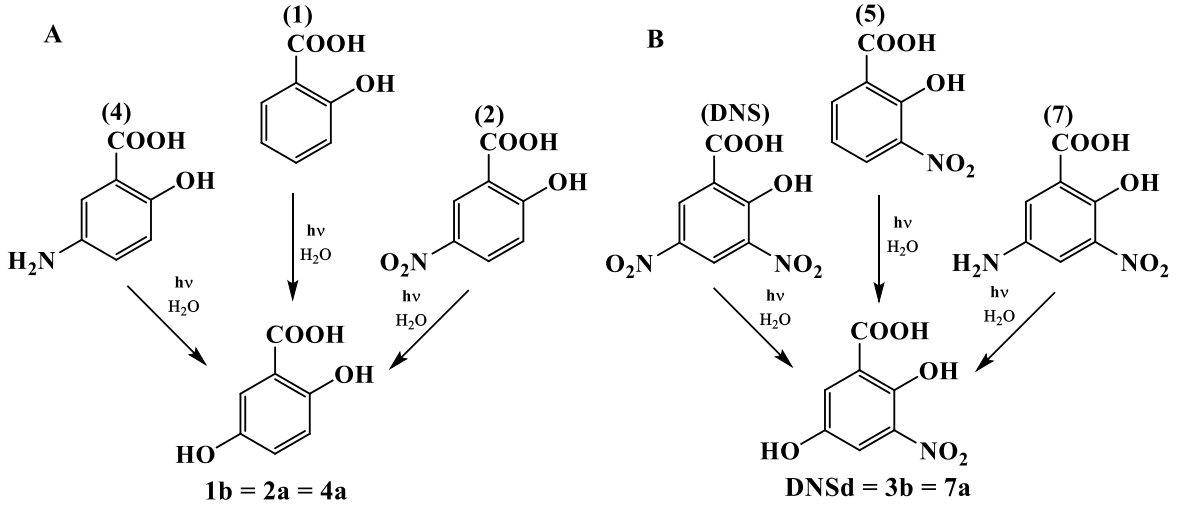
3.3. Estabilidade de radicais fenoxila e mecanismos de fotólise

A estabilidade do radical fenoxila ($ArO^{\bullet}$) formado após a clivagem da ligação O-H depende da eficiência com a qual o elétron desemparelhado presente no átomo de oxigênio fenólico se deslocaliza para os átomos de carbono do anel aromático e para os substituintes (-NO_2, -NH_2 e -NHCOMe). O **Esquema 3.19** ilustra as estruturas canônicas de ressonância dos radicais formados para os compostos **1** e **4** como exemplos.



Esquema 3.19 – Estruturas canônicas de ressonância do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e ácido 2-amino-2-hidroxibenzoico **(4).**

Baseando-se no padrão de produtos intermediários gerados nos experimentos de fotólise há evidências de que as posições 1, 3 e 5 são sítios reativos que podem reagir com as moléculas de água do solvente resultando nos produtos hidroxilados solvatados ou produtos de descarboxilação - hidroxilação dependentes da solvatação, independentemente se o substituinte (-NH_2 ou -NO_2) do anel aromático esteja nas posições 3 e/ou 5. O **Esquema 3.20** indica como há a formação do ácido 2,5-dihidroxibenzoico **(1b = 2a = 4a)** a partir dos ácidos: 2-hidroxibenzoico **(1)**, ou ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** ou 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**. Por sua vez, o ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(DNSb = 3b = 7a)** pode ser gerado a partir de **DNS**, ou tendo como origem o ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(5)** ou ainda ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**. A **Tabela 3.8** mostra o perfil de produtos de obtenção do ácido 2,3-dihidroxibenzoico, ácido 2,3-dihidroxi-5-nitrobenzoico e dos produtos de descarboxilação - hidroxilação.



Esquema 3.20 – Compostos iniciais que formam por fotólise o (**A)** 2,5-dihidroxibenzoico **(1b = 2a = 4a)** e (**B)** ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(DNSb = 3b = 7a)**.

Tabela 3.8 – Relação de intermediários produtos de hidroxilação obtidos por reações de substituição mediada por água, durante a fotólise dos reagentes de partida.

Composto de partida	Produtos intermediários produzidos ao longo da reação de fotólise				
	COOH, OH, OH	COOH, OH, HO	COOH, OH, HO, NO_2	COOH, OH, O_2N, OH	OH, OH, R, R
1	X	X			X
2		X		X	
3	X		X		X
4		X			
7			X		
DNS			X	X	X

Assim, foram realizados cálculos teóricos com o intuito de verificar o padrão de deslocalização do elétron desemparelhado após a formação do radical fenoxila ($ArO^{\bullet}$). Determinamos a densidade de spin de Mulliken (ρ^s), através do pacote GAUSSIAN03 (FRISCH *et al.*, 2004) com método DFT, utilizando o funcional híbrido B3LYP (SOUSA, FERNANDES & RAMOS, 2007; MORGON & CUSTODIO, 1995; BECKE, 1988; LEE, YANG & PARR, 1988) com um conjunto de base 6-31G+(d,p) para ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)**, ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** e para aqueles compostos que não foram submetidos aos experimentos de fotólise: ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**, ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**, ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)**, 3,5-dinitrobenzoato de metila **(DNSM)**,

ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)**, ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)**, ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**. Todos os cálculos teóricos deste trabalho necessários para obtenção das densidades de spin de Mulliken foram realizados em colaboração com o Prof. Dr. Ricardo Vessecchi Lourenço – DQ/FFCLRP – USP.

A densidade de spin de Mulliken (ρ^s) é definida como a diferença entre as densidades de spins alfa (S_α) e beta (S_β) para um átomo qualquer e corresponde a densidade de spin desemparelhado neste mesmo átomo **(Equação 3.4) (**MATTA & GILLESPIE, 2002).

$$\rho^s = \rho^\alpha - \rho^\beta \qquad \textbf{Equação 3.4}$$

Os radicais fenoxila possuem, segundo a regra de Hund, multiplicidade dubleto e, portanto, a densidade de spin total para estes sistemas deveria ser igual a 1,0. Entretanto, em sistemas radicalares do tipo fenoxila a densidade de spin no átomo onde o radical foi gerado, neste caso o átomo de oxigênio da hidroxila fenólica, tende a ser menor que 1,0 em decorrência da deslocalização eletrônica (STEENKEN & NETA, 2003).

A **Figura 3.15** mostra que para todos os compostos que foram submetidos à fotólise por radiação UV, os valores de densidade de spin do átomo de oxigênio da fenólico são menores que 1,0 com uma variação entre 0,270 e 0,408. Para os átomos de carbono nas posições 1, 3 e 5 os valores de densidade de spin variam de 0,100 a 0,400 e para os compostos substituídos com amina ($-NH_2$) e acetilamida ($-NHCOCH_3$) a variação é ao redor de 0,100 e 0,200 confirmando a deslocalização eletrônica. Os valores de densidade de spin para todos os átomos das moléculas analisadas são mostrados na **Figura 1C e 2C - Anexo C**.

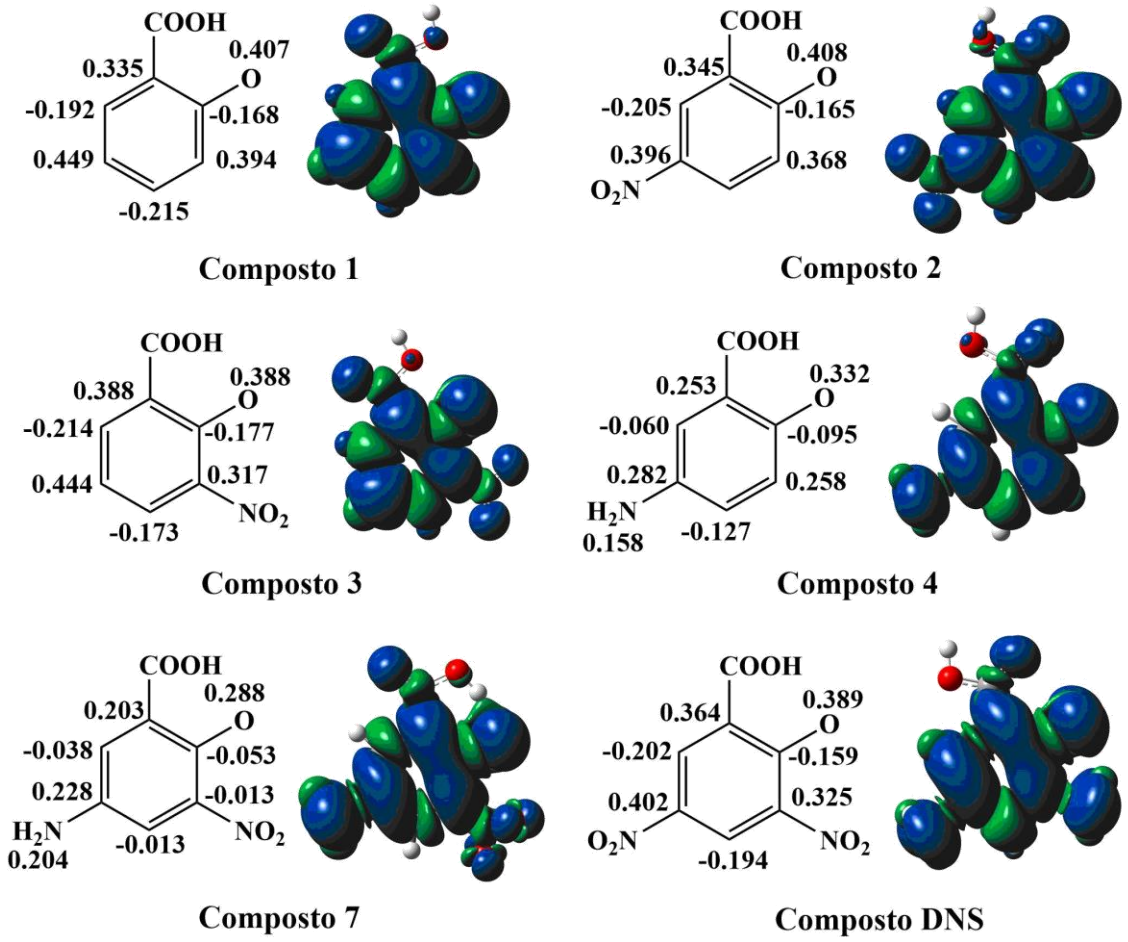
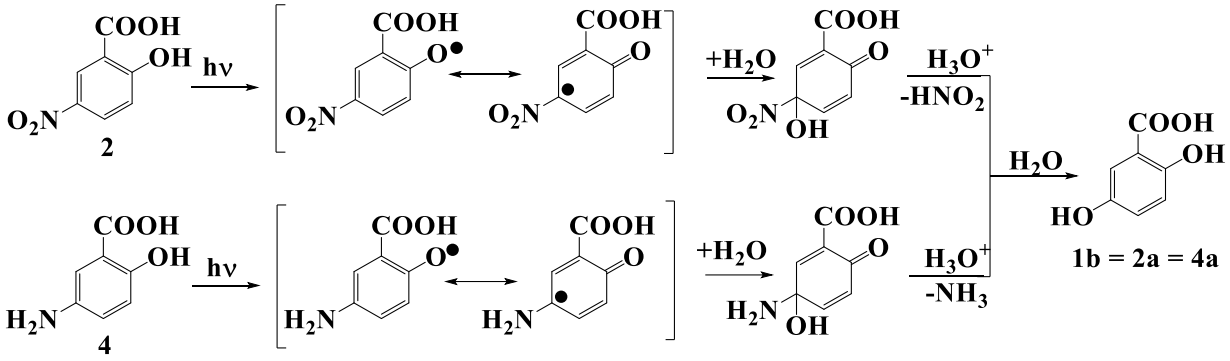


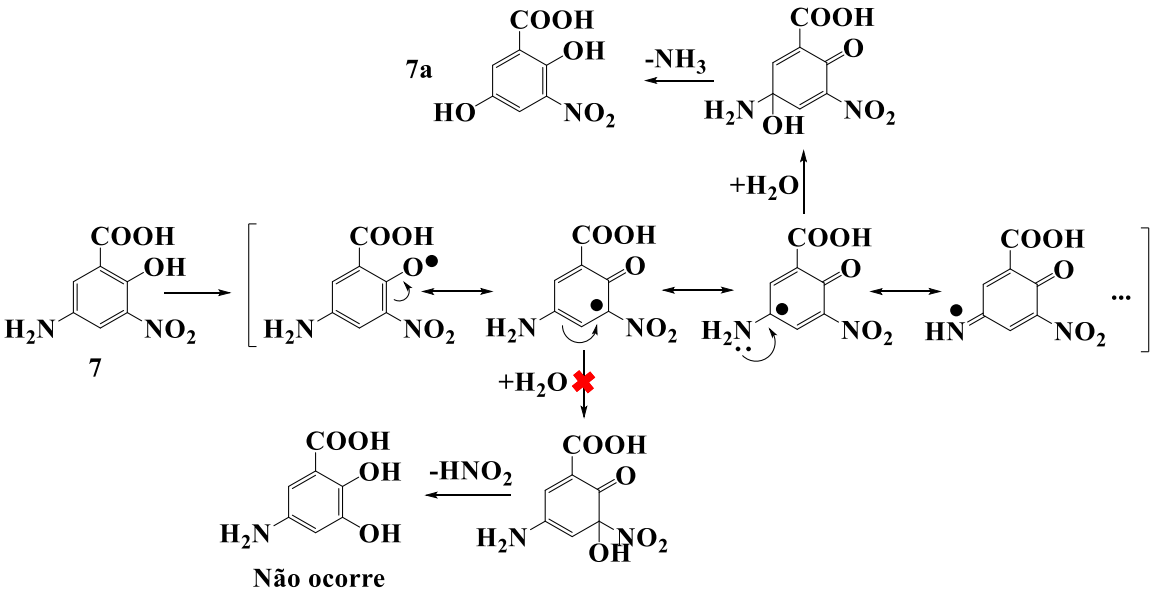
Figura 3.15 – Densidade de spin de Mulliken obtidos por meio de cálculos teóricos (DFT-B3LYP-6-31+G(d,p)) dos radicais fenoxila do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** submetidos a fotólise. As regiões em cor azul possuem densidade de spin positiva, enquanto regiões em verde correspondem a densidade de spin negativa. Isovalor = 0,02.

Foi possível observar que a densidade de spin nos carbonos 3 e 5 independentemente do substituinte são elevadas com valores entre 0,258 e 0,449, exceto para o ácido 5-amino-2-hidroxi-5-nitrosalicilico **(7)** que possui densidade de spin -0,013 no carbono. Estes sítios com elevadas densidades positivas estão disponíveis para reagir com a água em um processo de adição seguido de eliminação de HNO_2 ou NH_3 como ocorre com os ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-amino-hidroxibenzoico **(4)** respectivamente. A formação do ácido 2,5-dihidroxibenzoico pode ser observada no **Esquema 3.21**.



Esquema 3.21 – Mecanismo de formação do ácido 2,5-dihidroxibenzoico por reação de substituição em radical fenoxila gerado por fotólise por radiação UV.

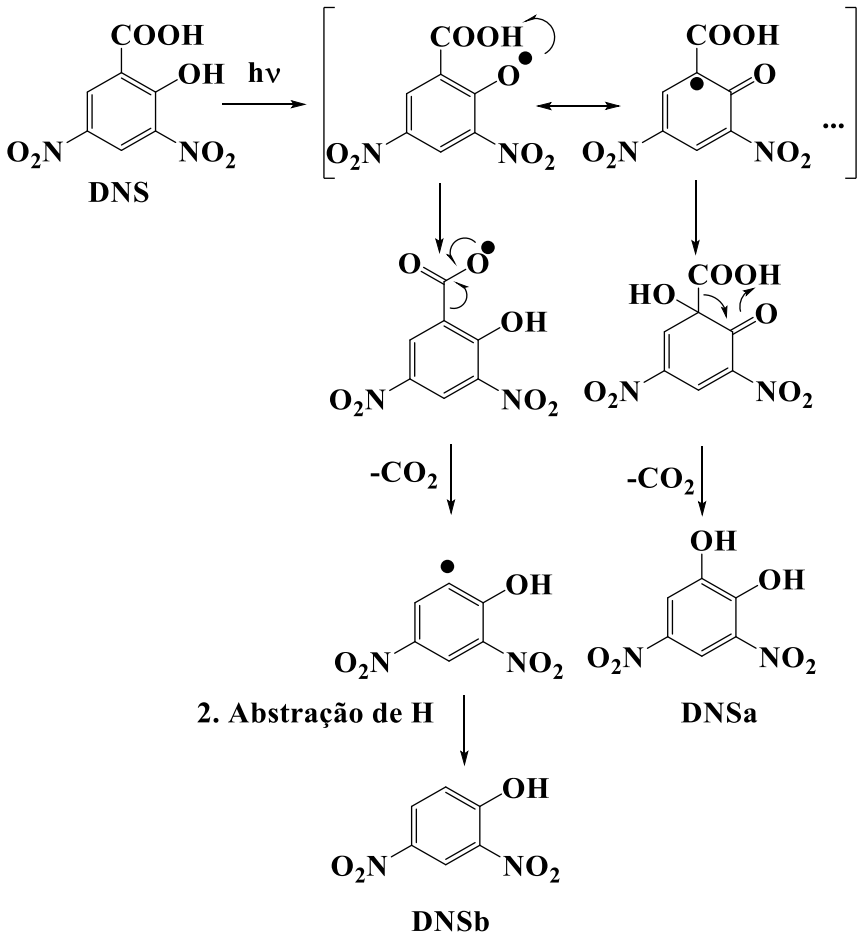
Para os ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(11)** que possuem substituintes $-NO_2$ e NH_2 nas posições 3 e 5 alternadas a densidade de spin é maior no átomo de carbono que está ligado ao grupo amina. Nos experimentos de fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** foi possível identificar o ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(7a)** formado como decorrência deste efeito. O **Esquema 3.22** mostra o mecanismo da reação.



Esquema 3.22 – Mecanismo de formação do ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico via radical fenoxila gerado por fotólise do composto **(7)**.

Nos experimentos de fotólise dos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrosalicilico **(DNS)** verificamos que os compostos nitrados favorecem a formação de produtos de descarboxilação como 2-hidroxi-4-nitrofenol

(3c) e 2-hidroxi-3,5-dinitrofenol **(DNSa)**. Produzem, também, produtos de descarboxi-hidroxilação como os *para*-nitrofenol **(2c)** e 2,4-dinitrofenol **(DNSb)**. O **Esquema 3.23**, mostra o mecanismo proposto para os processos de descarboxilação e de descarboxi-hidroxilação para o **DNS**.

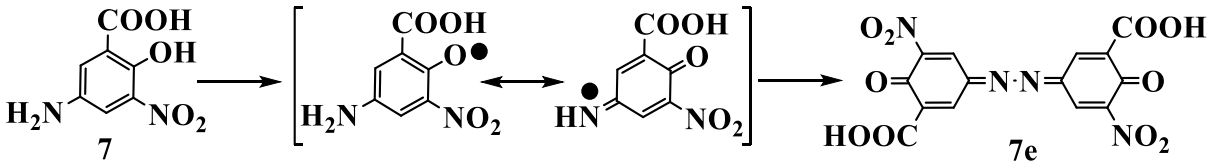


Esquema 3.23 – Mecanismo de descarboxilação e descarboxilação-hidroxilação fotoinduzida do **DNS**.

Nos experimentos de fotólise dos ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** que possuem substituinte (-NH_2) não foram obtidos produtos descarboxilação e/ou descarboxilação-hidroxilação. Este resultado decorre da baixa densidade de spin no átomo carbono 1 que está ligado ao grupo ácido carboxílico (-COOH) das moléculas com grupo amina (-NH_2) (**Figura 3.15**). A menor densidade spin do átomo de carbono 1 é consequência da deslocalização do elétron desemparelhado para o átomo de nitrogênio dos grupos -NH_2 e -$NHCOCH_3$ o que não ocorre com o grupo nitro.

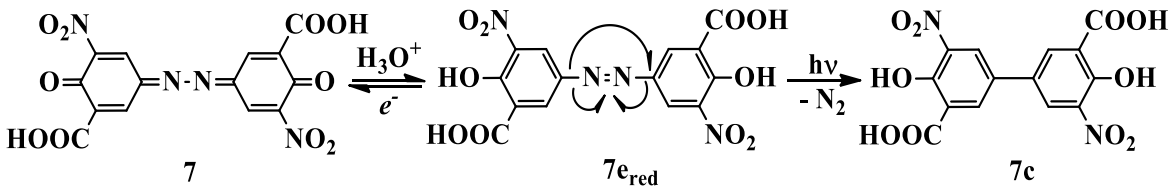
A caracterização dos produtos de fotólise dos ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)** e ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** revelaram a ocorrência de formação de dímeros como pode ser observado para os compostos ácido 3,3'- (hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(6-oxociclohexa-1,4- dieno-1-carboxílico) **4b**, ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'dicarboxílico **(7c)** e do ácido 3,3'- (hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4- dieno-1-carboxílico) **(7e)**.

A dimerização é devido a deslocalização do elétron desemparelhado para os átomos de nitrogênio como ilustrado na **Figura 3.15.** Nota-se que átomos de nitrogênio de aminas possuem densidade de spin entre 0,100 e 0,200 aproximadamente. Já **4b** e **7e** tem sua formação induzida pela densidade de spin presente nos átomos de nitrogênio (amina) dos seus respectivos compostos de origem. O **Esquema 3.24** mostra o mecanismo de formação de **7e**, mas que ocorre de maneira análoga para a formação de **4b**.



Esquema 3.24 – Mecanismo de formação do composto ácido 3,3'-(hidrazina-1,2-diilideno)-bis-(5-nitro-6-oxociclohexa-1,4-dieno-1-carboxílico) **(7e).**

Na presença de radiação, meio ácido e ambiente redutor, **7e** sofre redução formando**7e$_{red}$** seguido de uma de eliminação de nitrogênio molecular induzida fotoquimicamente para gerar **7c** (**Esquema 3.25)** (ERIKSSON & NYHOLM, 2001; ENGEL & STEEL, 1973).



Esquema 3.25 – Mecanismo para formação do ácido 4,4'-dihidroxi-5,5'-dinitro-[1,1'-bifenil]-3,3'dicarboxílico **(7c)** através de eliminação de nitrogênio molecular.

Em geral, as medidas de densidade de spin forneceram uma explicação plausível para a obtenção dos produtos das reações de fotólise. É importante salientar que serviram como um parâmetro de reatividade local, pois átomos com maiores densidades de spin apresentam maior

susceptibilidade de reagir com água. No entanto, buscou-se também compreender outros aspectos da reatividade dos radicais fenoxila estudados neste trabalho.

As espécies radicalares podem ser agrupadas em dois grupos, definidos pelo seu caráter nucleofílico ou eletrofílico (FLEMING, 2009). Esta classificação é determinada quando as energias dos orbitais de fronteira: o orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*) e orbital molecular não ocupado de menor energia (LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) da molécula e a energia do orbital molecular unicamente ocupado (SOMO - *Singly Occupied Molecular Orbital*) são comparadas (MOHAMED, BYERS & ALABUGIN, 2017).

Se a diferença de energia entre SOMO e LUMO ($\Delta_{SOMO\text{-}LUMO}$) for relativamente pequena considera-se que o radical possui caráter nucleofílico. Se a diferença de energia entre SOMO e HOMO ($\Delta_{SOMO\text{-}HOMO}$) for pequena considera-se que o radical tem caráter eletrofílico **(Figura 3.16)**. De forma prática, a relação de energia que há entre o radical fenoxila gerado e o composto que o gerou podem ser representadas por ($\Delta_{SOMO\text{-}HOMO}$), ($\Delta_{SOMO\text{-}LUMO}$). Além disso, os efeitos que a deslocalização eletrônica exerce sobre a geometria da molécula e os comprimentos de ligação para formar o radical fenoxila. Os dados para estas análises foram obtidos por meio de cálculos teóricos do pacote GAUSSIAN 03 (FRISCH *et al.*, 2004), aplicando-se o método DFT com conjunto de base B3LYP/ 6-31+G(d,p) (SOUSA, FERNANDES & RAMOS, 2007; FRISCH *et al.*, 2004).

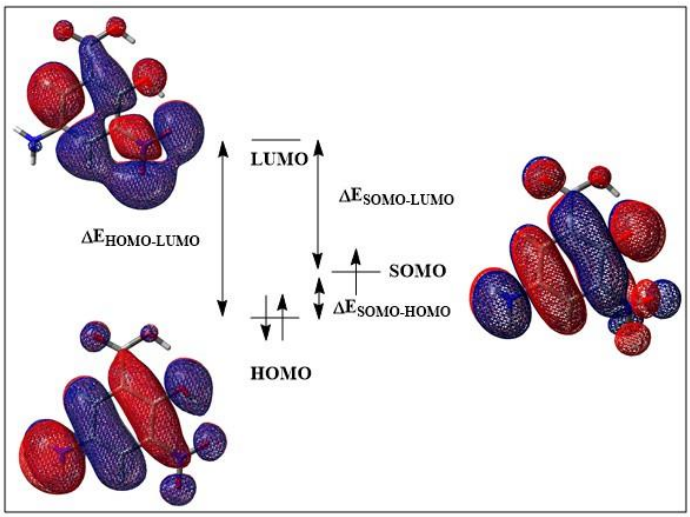


Figura 3.16 – Representação ilustrativa dos orbitais HOMO, LUMO e SOMO.

A **Tabela 3.9** apresenta os valores de energia dos orbitais de fronteira e as diferenças $\Delta_{HOMO-LUMO}$, $\Delta_{SOMO-HOMO}$ e $\Delta_{SOMO-LUMO}$ para os mesmos compostos já analisados por química computacional. A **Figura 3.17** ilustra uma comparação gráfica entre os valores de ($\Delta_{SOMO-HOMO}$) e ($\Delta_{SOMO-LUMO}$).

Tabela 3.9 – Energias (eV) dos orbitais de fronteira (HOMO-LUMO) dos compostos neutros e seus respectivos radicais fenoxila (SOMO) determinadas por DFT com conjunto de base B3LYP/6-31+G (d,p).

Molécula	HOMO	LUMO	SOMO	$\Delta_{LUMO-HOMO}$	$\Delta_{SOMO-HOMO}$	$\Delta_{SOMO-LUMO}$
1	-6,68	-1,85	-6,95	4,83	-0,27	-5,10
2	-7,51	-2,94	-7,78	4,56	-0,28	-4,84
3	-7,48	-3,48	-7,70	4,01	-0,22	-4,22
4	-5,67	-1,82	-5,66	3,85	0,01	-3,84
5	-6,15	-2,00	-6,23	4,16	-0,08	-4,24
6	-6,81	-3,36	-6,75	3,45	0,07	-3,39
7	-6,68	-3,64	-6,77	3,03	-0,10	-3,13
8	-5,77	-1,67	-5,80	4,10	-0,03	-4,13
9	-6,42	-2,18	-6,36	4,24	0,06	-4,18
10	-7,29	-3,18	-7,11	4,11	0,18	-3,93
11	-6,44	-2,77	-6,68	3,67	-0,24	-3,91
DNS	-8,23	-4,01	-8,28	4,22	-0,05	-4,27
DAS	-5,29	-1,63	-5,09	3,66	0,19	-3,46
DNSM	-8,09	-3,90	-8,15	4,19	-0,06	-4,25

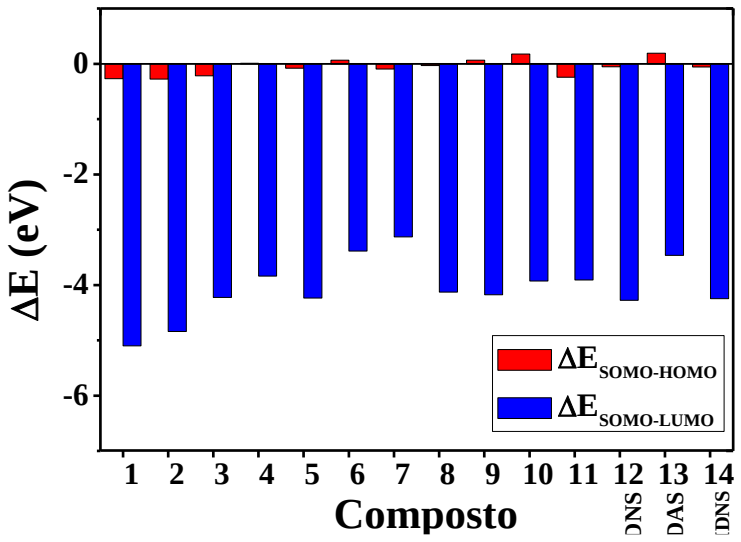


Figura 3.17 – Gráfico de variação de energia ΔE (eV) entre os orbitais SOMO-HOMO e SOMO-LUMO

Para as moléculas desta Dissertação, os radicais fenoxila apresentaram valores de $\Delta E_{SOMO-HOMO}$ entre -0,28 e 0,19 eV consideravelmente menores quando comparados aos valores de $\Delta E_{SOMO-LUMO}$ entre -5,10 e -3,13 eV. Indicam, portanto, um caráter eletrofílico. O aspecto eletrofílico do radical fenoxila justifica a sua afinidade por água, pois todos os compostos submetidos ao experimento de fotólise reagem com água e geram produtos de hidroxilação.

Para confirmação experimental deste dado teórico, optou-se por realizar experimentos onde a água que possui um caráter nucleofílico foi substituída por acetonitrila, um solvente eletrofílico. Foram realizados experimentos de fotólise de 240 min de duração sob radiação UV, de 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e **DNS** em acetonitrila sob saturação constante de N_2, para evitar processos de oxidação devido à presença por oxigênio molecular dissolvido no solvente. A **Figura 3.18** ilustra a sobreposição dos cromatogramas de alíquotas retiradas no início e ao final do experimento.

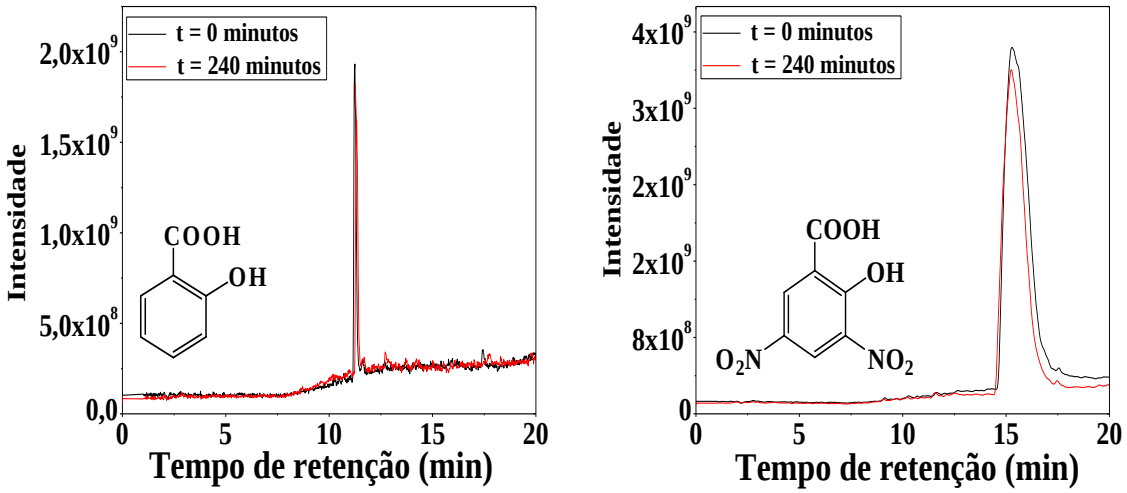


Figura 3.18 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas da solução 1,0 mmol L^{-1} em acetonitrila de: **A** - ácido 2-hidroxibenzoico **(1)** e **B** - ácido 2-hidroxi-3,5-dnitrobenzoico **(DNS)** no início e após 240 min sob radiação UV.

As análise de HPLC de alíquotas das amostras iniciais e finais do experimento de fotólise mostraram que não houve a formação de produtos de substituição como era observado em fase aquosa. Logo que o radical fenoxila se forma, há a recombinação dele com o hidrogênio radicalar ($H^{\bullet}$) retornando a sua molécula original. É importante mencionar, também, a ausência de produtos de descarboxi-hidroxilação e decarboxilação em reações com acetonitrila como solvente. Isto mais uma vez confirma que a presença da água no meio reacional é indispensável como fonte de hidroxila nos processos de descarboxilação-hidroxilação e como fonte de $H^{\bullet}$ nos processos onde se tem descarboxilação.

Por fim, ainda para verificar a influência do solvente nos produtos de fotodegradação optou-se por realizar um experimento de fodegradação com o ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** na proporção 9:1 acetonitrila-água nas mesmas condições de fotólise anteriores (**Figura 3.19**).

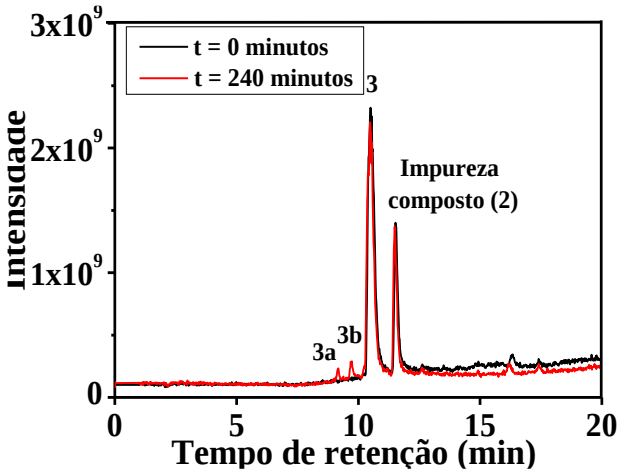


Figura 3.19 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução 1,0 mmol L^{-1} em 9:1 acetonitrila: água de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** no início e após 240 min sob radiação UV.

A presença de 10% de água no meio reacional permitiu a formação dos produtos intermediários ácido 2,3-dihidroxibenzoico **(3a)** e ácido 2,5-dihidroxi-3-nitrobenzoico **(3b)** assim como observado anteriormente nas reações realizadas em água pura **(Figura 3.3)**

3.4. Monitoramento de reações de fotólise

As reações de fotólise foram monitoradas em função do tempo de radiação UV. Acompanhou-se a decomposição do material de partida e a formação dos produtos de fotólise. A **Figura 3.20** ilustra a decomposição dos compostos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**. Foi possível verificar que todos os compostos estudados apresentaram baixas taxas de decomposição, entre 8 e 25%, exceto o ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** cuja taxa de decomposição foi 44%.

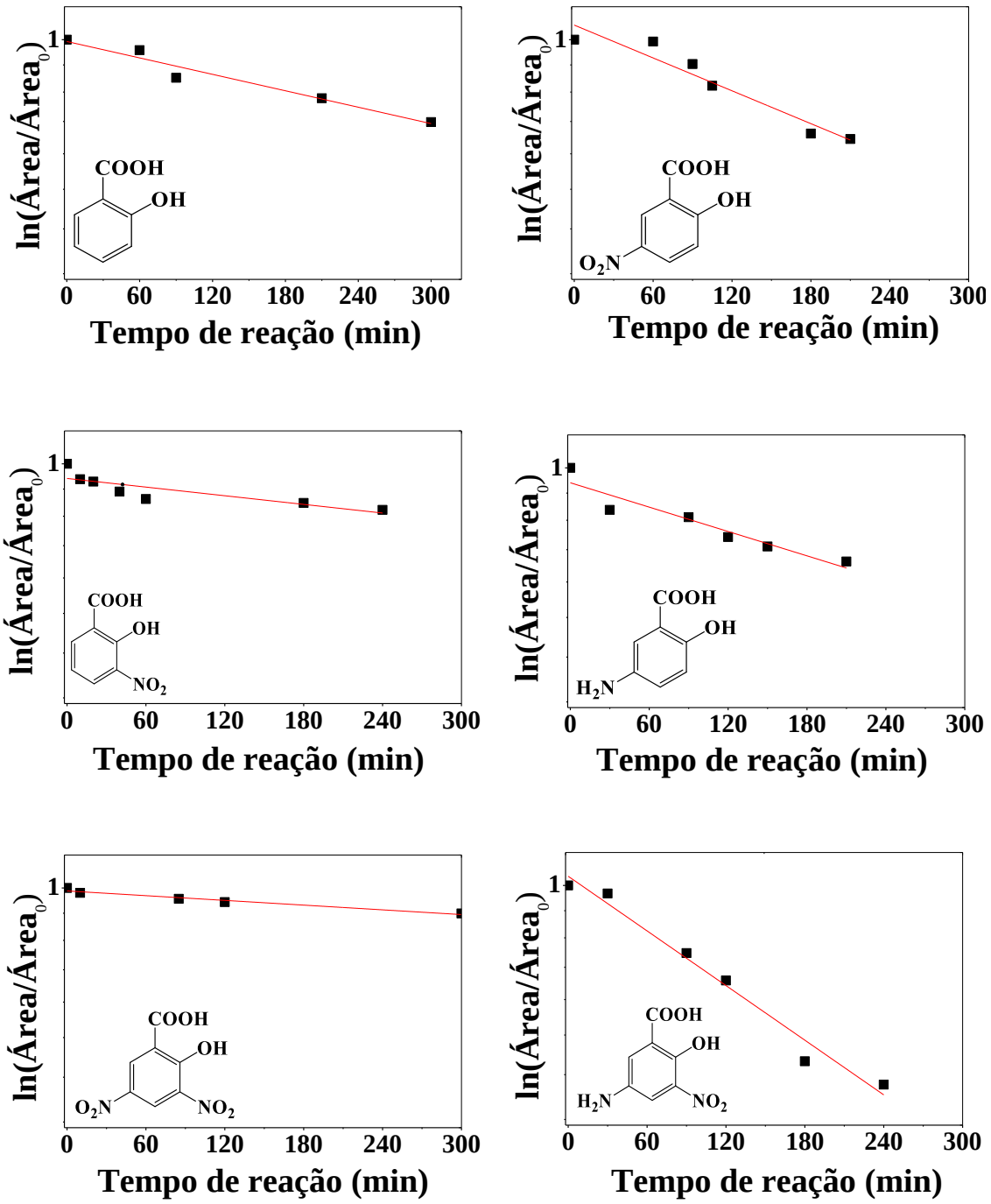


Figura 3.20 – Quantidades relativas, representadas por ln (Área/Área$_0$), dos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** em função do tempo de radiação UV.

Além disso, determinamos as constantes de velocidade (k'_{obs}) de decomposição dos compostos submetidos ao experimento de fotólise. Para isso, considerou-se que a decomposição obedeceu a lei de velocidade de pseudo-primeira ordem. A velocidade (v) dependeu da concentração do composto fotodegradado (C) e da taxa de fótons (*I*) emitida pela lâmpada na faixa de comprimento de onda onde os compostos absorveram para formar o radical fenoxila (LAIDLER 1965; ATKINS, DE PAULA & KEELER, 2018). **(Equação 3.5)**.

$$\mathbf{v = k.[C].}\boldsymbol{I} \qquad \textbf{Equação 3.5}$$

Consideramos que a taxa de emissão de fótons da lâmpada durante a reação de fotólise permaneceu constante durante o tempo da fotodegradação. A estimativa de fótons emitidos foi realizada por meio de uma actinometria de ferrioxalato de potássio (MUROV, CARMICHAEL & HUG, 1993; BRASLAVSKY, KUHN & SCHMIDT, 2004). No **Apendice B** mostra-se que a actinometria corresponde a $7{,}20 \times 10^{-5}$ Einstein min^{-1}.

Dado que *I* é constante temos que $k.I = k'$. Considerando a cinética de decomposição como sendo de pseudo-primeira ordem, temos a **Equação 3.6:**

$$\mathbf{v = k'[C]} \qquad \textbf{Equação 3.6}$$

Nas análises realizadas por LC-MS foram obtidas as áreas dos compostos fotodegradados em função do tempo reação, que são proporcionais a concentração do composto, **Equação 3.7.**

$$\mathbf{[C]/[C]_0 \sim Área/Area_0} \qquad \textbf{Equação 3.7}$$

Para uma reação de pseudo-primeira ordem, portanto, temos a **Equação 3.8**:

$$\mathbf{\ln([C]/[C]_0) = k't} \qquad \textbf{Equação 3.8}$$

Substituindo a **Equação 3.7** na **Equação 3.8** obtém-se a **Equação 3.9**

$$\mathbf{\ln (Área/Area_0) = k't} \qquad \textbf{Equação 3.9}$$

Na **Tabela 3.10**, são mostrados os valores da taxa de decomposição ao longo do tempo para os compostos investigados. Na sequência, são mostrados os valores de k'_{obs} e $\tau_{1/2}$ que correspondem, respectivamente, a constante de velocidade observada e tempo de meia vida para 240 min de fotodegradação por radiação UV de 1,0 mmol L^{-1} de solução aquosa dos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS).**

Tabela 3.10 – Dados da cinética da fotodegradação de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**.

Composto	**Taxa percentual de conversão (%)**	**Taxa de decaimento (min^{-1})**	**Constante de velocidade, k'_{obs} ($Einstein.min^{-2}$)**	**Tempo de meia vida $\tau_{1/2}$ (s)**	**R^2 ajustado**
1	16,0	$8,23 \times 10^{-4}$	$5,92 \times 10^{-8}$	$1,17 \times 10^{7}$	0,9416
2	25,0	$1,43 \times 10^{-3}$	$1,03 \times 10^{-7}$	$6,73 \times 10^{6}$	0,9095
3	13,0	$1,67 \times 10^{-3}$	$1,20 \times 10^{-7}$	$5,77 \times 10^{6}$	0,6635
4	8,0	$2,27 \times 10^{-4}$	$1,63 \times 10^{-10}$	$4,25 \times 10^{9}$	0,8783
7	44,0	$2,63 \times 10^{-3}$	$1,89 \times 10^{-8}$	$3,37 \times 10^{7}$	0,9716
DNS	24,0	$1,10 \times 10^{-3}$	$7,92 \times 10^{-8}$	$8,75 \times 10^{6}$	0,9462

A formação de produtos intermediários oriundos da fotólise ao longo do tempo foi investigada (**Figura 3.21)** e indica que para todos os compostos identificados ocorre um aumento progressivo de concentração conforme decorre o tempo de radiação, exceto para o **DNSe**. Este intermediário surge tardiamente, sendo possivelmente gerado da reação de alguns dos produtos intermediários iniciais da fotólise do **DNS**.

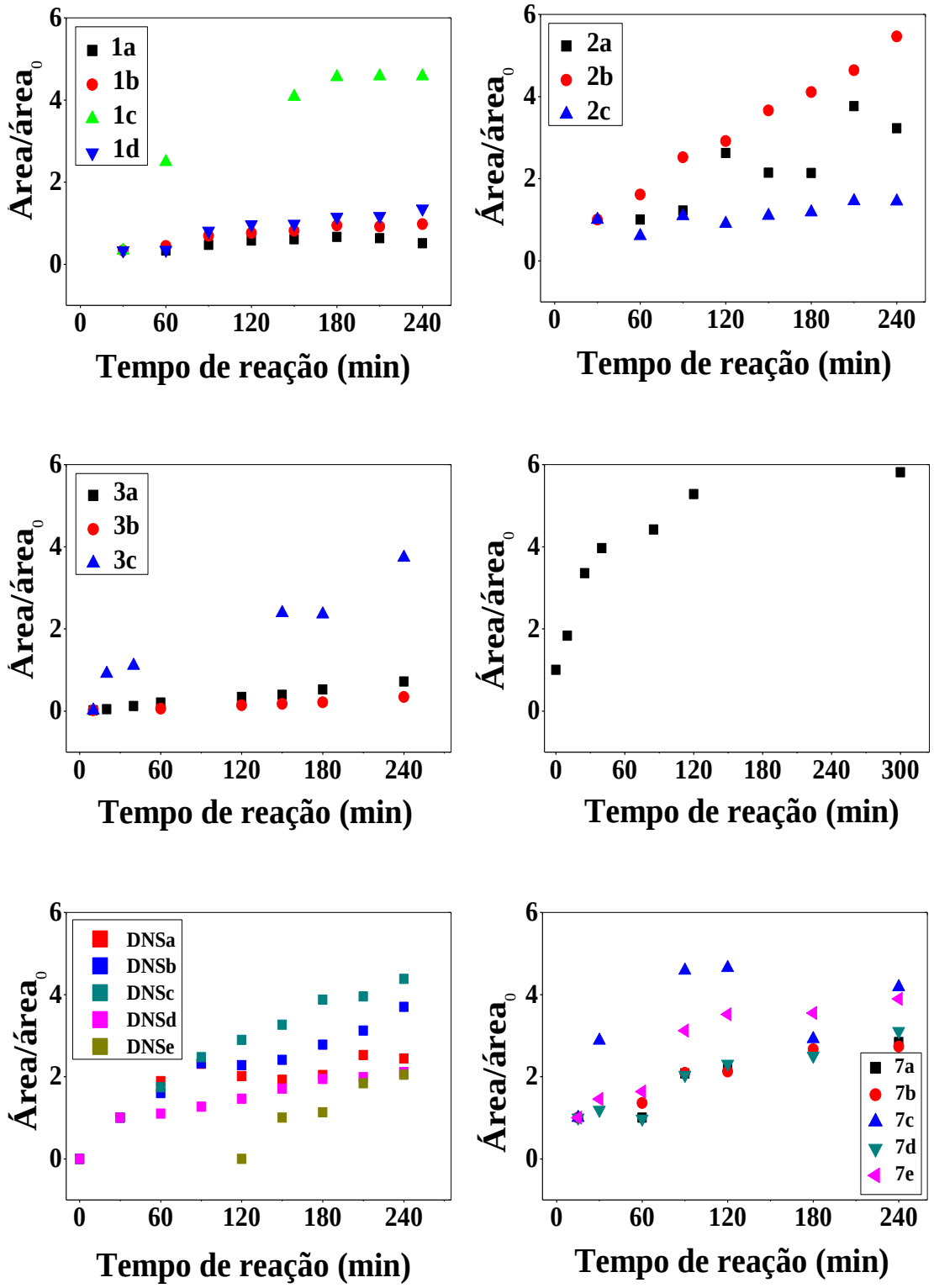


Figura 3.21 – Gráfico do monitoramento de produtos de fotólise dos ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** em função do tempo de radiação UV.

3.5. Efeito do grupo funcional ácido carboxílico em reações de fotólise

Estudos anteriores realizados por ALIF, BOULE & LEMAIRE (1990) para a fotólise de *meta*-nitrofenol e por KOTRONAROU, MILLS & HOFFMANN (1991) para a fotólise de *para*-nitrofenol indicam que nas etapas iniciais de fotólise os produtos formados retém em suas respectivas estruturas o grupo nitro ($-NO_2$). Porém, nos compostos: ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)** submetidos à fotolise verificou-se que o grupo nitro ($-NO_2$) presente em suas estruturas geram produtos de substituição após irradiação. Isto é divergente aos resultados da literatura (ALIF, BOULE & LEMAIRE, 1990; KOTRONAROU, MILLS & HOFFMANN, 1991). Portanto, a possível eliminação do grupo nitro ($-NO_2$) sofre influência da presença do grupo ácido carboxílico (-COOH) no anel aromático.

A fim de verificar o efeito que o grupo ácido carboxílico (-COOH) possui na eliminação de grupo nitro ($-NO_2$) selecionamos os ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** cujos análogos são *orto*-nitrofenol **(*o*-NF)** e *para*-nitrofenol **(*p*-NF)**. Realizamos a 240 min de fotólise por UV de soluções aquosas de 1,0 mmol L^{-1} de *o*-NF e *p*-NF. A **Figura 3.22** mostra os cromatogramas obtidos no início e após a fotólise de alíquotas de soluções aquosas 1,0 mmol L^{-1} de *orto*-nitrofenol **(*o*-NF)** e *para*-nitrofenol **(*p*-NF)** e os produtos de sua fotodegradação. Nas **Figuras 16B e 17B**, **Anexo B**, estão os espectros de massas obtidos por ESI em modo negativo.

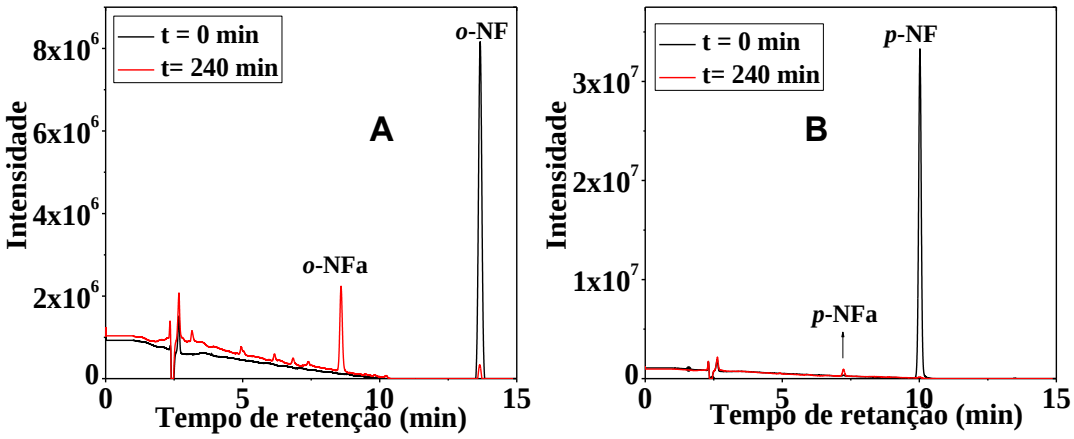
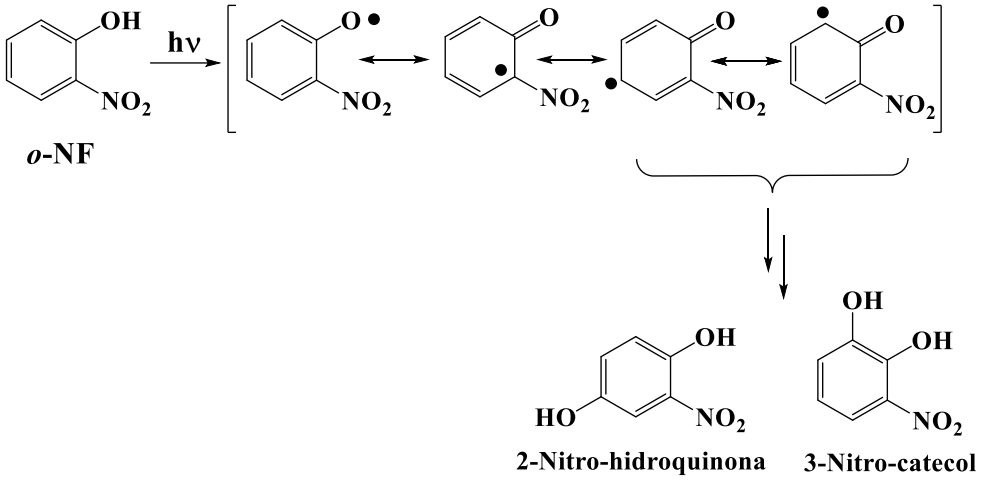


Figura 3.22 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de **A-** *orto*-nitrofenol **(*o*-NF) e B –** *para*-nitrofenol **(*p*-NF)** no início e após 240 min sob radiação UV.

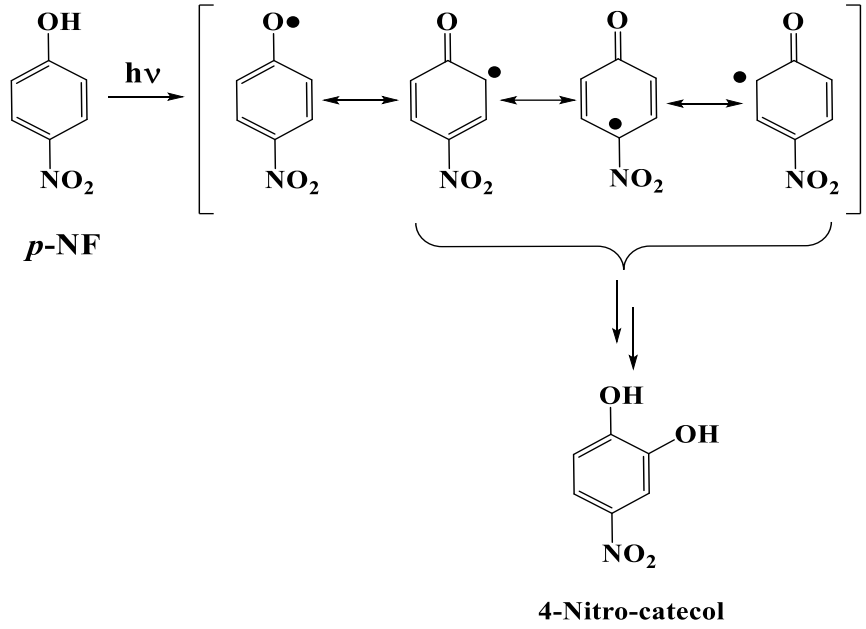
Os experimentos de fotólise que foram realizados apenas em fase aquosa geraram produtos que retiveram em sua estrutura seus grupos funcionais nitrogenados conforme descrito

por KOTRONAROU, MILLS & HOFFMANN (1991) para o ***p*-NF**. Na fotodegradação do *o*-NF há apenas uma hidroxilação, pois os dados de espectrometria de massas apresentam somente um incremento de 16 u, correspondente a um átomo de oxigênio. Há a retenção do grupo nitro, pois se observa a perda neutra de NO com relação ao material de partida, formando ou 2-nitro-hidroquinona ou 3-nitro-catecol que apresentam molécula desprotonada *m/z* 154 obtido por ESI-MS em modo negativo (**Esquema 3.26**).



Esquema 3.26 – Mecanismo de fotólise do *orto*-nitrofenol.

De modo análogo, o mesmo ocorre com o ***p*-NF** com relação a variação de massa atômica e fragmentação. Entretanto, neste caso foi possível caracterizar por ESI-MS em modo negativo ***p*-NFa** como sendo o 4-nitrocatecol, que apresenta molécula desprotonada *m/z* 154. A formação do ***p*-NFa** é favorecida devido às estruturas canônicas de ressonância possuírem maior densidade de spin nas posições 2 e 6 do anel aromático **(Esquema 3.27)**.



Esquema 3.27 – Mecanismo de fotólise do *para*-nitrofenol**.**

Para os nitrofenois analisados, observou-se a ausência de produtos de substituição formados quando se troca um grupo nitro (-NO_2) por um grupo hidroxila (-OH) característicos dos compostos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (**DNS)**, como discutido anteriormente (*ver* **Esquema 3.21**).

O ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** e seus respectivos nitrofenois (***p*-NF** e ***o*-NF**) diferem na ausência do grupo -COOH, indicando que este grupo funcional tem papel fundamental para haver substituição de um grupo nitro (-NO_2) por um grupo hidroxila (-OH).

Em reações de substituição, a energia de ligação do grupo de saída (-NO_2) é um dos parâmetros relevantes para a ocorrência da reação. De tal forma que, analisando os comprimentos de ligação C-NO_2 entre os radicais do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** com os radicais fenoxila dos ***p*-NF** e ***o*-NF** verificamos o efeito do grupo -COOH nas reações de hidroxilação, **Tabela 3.11**.

Observou-se que ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)** possuem comprimento de ligação superiores aos seus nitrofenois análogos. Portanto, a ligação C-N se torna mais fraca nos ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** e ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ou seja, de menor energia tornando-se mais propensa ao ataque do nucleófilo, neste caso a água.

Tabela 3.11 – Comparação entre comprimentos de ligação (Å) C-NO_2 de compostos nitrados e seus análogos nitrofenois determinadas por cálculos computacionais DFT com nível B3LYP/6-31+G(d,p).

Composto	**Comprimento de ligação C-NO_2 (Å)**	
	ArOH	ArO•
2	1,465	1,483
***para*-nitrofenol**	1,464	1,472
3	1,450	1,485
***orto*-nitrofenol**	1,447	1,466

Por fim, todo o conjunto de argumentos até aqui defendidos consideram que as reações de fotólise necessitam da clivagem da hidroxila fenólica para que os produtos da reação sejam formados.

Fizemos um experimento com ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)** em cuja estrutura química, a hidroxila fenólica do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)** foi substituída por uma função ácido carboxílico. A solução aquosa 1,0 mmol L^{-1} de **5-NFt** foi submetida a fotólise por radiação UV durante 240 min (**Figura 3.23).** Nota-se a total conversão do material de partida **5-NFt** para um único produto, o **5-NFta**, caracterizado como ácido nitrobenzoico, mas não foi possível atribuir o isômero correto, **Tabela 3.12.** A **Figura 18B** do **Anexo B** mostra os espectros de massas deste experimento.

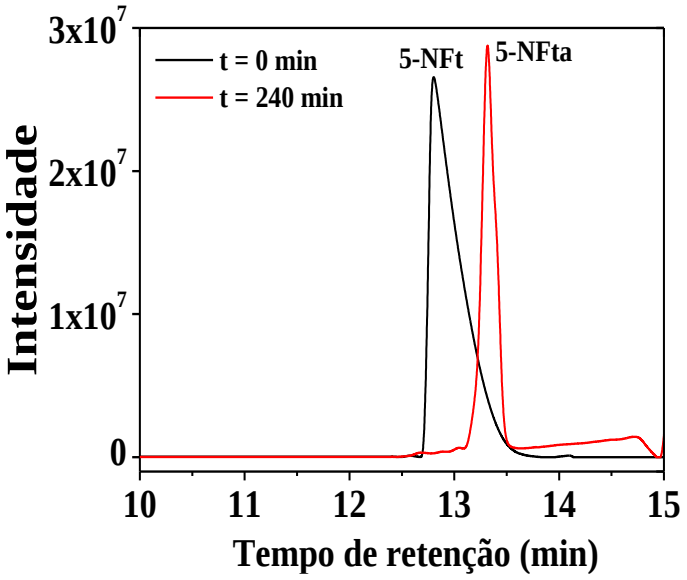
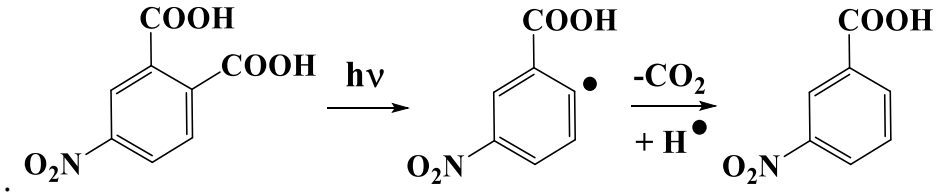


Figura 3.23 – Sobreposição dos cromatogramas de alíquotas de solução aquosa 1,0 mmol/L de ácido 5-nitro-ftálico **(5-NFt)** no início e após 240 min sob radiação UV.

A reação confirma que na ausência de hidroxila fenólica apenas reações de foto-descarboxilação ocorrem, **Esquema 3.28**. A descarboxilação envolve a clivagem direta da ligação C-COOH (MEIGGS, GROSSWEINER & MILLER, 1972; EPLING & LOPES, 1977).



Esquema 3.28 – Mecanismo de descarboxilação do ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)**.

Tabela 3.12 – Características espectrométricas do produto **(5-NFta)** gerado na fotólise da solução aquosa 1,0 mol L^{-1} do ácido 5-nitroftálico **(5-NFt)**.

Composto	**Tempo de retenção (min)**	**Molécula desprotonada $[M-H]^-$ *m/z***	**Dímero $[M-Na-M]^-$ *m/z***	**Perdas neutras identificadas**		
				CO_2	**CO_2**	**NO**
5-NFt	12,8	210	443	X	X	X
5-NFta	13,3	166		X	-	X

Capítulo 4: Considerações finais

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

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

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

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

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

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

Capítulo 5: Perspectivas futuras

Ao longo do desenvolvimento desta Dissertação de Mestrado, algumas colaborações nos permitiram ampliar os horizontes deste trabalho. Podem ser apresentadas em três eixos:

1. Testes biológicos

O resíduo obtido nos processos de quantificação de açúcar redutor antes e após o tratamento por fotólise de H_2O_2 por radiação UV foram submetidos a testes de toxicidade em embriões de *Danio rerio*, o zebrafish. Este trabalho tem sido realizado em colaboração com o grupo de pesquisa da Profa. Dra. Danielle Palma de Oliveira (FCFRP/USP).

Os ensaios preliminares indicaram a presença de alta concentração de sais após o tratamento do resíduo por fotólise do peróxido de hidrogênio por radiação UV. Esta alta concentração de sais é igualmente tóxica aos embriões como o resíduo inicial sem tratamento. No entanto, os sais formados possuem em sua composição nitrogênio e poderão ser utilizados como fonte de nitrogênio em processo de adubação de solos.

Além disso, os compostos preparados nesta Dissertação estão sendo submetidos à testes de toxicidade em ambiente celular através do monitoramento do estresse oxidativo gerado por estes compostos em mitocôndrias extraídas do fígado de ratos. No entanto, os resultados deste estudo ainda são preliminares e inconclusivos. Este trabalho tem sido realizado em colaboração com os grupo de pesquisa do Prof. Dr. Zeki Naal (FCFRP/USP)

2. Desenvolvimento de materiais

O ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)**, ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)** e o ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** sintetizados neste trabalho são inéditos e podem servir como base para produção de diversos materiais. Uma aplicação possível tem sido avaliada pelo grupo do Prof. Dr. Zeki Naal (FCFRP/USP) utilizando os compostos para o desenvolvimento elétrodos modificados.

3. Estudos sobre fotofísica

Os compostos preparados neste trabalho são derivados funcionalizados do ácido 2-hidroxibenzoico que possui propriedades fotofísicas de grande interesse em química fundamental. Estudos visando determinar efeitos solvatocrômicos, emissão e rendimento quântico de fluorescência, absorção triplete-triplete (T-T) e pKa^* estão sendo realizados para os compostos desta Dissertação.

6. Referências bibliográficas

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Apêndice A – Procedimento experimental referente à síntese

1. Procedimento experimental

Redução do DNS com açúcar redutor

Em um balão de duas bocas de 250 mL foram adicionados 10 mmol de **DNS** (98,9% - Aldrich) e 50 mL de uma solução aquosa de 5,0 mol/L de NaOH (97% – Vetec) e agitou-se até total dissolução do sólido. Em seguida, uma solução de 11 mmol de *D*-glucose (99,9% - J.T. Baker) em 50 mL de água deionizada foi misturada à solução alcalina contendo **DNS**. O sistema foi mantido em refluxo por 4 h em uma temperatura de 70 °C. Ao final de 4 h, encerrou-se o refluxo e o sistema foi deixado em repouso, em resfriamento até a temperatura ambiente. Na sequência, o pH do meio reacional foi ajustado ao redor de 7 e a solução remanescente rotaevaporada.

Redução do DNS com hidrogenosulfeto de sódio em meio alcalino

Em um balão de fundo redondo acoplado com um condensador de refluxo, misturou-se o DNS com metanol na proporção 1 DNS: 20 metanol (m/m). Em seguida, adicionaram-se 10 mL de $NaHS.9H_2O$ (98,0% – LS-Chemicals) em metanol (P.A. – J.T. Baker), sob agitação constante por 20 minutos. Posteriormente, foi feita uma filtração simples a quente. O filtrado foi rotaevaporado para remoção do metanol e pressupõe-se que o sólido obtido o ácido 3-amino-5-nitrosalicílico **(11)** esteja dissolvido em solução alcalina.

Preparação do ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (11) por reação com açúcar redutor

Foi dissolvido 1,0 mmol de **DNS** em 250 mL em água deionizada, pH 10, obtido com solução aquosa de NaOH 1,0 mol/L. Separadamente, 3,0 mmol de *D*–glucose anidra (P.A – Nuclear) foram dissolvidos em 250 mL em água deionizada. As duas soluções foram misturadas em um balão de fundo redondo e submetidas ao aquecimento até ebulição por 15 min, para obter-se o 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**11**).

A) Preparo e purificação dos ácidos 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (2) e 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (3).

Em um balão de 250 mL com três bocas, provido de agitação magnética, termômetro e funil de adição de 25 mL adicionou-se uma solução de ácido 2-hidroxibenzoico (74,83 mmol)

(>99,0% – Merck) em diclorometano (PA – Synth). Este sistema foi resfriado em banho de gelo a aproximadamente 10 °C e, lentamente, com auxílio de uma pipeta Pasteur, foram adicionados 19 mL de nitrato de isopropila (99% – Aldrich). A adição de 12 mL de ácido sulfúrico concentrado (98% – Synth) foi feita lentamente por 20 min, com o auxílio do funil de adição e tomando cuidado para a temperatura não exceder os 10 °C. Na sequência, a mistura foi mantida sob agitação e em banho de gelo por cerca de 4 h, até a formação de um precipitado amarelo. Finalizado as 4 h de agitação, a solução contendo o precipitado amarelo em suspensão foi concentrada em um rotaevaporador e novamente resfriada por 1 h. A suspensão resultante do precipitado amarelo foi filtrada a vácuo e o precipitado amarelo (ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico) foi lavado três vezes com porções de 25 mL de água gelada. No filtrado, obteve-se uma mistura de ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico e ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico na razão 7:3. Foram adicionados 100 mL de água deionizada a este filtrado e após 15 min em banho de gelo precipitou-se um sólido contendo ambos isômeros, que foi filtrado e lavado com pequenas porções de água deionizada gelada. A mistura dos isômeros ácidos foi submetida a uma extração com diclorometano em aparelho Soxhlet por 30 minutos. A extração foi monitorada por cromatografia em camada delgada com indicador de fluorescência F254 e eluente diclorometano/metanol na proporção 9:1 com 0,1% ácido fórmico (98,0% – Nuclear), obtendo-se o composto ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico puro. Ambos os compostos ácidos 2-hidroxi-5-nitrobenzoico e 2-hidroxi-3-nitrobenzoico sólidos foram secos a vácuo e mantidos em dessecador com pentóxido de fósforo (P_2O_5) (98% – Vetec).

B) Preparo e purificação dos ácidos 3-amino-2-hidroxibenzoico (8), 5-amino-2-hidroxibenzoico (4)

A reação de hidrogenação foi realizada em uma autoclave de aço inoxidável de alta pressão. Uma solução contendo 1,0 mmol do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**2**) ou ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**3**) e 0,0200 g de catalisador 5% Ru/C (99,0% – Merck) ou 5% Pd/C (99,0% – Merck) em acetonitrila (P.A. – J.T. Baker) foi preparada e inserida na autoclave junto com uma pequena barra magnética. A autoclave foi fechada e seu interior permaneceu sob constante agitação. Nos casos onde eram necessárias elevadas temperaturas, a autoclave foi imersa em um banho de silicone até a estabilização da temperatura em 50 °C. Na sequência, pressurizou-se o sistema com gás hidrogênio até uma pressão de 250 psi. O sistema foi mantido sob agitação, aquecimento e pressão até o término na reação, monitorado por cromatografia em camada delgada com indicador de fluorescência F254 e eluente diclorometano (P.A. – J.T. Baker)/ metanol (P.A. – J.T. Baker) na proporção 9:1. Após o fim da reação, o solvente foi

retirado por evaporador rotativo e os ácidos 3-amino-2-hidroxibenzoico (**8**) ou 5-amino-2-hidroxibenzoico (**4**) sólidos foram armazenados para as etapas subsequentes.

C) Preparo e purificação ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico (5).

O preparo do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico (**5**) foi feito adicionando 3,3 mmol do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**3**) em um balão de fundo redondo de 50 mL com duas bocas acoplado a um condensador de refluxo, seguido de 4,0 mL de uma mistura de 1 de água para 1 de metanol (P.A. – J.T. Baker). A solução resultante foi agitada até total solubilização do composto **3**. Na sequência, foram adicionados 1,0 mL de anidrido acético (≥98,0% – Aldrich) previamente purificado. O sistema foi mantido sob refluxo por 30 min. A mistura resultante foi concentrada em rotaevaporador e o produto sólido obtido foi recristalizado de uma mistura água/metanol (3:1).

D) Preparo e purificação do ácido 5-acetoamido-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (6) e ácido 3-acetoamido-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (10)

Foram usados 1,0 mmol de cada um do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico (**5**) e ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)**, separadamente.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, o composto **5** ou **9** foi dissolvido, sob agitação até completa dissolução, em 0,325 mL de ácido sulfúrico concentrado (98% – Synth). Este balão foi mantido sob agitação constante e em banho de gelo para assegurar temperatura de cerca de 10 °C.

Paralelamente, preparou-se uma mistura de ácido nítrico concentrado (65% – Synth) com ácido sulfúrico concentrado (98% – Synth) em uma razão 1:2 (v/v) por meio da adição lenta do ácido sulfúrico sobre ácido nítrico em banho de gelo. 0,7 mL da mistura nitrante de ácido nítrico/ácido sulfúrico foi adicionada lentamente sobre a mistura reacional contendo o composto **5** ou **9**. Após o término desta adição, o sistema foi mantido em repouso por 10 min. Depois foram adicionados 2,0 mL de água deionizada gelada formando um precipitado, que foi filtrado e lavado com água gelada e éter etílico, nessa ordem.

E) Preparo e purificação do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (7)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL com duas bocas, acoplado a um condensador de refluxo foram adicionados 1,0 mmol do ácido 5-acetoamido-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**6**), 20 mL de água deionizada e 0,1 mL de ácido clorídrico concentrado (37% – Synth). Este balão foi mantido sob agitação e aquecimento constante a 70 °C, sob refluxo durante 4 horas. A

solução de coloração laranja que se formou foi rotoevaporada até secura e o sólido formado foi submetido a uma extração com acetona (99,9% – J.T. Baker) em um aparelho de Soxhlet por 6 horas. A solução de acetona extraída foi rotaevaporada novamente e lavada duas vezes com éter etílico (P.A. – Chemco). Obteve-se um sólido vermelho que corresponde ao ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**7**).

F) Preparo e purificação do ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico (9)

O ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)** foi obtido de modo análogo ao seu isômero (**5**), alterando-se apenas a proporção 1 de água para 3 de metanol (P.A. – J.T. Baker) e o tempo de reação para 3 h.

2. Lista de equipamentos utilizados

- Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^{1}H, 300 MHz foram obtidos no espectrômetro Bruker DPX-300. Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em *parte por milhão* (ppm), utilizando como padrão interno tetrametilsilano (TMS). A constante de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios foi deduzido através da integral relativa.
- Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C, 75 MHz) foram obtidos em um espectrômetro Bruker DRX-400 ou Bruker DRX- 500, de acordo com as necessidades do trabalho, utilizando-se as seguintes técnicas:
  - ^{13}C {^{1}H} – Carbono integralmente desacoplado de hidrogênio;
  - DEPT-135– *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.*
- A aquisição dos espectros de massa de baixa resolução foi realizada em um Sistema ACQUITI UPLC *H-Closs* (Waters Corporation) de cromatografia líquida de ultra alta performance (UPLC) acoplado ao espectrômetro de massas Xevo TQ-S *tandem quadrupole* (Waters Corporation) do Prof. Luiz Alberto Beraldo – DQ – FFCLRP – USP. Os parâmetros empregados no espectrômetro de massas foram: voltagem capilar de entre 2 e 4 kV em modo negativo; voltagem do cone de 40 kV, temperatura da fonte 150°C, temperatura de dessolvatação de 350 °C e faixa de *m/z* de 50-700.

Apêndice B – Procedimento experimental dos estudos de fotodegradação.

1. Estudos de fotoquímica

1.1. Procedimento para a fotodegradação por radiação UV

Os experimentos de fotodegradação foram realizados um reator fotoquímico que mantém a fonte de radiação fechada, atingindo somente a solução problema. Dentro do reator, coloca-se o recipiente de quartzo onde se insere a lâmpada a ser usada (no caso o filamento de uma lâmpada de vapor de mercúrio, Philips HPL-N 125W/542 E27, cuja emissão é desde 200 a 420 nm e entre 520 a 620 nm). Este recipiente possui paredes externa e interna, concêntricas, tal que a solução a ser fotodegradada flua entre as duas paredes. A lâmpada, por sua vez, fica retida na parte interna. A solução problema circula do reservatório externo para este recipiente com o auxílio de uma bomba externa. A temperatura do reservatório é controlada com um banho termostático, entre 5 a 10 °C. Antes de todos os experimentos envolvendo o reator, este é lavado com água deionizada pelo menos três vezes, durante 30 min e aquece-se a lâmpada de Hg. Após a lavagem, a lâmpada de Hg é desligada e a água é substituída pela solução problema. Nestes experimentos, a solução aquosa foi mantida na concentração de 1,0 mmol/L para qualquer composto que foi estudado. Foram retiradas alíquotas de 2,0 mL periodicamente a partir de 0 minuto até 240 minutos de radiação UV, para análise por CLAE.

Condição cromatográfica para análise dos produtos de fotodegradação do ácido 2-hidroxibenzoico (1), ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (2) e ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (3) e ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico (4).

Para estes compostos, o método analítico aplicado foi um gradiente de fase móvel constituído de água deionizada com (A) 10 mmol/L ácido fórmico (98,0% –Nuclear) e (B) 10 mmol/L ácido fórmico em acetonitrila (P.A. – J.T. Baker),, com fluxo de 0,5/min. O gradiente da fase móvel variou em função do tempo na respectiva ordem: de 0 a 15 min, 90% de A /10% e B; de 15 a 20 min: 60% de A / 40% e B e de 20 até 30 min: 80% de A /20% de B. Os espectros de absorção foram obtidos por CLAE-EM.

Condição cromatográfica para a fotodegradação do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS) e ácido 5-amino-2-hidroxi-3- nitrobenzoico.

Para o DNS, o gradiente de fase móvel foi constituído de (A) água e (B) 10mmol/L acetato de amônio (P.A. -Synth) em metanol (P.A. – J.T. Baker), com fluxo de 0,5mL/min. O gradiente da fase móvel variou em função do tempo na ordem: de 0 a 15 min, 80% de A /20%

de B; de 15 a 19 min: 10% de A /90% de B e de 19 até 24 min: 80% de A /20% de B. Os espectros de absorção foram obtidos por CLAE-EM.

1.2. Actinometria de ferrioxalato de potássio

A actinometria é um método químico para determinar o número de fótons emitidos por uma fonte de irradiação, por unidade de tempo ou integralmente. Neste processo, a conversão fotoquímica está diretamente associada com o número de fótons absorvidos. A actinometria foi determinada através da reação de ferrioxalato de potássio ($K_3[Fe(C_2O_4)_3]$) pela ação da luz, onde há a formação de Fe(II) a partir da redução de Fe(III). O íon ferroso forma o complexo tris-(1,10-fenantrolina)-Fe^{2+}, $[Fe(fen)_3]^{2+}$, **Esquema 1B (Apêndice B)**, na presença de 1,10-fenantrolina.

$$[Fe(C_2O_4)_3]^{-3} \xrightarrow{h\nu} Fe^{+2} + C_2O_4^{-\circ} + 2C_2O_4^{-2}$$

$$Fe^{+2} + 3fen \rightleftharpoons [Fe(fen)_3]^{+2}$$

Esquema 1B (Apêndice B) - Reação de Fe^{3+}, fótons e íons oxalato, e formação do complexo $[Fe(fen)_3]^{2+}$.

Para isto, preparou-se uma solução aquosa de 1,10–fenantrolina 1,0 % (99% – Aldrich), pesando-se 1,000 g de 1,10-fenantrolina e dissolvendo-o em 100 mL de água deionizada. Preparou-se, também, uma solução tampão de acetato de sódio (P.A. – Synth) em ácido perclórico (70% – Vetec) de pH 3,5. A solução de ferrioxalato de potássio 0,06 mol/L foi preparada pesando-se 1,0626 g de perclorato de ferro(III) (98% – Aldrich) e 1,6581 g de oxalato de potássio (P.A. – Synth), dissolvendo-os juntos em 1000 mL de água deionizada.

A actinometria da lâmpada de Hg usada nos experimentos de fotodegradação foi realizada a partir da radiação de 1,0 L da solução de ferrioxalato de potássio em um ambiente de baixa luminosidade. Coletou-se 1,0 mL da solução radiada a cada 30 segundos. Esta alíquota foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL contendo 1,0 mL de solução tampão acetato de sódio em ácido perclórico de pH 3,5; seguida pela adição de 1,0 mL de solução 1,10–fenantrolina 1,0 %. Após a adição da alíquota radiada, completou-se o balão volumétrico com água deionizada. A solução assim preparada foi acondicionada em local escuro por uma hora. Posteriormente, esta solução final foi analisada por espectroscopia de absorção de luz UV/visível com varredura de 350 a 650 nm, em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm, a 25 ºC.

Assim, por meio da lei de Lambert-Beer, **Equação 1 (Apêndice B)**, foi possível determinar indiretamente a intensidade de emissão de fótons, *I*, avaliando a quantidade em mols de Fe(II) (*n*) formado durante o tempo de irradiação (*t*), através de espectrofotometria de absorção UV-Vis.

$$A = \varepsilon \times b \times c$$ **Equação 1 (Apêndice B)**

Considerando o fator de diluição (*F*) e o volume total irradiado (V_{irrad}) determinou-se a quantidade em mols de Fe (II) produzidos durante a irradiação, **Equações 2 e 3 (Apêndice B)**:

$$n = F \times c \times V_{irrad}$$ **Equação 2 (Apêndice B)**

$$n = \frac{F \times A \times V_{irrad}}{\varepsilon \times b}$$ **Equação 3 (Apêndice B)**

O fluxo de emissão de fótons da lâmpada está relacionado com o número de mols de Fe(III) reduzidos, o tempo de irradiação de cada alíquota e com o fator (ϕ) que é a eficiência fotônica da produção de íons Fe(II) a partir de $K_3Fe(C_2O_4)_3$, **Equação 4 (Apêndice B)**.

$$I = \frac{n \times \phi}{t}$$ **Equação 4 (Apêndice B)**

Relacionando as **Equação 3** e **4 (Apêndice B)**, tem-se a **Equação 5** cuja relação *A/t* é dada pelo coeficiente angular em um gráfico de A em função de t.

$$I = \frac{A}{t} \times \frac{\phi \times F \times V}{\varepsilon \times b}$$ **Equação 5 (Apêndice B)**

A actinometria fez-se necessária neste trabalho para que quantificasse o número de mols de fótons emitidos pela lâmpada de vapor de Hg utilizada. A **Figura 1B (Apêndice B)** mostra o aumento da concentração do complexo $[Fe(fen)_3]^{+2}$ em função do tempo de radiação, através do monitoramento comprimento de onda de 510 nm, onde o complexo apresenta máximo coeficiente de absortividade molar ($\varepsilon_{máx}$) de 1,11 x 10^4 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$.

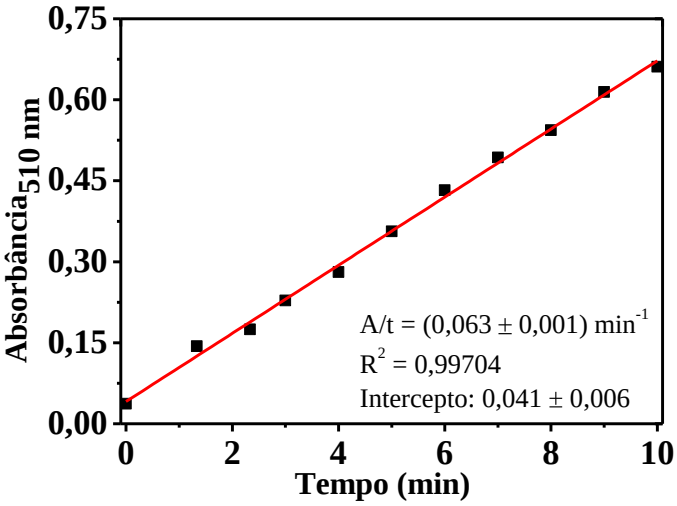


Figura 1B (Apêndice B) - Gráfico de Absorbância de complexo ($\lambda_{máx}$ = 510 nm) versus tempo de irradiação.

Por fim, utilizando a **Equação 5 (Apêndice B)** foi possível obter uma taxa de emissão de fótons de 7,2 x 10^{-5} Einstein/min, dentro dos valores já determinados para esta lâmpada em outros trabalhos.

Anexo A – Seção de espectros relativos à caracterização dos produtos de síntese.

Nesta seção são apresentados os espectros de RMN de ^{1}H, ^{13}C, EM e IV dos compostos deste trabalho. Todos os espectros foram visualizados com auxílio dos softwares *Mestrenova*, *Mass Lynx* versão 4.1 e *OriginPro 9®*.

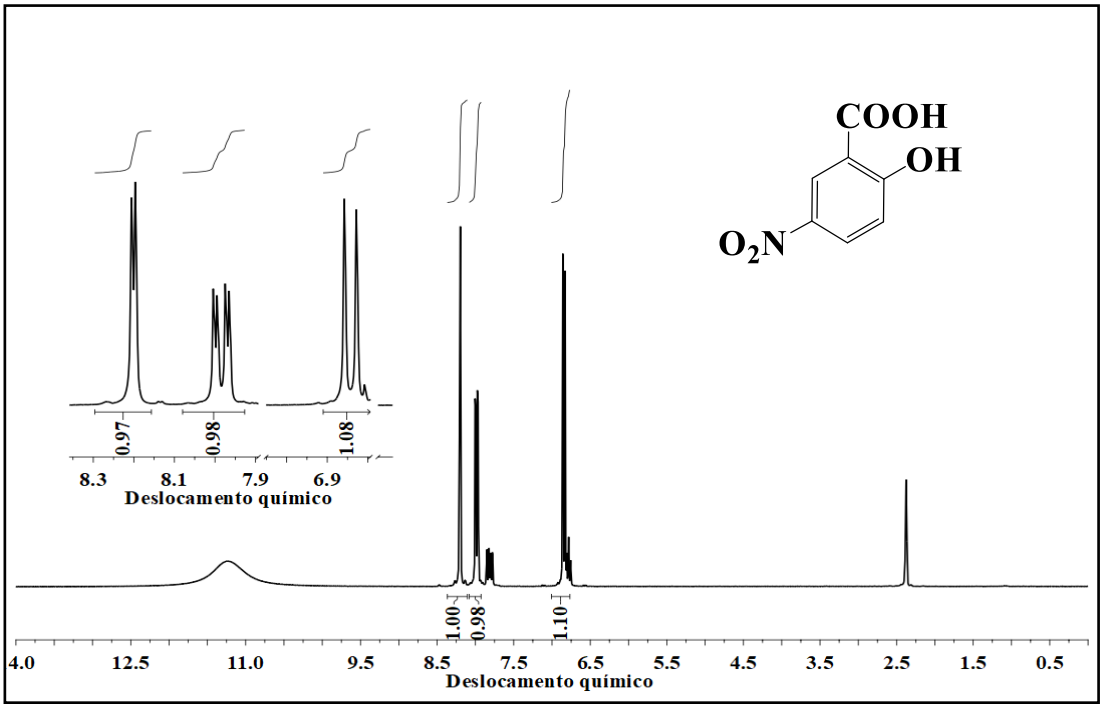


Figura 1A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**

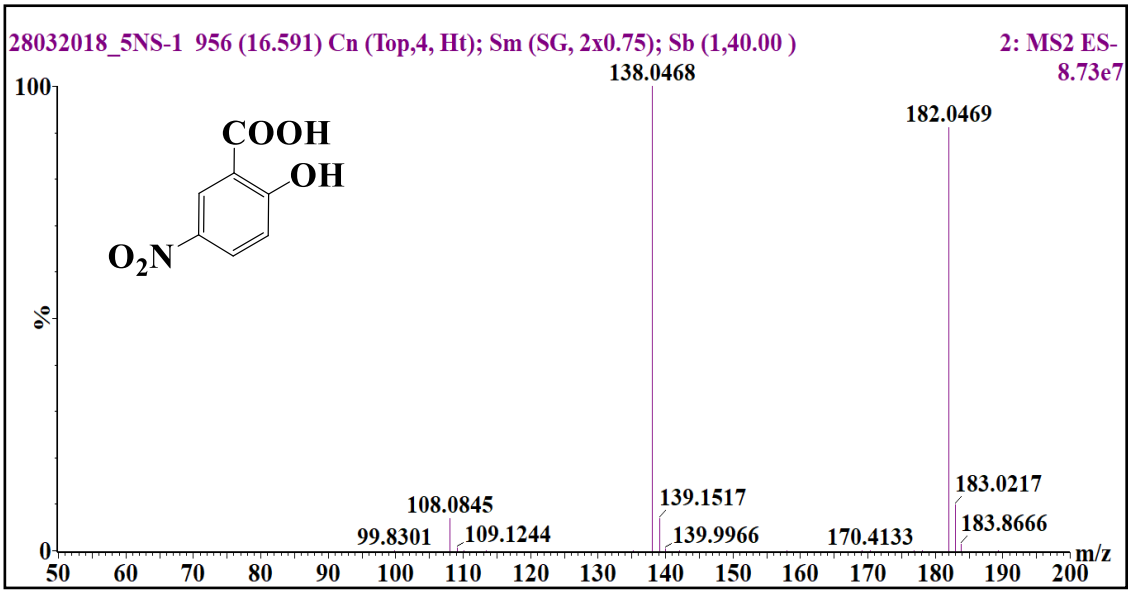


Figura 2A – Espectro de massas ESI(-) do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**.

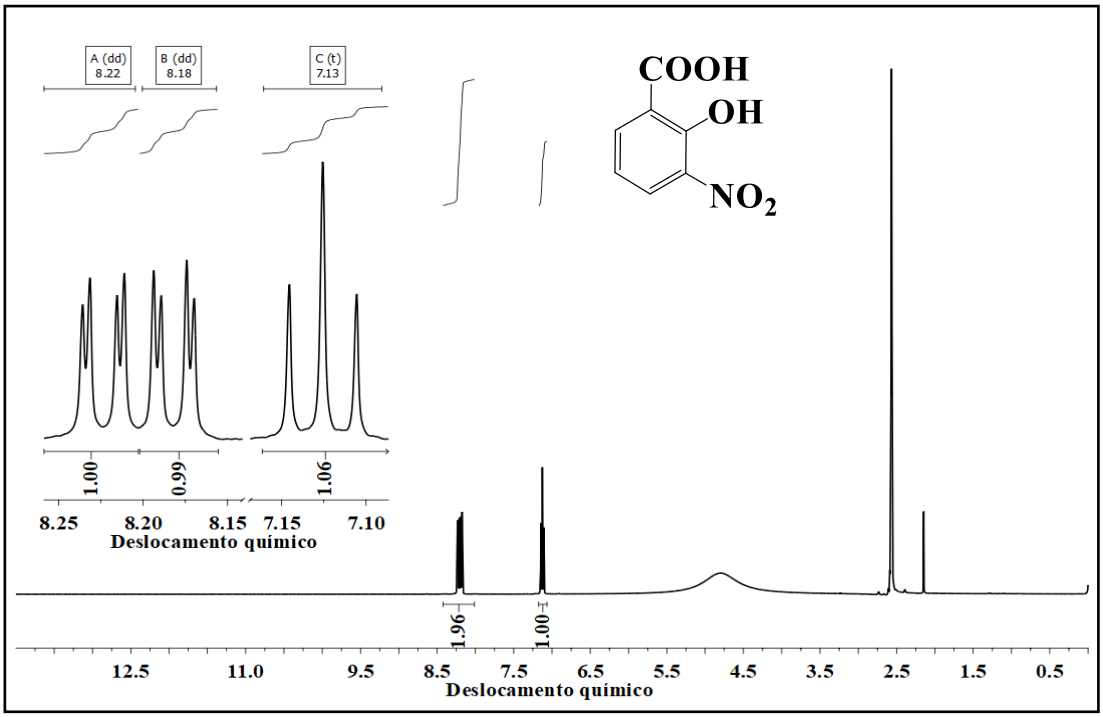


Figura 3A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**

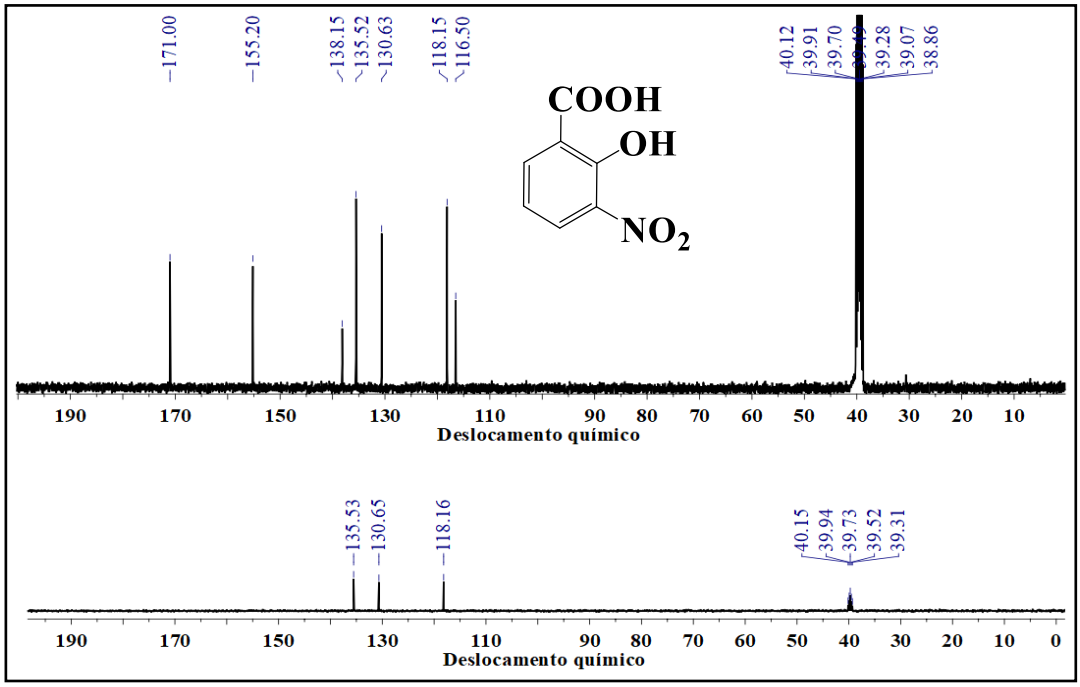


Figura 4A – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**

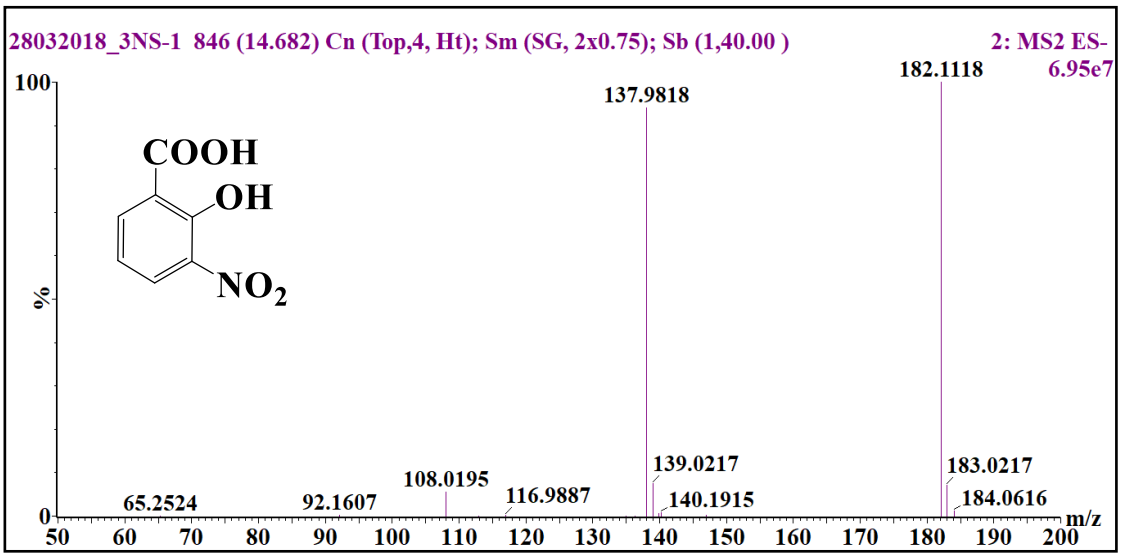


Figura 5A – Espectro de massas ESI(-) do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(3).**

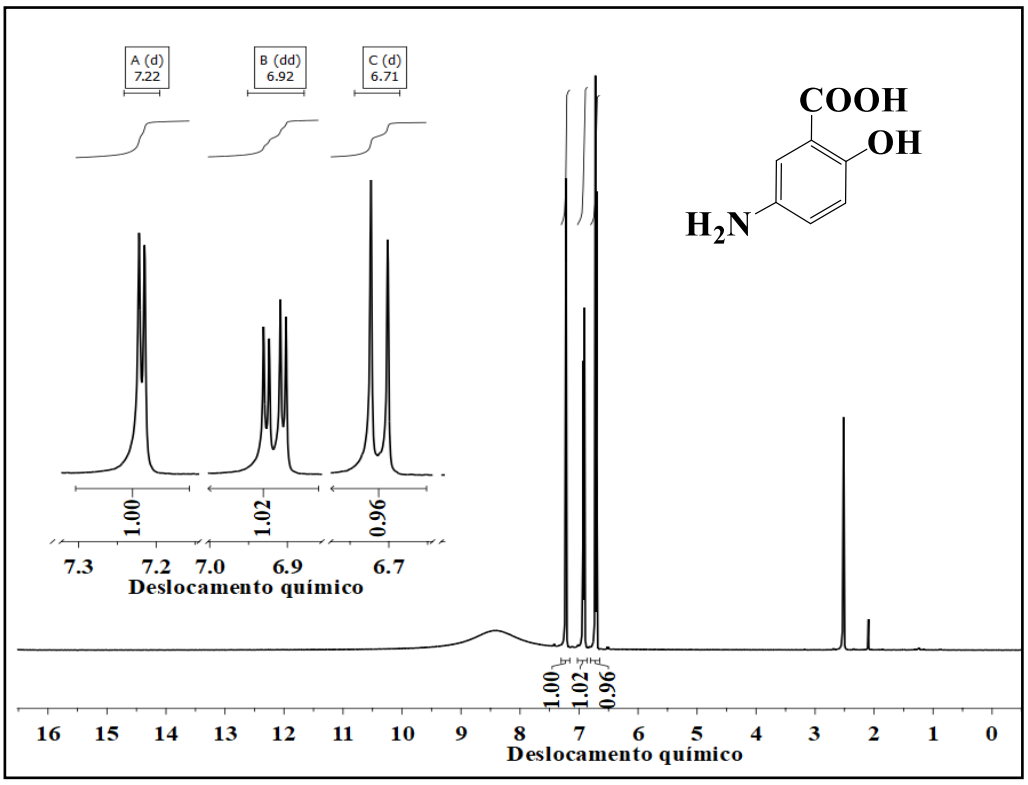


Figura 6A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**.

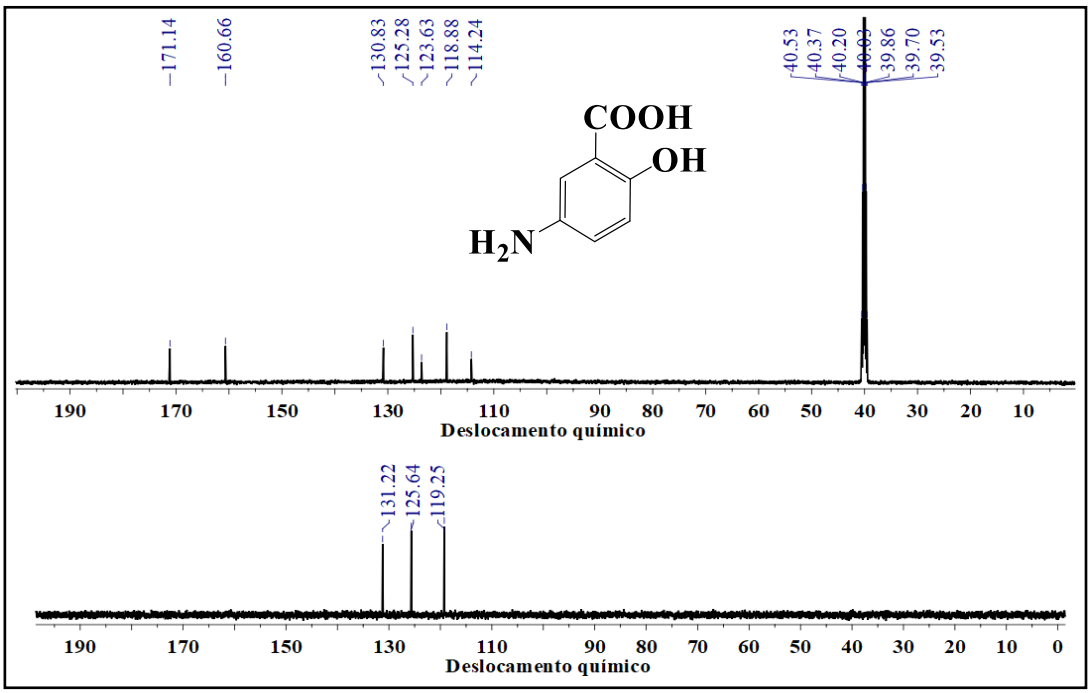


Figura 7A – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**.

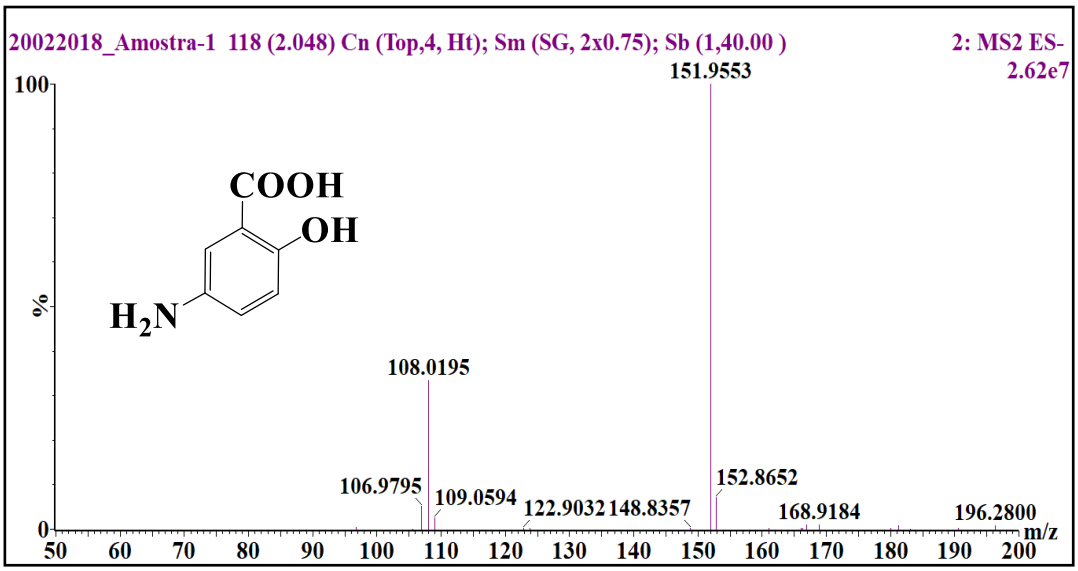


Figura 8A – Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**.

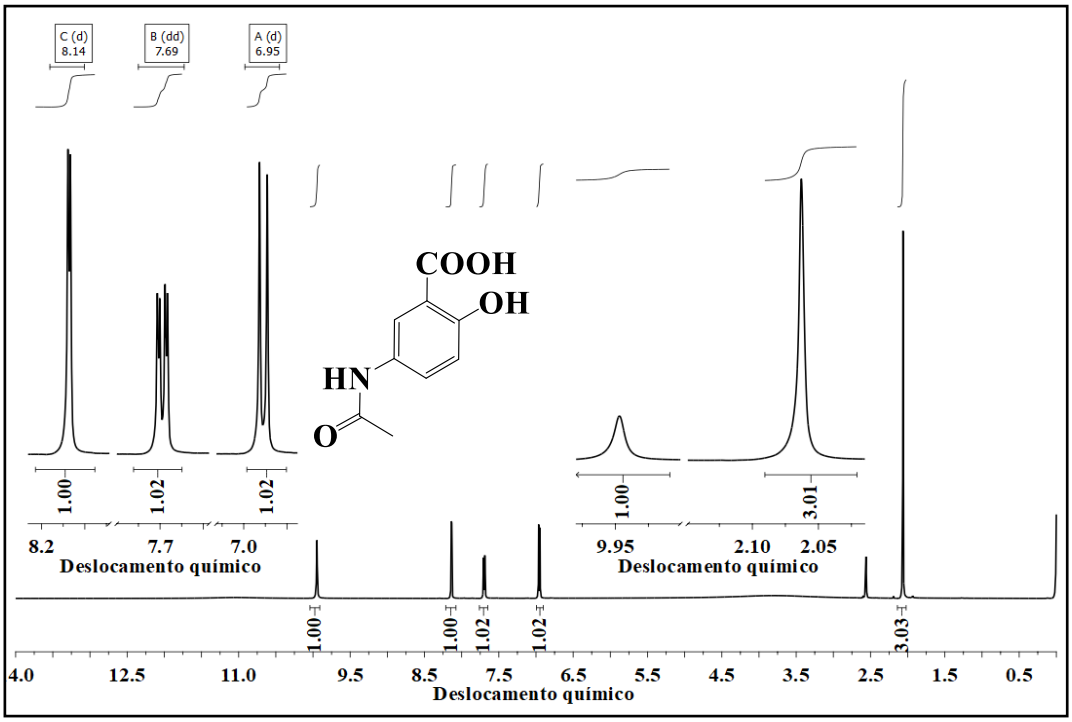


Figura 9A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5).**

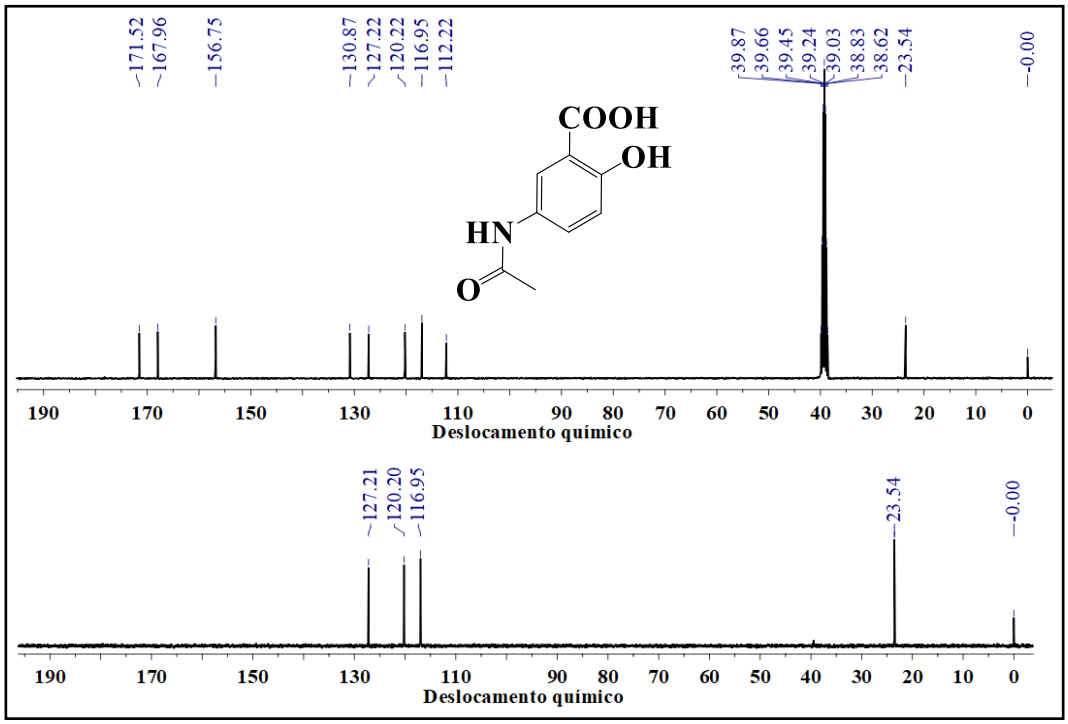


Figura 10A – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5).**

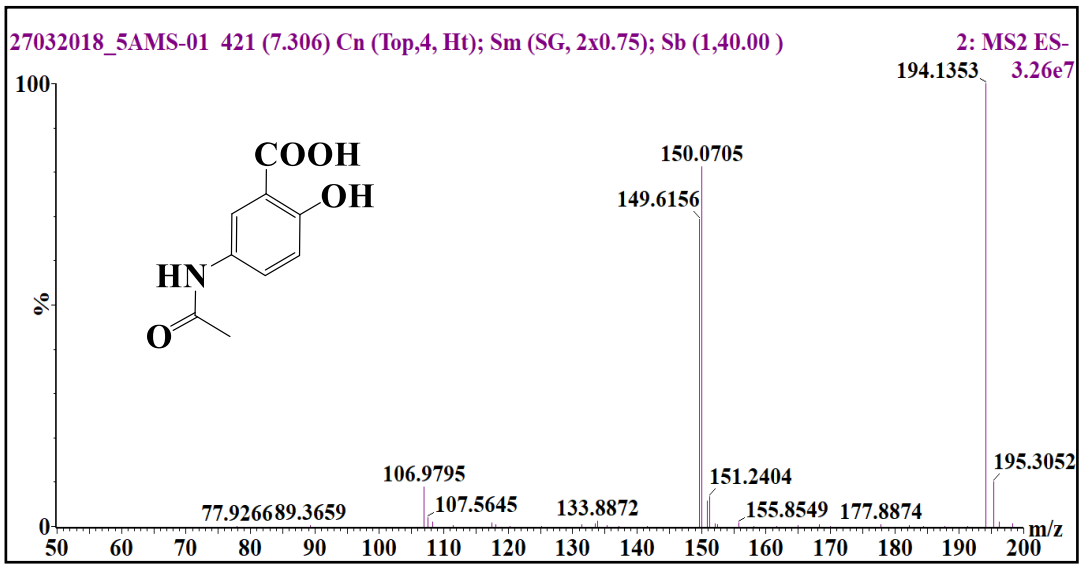


Figura 11A – Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5).**

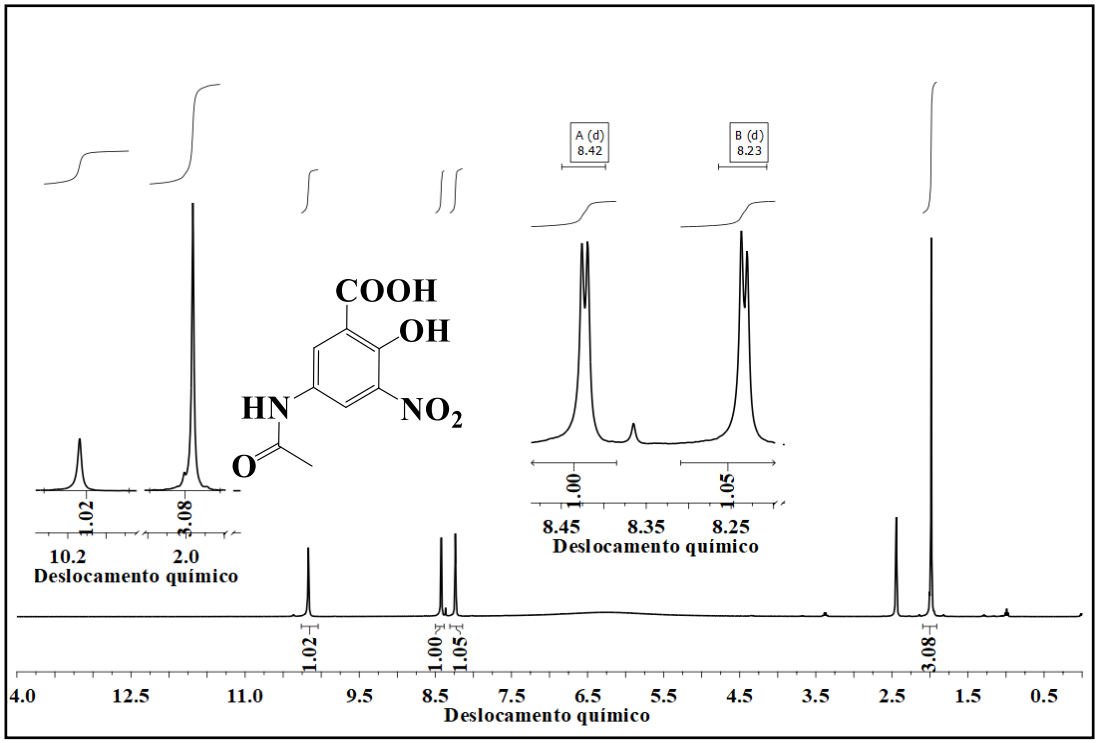


Figura 12A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6).**

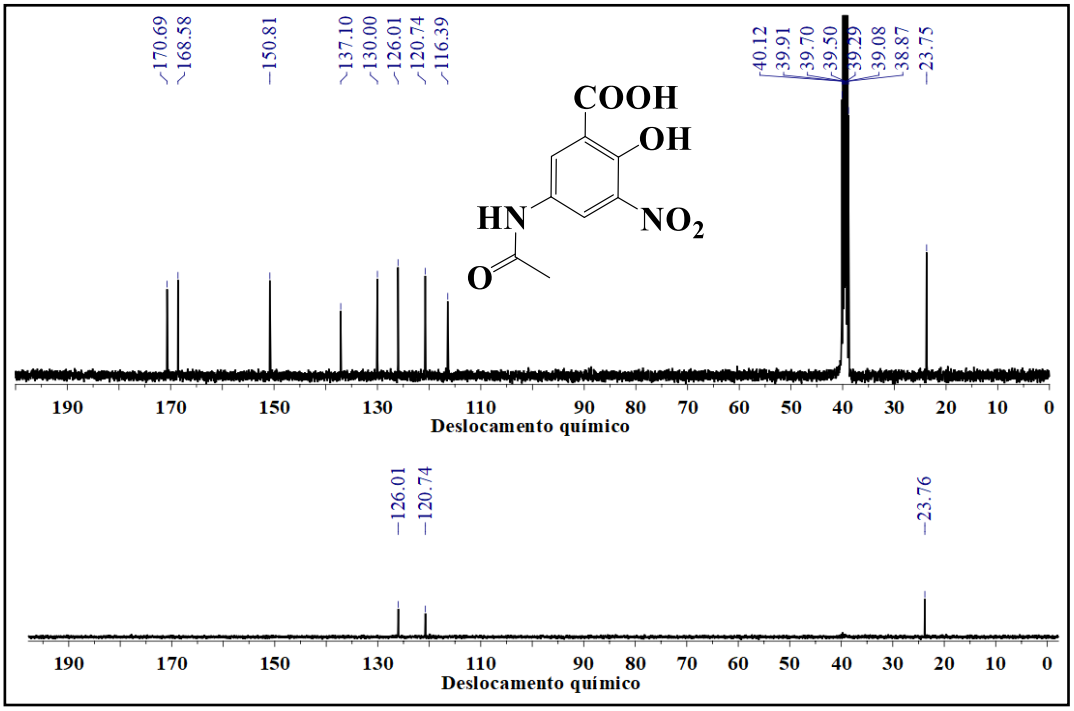


Figura 13A – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6).**

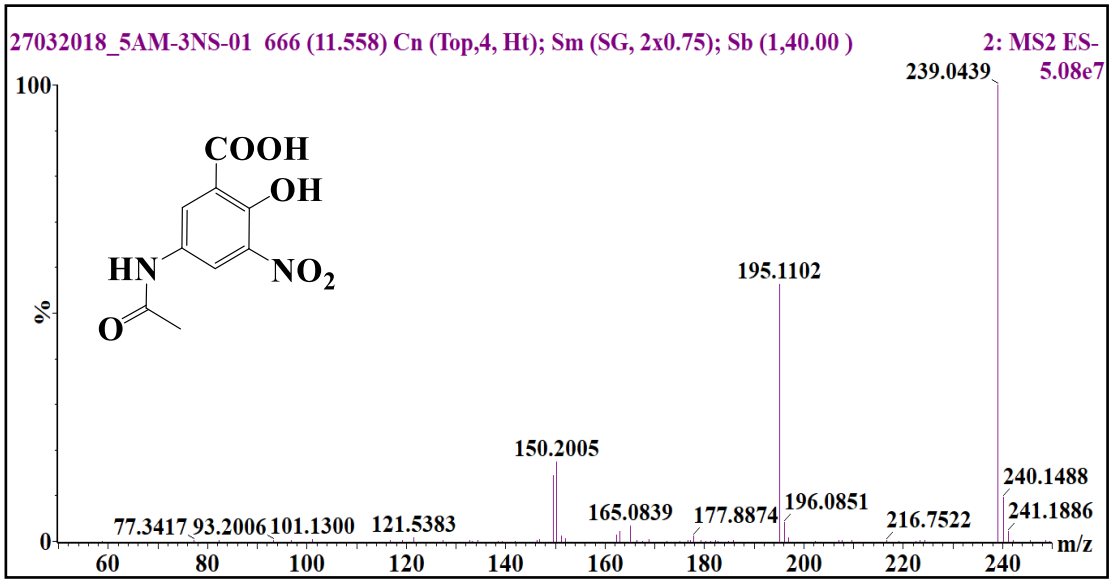


Figura 14A – Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6).**

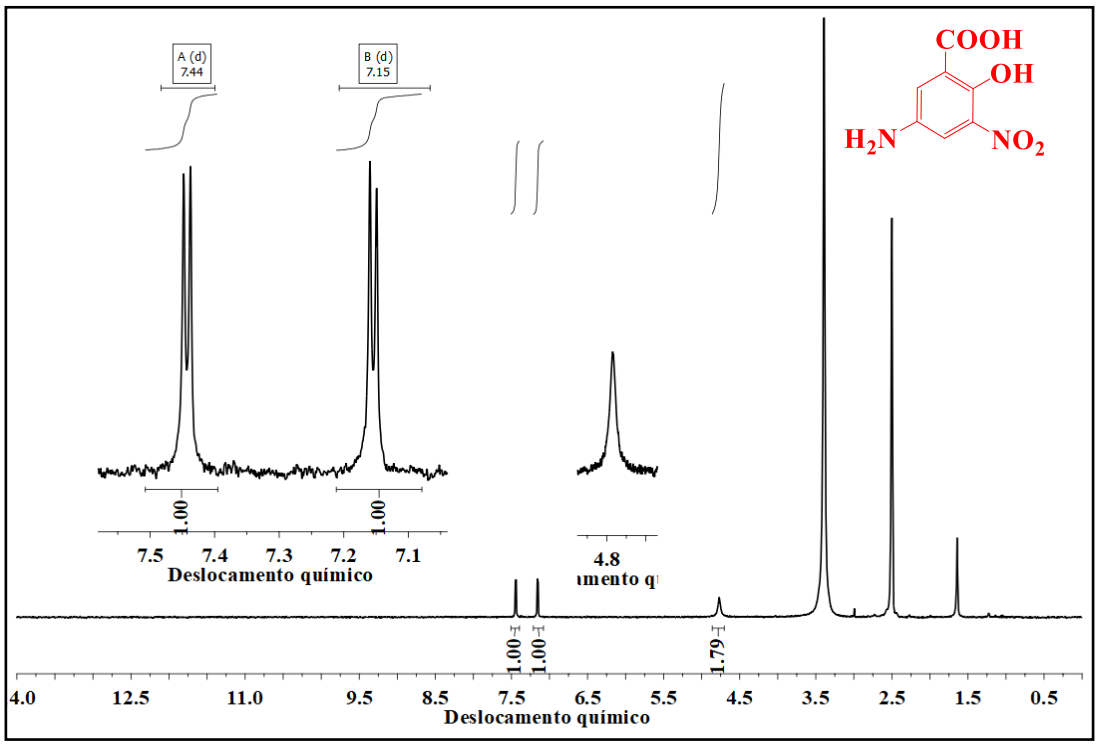


Figura 15A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7).**

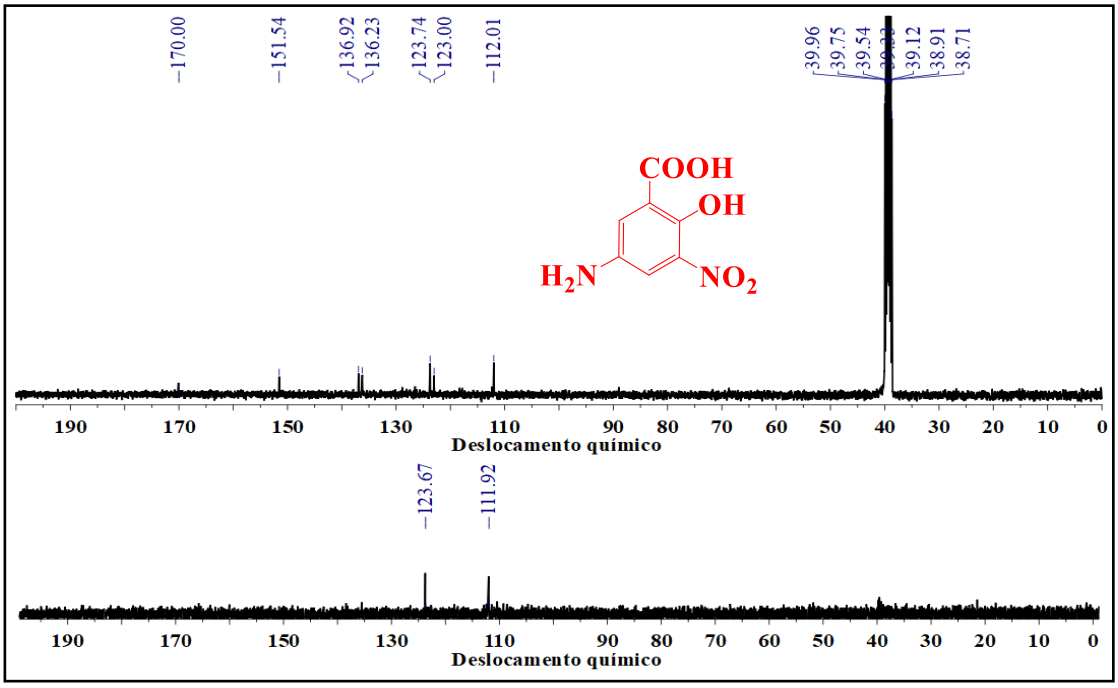


Figura 16A – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7).**

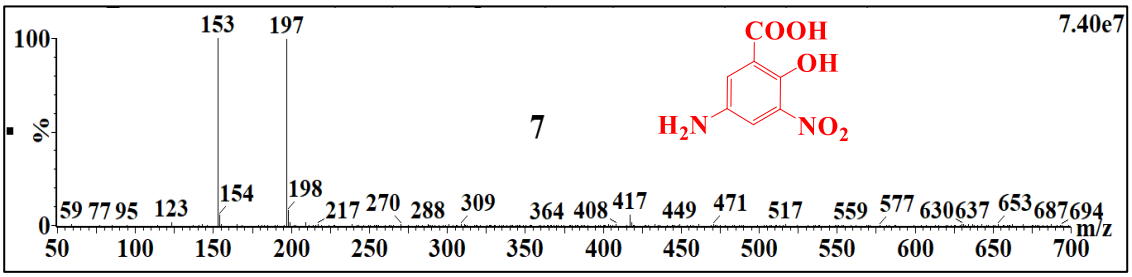


Figura 17A – Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7).**

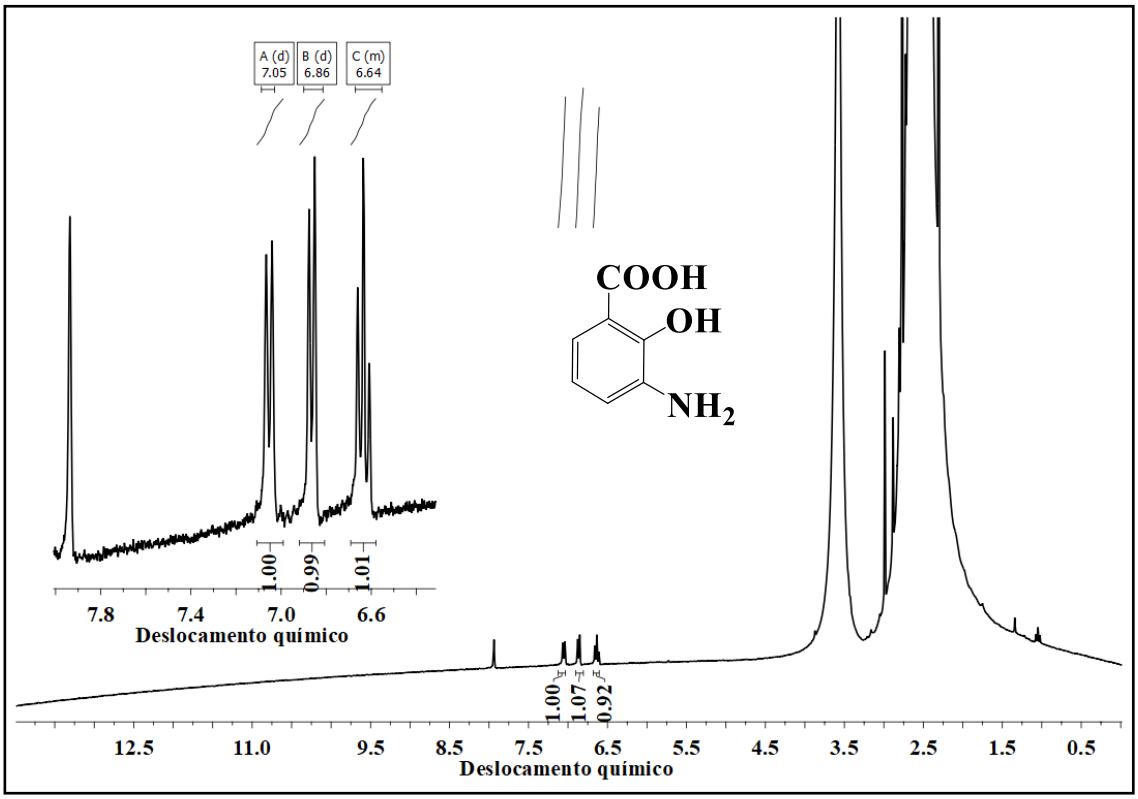


Figura 18A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**

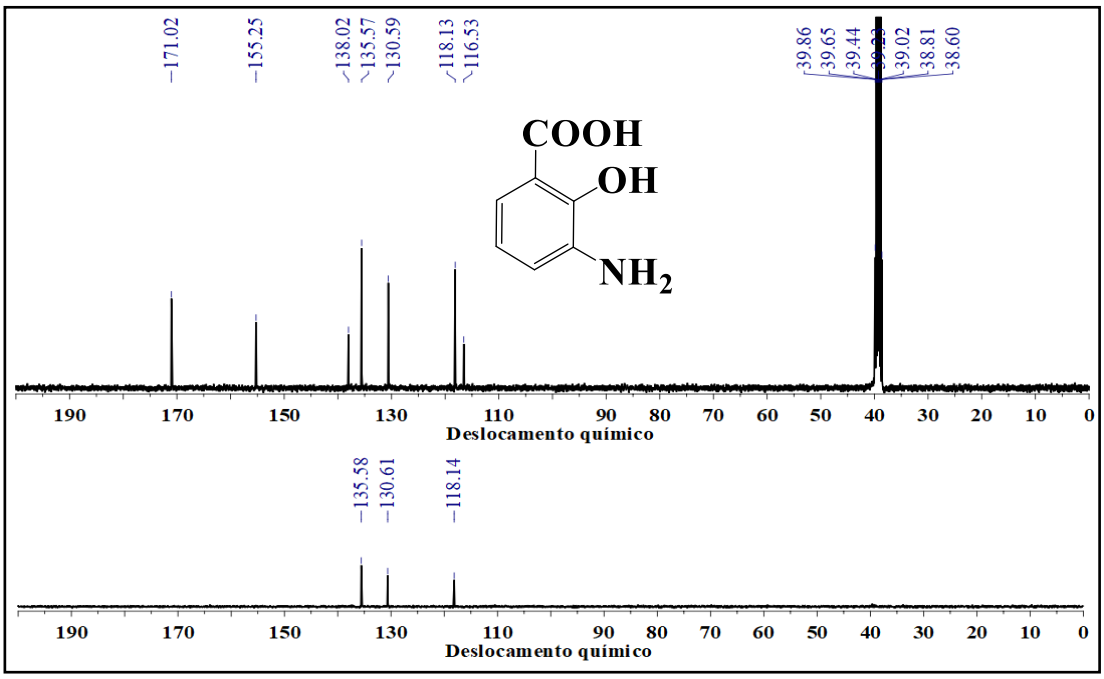


Figura 19A – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 3-amino -2-hidroxibenzoico **(8)**

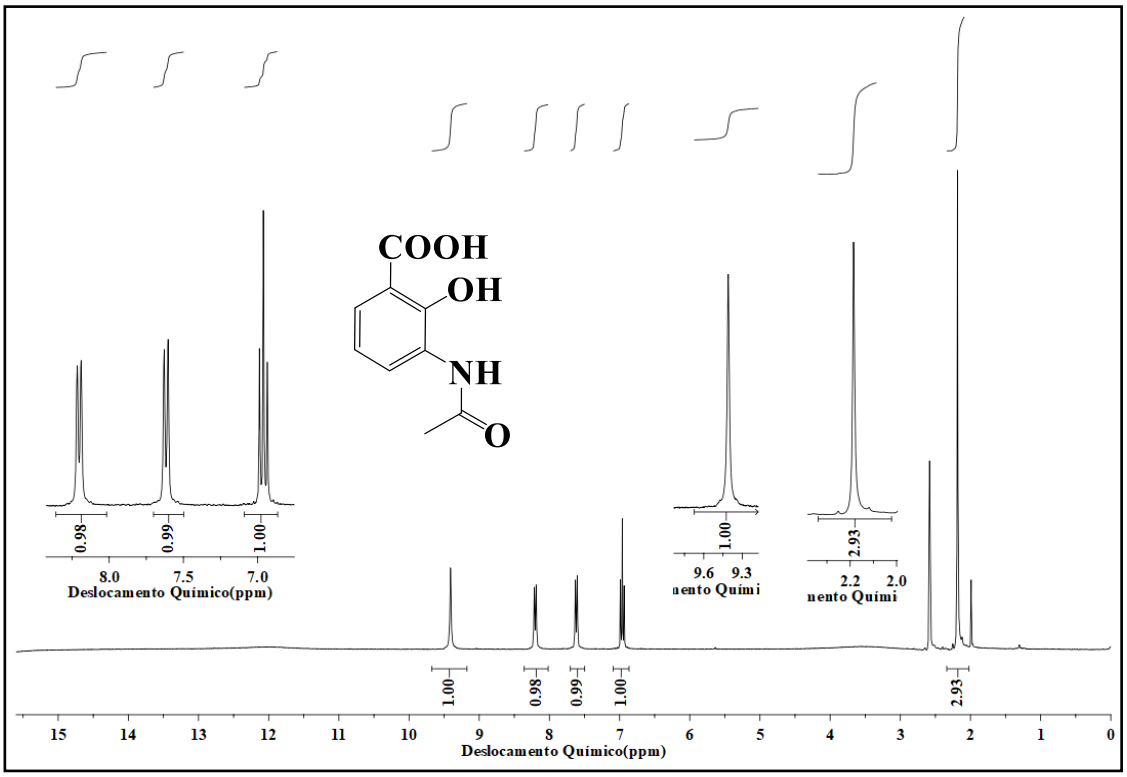


Figura 20A – Espectro de RMN ^{1}H (300 MHz – DMSO-*d6*) do ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9).**

Anexo B – Seção de espectros referentes a caracterização dos produtos de fotodegradação

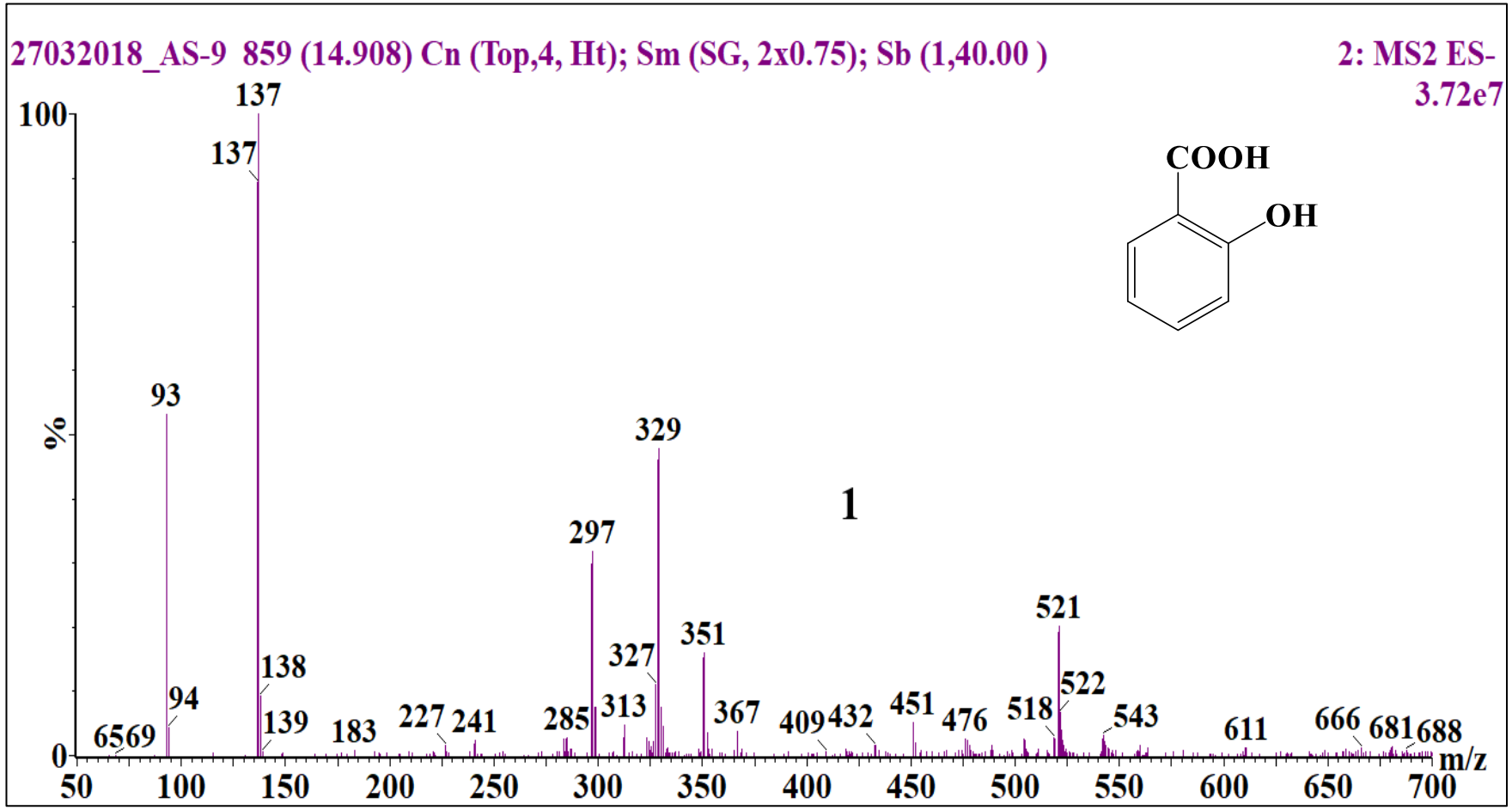


Figura 1B- Espectro de massas ESI(-) do ácido 2-hidroxibenzoico (**1**).

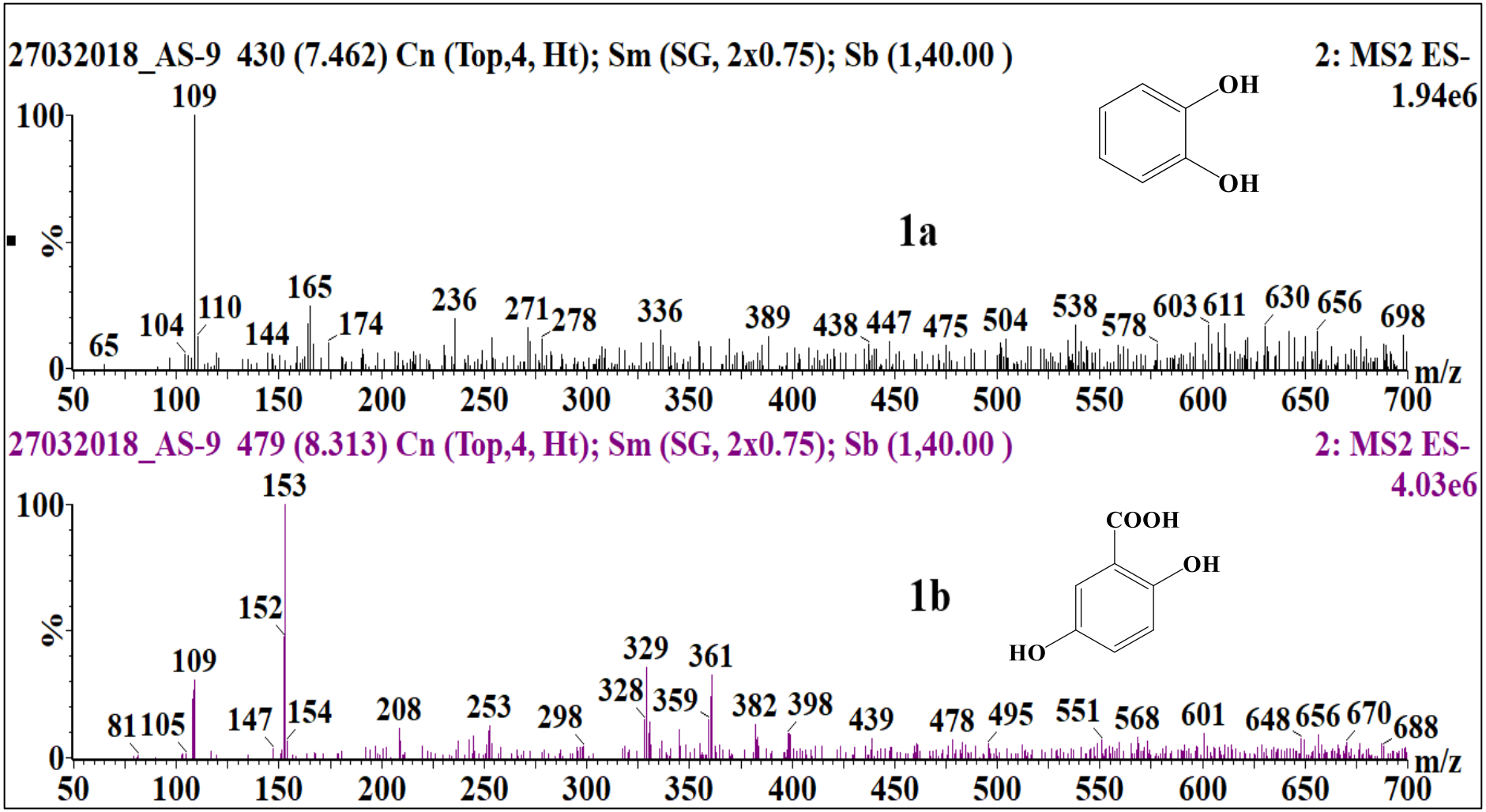


Figura 2B- Espectro de massas ESI(-) dos produtos **1a** e **1b** obtidos na fotólise do ácido 2-hidroxibenzoico (**1**).

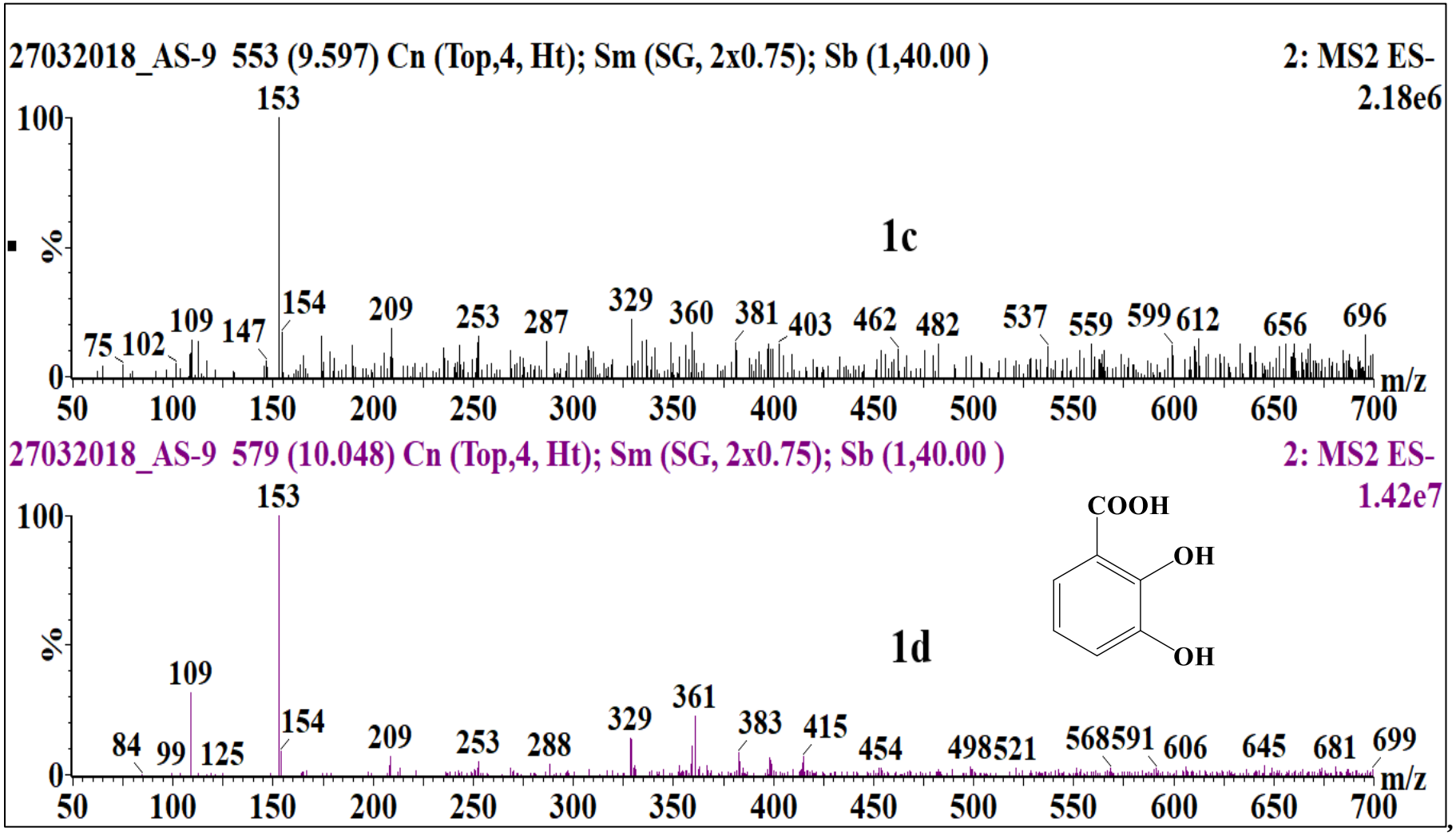


Figura 3B- Espectro de massas ESI(-) dos produtos **1c** e **1d** obtidos na fotólise do ácido 2-hidroxibenzoico (**1**).

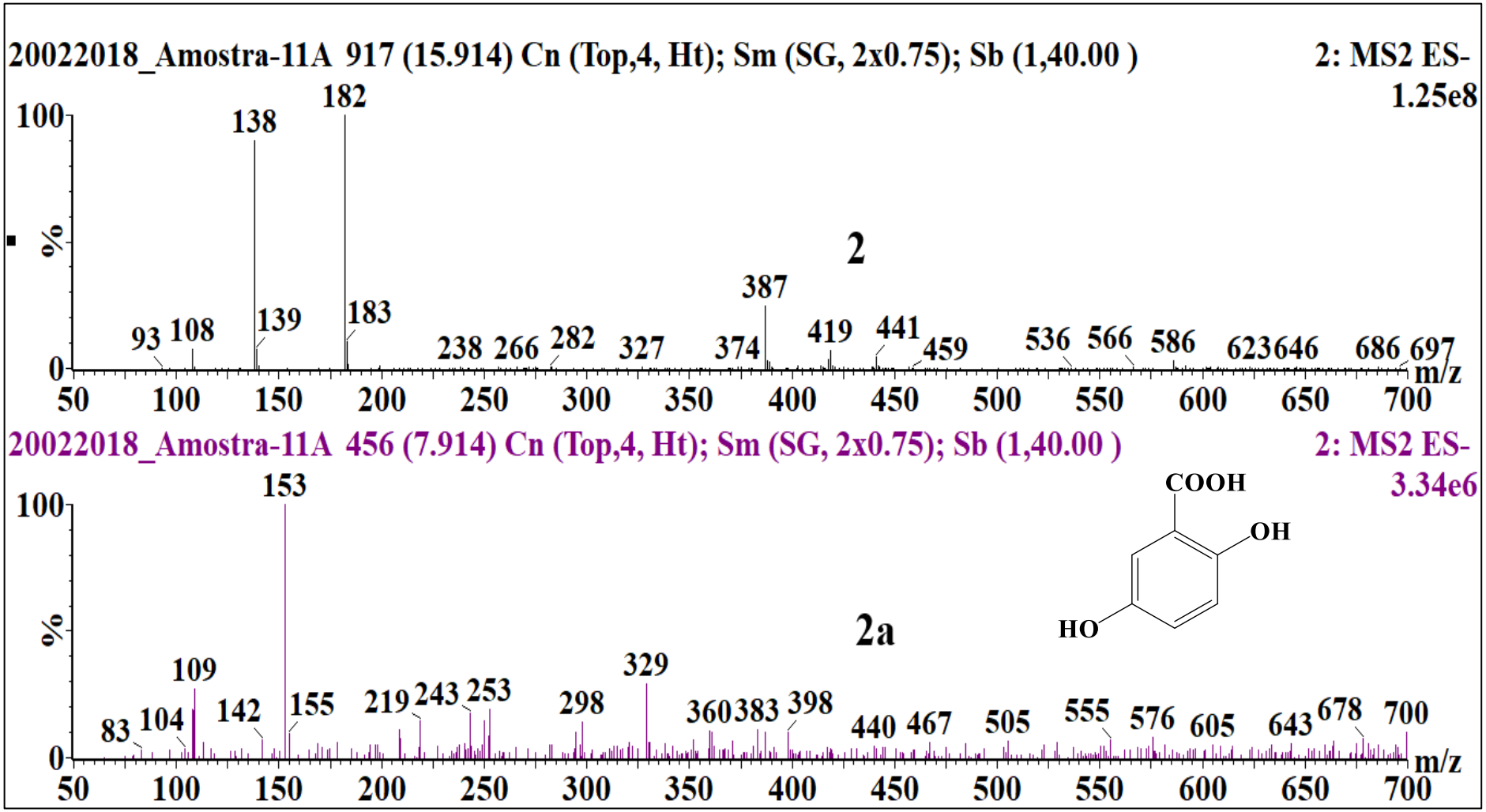


Figura 4B - Espectro de massas ESI(-) do ácido -2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**2**) e do produto de fotólise **2a**.

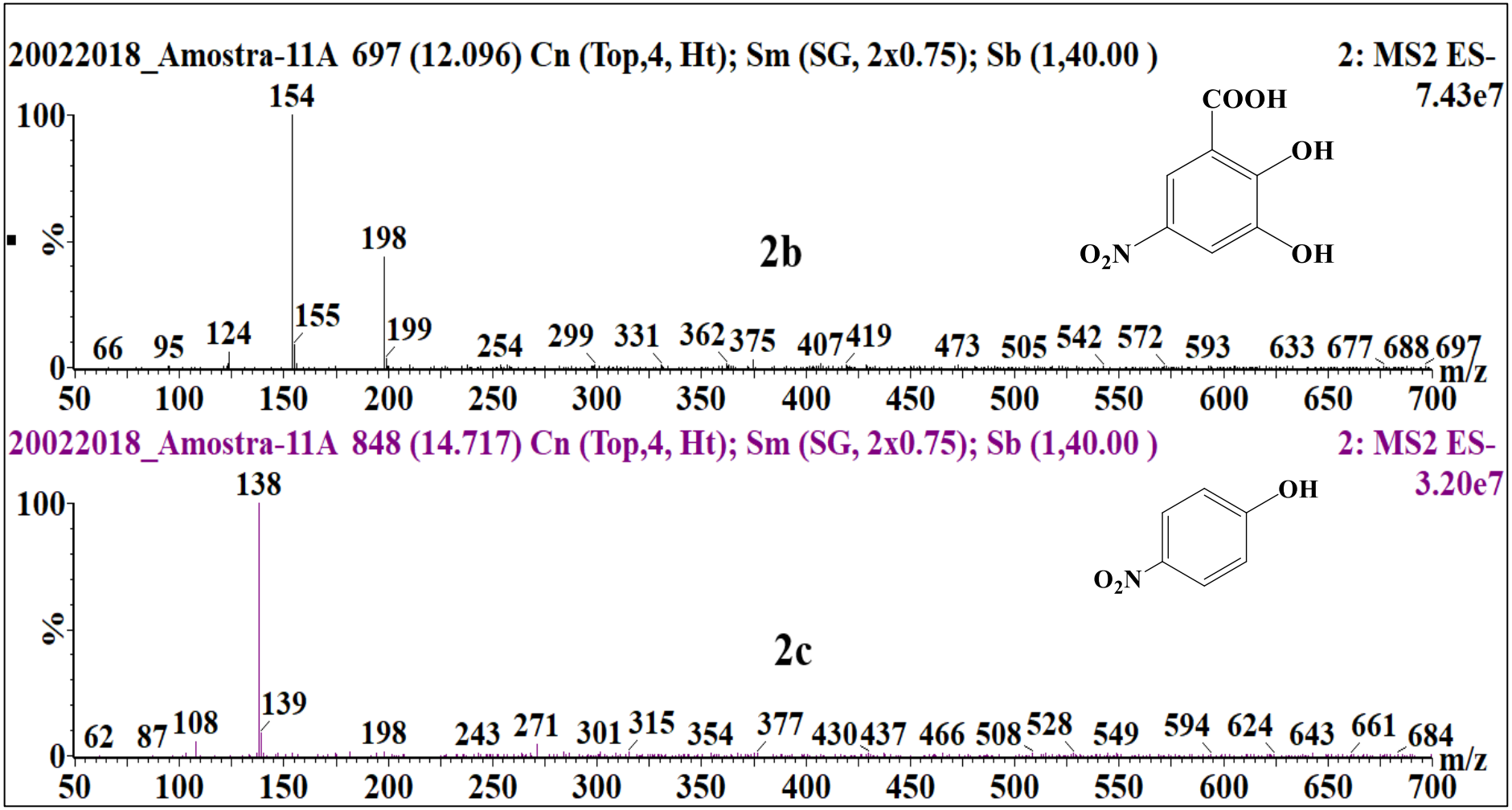


Figura 5B - Espectro de massas ESI(-) dos produtos **2b** e **2c** obtidos na fotólise do ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**2**).

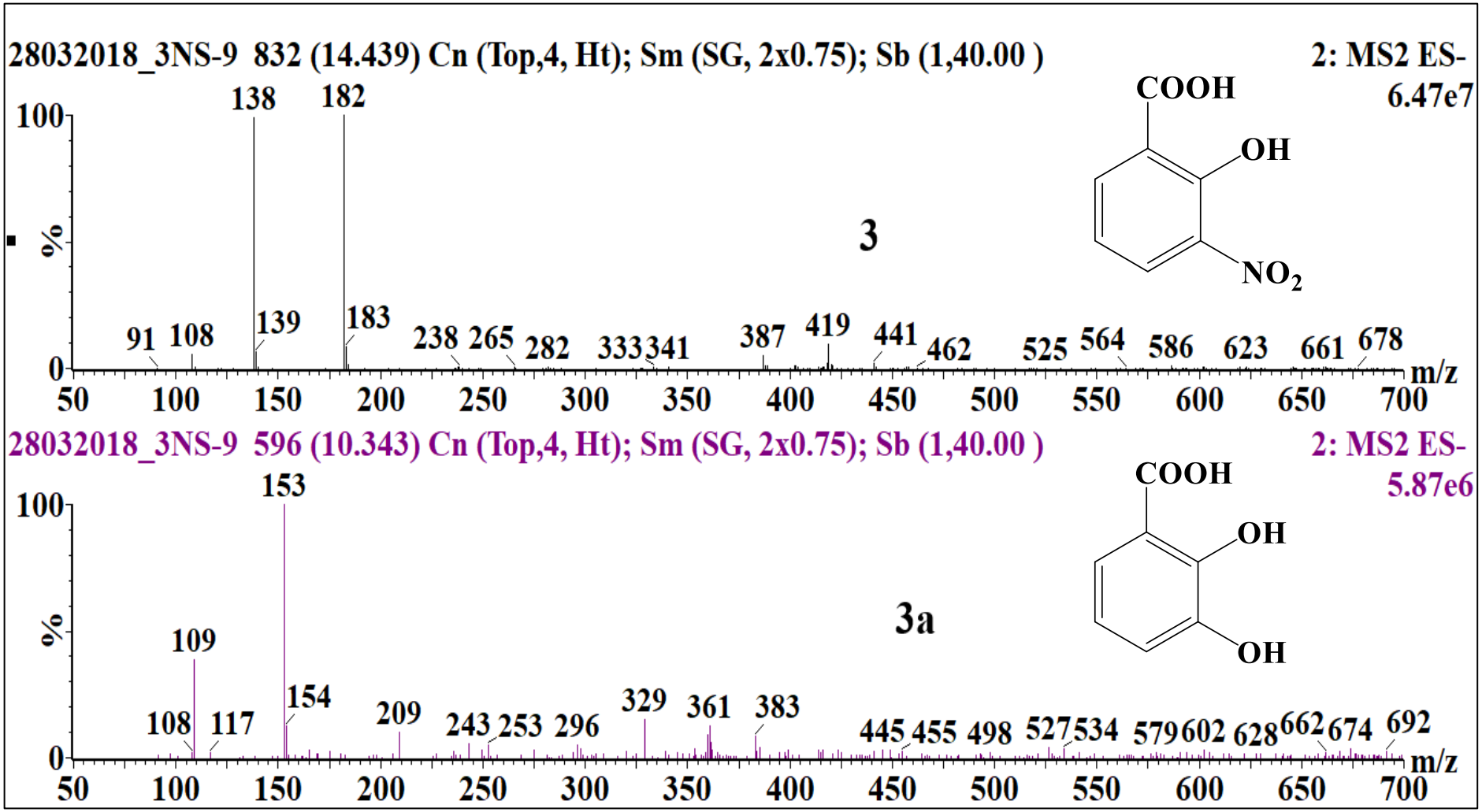


Figura 6B - Espectro de massas ESI(-) do ácido -2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**3**) e do produto de fotólise **3a**.

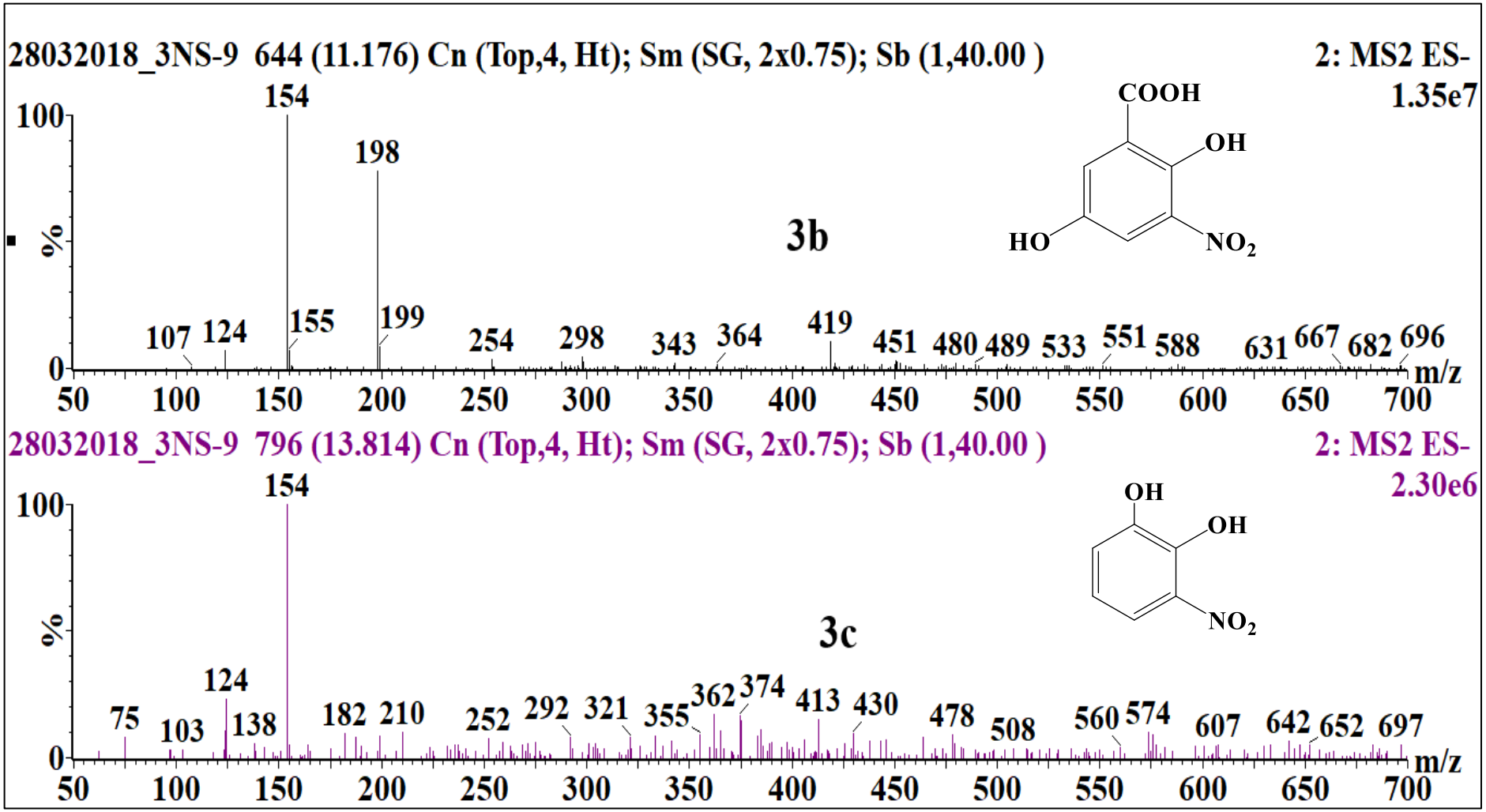


Figura 7B - Espectro de massas ESI(-) dos produtos **3b** e **3c** obtidos na fotólise do ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**3**).

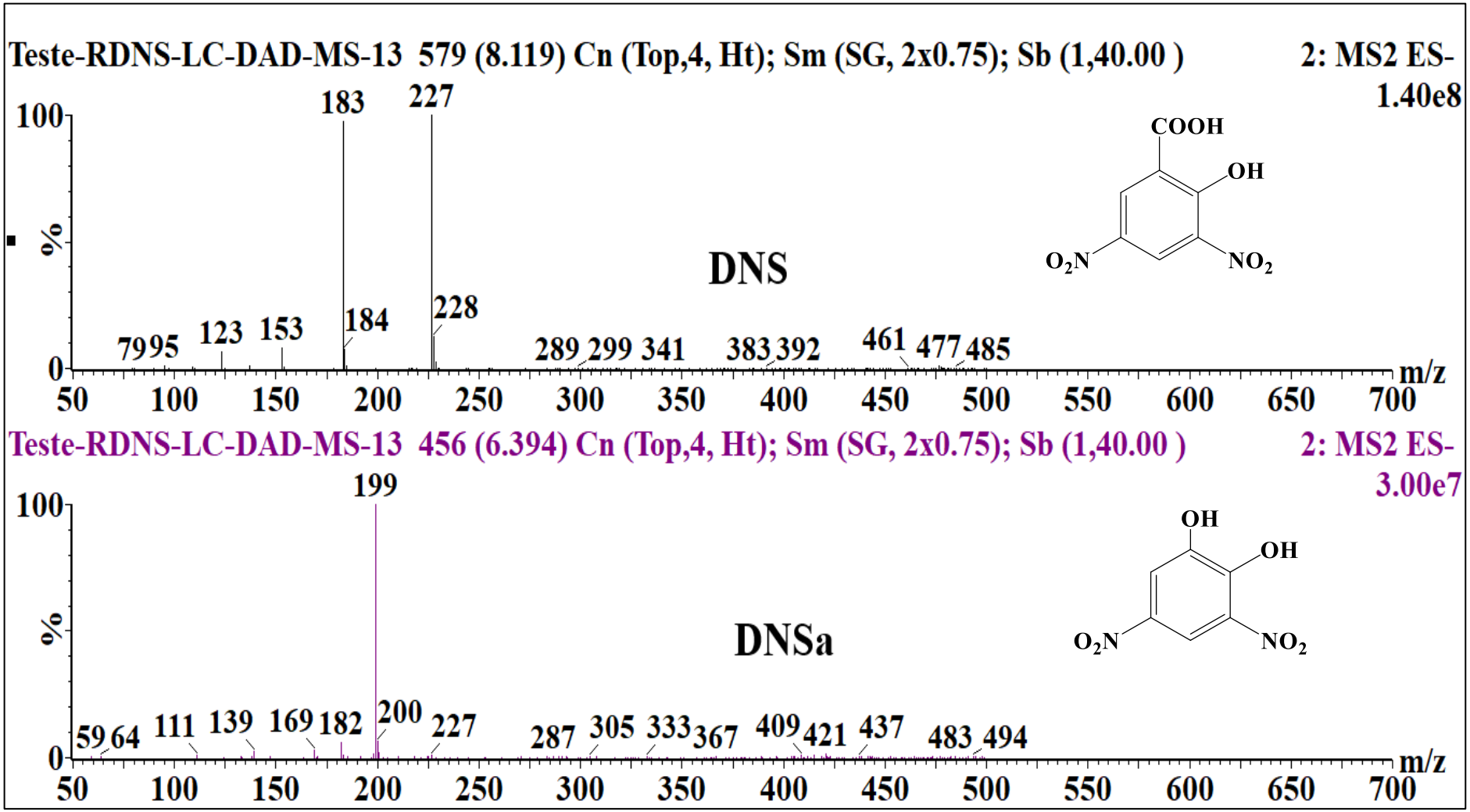


Figura 8B - Espectro de massas ESI(-) do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico (DNS) e do produto de fotólise DNSa.

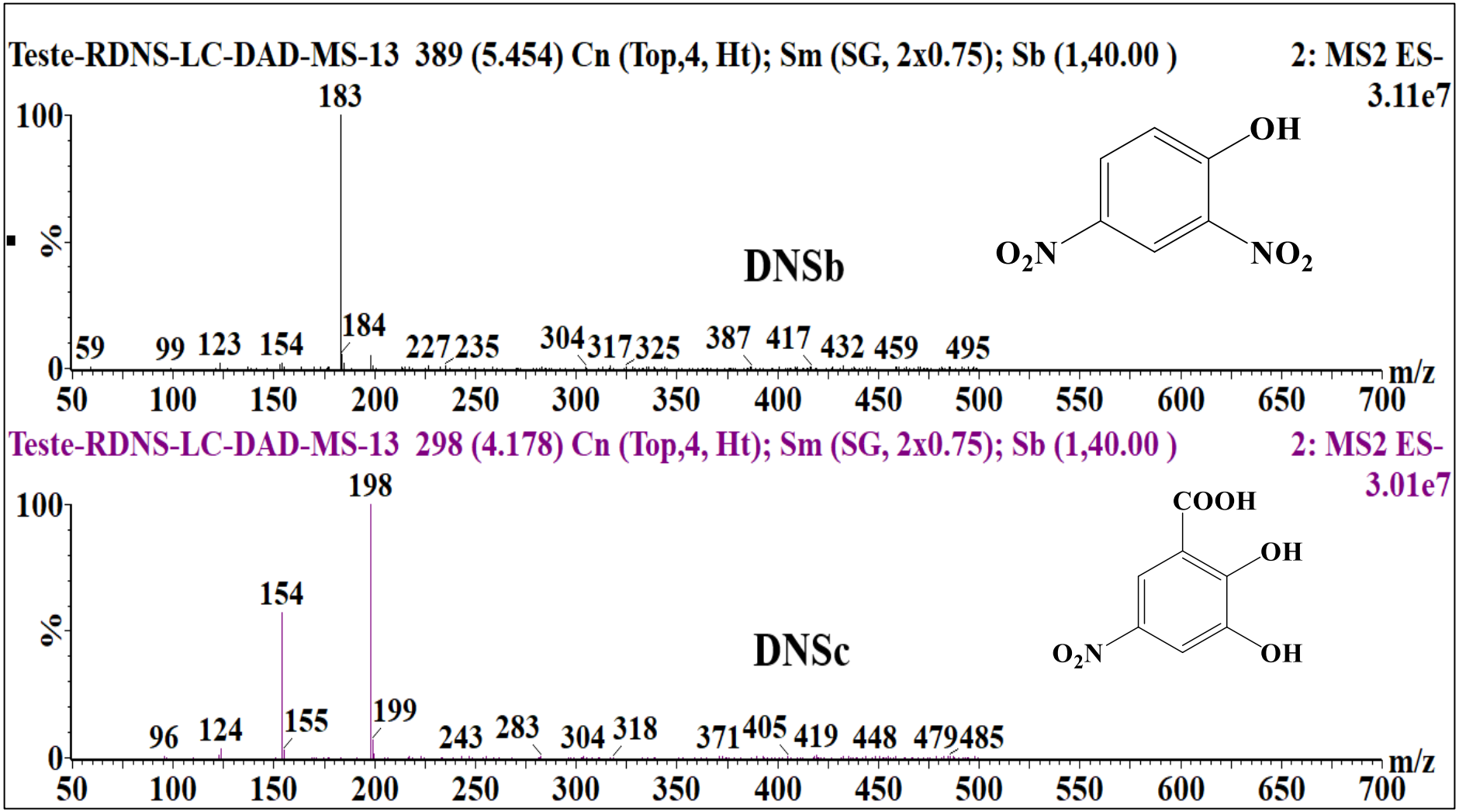


Figura 9B - Espectro de massas ESI(-) dos produtos **DNSb** e **DNSc** obtidos na fotólise do **DNS**.

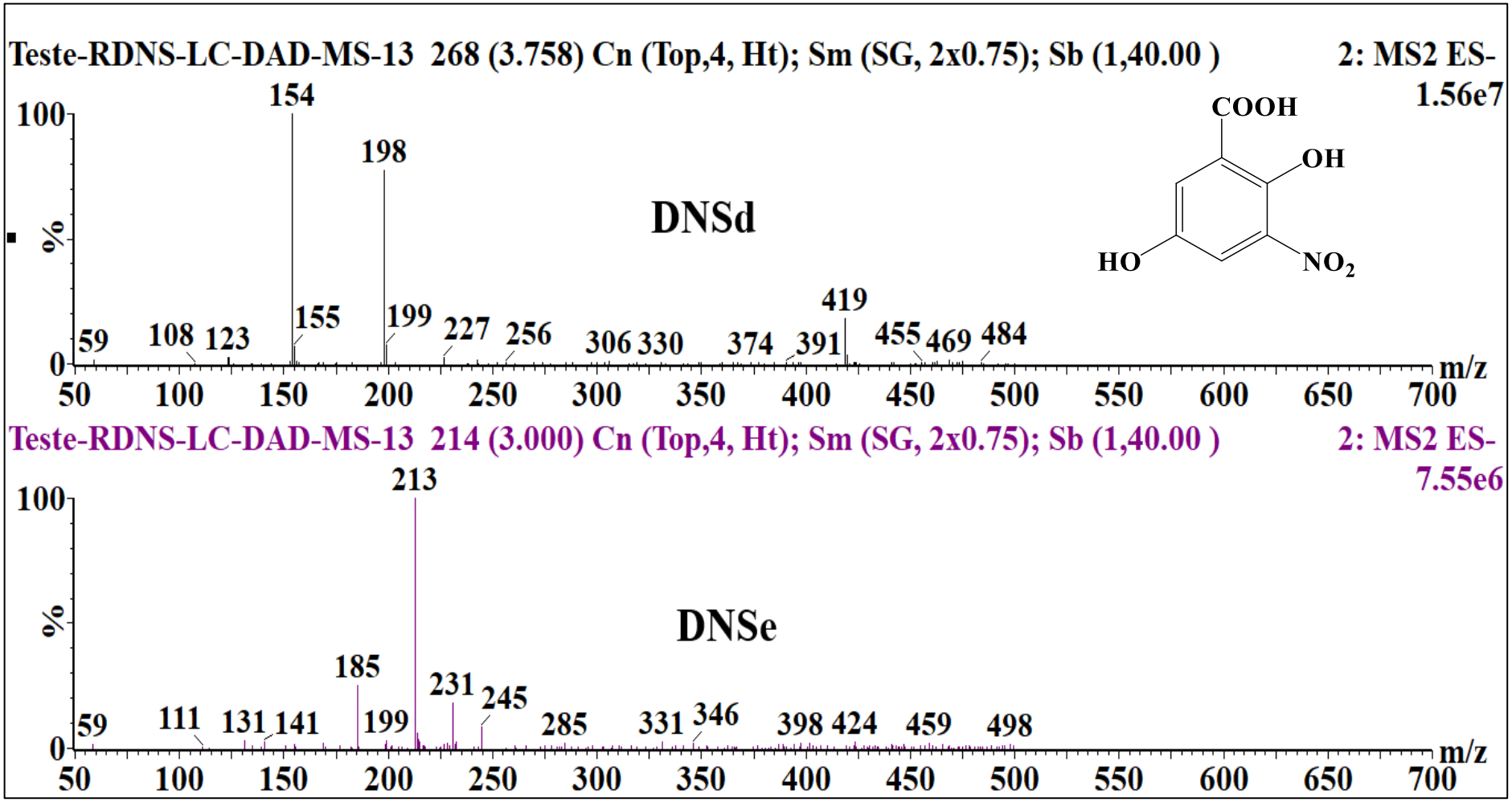


Figura 10B- Espectro de massas ESI(-) dos produtos **DNSd** e **DNSe** obtidos na fotólise do **DNS**.

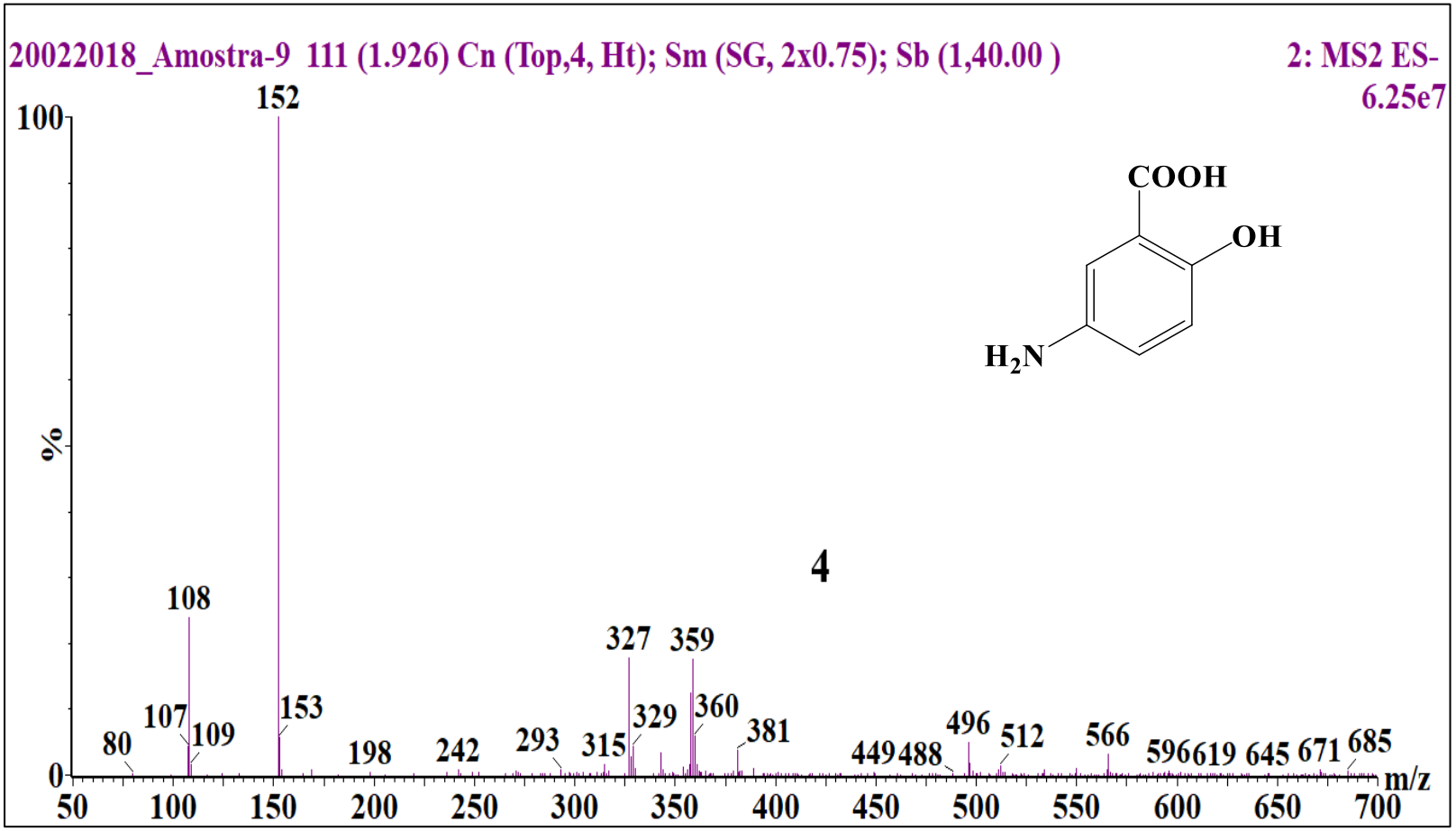


Figura 11B - Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico (**4**).

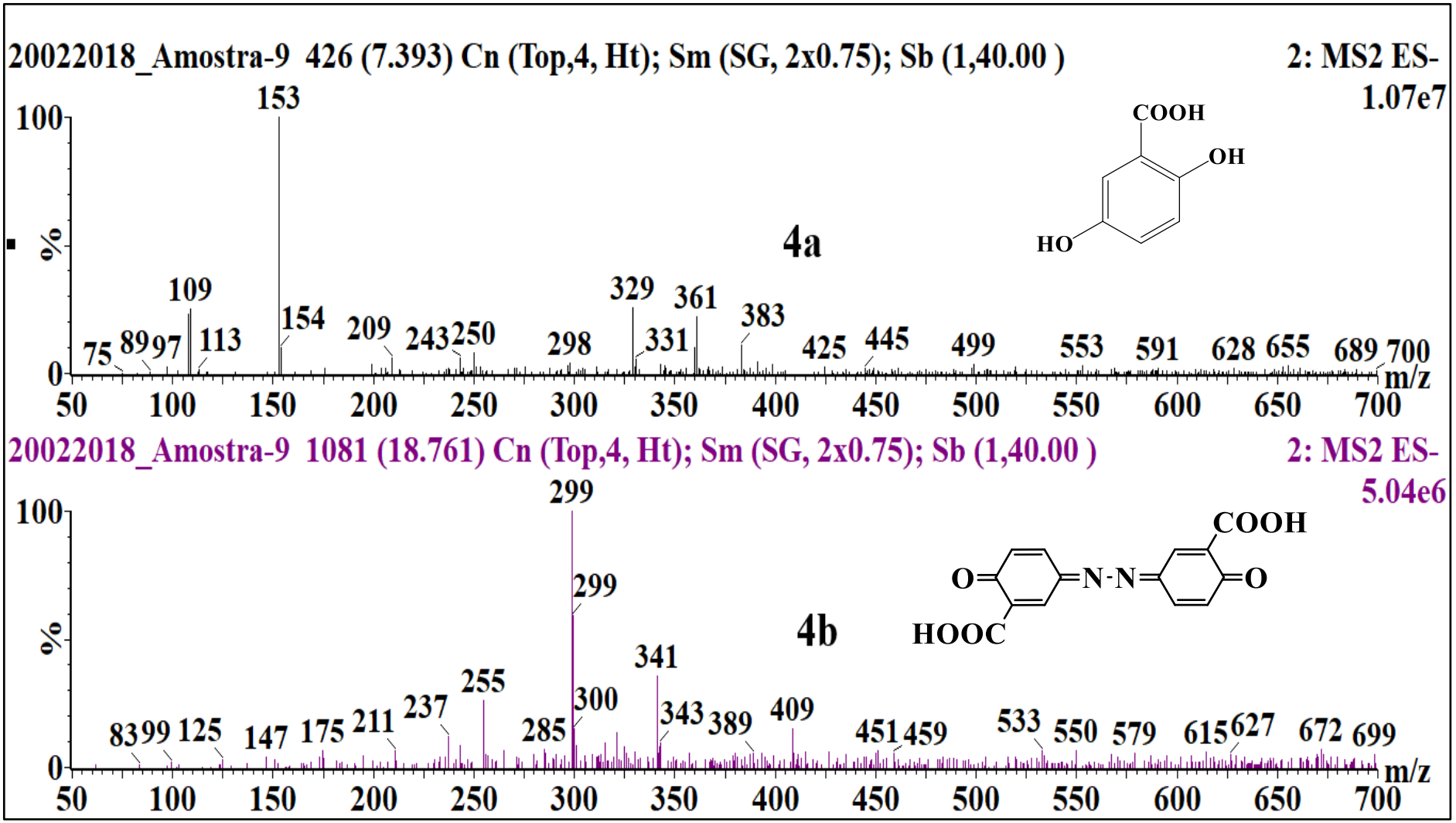


Figura 12B - Espectro de massas ESI(-) dos produtos **4a** e **4b** obtidos na fotólise do ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico (**4**).

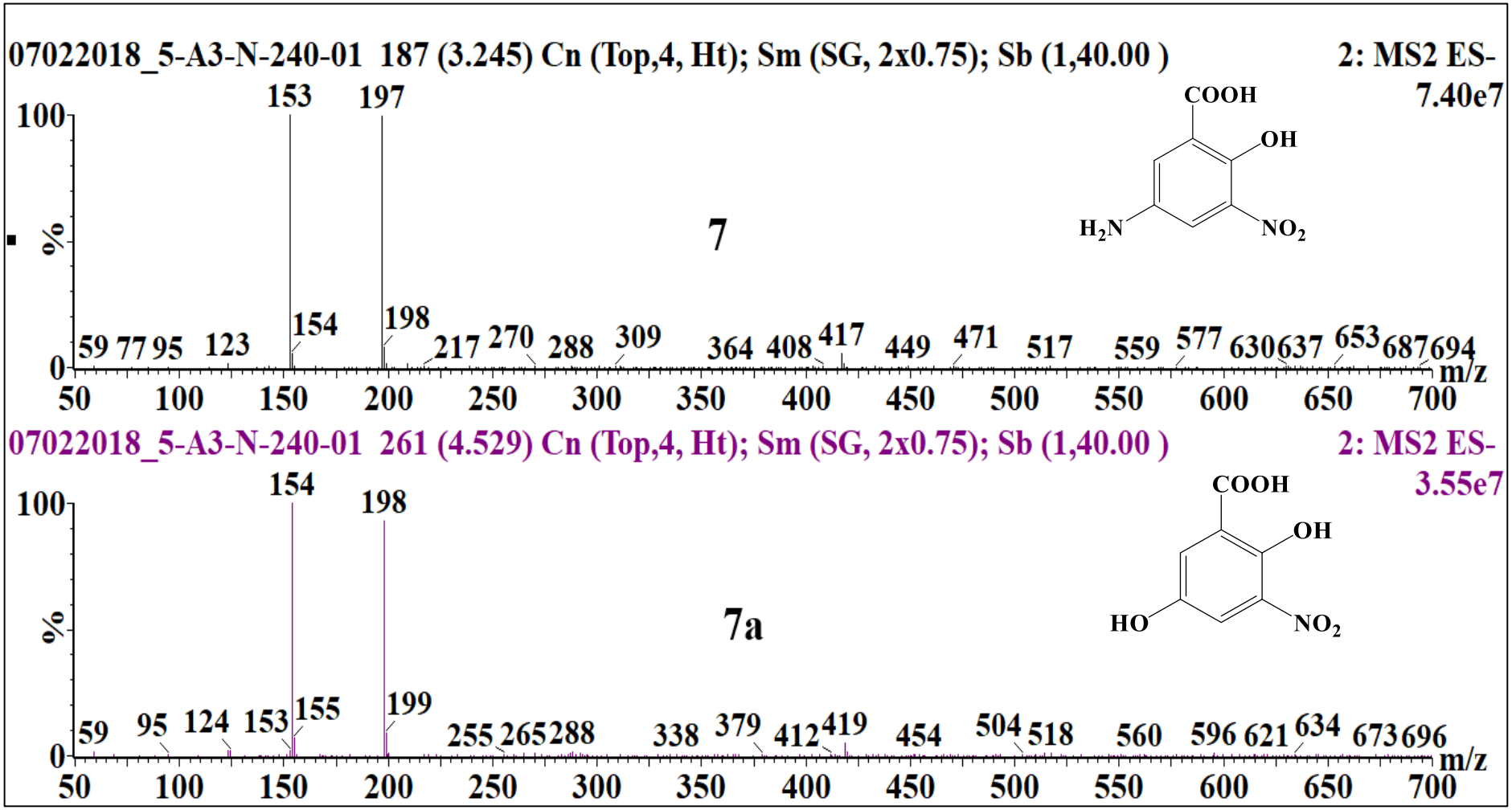


Figura 13B - Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico (**7**) e do produto de fotólise **7a**.

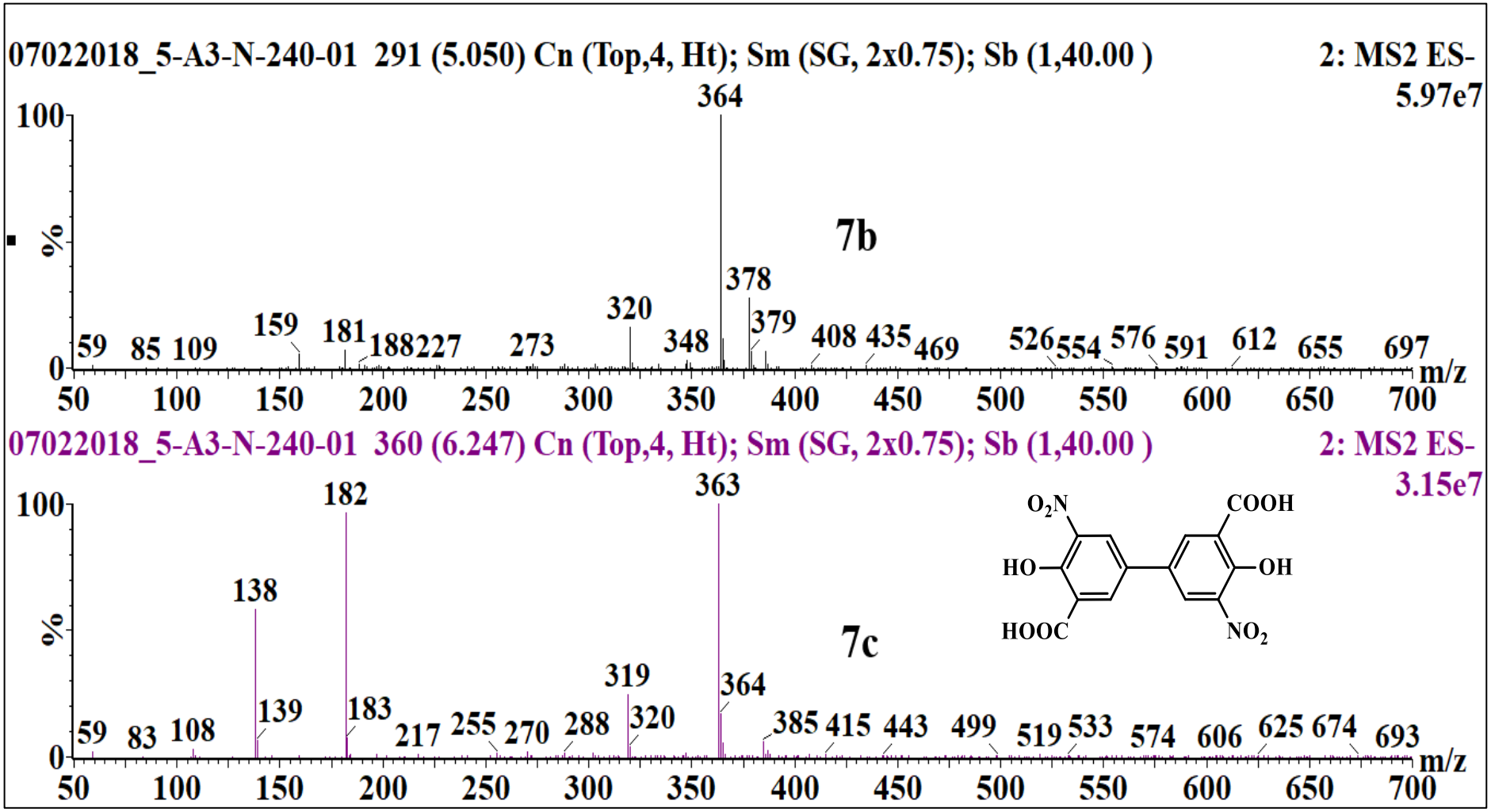


Figura 14B - Espectro de massas ESI(-) dos produtos **7b** e **7c** obtidos na fotólise do **7**.

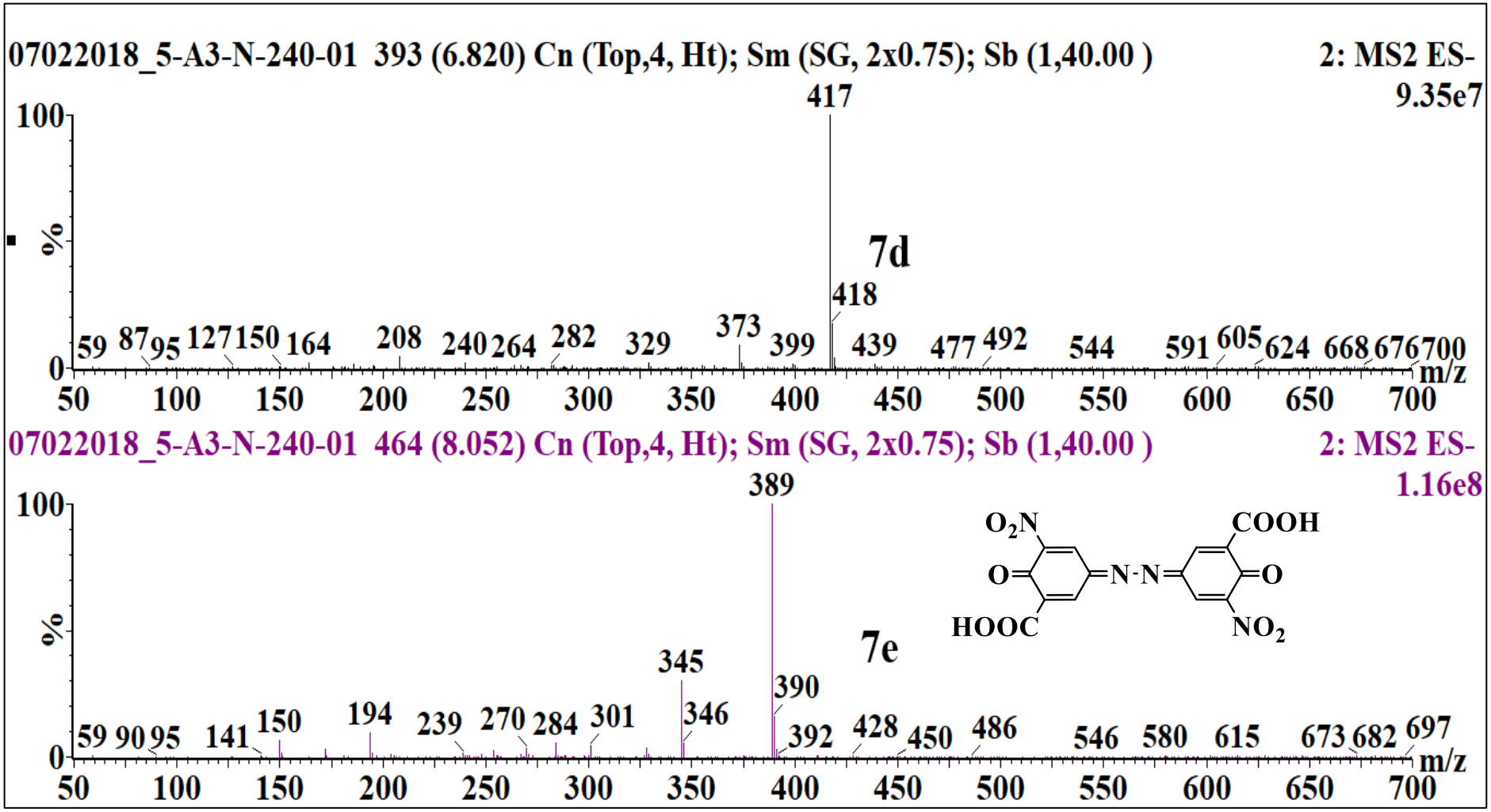


Figura 15B - Espectro de massas ESI(-) dos produtos **7d** e **7e** obtidos na fotólise do **7**.

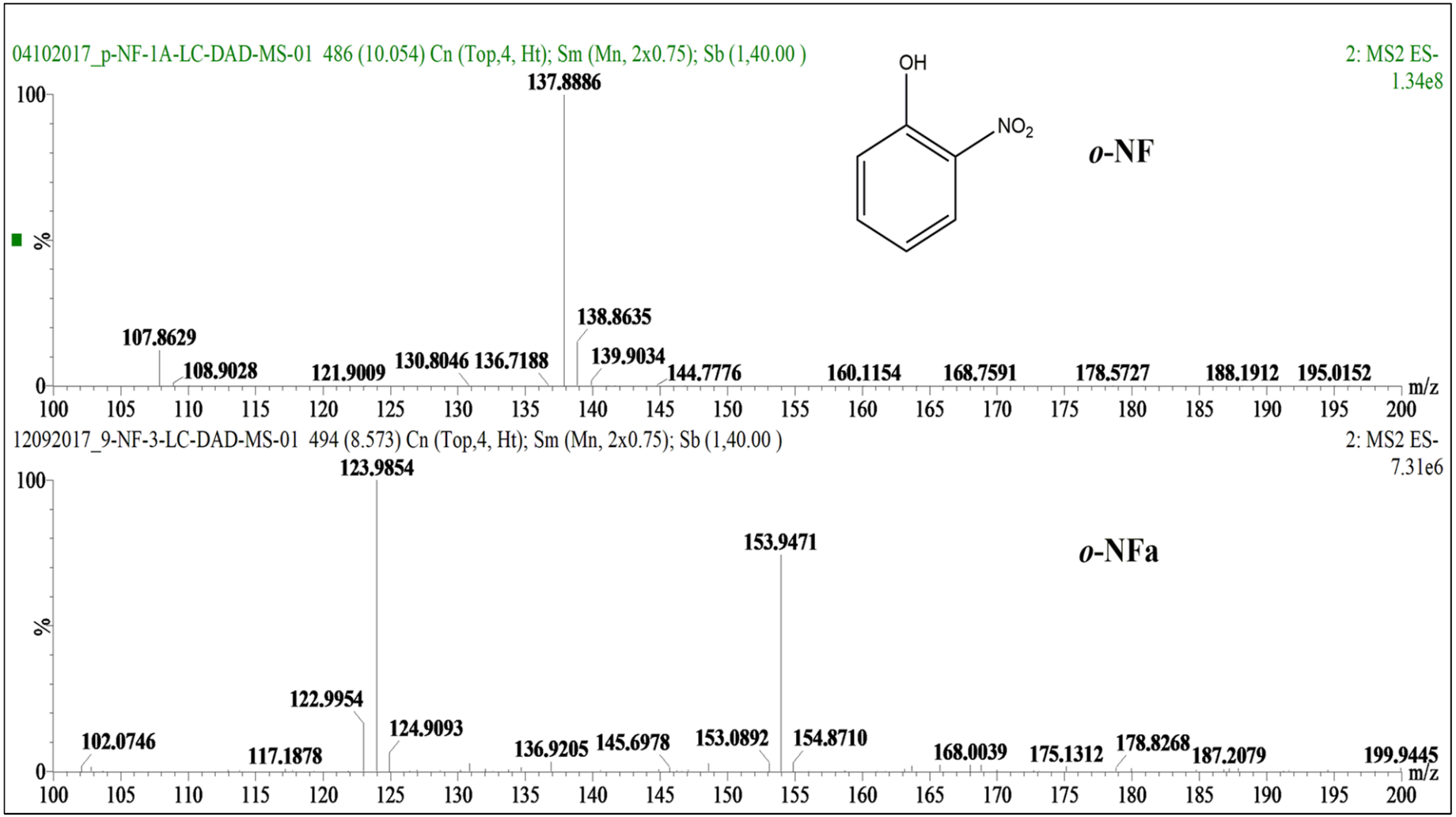


Figura 16B - Espectro de massas ESI(-) do *orto*-nitrofenol (**o-NF**) e do produto de fotólise **o-NFa**.

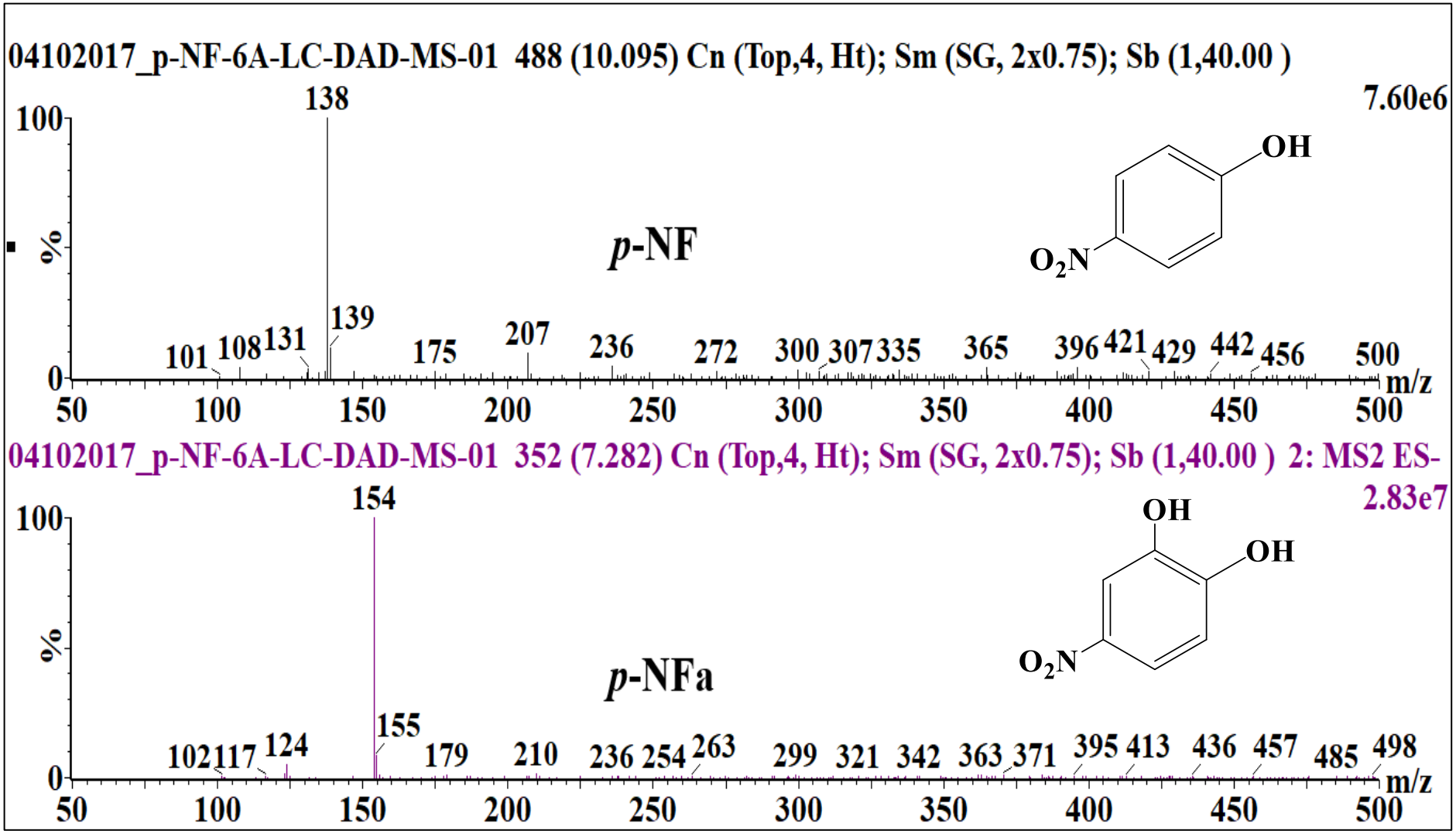


Figura 17B - Espectro de massas ESI(-) do *para*-nitrofenol (**p-NF**) e do produto de fotólise **p-NFa**.

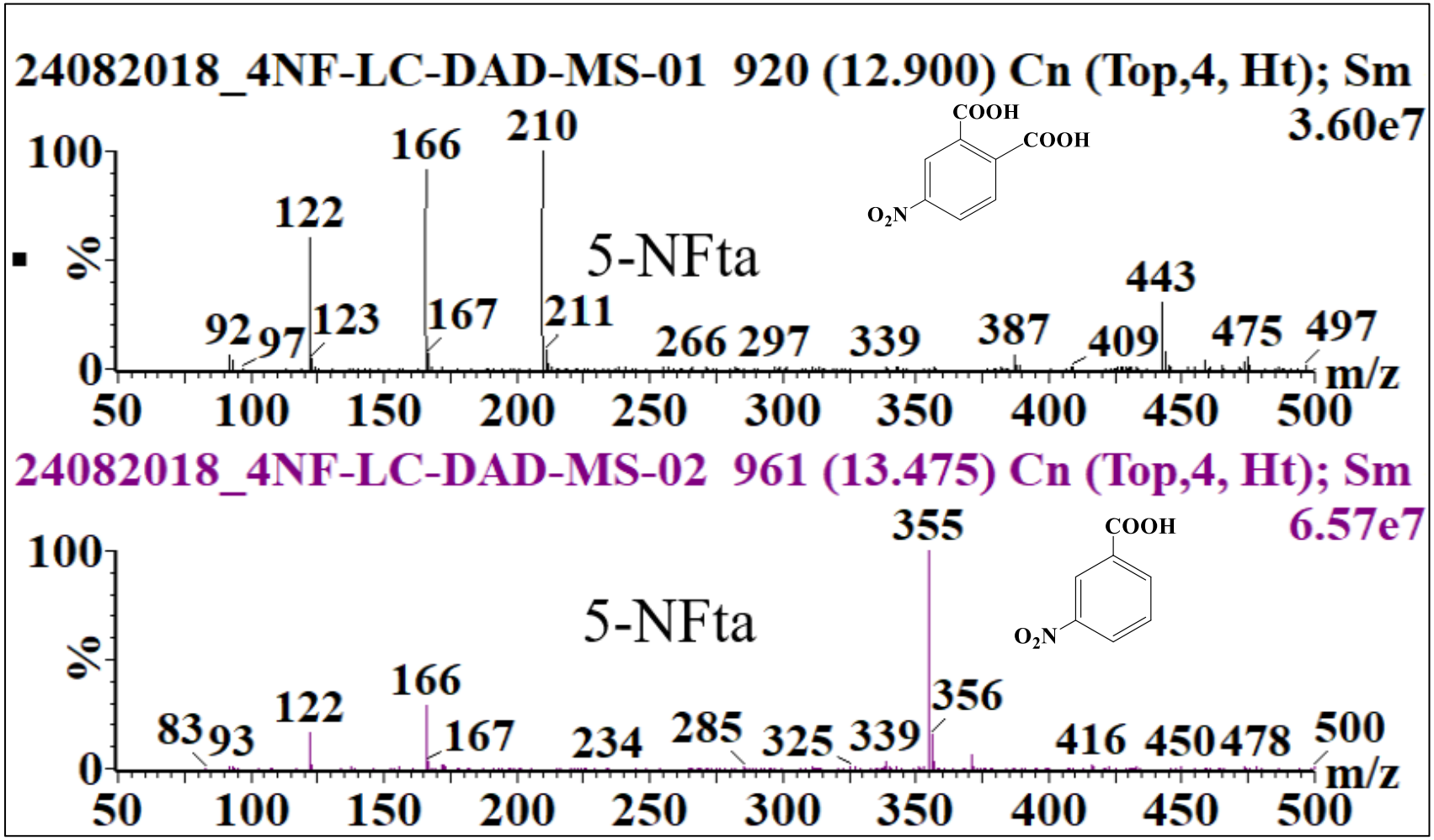


Figura 18B - Espectro de massas ESI(-) do ácido 5-nitroftálico (**5-NFt**) e do produto de fotólise **5-NFta**.

Anexo C – Dados computacionais sobre densidade de spin de Mulliken.

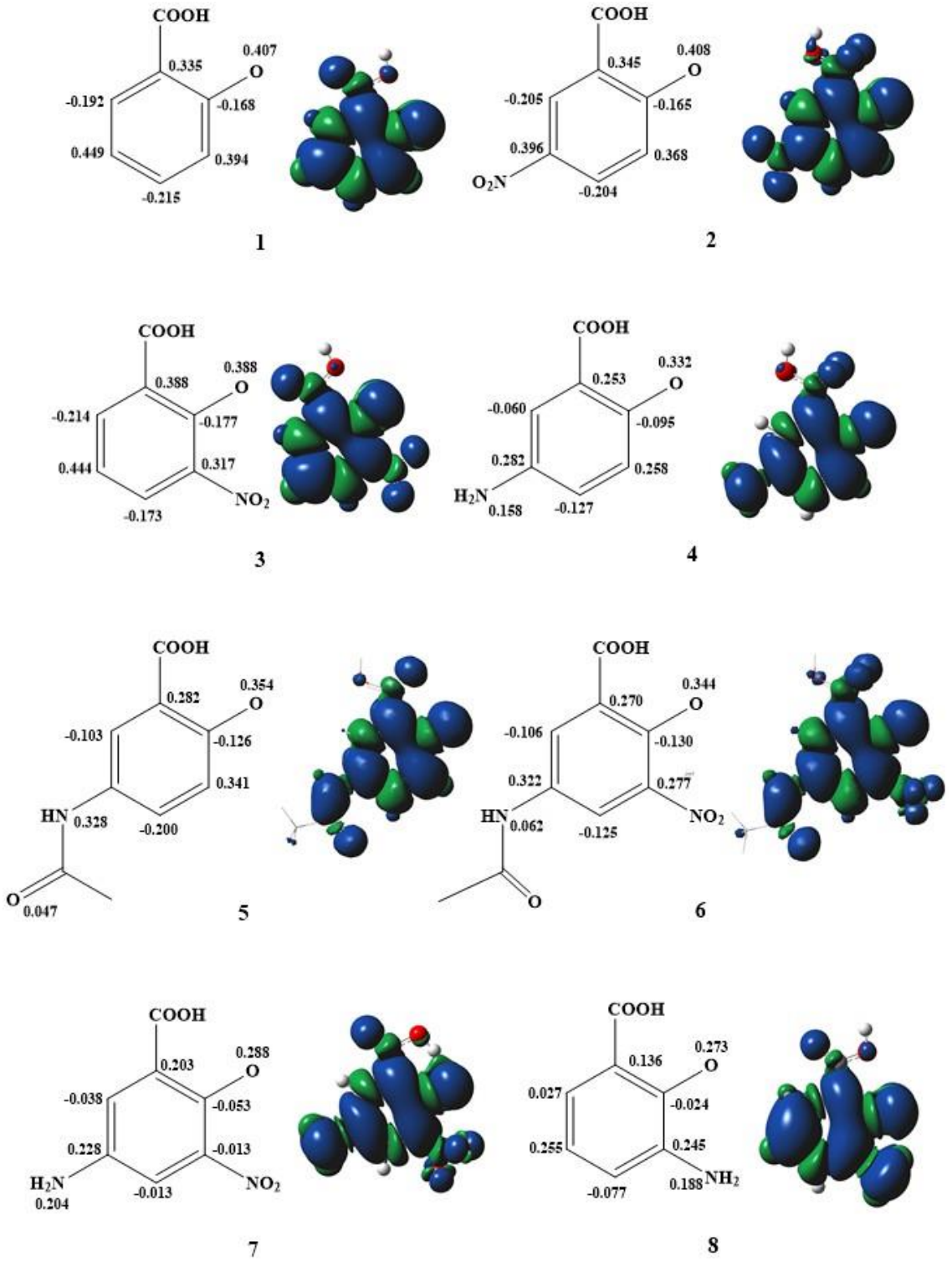


Figura 1C – Densidade de spin de Mulliken obtidos por meio de cálculos teóricos (DFT-B3LYP-3-61+G(d,p)) dos radicais fenoxila do ácido 2-hidroxibenzoico **(1)**, ácido 2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(2)**, ácido 2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(3)**, ácido 5-amino-2-hidroxibenzoico **(4)**, ácido 5-amino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(7)** ácido 3-amino-2-hidroxibenzoico **(8)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(5)**, ácido 5-acetilamino-2-hidroxi-3-nitrobenzoico **(6)**. As regiões em cor azul possuem densidade de spin positiva, enquanto regiões em verde correspondem a densidade de spin negativa. Isovalor = 0,02.

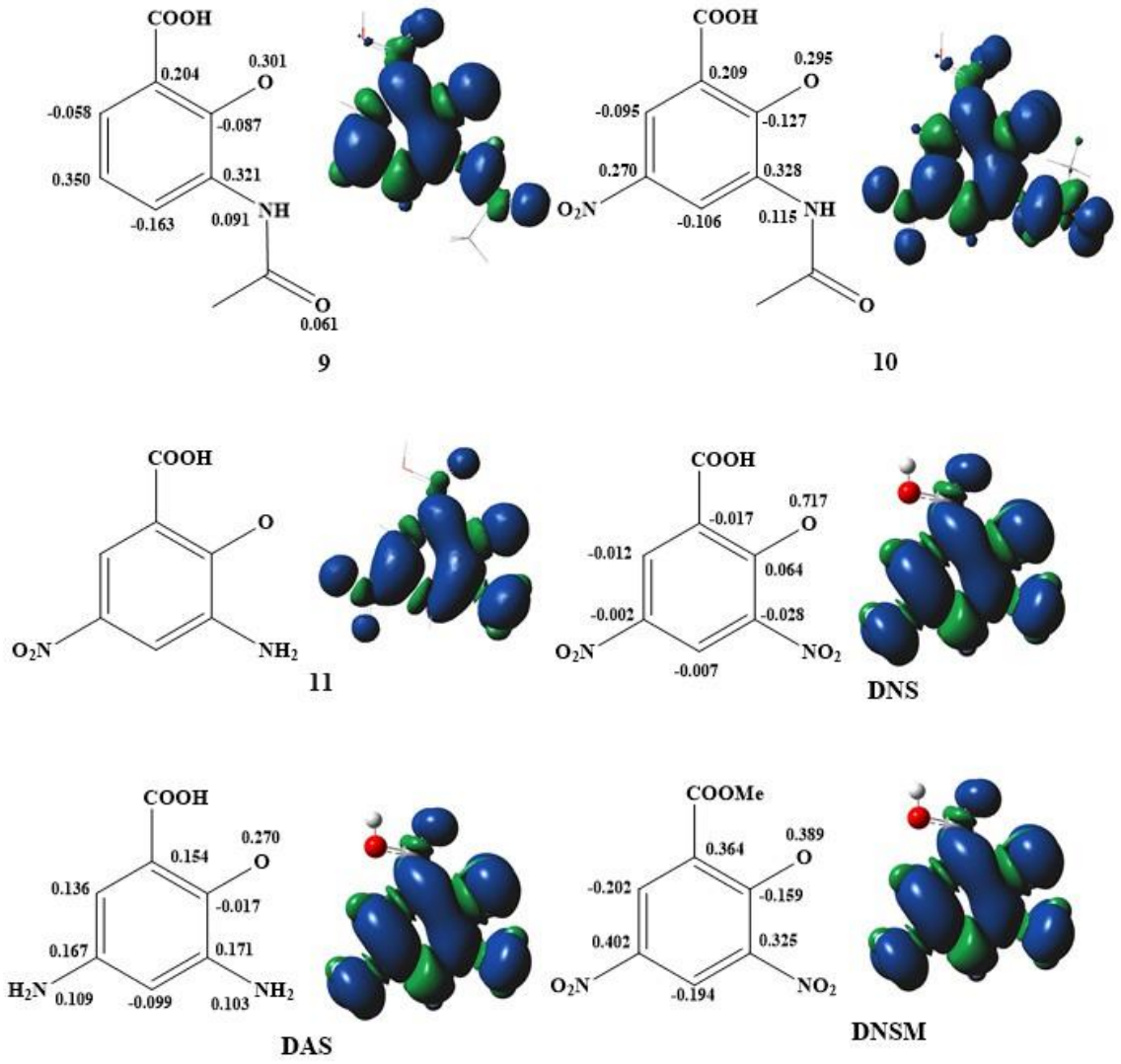


Figura 2C – Densidade de spin de Mulliken obtidos por meio de cálculos teóricos (DFT-B3LYP-3-61+G(d,p)) dos radicais fenoxila do ácido 2-hidroxi-3,5-dinitrobenzoico **(DNS)**, ácido 3-amino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(11)**, ácido 3,5-diamino-2-hidroxibenzoico **(DAS)**, 3,5-dinitrobenzoato de metila **(DNSM)**, ácido 3-acetilamino-2-hidroxibenzoico **(9)** e ácido 3-acetilamino-2-hidroxi-5-nitrobenzoico **(10).** As regiões em cor azul possuem densidade de spin positiva, enquanto regiões em verde correspondem a densidade de spin negativa. Isovalor = 0,02.

Tabela 1C – Comparação entre comprimentos de ligações (Å) dos compostos neutros e seus respectivos radicais fenoxila

Composto	C2-O		C1-COOH		$C3-NO_2$		$C5-NO_2$		$C3-NH_2$		$C5-NH_2$		$C3-NHCOCH_3$		$C5-NHCOCH_3$	
	Neutra	*Radical*	*Neutra*	*Radical*	*Neutra*	*Radical*	*Neutra*	*Radical*	*Neutra*	*Radical*	*Neutra*	*Radical*	*Neutra*	*Radical*	*Neutra*	*Radical*
1	1,354	1,253	1,476	1,497												
2	1,335	1,249	1,469	1,495			1,465	1,473								
3	1,328	1,239	1,496	1,503	1,450	1,485										
4	1,351	1,248	1,464	1,488							1,405	1,367				
5	1,347	1,247	1,464	1,49											1,416	1,394
6	1,327	1,239	1,491	1,493	1,455	1,470									1,410	1,399
7	1,351	1,254	1,515	1,516	1,449	1,469					1,391	1,358				
8	1,363	1,247	1,476	1,49					1,377	1,347						
9	1,346	1,244	1,467	1,489									1,406	1,37		
10	1,333	1,238	1,472	1,493			1,467	1,469					1,414	1,373		
11	1,344	1,238	1,469	1,490			1,467	1,466	1,382	1,351						
DNS	1,319	1,289	1,496	1,476	1,457	1,448	1,470	1,467								
DAS	1,358	1,247	1,464	1,483					1,390	1,351	1,406	1,376				
DNBM	1,320	1,24	1,501	1,501	1,456	1,469	1,469	1,475								