

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituto de Química

Departamento de Química Orgânica

Grupo de Pesquisa em Fotoquímica Orgânica Aplicada - GPFOA

Dissertação de Mestrado

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA DE NOVAS
MEROCIANINAS E APLICAÇÃO NA ÁREA DE SENSORES
ÓPTICOS

Mauro Safir Filho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS
para a obtenção do Título de Mestre em Química

Porto Alegre, Junho de 2015

Este trabalho foi desenvolvido entre março de 2014 e maio de 2015 no Grupo de Pesquisa em Fotoquímica Orgânica Aplicada - GPFOA, do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) sob a orientação do Prof. Dr. Fabiano Severo Rodembusch. Este trabalho foi realizado inteiramente pelo autor, salvo colaborações especificadas no texto.

Obra dedicada à minha família

Agradecimentos

Dedico este trabalho aos meus pais, Mauro e Suzane, que sempre estiveram comigo e me apoiaram em todos os momentos. À minha namorada, Gabriela, minha grande companheira para todos os momentos, mesmo estando longe, por ser essa pessoa tão especial pra mim durante todos esses anos de namoro, por todos os conselhos e ajuda e por me fazer feliz a cada dia mais.

Gostaria também de oferecer sinceros agradecimentos ao meu orientador, Fabiano Rodembusch, por ter me aceitado em seu laboratório, por toda ajuda durante o mestrado e o TCC, pela amizade, pelos conselhos e ensinamentos como professor, e pelo respeito que sempre dedica a todos dentro do laboratório.

Agradeço também aos meus amigos, aos colegas de laboratório por esses anos de parceria.

Agradecimento sinceros também à todos os membros da banca examinadora por terem aceito o convite para avaliar meu trabalho.

Agradeço ao Instituto de Química da UFRGS pela formação e pelos conhecimentos adquiridos ao longo da minha trajetória acadêmica.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Resumo

Este trabalho apresenta a síntese e o estudo fotofísico de novos corantes da classe das merocianinas obtidos a partir de reações de condensação entre heterociclos indólicos *N*-quaternários e a vanilina, com potencial aplicação na área de sensores ópticos. Os compostos caracterizam-se por apresentar um equilíbrio ácido-base com uma espécie do tipo hemicianina (ácido conjugado), presente majoritariamente em solução ácida. O estudo fotofísico em solução mostra que as merocianinas apresentam bandas de absorção e emissão de fluorescência na região do verde-amarelo, com grande efeito solvatocrômico, enquanto que as espécies hemicianinas absorvem na região do azul e emitem na região do verde, apresentando também um grande deslocamento de Stokes. Foram também obtidas matrizes de sílica dopadas com um corante e as mesmas foram empregadas com sucesso na detecção de vapores ácidos, de aminas e de peróxido de hidrogênio. Os corantes apresentaram ainda potencial aplicação na identificação colorimétrica dos ânions fluoreto e cianeto em solução de acetonitrila, com a possibilidade ainda de determinação da quantidade de fluoreto e na quantificação e identificação dos peróxidos de hidrogênio e de benzoíla em solução. Estudos de associação com albumina sérica bovina através de espectroscopia de emissão de fluorescência mostram que os corantes apresentam também elevado potencial para a identificação de proteínas em solução.

Palavras-chave: heterociclo indólico, merocianina, hemicianina, solvatocromismo, peróxido, ânions, matriz dopada, absorção no visível, fluorescência, BSA.

Abstract

This work describes the synthesis and the photophysical study of new merocyanine dyes obtained by condensation reaction between *N*-quaternary indoles and the vanillin with potential application in the optical sensors field. The compounds are characterized by an acid-base equilibria with an hemicyanine-like specie mostly present in acidic solution. The photophysical study in solution shows that the merocyanine dyes present absorption and fluorescence emission bands in the yellow-green region, with large solvatochromic effect. The hemicyanine species absorb in the blue region and emit in the green one, also with a large Stokes' shift. Dye doped silica matrices were prepared and successfully employed in the detection of acidic and amines vapors. Additionally, hydrogen peroxide vapors were tested. The dyes show high efficiency for colorimetric identification of fluoride and cyanide anions in acetonitrile solution, as well as for quantification and identification of hydrogen and benzoyl peroxides. Bovine Serum Albumine association studies by fluorescence spectroscopy were also applied and show that the dyes present high potential for labeling in solution.

Keywords: indole, merocyanine, hemicyanine, solvatochromism, peroxide, anion, photoactive silica matrix, fluorescence, absorption, BSA.

Abreviaturas e Símbolos

*	Estado eletrônico excitado
A	Absorbância
A	Raio de Onsager
Abs	Absorção
C	Velocidade da luz no vácuo
CI	Conversão interna
CIS	Cruzamento intersistemas
D	Dubleto
Dd	Duplo dubleto
DSSC	Células solares sensibilizadas por corante
Em	Emissão
Exc	Excitação
f_A	Fração molar do solvente A
f_B	Fração molar do solvente B
H	Constante de Planck
ICT	Transferência de carga intramolecular
J	Constante de acoplamento
J_{orto}	Constante de acoplamento em orto
J_{trans}	Constante de acoplamento em trans
K_a	Constante de acidez ou constante de associação
L	Litro
<i>Laser</i>	Amplificação de luz por emissão estimulada de radiação
LE	Estado localmente excitado
Ln	Logaritmo natural
M	$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
Mg	10^{-3} gramas
MHz	10^6 Hertz
mL	10^{-3} litros
Nm	10^{-9} metros
NIR	Infravermelho próximo
NLO	Óptica não-linear
η_{mix}	Índice de refração da mistura

OLED	Diodo emissor de luz orgânico
P.A.	Grau para análise
pH	$-\log [H^+]$
pK _a	$-\log K_a$
Ppm	Partes por milhão
°C	Grau Celcius
R ²	Coefficiente de correlação linear
RMN	Ressonância magnética nuclear
RV	Relaxação vibracional
S	Segundo ou singleto
S ₀	Estado eletrônico fundamental tipo singleto
S ₁	Primeiro estado eletrônico excitado tipo singleto
S _n ^{FC}	Estado eletrônico excitado de Frank-Condon
T	Tempo
T ₁	Primeiro estado eletrônico excitado tipo tripleto
TICT	Transferência de carga intramolecular torcida
UV-Vis	Ultravioleta-visível
V	Nível vibracional
Δf	Função de polaridade do solvente segundo equação de Lippert-Mataga
$\Delta\lambda_{ST}$	Deslocamento de Stokes
Δ	Deslocamento químico
ϵ	Absortividade molar
ϵ_{mix}	Contante dielétrica da mistura
Λ	Comprimento de onda
λ_{obs}	Comprimento de onda de observação
μ_g	Momento de dipolo do estado eletrônico fundamental
μ_e	Momento de dipolo do estado eletrônico excitado
μL	10^{-6} litros
μM	10^{-6} M
Mmol	10^{-6} mol
V	Frequência ou número de onda

Índice Geral

Índice de Figuras.....	xi
Índice de Tabelas.....	xvi
Índice de Esquemas.....	xvii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	4
3. Conceitos teóricos.....	5
3.1. Processos fotofísicos.....	5
3.1.1. Processos de absorção.....	5
3.1.2. Processos de desativação de estados excitados.....	7
3.1.3. Solvatocromismo.....	9
3.1.4. Estados de Transferência de Carga (ICT-TICT).....	10
3.2. Núcleos heteroaromáticos do tipo indol.....	12
3.2.1. Síntese de Fischer e sua utilização como blocos contrutores de sistemas conjugados estendidos.....	12
3.3. Compostos polimetínicos.....	15
3.3.1. Merocianinas e Hemicianinas.....	15
3.3.2. Estrutura e Propriedade.....	16
3.3.3. Propriedades fotofísicas.....	19
3.3.4. Aplicações.....	23
3.3.5. Metodologias de obtenção.....	24
4. Experimental.....	32
4.1. Materiais e Métodos.....	32
4.2. Síntese.....	32
4.2.1. Síntese do precursor indólico 74	32
4.2.2. Síntese dos precursores indólicos <i>N</i> -quaternários 75-78	33
4.2.3. Síntese das merocianinas 79-82	34
4.3. Preparo de amostras e medidas de fotofísica.....	38
4.3.1. Caracterização fotofísica em solventes orgânicos.....	38
4.3.2. Determinação do pK _a e estudos de reversibilidade em função do pH.....	38
4.3.3. Obtenção de matrizes de sílica dopadas com corante.....	39
4.3.4. Estudo fotofísico das matrizes de sílica dopadas e expostas à vapores.....	39
4.3.5. Titulação com fluoreto de tetrabutilamônio.....	40

4.3.6. Titulação com peróxido de hidrogênio.....	40
4.3.7. Análises cinéticas com peróxidos.....	40
4.3.8. Estudo de associação com BSA.....	41
5. Resultados e discussão.....	42
5.1. Síntese e caracterização.....	42
5.2. Estudo fotofísico.....	44
5.2.1. Estudo fotofísico em solventes orgânicos.....	44
5.2.1.1. Estudo fotofísico em solução da merocianina 80	44
5.2.1.2. Estudo fotofísico em solução da hemicianina 80b	51
5.2.2. Sensor Ácido-Base.....	55
5.2.2.1. Determinação do pK _a da hemicianina 80b	55
5.2.2.2. Estudos de emissão de fluorescência do corante 80 em função do pH.....	59
5.2.2.3. Estudos de reversibilidade merocianina-hemicianina, para o corante 80 , em função do pH.....	61
5.2.3. Sensor de vapor.....	63
5.2.3.1. Estudo fotofísico em matriz de sílica.....	64
5.2.4. Sensor de ânions.....	67
5.2.5. Sensor de peróxidos.....	71
5.2.5.1. Sensor de peróxido de hidrogênio.....	71
5.2.5.2. Sensor de peróxidos orgânicos.....	73
5.2.5.3. Sensor de vapor de peróxido no estado sólido.....	81
5.2.6. Associação com BSA.....	82
5.2.6.1. Supressão da Fluorescência da BSA.....	83
5.2.6.2. Aumento da fluorescência das merocianinas a partir da associação com a BSA.....	86
6. Conclusões.....	86
7. Referências.....	88
8. Anexos.....	94

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura química de corantes polimetínicos.....	1
Figura 2. Número de publicações por década relacionadas à corantes polimetínicos. Fonte: <i>SciFinder</i> , palavra chave: " <i>polymethine dyes</i> ", 28/06/2015	2
Figura 3. Possíveis transições eletrônicas em compostos orgânicos.....	5
Figura 4. (a) Transições eletrônicas entre diferentes níveis vibracionais; (b) Espectro de absorção na região do UV-Vis-NIR de um composto orgânico.....	6
Figura 5. Diagrama simplificado de Jablonski.....	9
Figura 6. Efeito do solvente na energia dos estados fundamental e excitado.....	10
Figura 7. Curvas de Lippert-Mataga em misturas de etanol-água para derivados da 2-naftilamina.....	11
Figura 8. Moléculas biologicamente ativas derivadas de indóis.....	12
Figura 9. Mecanismo de reação para a síntese de indóis de Fischer.....	14
Figura 10. Corantes orgânicos obtidos a partir de indóis.....	15
Figura 11. Classificação das merocianinas, onde R = alquil ou aril.....	16
Figura 12. Estrutura de cetocianinas, onde R = alquil ou aril.....	16
Figura 13. Relação entre estrutura química e eletrônica de merocianinas.....	17
Figura 14. Estrutura de merocianinas derivadas de benzimidazóis e ácido (tio)barbitúrico em solventes polares e apolares, onde X = O ou S e n = 1-3.....	18
Figura 15. Estrutura de merocianinas derivadas de indóis e ácido (tio)barbitúrico em solventes polares e apolares, onde X = O ou S e n = 1-3.....	18
Figura 16. Equilíbrio entre merocianina 14 e hemicianina 15	19
Figura 17. Merocianina com cadeia polimetínica cíclica 16	19
Figura 18. Mecanismo de transferência interna de carga (ICT) em hemicianinas.	20
Figura 19. Merocianina com solvatocromismo positivo, onde (1) xileno, (2) acetona, (3) clorofórmio, (4) etanol e (5) dimetilsulfóxido.....	21
Figura 20. Merocianina com solvatocromismo negativo.....	21
Figura 21. Merocianina de Brooker.....	22
Figura 22. Efeito do substituinte na natureza do solvatocromismo em merocianinas.....	22
Figura 23. Efeito da PC no solvatocromismo de merocianinas. Merocianinas 22 (1 e 2) e 23 (3 e 4) em tolueno (linha contínua) e diclorometano (linha tracejada).....	23

Figura 24. Merocianina 540 (MC 540).....	24
Figura 25. Derivados do malonaldeído utilizados para a síntese de merotetracarbocianinas.....	29
Figura 26. Derivados do gluteraldeído utilizados para a síntese de merohexacarbocianinas.....	30
Figura 27. Precursor para a síntese de merocianinas cíclicas.....	30
Figura 28. Sistema utilizado para a realização dos estudos com vapores.....	40
Figura 29. Mecanismo de síntese das merocianinas 79-82	43
Figura 30. Espectros normalizados de absorção na região do UV-Vis para a merocianina 80 em diferentes solventes.....	45
Figura 31. Espectros de absorção na região do UV-Vis para a merocianina 80 em diferentes misturas de acetato de etila e acetonitrila.....	46
Figura 32. Espectros normalizados de emissão de fluorescência para a merocianina 80 em diferentes solventes.....	46
Figura 33. Espectros normalizados de excitação e absorção para a merocianina 80 em diferentes solventes.....	47
Figura 34. Espectros normalizados de absorção (esquerda) e equação de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de absorção (direita) para a merocianina 80 em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,997$).....	49
Figura 35. Espectros normalizados de emissão de fluorescência (esquerda) e equação de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de emissão (direita) para a merocianina 80 em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,997$).....	49
Figura 36. Equação de Lippert-Mataga aplicada ao deslocamento de Stokes em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido para a merocianina 80 . Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,997$).....	50
Figura 37. Espectros normalizados de absorção (esquerda) e equação de Lippert-Mataga aplicada ao máximo de absorção em misturas de ciclohexano-1,4-dioxano (direita) para a merocianina 80 . Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear (absorção: $R^2 = 0,982$).....	50
Figura 38. Espectros normalizados de absorção para a hemicianina 80b em solventes polares.....	52

Figura 39. Espectros normalizados de emissão de fluorescência da hemicianina 80b , com comprimento de onda de excitação referente ao máximo de absorção..	53
Figura 40. Equação de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de absorção (esquerda) e emissão (direita) para a hemicianina 80b em solventes polares. Em vermelho estão apresentadas as linhas de tendência linear (absorção: $R^2 = 0,978$; emissão: $R^2 = 0,974$).....	53
Figura 41. Equação de Lippert-Mataga aplicada ao deslocamento de Stokes em solventes polares para a hemicianina 80b . Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,978$).....	54
Figura 42. Espectros de absorção referentes à titulação espectrofotométrica da hemicianina 80b em diferentes valores de pH.....	56
Figura 43. Foto das mudanças colorimétricas obtidas durante a titulação espectrofotométrica em diferentes valores de pH. (Esquerda para a direita: 9,0; 8,1; 7,1; 6,51; 6,0; 5,7 e 4,0).....	56
Figura 44. Curvas referentes à razão molar das espécies MerOH (azul) e MerO ⁻ (vermelho) em função da variação de pH, considerando absorbância em 438 nm corrigida (esquerda) e não corrigida (direita).....	58
Figura 45. Curvas de variação das absorbâncias em 438 (azul) e 546 nm (vermelho) em função da variação do pH, considerando absorbância em 438 nm corrigida (esquerda) e não corrigida (direita).....	58
Figura 46. Espectros de emissão, com comprimento de onda de excitação referente ao ponto isobéptico (477 nm) referentes à titulação fluorimétrica em diferentes valores de pH.....	60
Figura 47. Espectros de emissão de fluorescência sincronizados ($\Delta\lambda = 60$ nm) referentes à titulação fluorimétrica em diferentes valores de pH.....	61
Figura 48. Espectros de absorção (esquerda) e máximos de absorção em função do pH (direita), em meio ácido (pH = 2) e alcalino (pH = 12), para cinco ciclos de variação de pH.....	62
Figura 49. Espectros de emissão de fluorescência em meio ácido (pH = 2) e alcalino (pH = 12), após cinco ciclos de variação de pH, com comprimentos de onda de excitação de 440 nm (esquerda) e 546 nm (direita).....	63
Figura 50. Variação dos máximos de emissão em 540 nm (linha azul) e 578 nm (linha verde) após cinco ciclos de variação de pH.....	63

Figura 51. Espectros de absorção no estado sólido das matrizes de sílica expostas aos vapores.....	64
Figura 52. Espectros de emissão de fluorescência das matrizes de sílica expostas aos vapores, utilizando como λ_{ex} o comprimento de onda referente ao máximo de absorção (λ_{abs}).....	65
Figura 53. Imagens das fitas de papel impregnadas com corante expostas aos vapores de ácido clorídrico (direita) e hidróxido de amônio (esquerda).....	67
Figura 54. Teste de identificação colorimétrica de ânions. Esquerda para direita: Br^- , I^- , Cl^- , HSO_4^- , NO_3^- , ClO_4^- , F^- , CN^-	68
Figura 55. Teste colorimétrico para as soluções de fluoreto e cianeto após a adição de água. Esquerda para direita: Fluoreto em 0, 5 e 10% de H_2O e cianeto em 0 e 10% de H_2O em acetonitrila.).....	68
Figura 56. Espectros de absorção referentes à titulação da hemicianina 80b com TBAF em acetonitrila (esquerda) e titulação com água (direita).....	69
Figura 57. Curva de A_{546} x concentração de fluoreto [F^-] referente à titulação da hemicianina 80b com TBAF.....	70
Figura 58. Curvas de A_{546}/A_{445} x [F^-] ($R^2 = 0,988$, esquerda) e A_{546}/A_{445} x n_{F^-} ($R^2 = 0,998$, direita) com as respectivas linhas de tendência linear.....	71
Figura 59. Titulação da hemicianina 80b com peróxido de hidrogênio em água (pH 4).....	72
Figura 60. Titulação da merocianina 80 com peróxido de hidrogênio em água (pH 10) e imagens da solução de análise no início e após a adição de 12 μM do titulante.....	73
Figura 61. Espectros de absorção e respectivas curvas de A x t , com linha de tendência linear apresentada para conversões inferiores à 20 %, referentes ao estudo cinético para a reação entre a merocianina 80 e peróxido de benzoíla, com tempos de reação entre 10 e 15 minutos, nas proporções molares merocianina:BPO: A) 1:4; B) 1:2; C) 0,5:2.....	75
Figura 62. Gráficos da lei cinética integrada $\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right)$ x t para as condições reacionais 1:4 (azul), 1:2 (preto) e 0,5:2 (verde), considerando relação estequiométrica merocianina:BPO de 1:1 (a:b).....	77
Figura 63. Espectro de absorção e respectiva curva A x t referente ao estudo	

cinético para a reação entre merocianina 80 e peróxido de benzoíla na proporção merocianina:BPO de 1:50.....	79
Figura 64. Espectros de absorção e respectiva curva A x t referente ao estudo cinético para a reação entre merocianina 80 e peróxido de diterbutila na proporção corante:peróxido de 1:50.....	80
Figura 65. Espectros de absorção e emissão de fluorescência em matriz de sílica, referentes ao estudo de identificação de vapor de peróxido de hidrogênio; Abaixo está apresentada a foto do material antes e após a exposição ao vapor de peróxido de hidrogênio por 30 minutos.....	81
Figura 66. Estrutura da BSA.....	82
Figura 67. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{ex} = 279$ nm referentes à titulação da BSA com a merocianina 79	84
Figura 68. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{ex} = 279$ nm referentes à titulação da BSA com a merocianina 80	84
Figura 69. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{ex} = 279$ nm referentes à titulação da BSA com a merocianina 81	84
Figura 70. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{ex} = 279$ nm referentes à titulação da BSA com a merocianina 82	85
Figura 71. Curvas de Stern-Volmer aplicadas ao máximo de emissão do BSA em 340 nm na presença das merocianinas 79-82	86
Figura 72. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina 79 com BSA.....	87
Figura 73. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina 80 com BSA.....	87
Figura 74. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina 81 com BSA.....	87
Figura 75. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina 82 com BSA.....	88
Figura 76. Curvas de intensidade relativa em função da razão entre concentração de corante e proteína.....	89
Figura 77. Curvas de $(F_{\infty} - F_0)/(F_x - F_0)$ em função da $[BSA]^{-1}$, com concentração de merocianina de $2 \cdot 10^{-6}$ M.....	90

Índice de Esquemas

Esquema 1. Esquema geral da síntese de indoís de Fischer.....	13
Esquema 2. Esquema geral de possíveis produtos que podem ser formados em uma reação de Fischer.....	13
Esquema 3. Síntese da merocianina 26	25
Esquema 4. Síntese da merocianina 29	25
Esquema 5. Síntese da merocianina 32	26
Esquema 6. Síntese da merocianina 34	26
Esquema 7. Síntese da merocianina 36	26
Esquema 8. Síntese da merocianina 39	27
Esquema 9. Síntese da merocianina 42	27
Esquema 10. Síntese de merocianinas a partir de eletrófilos do tipo anilido e acetanilidometilênicos.....	28
Esquema 11. Síntese da merocianina 50	28
Esquema 12. Síntese da merocianina 53	29
Esquema 13. Esquema geral de síntese de merotetracarbocianinas.....	30
Esquema 14. Síntese da merocianina 66	31
Esquema 15. Síntese da merocianina 69	32
Esquema 16. Síntese da merocianina 72	32
Esquema 17. Síntese do precursor indólico 74	42
Esquema 18. Síntese dos precursores indólicos N-quaternários 75-78	42
Esquema 19. Síntese das merocianinas 79-82	43
Esquema 20. Proposta de estrutura formada no estado excitado para a merocianina 80	51
Esquema 21. Proposta de estrutura para o estado de transferência interna de carga para a hemicianina 80b	54
Esquema 22. Equilíbrio ácido-base entre hemicianina 80b e merocianina 80	57
Esquema 23. Esquema proposto para a reação entre peróxido de hidrogênio e a merocianina 80 em meio aquoso alcalino.....	73
Esquema 24. Epoxidação de olefinas via reação com peróxido de hidrogênio e acetonitrila.....	74

Índice de Tabelas

Tabela 1. Dados de absorção de emissão de fluorescência para a merocianina 80 em solventes orgânicos, onde λ_{abs} e λ_{em} são os comprimentos de onda dos máximos de absorção e emissão, respectivamente e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes.....	48
Tabela 2. Dados de absorção de emissão de fluorescência para a hemicianina 80b em solventes orgânicos, onde Δf é a polarizabilidade de orientação, de acordo com a relação de Lippert-Mataga, λ_{abs} e λ_{em} são os comprimentos de onda dos máximos de absorção e emissão, respectivamente e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes.....	55
Tabela 3. Dados referentes aos espectros de absorção para a titulação espectrofotométrica em função do pH.....	59
Tabela 4. Dados do estudo fotofísico nas matrizes de sílica expostas aos vapores.....	66
Tabela 5. Dados referentes aos estudos de excitação de fluorescência para as matrizes de sílica expostas aos vapores.....	66
Tabela 6. Dados referentes aos estudos cinéticos para as reações entre a merocianina 80 e peróxido de benzoíla (BPO).....	76
Tabela 7. Dados referentes à lei cinética integrada para as reações entre a merocianina 80 e peróxido de benzoíla (BPO).....	78
Tabela 8. Dados obtidos a partir das curvas de Stern-Volmer.....	86
Tabela 9. Dados referentes às curvas apresentadas na Figura 77.....	90

1. Introdução

Os corantes polimetínicos têm ganhado grande destaque devido ao elevado potencial, em termos de desenvolvimento tecnológico, que tem sido associado ao emprego dessa classe de materiais em um grande número de aplicações.¹⁻¹⁵ A facilidade de modulação das propriedades espectroscópicas, tanto pela modificação dos heterociclos, quanto pela extensão da cadeia polimetínica (PC), tem permitido à obtenção de moléculas capazes de absorver e emitir ao longo de toda a região do UV-Vis-NIR, o que confere uma amplitude espectral que não é acessível a nenhuma outra classe de corantes orgânicos.¹⁶ Por esse motivo, as pesquisas relacionadas a algumas famílias de moléculas, como as merocianinas (1 e 3), hemicianinas (4) cianinas (2) e esquaraínas (5) (**Figura 1**) tem mostrado constante ascensão ao longo dos anos (**Figura 2**).

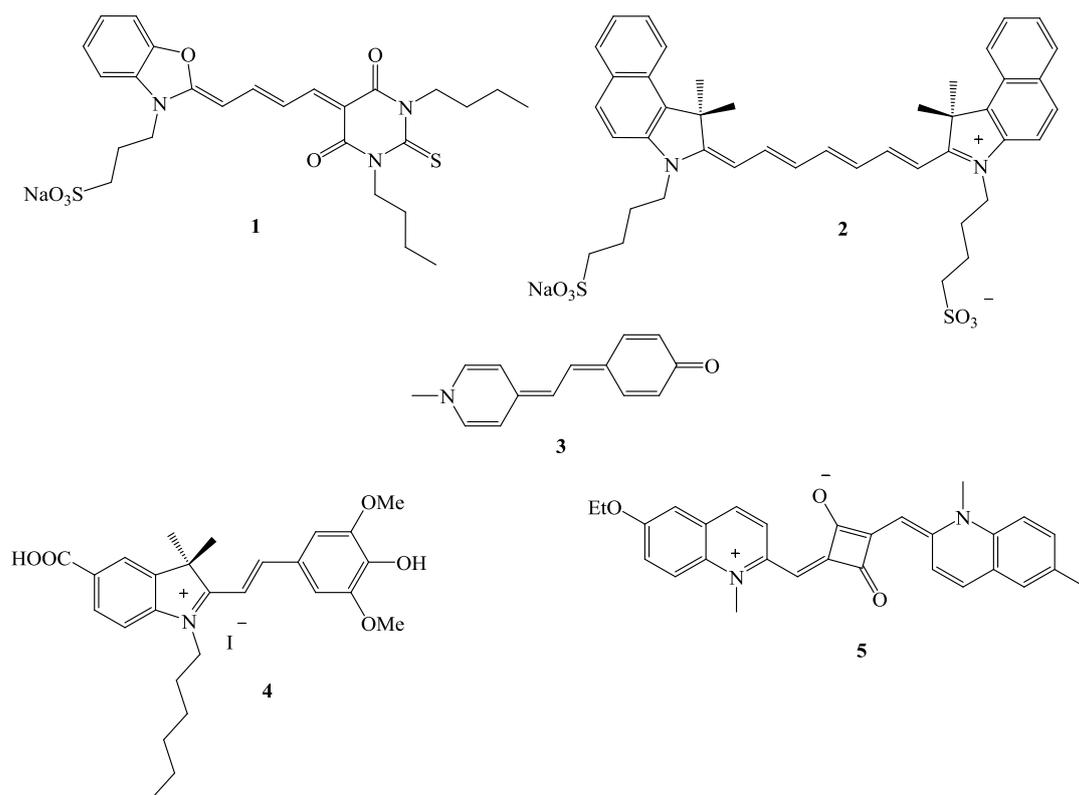


Figura 1. Estrutura química de corantes polimetínicos.

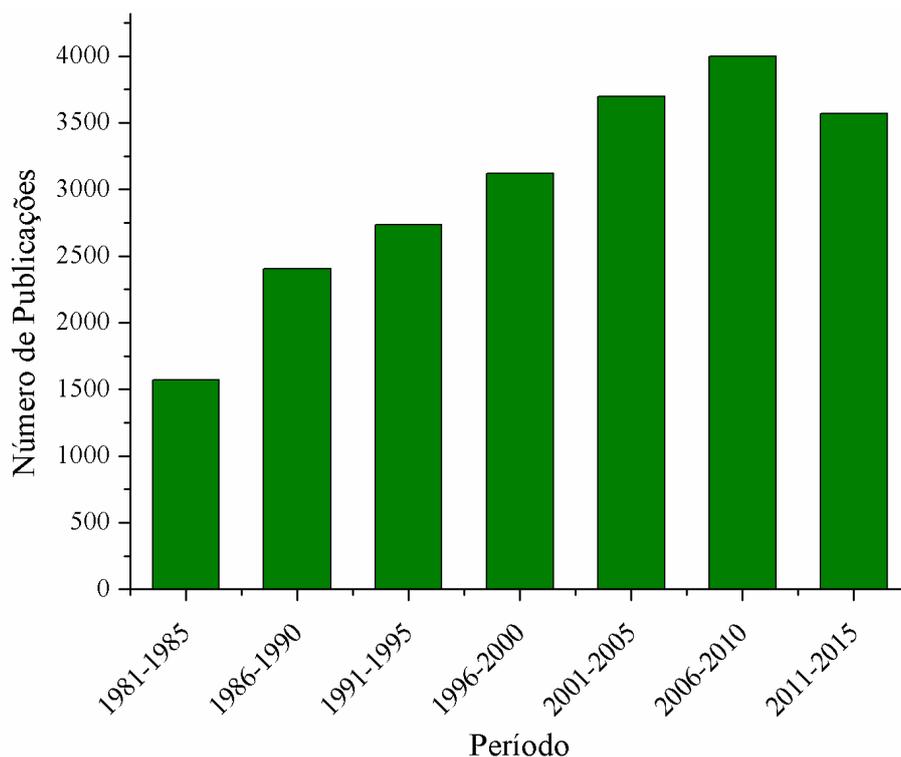


Figura 2. Número de publicações por década relacionadas à corantes polimetínicos.

Fonte: *SciFinder*, palavra chave: "*polymethine dyes*" em 28/06/2015.

Os avanços e estudos na área dos corantes polimetínicos têm possibilitado ampliar de maneira bastante rápida o desenvolvimento de moléculas para aplicações específicas, como sondas para biomoléculas,^{1,2} sistemas de imagem por fluorescência para análises de células e tecidos,³ moléculas para terapia fotodinâmica e tratamento oncológico,⁴⁻⁶ sensores para íons^{7,8} e sistemas de armazenamento de dados (*Logic Systems*).^{9,10} Além disso, a possibilidade de síntese de moléculas com propriedades ópticas não-lineares e a formação de estruturas supramoleculares, em virtude da habilidade de formarem agregados em solução e estado sólido,^{11,12} promovem um grande campo de utilização desses corantes, tanto em dispositivos ópticos emissores de luz (*Lasers* e *OLEDs*),^{13,14} quanto em células solares sensibilizadas por corante (*DSSCs*).¹⁵

Um dos grandes desafios dentro dessa classe de corantes está relacionado à síntese de moléculas com cadeias polimetínicas com quatro ou mais átomos de carbono, normalmente mais desejadas para aplicações biológicas e para células solares, por apresentarem faixa de absorção e de emissão de fluorescência na região do vermelho e infravermelho próximo. Entretanto, as dificuldades de obtenção destas estruturas com

rendimentos moderados, além da complexidade na sua purificação, fazem com que moléculas mais simples sejam alvo de investigação.¹⁷

Nesse contexto, este trabalho tem por objetivo a síntese e a caracterização fotofísica de novos corantes polimetínicos da classe das merocianinas, obtidos à partir de reações de condensação entre heterociclos indólicos *N*-quaternários e a vanilina e a aplicação na área sensores ópticos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho envolve a síntese e a caracterização fotofísica via espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e emissão de fluorescência, de novas moléculas da classe das merocianinas e sua aplicação como sensores ópticos.

2.2. Objetivos Específicos

- Obter novas merocianinas e caracteriza-las espectroscopicamente;
- Caracterizar o comportamento fotofísico em função do pH em solução a partir de análises de absorção na região do UV-Vis e de emissão de fluorescência;
- Avaliar a estabilidade dos corantes em função de variações bruscas de pH em solução, por meio de análises de absorção na região do UV-Vis e emissão de fluorescência;
- Explorar e avaliar a possibilidade de emprego dos corantes para a detecção de vapores ácidos e aminas, a partir do preparo de materiais via adsorção das moléculas em suportes sólidos;
- Avaliar a possibilidade de emprego dos corantes na identificação e quantificação de ânions em solução a partir de testes colorimétricos e análises de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis;
- Explorar o emprego dos corantes para a identificação e quantificação de peróxidos em solução;
- Avaliar a aplicação dos corantes como sondas fluorescentes para albumina bovina sérica (BSA).

3. Conceitos teóricos

3.1 Processos fotofísicos

3.1.1 Processos de absorção

A ocorrência de processos fotofísicos em moléculas orgânicas está intimamente relacionada ao fenômeno da absorção de radiação. A absorção é um dos diversos processos que podem ocorrer a partir da interação da radiação eletromagnética com a matéria e é responsável por promover transições eletrônicas entre diferentes estados. Quando um fóton de energia correspondente à diferença de energia entre dois estados eletrônicos é absorvido ocorre a excitação de um elétron de um orbital de mais baixa energia ocupado para um de mais alta energia (estado excitado) não ocupado, de modo que a energia do fóton absorvido passa a fazer parte da energia total da molécula.¹⁸

Neste contexto, as moléculas orgânicas são caracterizadas por apresentarem seis diferentes tipos de transições eletrônicas envolvendo os orbitais σ , n e π (**Figura 3**). Entre essas transições, as mais relevantes e importantes nos processos fotofísicos são as transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ que envolvem a absorção de fótons geralmente na região do UV-Vis-NIR.

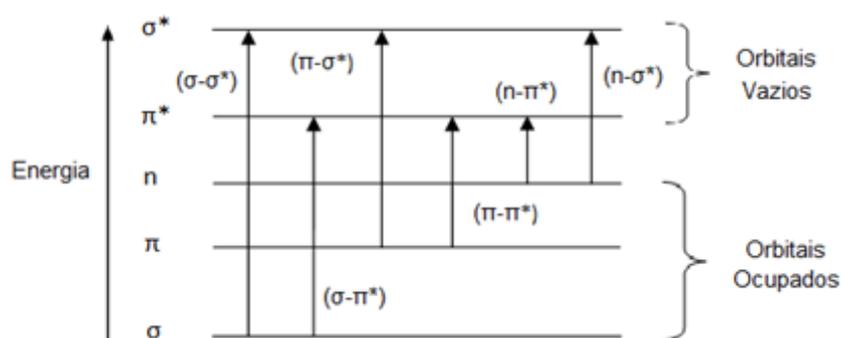


Figura 3. Possíveis transições eletrônicas em compostos orgânicos.

Com relação à estrutura eletrônica das moléculas orgânicas, elas são caracterizadas por apresentarem, geralmente, multiplicidade de spin igual a um, de modo que o estado fundamental é um estado do tipo Singleto (S_0). Por conta disso e devido às restrições impostas pela mecânica quântica com relação ao fato de que transições eletrônicas permitidas ocorrem com a conservação do spin, as absorções de radiação ditas permitidas são aquelas que ocorrem entre estados singletos ($S_0 \rightarrow S_1$, $S_0 \rightarrow S_2$, ..., $S_0 \rightarrow S_n$).¹⁹

Para um maior entendimento do processo de absorção e posteriores processos fotofísicos em moléculas orgânicas é importante levar em conta a contribuição dos movimentos nucleares e de que maneira eles se relacionam à estrutura eletrônica das moléculas. A energia total de uma molécula é composta de uma parcela de energia eletrônica e uma parcela de energia cinética e potencial, referente à todos os modos de vibração e rotação das moléculas.¹⁸ Além disso, esses modos de vibração e rotação também apresentam valores discretos de energia, ou seja, são quantizados.¹⁸ Entretanto, a diferença de energia entre estados eletrônicos é significativamente superior à diferença de energia entre estados vibracionais e também entre estados rotacionais. Por conta disso, cada estado eletrônico é caracterizado por apresentar um grande número de estados vibracionais (v) e rotacionais (**Figura 4 (a)**). Dessa forma, elétrons podem ser excitados do nível vibracional de mais baixa energia do estado fundamental (S_0) para diferentes estados vibracionais do estado excitado S_n , de modo que o espectro de absorção na região do UV-Vis-NIR de moléculas orgânicas em solução é caracterizado por se apresentar na forma de bandas de absorção (**Figura 4 (b)**).

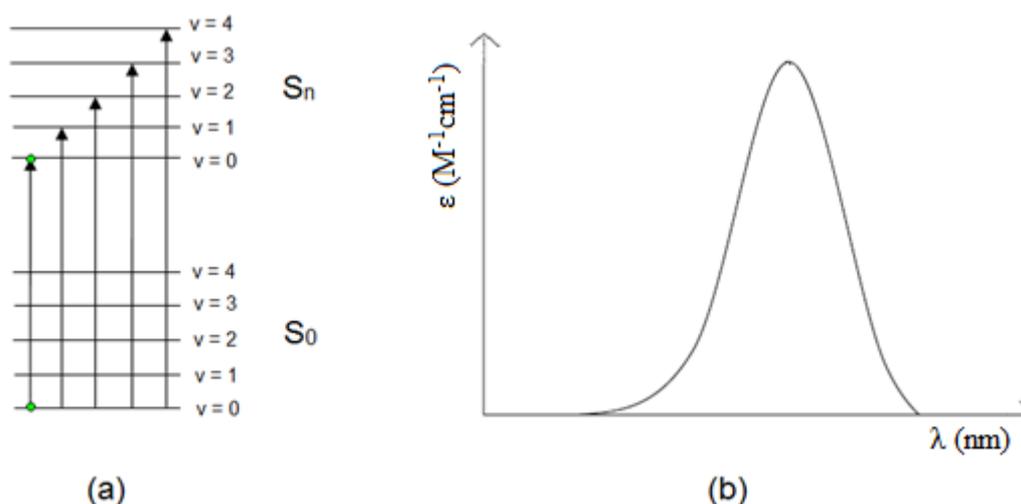


Figura 4. (a) Transições eletrônicas entre diferentes níveis vibracionais; (b) Espectro de absorção na região do UV-Vis-NIR de um composto orgânico.

O parâmetro físico relacionado à probabilidade de uma transição eletrônica ocorrer é chamado de absorvidade molar ou coeficiente de extinção molar (ϵ). Ele é característico de cada molécula e depende do comprimento de onda da radiação incidente e do solvente utilizado. A absorvância (A) é a quantidade de luz absorvida por

uma molécula. Essas duas propriedades físicas estão relacionadas através da Lei de Beer-Lambert (Equação 1).²⁰

$$A = \varepsilon bc, \quad (1)$$

onde c é a concentração molar do soluto e b o caminho óptico percorrido pela radiação através da amostra. Para transições eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, os valores de ε encontram-se na faixa de 10^3 a $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, enquanto que para transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$, proibidas por questões de simetria dos orbitais envolvidos, os valores são significativamente menores, na faixa de $10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. A transição eletrônica associada ao máximo de absorção é também chamada de transição de Frank-Condon.^{18,19} Uma vez que uma transição eletrônica ocorre em um tempo suficientemente mais curto do que o movimento molecular (movimentos de vibração e rotação dos núcleos dos átomos), a transição de Frank-Condon é aquela que ocorre entre os níveis vibracionais dos estados eletrônicos S_0 ($v=0$) e S_n^{FC} ($v=n$) que apresentem a estrutura molecular mais semelhante possível.¹⁹

A localização do máximo de absorção também pode ser influenciada por alguns fatores, entre os quais se destacam: (i) o efeito de extensão ou diminuição da conjugação na estrutura eletrônica. O deslocamento batocrômico (para maiores valores de comprimento de onda) está relacionado à extensão da conjugação ao passo que um deslocamento hipsocrômico (para menores comprimentos de onda) é relacionado à uma diminuição de conjugação eletrônica; (ii) o efeito da polaridade do solvente, que também promove o deslocamento do máximo de absorção. Em transições eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, geralmente é observado um deslocamento batocrômico com o aumento da polaridade do solvente, ao passo que para transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$, é observado um deslocamento hipsocrômico com o aumento da polaridade do solvente, devido à diminuição de energia do orbital n por efeito de solvatação dos pares de elétrons não-ligantes.²¹

3.1.2 Processos de desativação de estados excitados

Como descrito na seção anterior, ao absorver luz, as moléculas orgânicas passam de seu estado fundamental Singlete (S_0) para um nível eletrônico excitado (S_n ou T_n) Entretanto, como o estado excitado é um estado de maior energia, a molécula tende a voltar para seu estado fundamental de forma a minimizar sua energia. A desativação de

estados excitados pode ocorrer por diversos caminhos, sejam eles fotoquímicos ou fotofísicos.¹⁸

De forma geral, os processos fotofísicos de desativação podem ser de dois tipos: radiativos e não-radiativos. O decaimento não-radiativo pode ocorrer a partir de dois mecanismos básicos: relaxação vibracional (RV) e conversão interna (CI). Estes processos favorecem um caminho rápido de desativação, onde a relaxação vibracional ocorre dentro de um mesmo estado eletrônico e a conversão interna ocorre quando o nível vibracional fundamental ($\nu=0$) de um estado excitado de maior energia possui a mesma energia que um estado vibracional $\nu=n$ de um estado de mais baixa energia, permitindo uma efetiva sobreposição das funções de onda dos dois níveis vibracionais (“*vibronic coupling*”). Um terceiro mecanismo, isoenergético e proibido pela mecânica quântica,¹⁸ chamado de cruzamento intersistemas (CIS), ocorre entre estados de diferentes multiplicidades, levando a formação do estado do tipo tripleto (T).

Por outro lado, decaimentos radiativos envolvem processos de luminescência e podem ser de dois tipos: fluorescência e fosforescência. Na fluorescência, ocorre a emissão de luz acompanhada de uma transição eletrônica entre dois estados de mesma multiplicidade (conservação de Spin). Na fosforescência, ocorre emissão de luz acompanhada de uma transição eletrônica entre estados de diferentes multiplicidades (sem conservação de spin), sendo, por esse motivo, um processo proibido e significativamente mais lento.¹⁸ Na **Figura 5**, é representado o diagrama de Jablonski simplificado, que resume os processos fotofísicos comentados nesta seção.

O diagrama de Jablonski possibilita ainda evidenciar alguns comportamentos, a saber: (i) os processos de emissão sempre envolvem fótons de menor energia do que na absorção (Lei de Stokes); (ii) uma vez no estado excitado, todos os processos de desativação competem entre si até que a molécula retorne ao seu estado fundamental; (iii) o processo de emissão de fluorescência geralmente ocorre a partir do nível vibracional ($\nu = 0$) do estado S_1 (regra de Kasha).¹⁸

Além disso, a rigidez molecular, a presença de substituintes doadores ou aceptores de elétrons e a presença de átomos pesados são fatores que favorecerão um ou outro processo de desativação radiativo.¹⁸

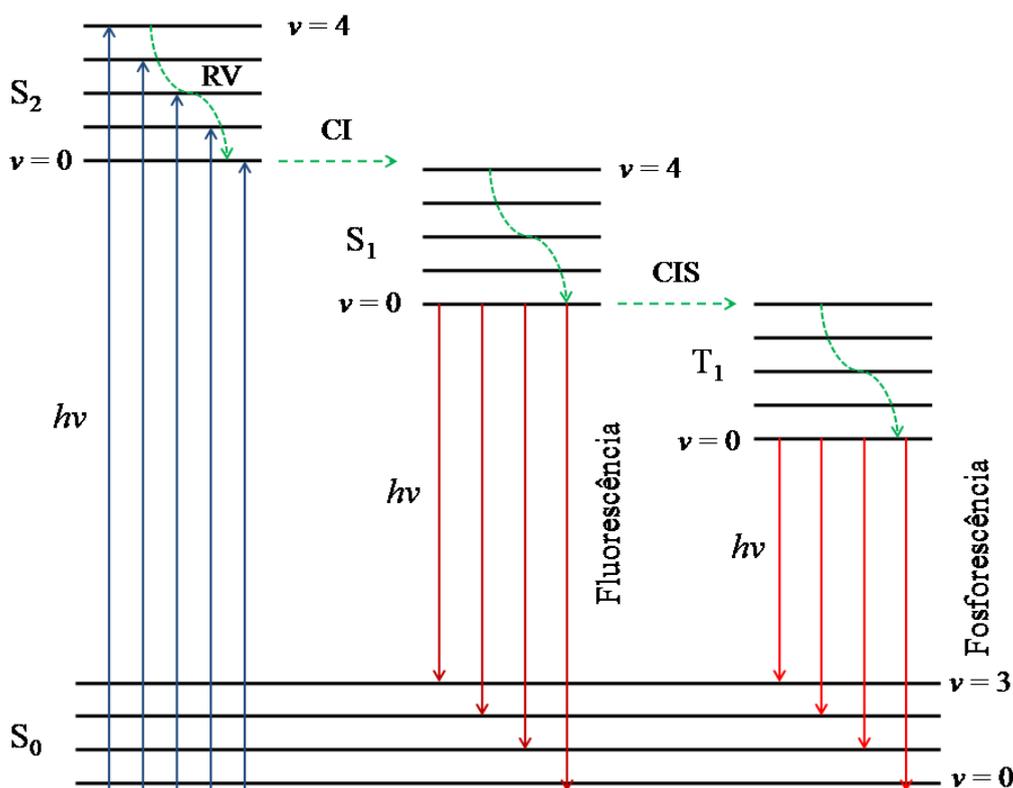


Figura 5. Diagrama simplificado de Jablonski.

3.1.3 Solvatocromismo

De forma geral, o solvatocromismo é resultado da interação e/ou influência do solvente na estrutura eletrônica das moléculas.²² A influência do solvente pode ocorrer através de interações não específicas (ou efeito geral do solvente), devido basicamente aos parâmetros macroscópicos do solvente (índice de refração e constante dielétrica) ou através de interações específicas soluto-solvente, principalmente através de interações do tipo ligação hidrogênio.²² Em moléculas cujo momento de dipolo é significativamente diferente entre o estado fundamental e estado excitado, o solvente irá interagir e estabilizar (com relação ao vácuo), por efeito de solvatação, ambos estados eletrônicos, porém em diferentes extensões, promovendo mudanças nas propriedades espectroscópicas de absorção.²²

Moléculas orgânicas podem apresentar basicamente dois diferentes tipos de solvatocromismo: positivo e negativo. Em moléculas cujo momento de dipolo aumenta após a absorção de um fóton, a presença de um solvente polar irá estabilizar mais fortemente o estado excitado do que o estado fundamental, levando à um deslocamento batocrômico do comprimento de onda do máximo de absorção (solvatocromismo positivo). Em contrapartida, caso o dipolo da molécula seja maior no estado

fundamental do que no estado excitado, irá se observar um deslocamento hipsocrômico (solvatocromismo negativo), uma vez que a barreira energética entre os estados eletrônicos irá aumentar (**Figura 6**).²²

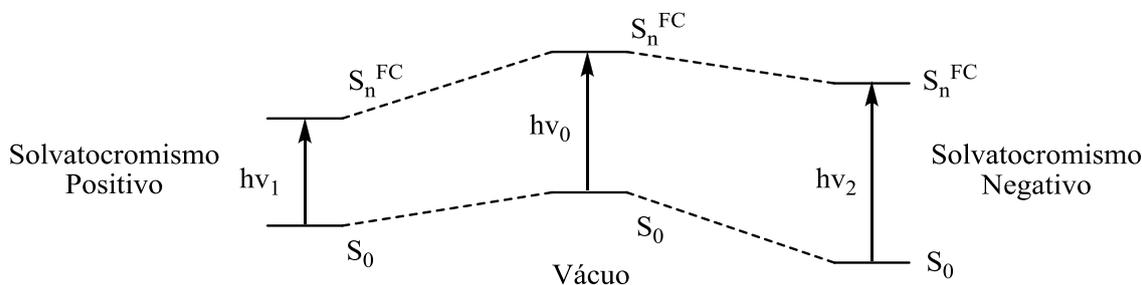


Figura 6. Efeito do solvente na energia dos estados fundamental e excitado.

3.1.4 Estados de Transferência de Carga (ICT-TICT)

Compostos que apresentam grupos doadores e aceptores de elétrons que estejam em conjugação direta podem apresentar, além de um estado localmente excitado (LE), um estado chamado de transferência intramolecular de carga (ICT – *Intramolecular Charge Transfer*) no estado excitado. A evidência da presença do estado ICT pode ser verificada a partir do estudo fotofísico em solução, uma vez que os máximos de absorção e emissão apresentam dependência da polaridade do solvente.^{23,24}

Uma das relações mais empregadas para avaliar efeitos gerais do solvente é a equação de Lippert-Mataga. Essa relação leva em consideração o efeito dos parâmetros macroscópicos de polaridade (constante dielétrica, ϵ) e óptico (índice de refração, η) do solvente, os momentos de dipolo dos estados fundamental e excitado com os máximos de absorção e emissão do soluto, segundo as Equações (2)-(4):

$$\nu_{abs} - \nu_{em} = C + \frac{2\Delta f}{hca^3} (\mu_e - \mu_g)^2 \quad (2)$$

$$\Delta f = f(\epsilon) - \left(\frac{1}{2}\right) f(\eta) \quad (3)$$

$$f(\epsilon) = \left(\frac{\epsilon-1}{2\epsilon+1}\right); f(\eta) = \left(\frac{\eta^2-1}{2\eta^2+1}\right), \quad (4)$$

onde μ_g e μ_e são os momentos de dipolo do soluto no estado fundamental e excitado; ν_{abs} e ν_{em} são os máximos de absorção e emissão no solvente e/ou mistura de solventes; a é o raio da cavidade, considerando que o corante é um ponto de dipolo no centro da mesma.

A obtenção de uma relação linear dos máximos de emissão de fluorescência em função do parâmetro de polaridade do solvente (Δf) indica a formação de um estado de transferência interna de carga, que pode ou não ser acompanhado de algum movimento nuclear (*Twisted Internal Charge Transfer* - TICT).^{19,25} A maior ou menor sensibilidade nas mudanças no momento de dipolo em função da polaridade do solvente é indicada pela declividade da curva obtida. Na **Figura 7**, são apresentadas as curvas de Lippert-Mataga para derivados da 2-naftilamina.¹⁹

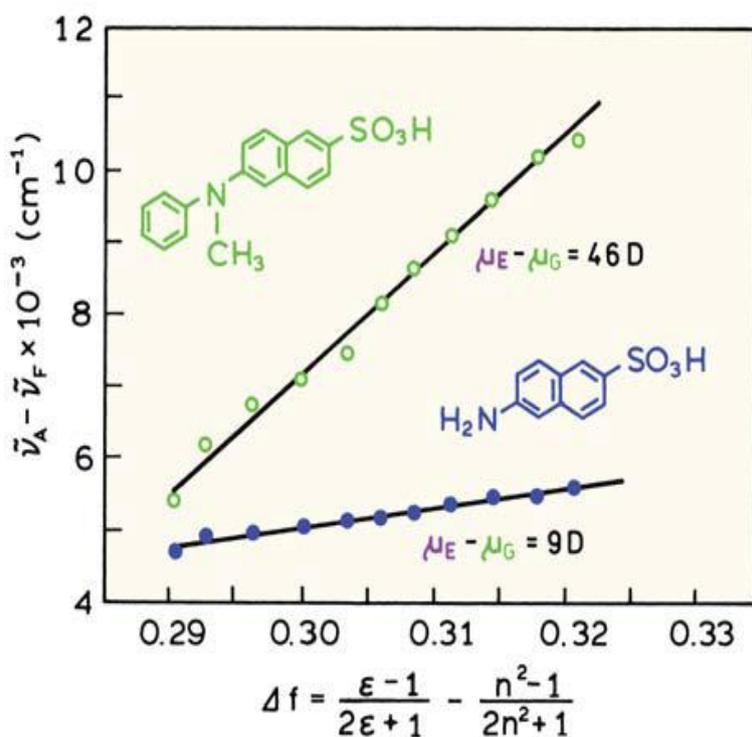


Figura 7. Curvas de Lippert-Mataga em misturas de etanol-água para derivados da 2-naftilamina.¹⁹

No caso de misturas de solvente, os valores de constante dielétrica da mistura (ϵ_{mix}) e índice de refração (η_{mix}) podem ser aproximados através das Equações (5) e (6):²⁴

$$\epsilon_{mix} = f_1 \epsilon_1 + f_2 \epsilon_2 \quad (5)$$

$$\eta_{mix} = f_1 \eta_1 + f_2 \eta_2, \quad (6)$$

onde f_1 e f_2 são as frações molares dos solventes na mistura.

2.2 Núcleos heteroaromáticos do tipo indol

3.2.1 Síntese de Fischer e sua utilização como blocos construtores de sistemas conjugados estendidos

Os núcleos indólicos representam uma das mais importantes e abundantes classes de heterociclos aromáticos presentes na natureza.²⁶ Estes podem ser encontrados em um grande número de moléculas naturais e biologicamente ativas, como a serotonina (**6**) e em proteínas contendo resíduos de triptofano (**7**) na sua estrutura, bem como em diversos alcalóides complexos, como a vinblastina (**8**) e a reserpina (**9**), fármacos largamente empregados no tratamento de câncer e depressão, respectivamente (**Figura 8**). Por conta disso, inúmeras metodologias sintéticas foram desenvolvidas e aprimoradas ao longo dos anos a fim de se possibilitar a obtenção de indóis com diferentes funcionalidades e a partir de substratos diversos.²⁶

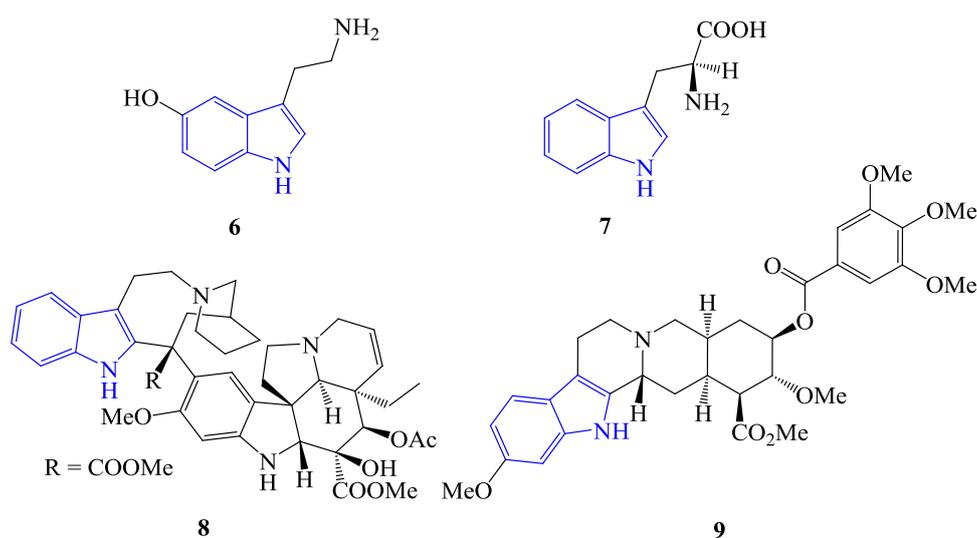
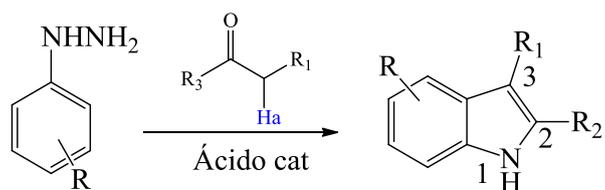


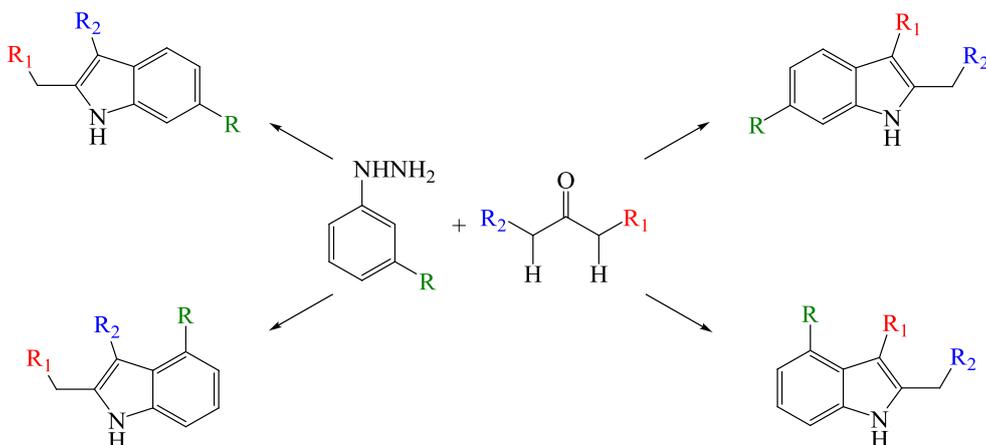
Figura 8. Moléculas biologicamente ativas derivadas de indóis.

Uma das metodologias mais empregadas para a obtenção de indóis é a reconhecida síntese de Fischer. Publicada a mais de 130 anos por Emir Fischer,²⁷ a síntese baseia-se na reação, catalisada por ácido entre uma aril hidrazina contendo um hidrogênio na posição orto com um composto carbonílico do tipo aldeído ou cetona, esse contendo ao menos um hidrogênio alfa carbonílico (**Esquema 1**).²⁶



Esquema 1. Esquema geral da síntese de indóis de Fischer.

A simplicidade da síntese e a natureza dos precursores explica o sucesso da metodologia uma vez que permite a obtenção de um grande número de derivados indólicos com os mais variados substituintes, tanto nas posições 2 e 3 do anel contendo o heteroátomo, quanto no anel de 6 membros. Entretanto, um aspecto de grande importância diz respeito exatamente à escolha desses precursores, principalmente quanto à posição de um substituinte no anel aromático da hidrazina e a presença de compostos carbonílicos contendo mais do que um hidrogênio enolizável. A escolha errada dos precursores pode levar a formação de diferentes isômeros como produtos reacionais, como esboçado no **Esquema 2**.



Esquema 2. Esquema geral de possíveis produtos que podem ser formados em uma reação de Fischer.

A formação majoritária de um isômero pode ser facilmente compreendida a partir da análise do mecanismo de reação (**Figura 9**).²⁸ De acordo com a literatura, inicialmente ocorre a formação de um intermediário do tipo hidrazona a partir da reação de adição nucleofílica da hidrazina ao composto carbonílico. Em seguida, ocorre o processo de enolização, no qual se definirá a regioquímica do produto final. Uma vez que a reação ocorre via catálise ácida, a formação do enol mais estável ocorrerá em maior extensão e o produto formado majoritariamente (ou exclusivamente) será

derivado do mesmo. No caso da possibilidade de formação de dois enóis com estabilidades semelhantes, pode-se esperar uma maior mistura entre os dois regioisômeros. Após a etapa de enolização, ocorre um rearranjo [3,3] sigmatrópico levando a inserção de um grupo amino no anel e a quebra da aromaticidade do sistema. A restauração da aromaticidade ocorre após a eliminação do átomo de hidrogênio. Por fim, ocorre o ataque nucleofílico do grupo amino ao carbono imínico, levando a formação do anel de cinco membros e, após a eliminação de um equivalente de amônia e isomerização da dupla ligação formada, tem-se a obtenção do respectivo núcleo indólico.²⁸

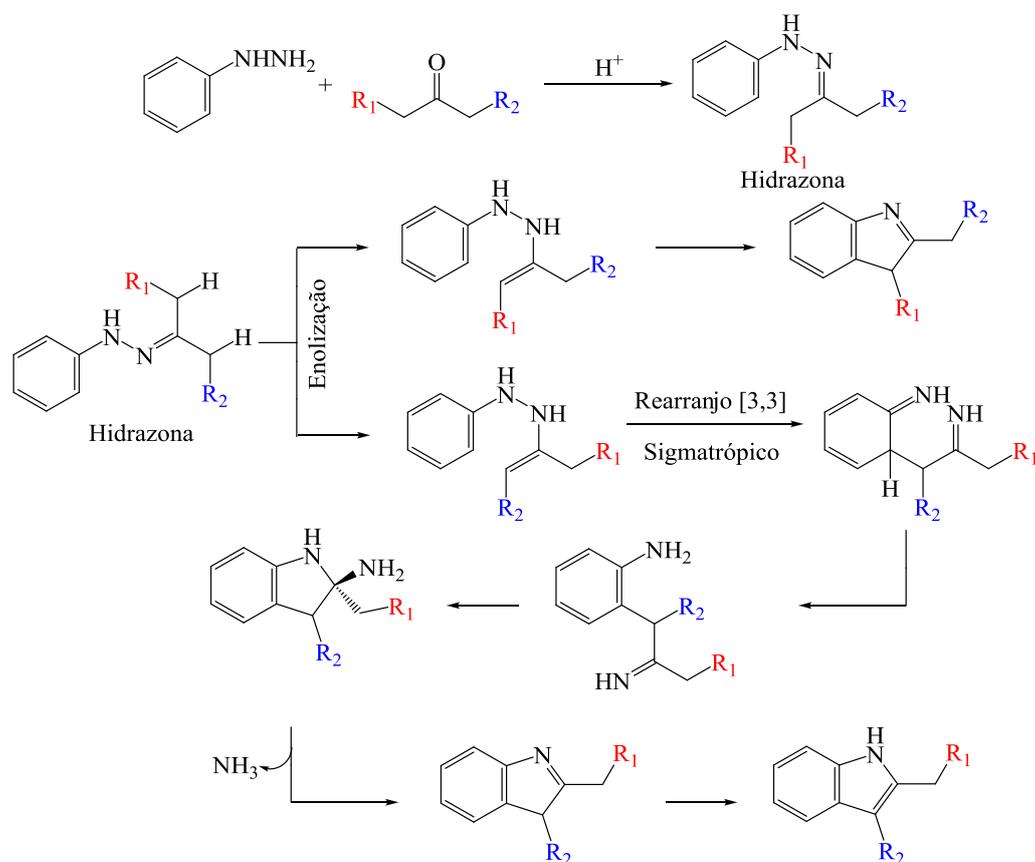


Figura 9. Mecanismo de reação para a síntese de indóis de Fischer.

Apesar da síntese e utilização de indóis como estruturas moleculares encontrar seu principal alicerce nas áreas de química medicinal e bioquímica, atualmente tem-se utilizado essa classe de heterociclos aromáticos como blocos de construção para a síntese de um grande número de moléculas contendo sistemas conjugados estendidos, utilizadas em inúmeras aplicações.^{2,3,5,8,10,13} Entre as principais classes de moléculas destacam-se aquelas que apresentam sistemas eletrônicos do tipo doador- π -aceptor,

como merocianinas (**10**), hemicianinas (**4**), spiropiranos (**11**), esquaraínas (**12**), cianinas (**13**) e derivados (**Figura 10**).

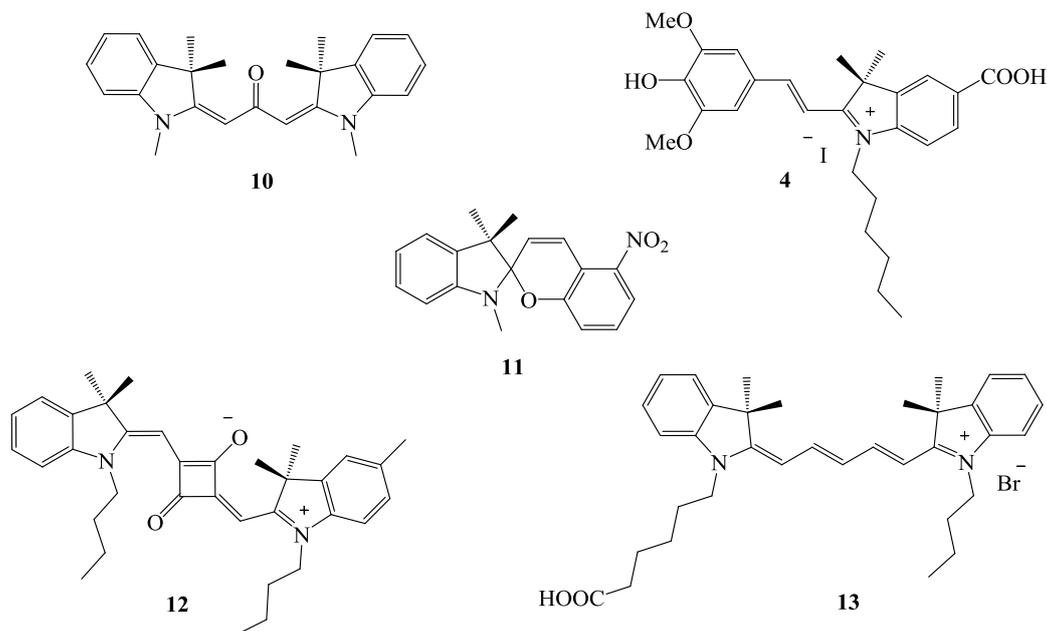


Figura 10. Corantes orgânicos obtidos a partir de indóis.

3.3. Compostos polimetínicos

3.3.1. Merocianinas e Hemicianinas

Merocianinas são compostos orgânicos de estrutura assimétrica, formados por dois grupos laterais, um heterociclo nitrogenado doador de elétrons e um grupo aceptor de elétrons, normalmente oxigenado, que são separados por uma cadeia polimetínica com número par de átomos de carbono (**Figura 11**). A estrutura eletrônica dessa classe de moléculas é fortemente influenciada por diversos fatores estruturais e físico-químicos do meio no qual as moléculas se encontram, podendo assumir configurações neutras ou carregadas.^{29,30} Assim, as merocianinas podem ser classificadas em 3 diferentes grupos, de acordo com o tamanho da cadeia polimetínica, além da classe das cetocianinas.

Com relação ao tamanho das cadeias polimetínicas, merocianinas podem ser classificadas em: (i) merocianinas simples (**A**), nas quais não há uma cadeia polimetínica separando os grupos doador e aceptor de elétrons; (ii) merocarbocianinas (**B**), com uma cadeia polimetínica contendo dois átomos de carbono; (iii) meropolcarbocianinas (**C**), caracterizadas por apresentar cadeia polimetínica com 4 ou mais átomos de carbono (**Figura 11**).^{31,32}

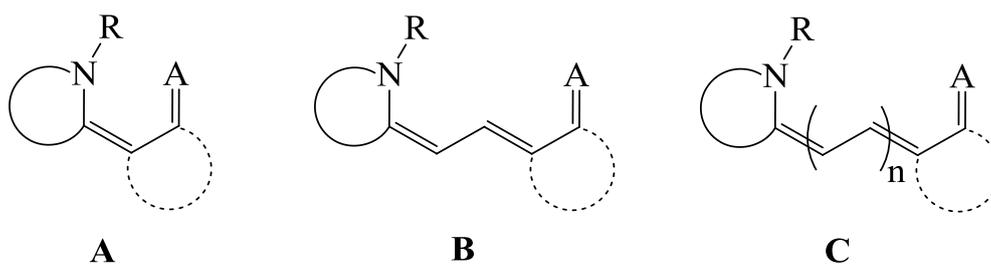


Figura 11. Classificação das merocianinas, onde R = alquil ou aril e $n \geq 2$; A =ceptor.

As cetocianinas são caracterizadas por apresentar uma carbonila na cadeia polimetínica como grupo aceptor de elétrons e dois heterociclos nitrogenados como grupos doadores de elétrons (**Figura 12**).³³

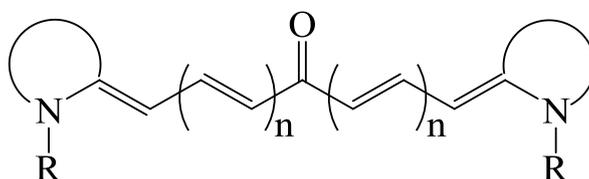


Figura 12. Estrutura de cetocianinas, onde R = alquil ou aril e $n \geq 0$.

Muitas das propriedades das merocianinas estão diretamente relacionadas a sua estrutura, sendo possível encontrar comportamentos gerais e comportamentos bastante particulares, dependendo tanto da natureza dos heterociclos nitrogenados e extensão da cadeia polimetínica, quanto da concentração, do solvente ou do pH. O solvatocromismo, a formação de agregados em solução e em fase sólida e a alta sensibilidade às alterações físico-químicas do ambiente externo são algumas das principais propriedades que fazem das merocianinas moléculas únicas.³⁴⁻³⁷

3.3.2. Estrutura e propriedade

A estrutura eletrônica das merocianinas é bastante diversificada e está profundamente relacionada com a natureza dos grupos doadores e aceptores em cada uma das extremidades e do solvente utilizado.³⁰ Uma das principais características é a presença do mecanismo de transferência intramolecular de carga (ICT) no estado fundamental, que envolve a transferência eletrônica do heterociclo doador para o grupo aceptor ao longo da cadeia polimetínica. Dessa forma, merocianinas podem ser encontradas em três diferentes formas em solução: (i) uma neutra (α), (ii) na forma

limite da cianina, com elétrons completamente deslocalizados (β) e (iii) em uma estrutura zwitteriônica (γ) conforme apresentado na **Figura 13**.^{30,38}

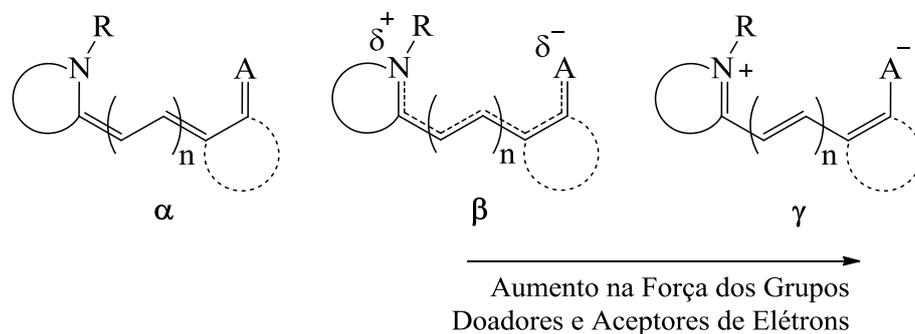


Figura 13. Relação entre estrutura química e eletrônica de merocianinas.

Como indicado na **Figura 13**, a natureza dos grupos laterais com relação a sua habilidade como doador ou aceptor de elétrons está estritamente vinculada ao estado no qual as moléculas se encontram. Na presença de grupos fortemente doadores e aceptores de elétrons, há um maior favorecimento ao processo de transferência interna de carga fazendo com que o momento de dipolo da molécula aumente, no sentido da estrutura neutra (α) para a estrutura totalmente carregada (γ).³⁰

A formação de uma ou outra espécie também é fortemente influenciada pela polaridade do meio. Uma vez que existe uma diferença significativa no momento de dipolo das três estruturas, solventes com maior polaridade tendem a favorecer a formação de espécies zwitteriônica (γ) no estado fundamental S_0 devido ao maior poder de solvatação e estabilização das cargas formadas. Em contrapartida, na presença de solventes apolares irá predominar a formação da espécie neutra (α).³⁹⁻⁴²

Além disso, influência conjunta de múltiplos fatores, tais como solvente, natureza dos grupos laterais e o tamanho da cadeia polimétrica, possibilita ainda que as merocianinas assumam estados “intermediários” entre as estruturas α - β e β - γ . De forma geral, em solventes de baixa polaridade, as moléculas podem ainda apresentar estruturas intermediárias entre as espécies α e β , de modo que a maior ou menor polarização da molécula é definida pela natureza dos grupos laterais. Por conta disso, merocianinas que apresentam grupos fortemente doadores e aceptores de elétrons, como benzimidazóis e ácido barbitúrico (ou derivados), respectivamente, assumem estruturas muito próximas à de uma cianina ideal, inclusive em solventes com reduzida capacidade de solvatação (**Figura 14**).

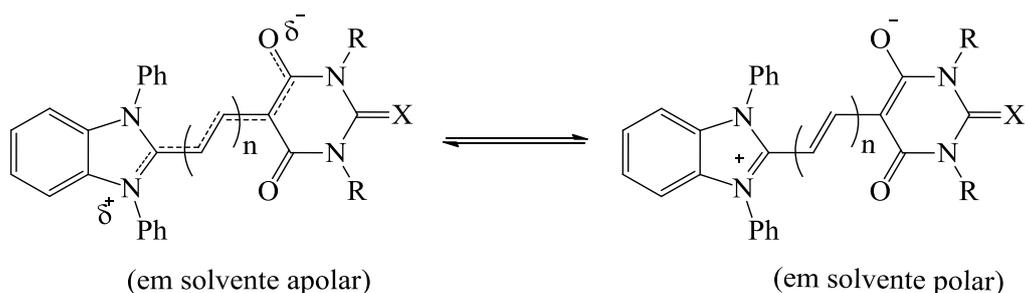


Figura 14. Estrutura de merocianinas derivadas de benzimidazóis e ácido (tio)barbitúrico em solventes polares e apolares, onde $X=O$ e S e $n=1-3$.

Em contrapartida, em solventes altamente polares, moléculas com bons grupos doadores e aceptores irão se encontrar na forma zwitteriônica (**Figura 14**), enquanto que com grupos fracamente doadores e aceptores irá predominar estruturas do tipo cianina. (**Figura 15**).^{30,43,44}

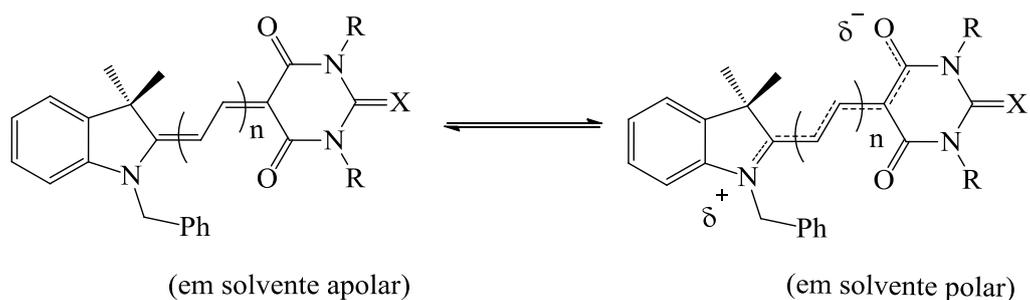


Figura 15. Estrutura de merocianinas derivadas de indóis e ácido (tio)barbitúrico em solventes polares e apolares, onde $X=O$ e S e $n=1-3$.

Além das três estruturas apresentadas, as merocianinas também podem formar uma quarta espécie, dependendo da acidez do meio em que se encontram. Devido ao caráter básico do átomo de oxigênio do grupo aceptor, principalmente em estruturas contendo grupos fenolatos, merocianinas podem ser protonadas levando à formação de hemicianinas (ácido conjugado) (**Figura 16**), cujas propriedades fotofísicas e espectroscópicas são significativamente diferentes, principalmente devido à diminuição da conjugação eletrônica e à formação de uma molécula permanentemente carregada. Essas estruturas são de grande valor na área de sensores para íons e indicadores de pH.⁴⁵

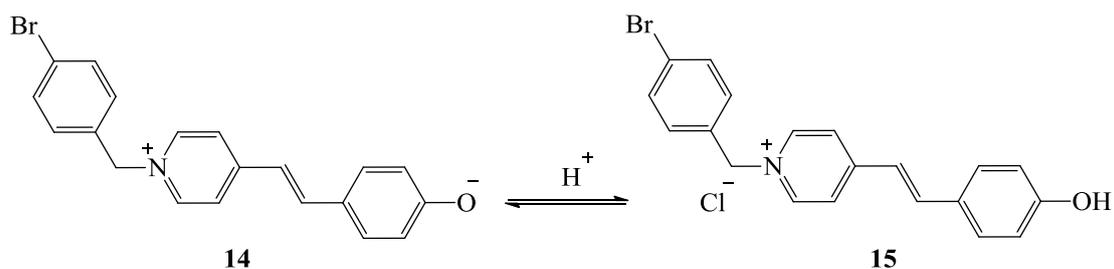


Figura 16. Equilíbrio entre merocianina **14** e hemicianina **15**.

3.3.3. Propriedades fotofísicas

Devido a elevada sensibilidade à mudanças na estrutura química e alterações físico-químicas do meio externo, as merocianinas apresentam propriedades fotofísicas bastante diversificadas, principalmente com relação ao seu comportamento solvatocrômico, podendo ser positivo, negativo ou reverso.²⁹ Os estudos do comportamento fotofísico de merocianinas se concentram principalmente em análises via espectroscopia de absorção na região do UV-Vis, uma vez que as moléculas são, na grande maioria dos casos, caracterizadas por apresentarem baixos rendimentos quânticos de emissão de fluorescência. Esta característica ocorre devido a pouca rigidez estrutural destes compostos, o que favorece processos de desativação não-radiativos via isomerização *cis-trans* das ligações duplas da cadeia polimetínica.⁴⁶⁻⁴⁸ Entretanto, algumas exceções já são encontradas, principalmente envolvendo moléculas com cadeias polimetínicas rígidas contendo estruturas cíclicas (**Figura 17**).^{49,50}

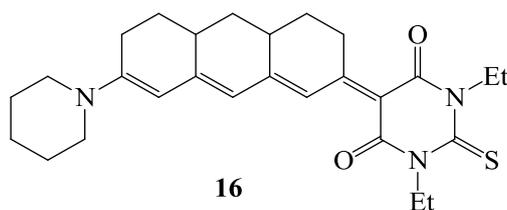


Figura 17. Merocianina com cadeia polimetínica cíclica.

Além do comportamento solvatocrômico, o caráter ácido-base de merocianinas obtidas a partir de hidroxibenzaldeídos e derivados é de grande valor para a obtenção de novos indicadores de pH e de sensores para ânions em solução. Como introduzido anteriormente, a protonação do oxiânion leva a formação de uma hemicianina, a forma ácida da merocianina, cuja conjugação eletrônica é substancialmente reduzida, o que acarreta em um deslocamento hipsocrômico de aproximadamente 100 nm no

comprimento de onda do máximo de absorção. Além disso, a hemicianina formada é caracterizada também por processos de transferência intramolecular de carga (ICT) no estado excitado, com a formação de estruturas quinóides após a absorção, levando a deslocamentos de Stokes maiores que 100 nm (**Figura 18**).⁴⁵

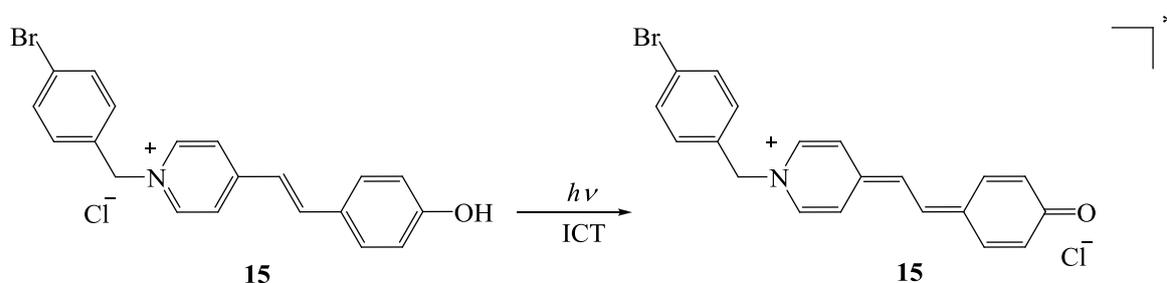


Figura 18. Mecanismo de transferência interna de carga (ICT) em hemicianinas.

O comportamento solvatocrômico das merocianinas é fortemente relacionado com o estado eletrônico no qual a molécula se encontra. Devido ao processo de transferência de carga intramolecular fotoinduzida, que ocorre após a absorção de um fóton, as merocianinas tendem a assumir estados mais próximos à estrutura com máxima deslocalização eletrônica (estrutura β , **Figura 13**) no estado excitado.⁵¹⁻⁵² Por conta disso, merocianinas que assumem a estrutura neutra no estado fundamental S_0 são caracterizadas pela presença de solvatocromismo positivo, uma vez que a absorção de um fóton leva a um aumento no dipolo da molécula. Dessa forma, um solvente polar estabiliza mais fortemente o estado excitado do que o estado fundamental, reduzindo a diferença de energia entre os dois estados. Normalmente, moléculas com esse comportamento possuem grupos fracamente doadores, como indóis, embora moléculas formadas por outros heterociclos, como a merocianina **17** (**Figura 19**) também apresentem solvatocromismo positivo.⁵³

Já em merocianinas com grupos fortemente doadores e aceptores de elétrons, solventes polares favorecem a formação de espécies carregadas no estado fundamental de modo que este é significativamente mais polar do que o estado excitado. Assim, solventes polares estabilizam mais intensamente o estado fundamental, originando um solvatocromismo negativo, como para a merocianina **18** (**Figura 20**).⁵⁴

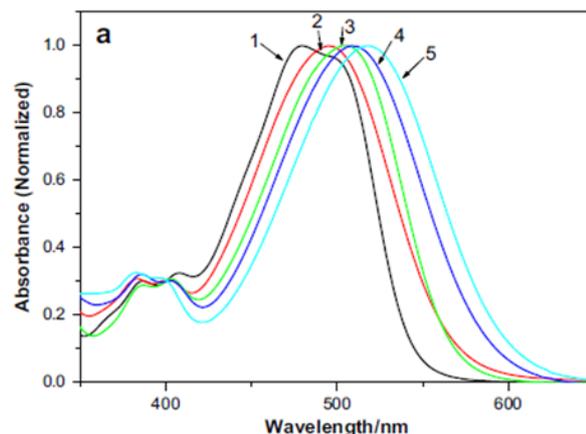
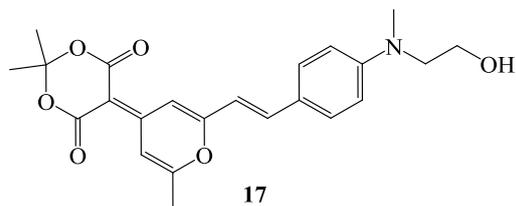


Figura 19. Merocianina com solvatocromismo positivo, onde (1) xileno, (2) acetona, (3) clorofórmio, (4) etanol e (5) dimetilsulfóxido.⁵³

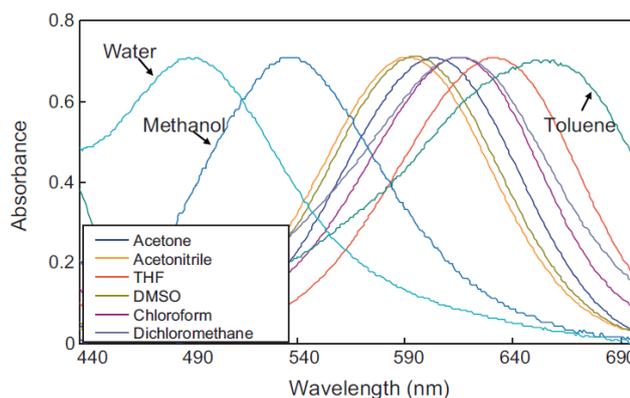
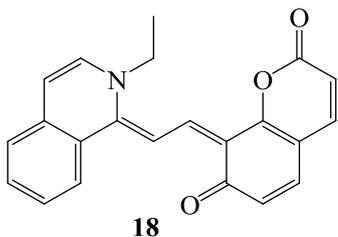


Figura 20. Merocianina com solvatocromismo negativo.⁵⁴

Algumas merocianinas podem ainda ser caracterizadas por um solvatocromismo chamado de reverso. Neste processo, a mudança de um determinado solvente, seja para um de maior ou de menor polaridade, deve envolver, em ambos os casos, um deslocamento hipsocrômico. Esse comportamento é bastante comum para moléculas que assumem estruturas deslocalizadas (estrutura β , **Figura 13**) em solventes de polaridade moderada. Nesses casos, o aumento ou a diminuição de polaridade do solvente são acompanhados de mudanças para uma estrutura mais próxima de um *zwitterion*, no primeiro caso, e da estrutura neutra, no segundo, porém em ambos há um aumento na diferença de energia entre o estado fundamental e o estado excitado.^{22,39,55} As merocianinas mais importantes com esse comportamento são derivadas da

Merocianina de Brooker (**Figura 21**), obtidas a partir da reação entre um sal de piridínio com hidroxibenzaldeídos.^{35,56}

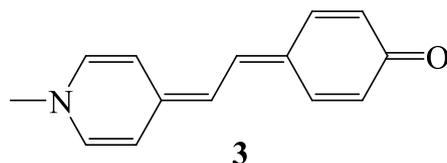


Figura 21. Merocianina de Brooker.

Uma característica muito importante das merocianinas é a elevada “sensibilidade” do comportamento solvatocrômico com relação às modificações estruturais, tanto dos grupos laterais, quanto na cadeia polimetínica. Os efeitos de substituintes doadores e aceptores de elétrons no solvatocromismo foram estudados em merocianinas derivadas de benzotiazóis e hidroxibenzaldeídos (**Figura 22**). A merocianina **19**, sem qualquer substituinte, é caracterizada por um solvatocromismo negativo, devido ao fato de estar na forma de *zwitterion* no estado fundamental, mais estável devido ao caráter mais aromático do anel benzotiazólico quando comparado à estrutura neutra (**Figura 22**). Entretanto, a inserção de um grupo nitro, retirador de elétrons, na posição 6 do anel benzotiazólico, e de um substituinte do tipo etoxi, para em relação ao oxigênio do grupo oxifenil (**Figura 22-20**), reduziu significativamente as propriedades de doador-aceptor dos grupos laterais de modo que a molécula passou a assumir estrutura neutra, apresentando solvatocromismo positivo. Já a inversão dos grupos nitro e etoxi (**Figura 22-21**) promoveu um caráter ainda mais polarizado da molécula, com um solvatocromismo negativo mais pronunciado.⁵⁷

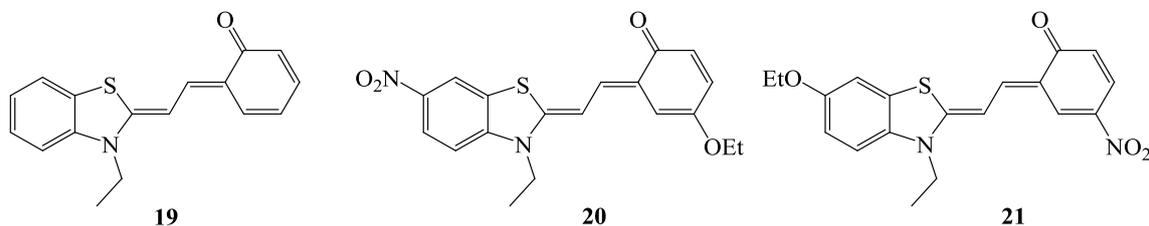


Figura 22. Efeito do substituinte na natureza do solvatocromismo em merocianinas.⁵⁷

Kulinich *et al.* mostraram que a alteração do solvatocromismo também pode se dar apenas pela alteração no comprimento da cadeia polimetínica (**Figura 23**).^{42,58} O aumento do número de átomos de carbono da cadeia pode favorecer, em muitos casos, a

formação da estrutura neutra devido ao seu caráter mais apolar. Dessa forma, enquanto se observa um deslocamento hipsocrômico de 3 nm para a merocianina **22** ao se trocar tolueno por diclorometano (solvatocromismo negativo), um deslocamento batocrômico de 17 nm (solvatocromismo positivo) foi observado para a merocianina **23**.⁵⁸

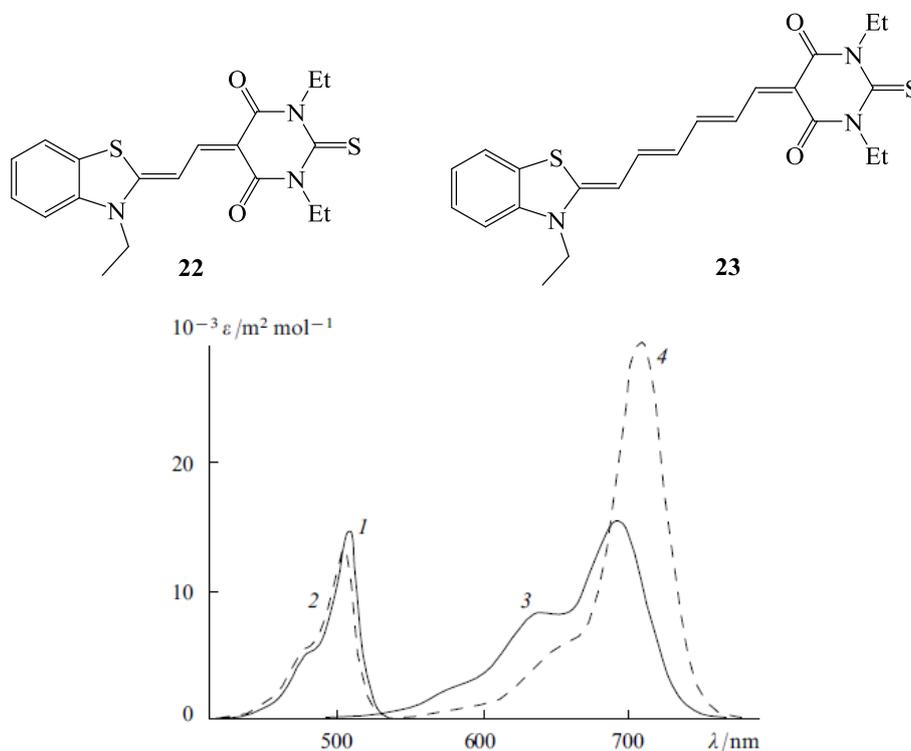


Figura 23. Efeito da cadeia polimetínica no solvatocromismo de merocianinas. Merocianinas **22** (1 e 2) e **23** (3 e 4) em tolueno (linha contínua) e diclorometano (linha tracejada).⁵⁸

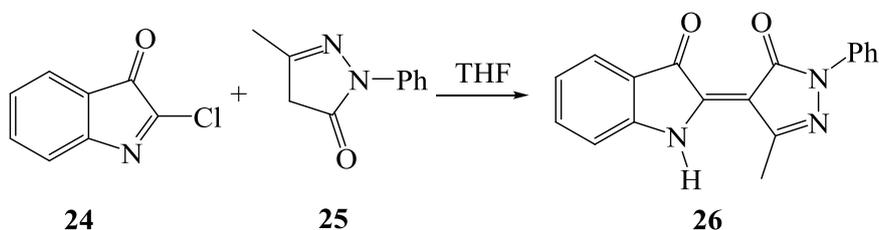
3.3.4 Aplicações

Embora menos explorado do ponto de vista de propriedades fotofísicas devido ao reduzido rendimento quântico de emissão de fluorescência, as propriedades de emissão são também largamente influenciadas pelas características do ambiente no qual as moléculas se encontram. Mudanças na polaridade, viscosidade e a associação ou formação de complexos com algum analito alteram significativamente as propriedades fluorescentes das merocianinas de modo que as mudanças observadas podem ser utilizadas como respostas analíticas. Devido a essas características, as merocianinas podem ser utilizadas na construção de escalas de polaridade de solventes,²¹ na

um dos grupos, a química utilizada na síntese da primeira merocianina⁶⁵ ainda continua bastante presente, sendo largamente empregada na síntese de novas moléculas.

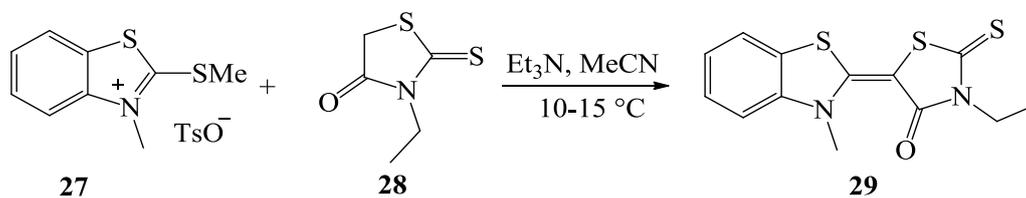
Síntese de merocianinas simples (n=0)

Essa classe de merocianinas é comumente obtida a partir da reação de condensação entre heterociclos nitrogenados, contendo grupos de saída nas posições 2 ou 4, com nucleófilos contendo bases metilênicas ativas. Geralmente, devido à reação ser realizada em uma única etapa, não há a formação de muitos subprodutos e as merocianinas são obtidas com bons rendimentos e elevada pureza. No **Esquema 3**, é mostrada a síntese da merocianina **26**, obtida com rendimento moderado a partir da reação entre os heterociclos **24** e **25**.⁶⁶

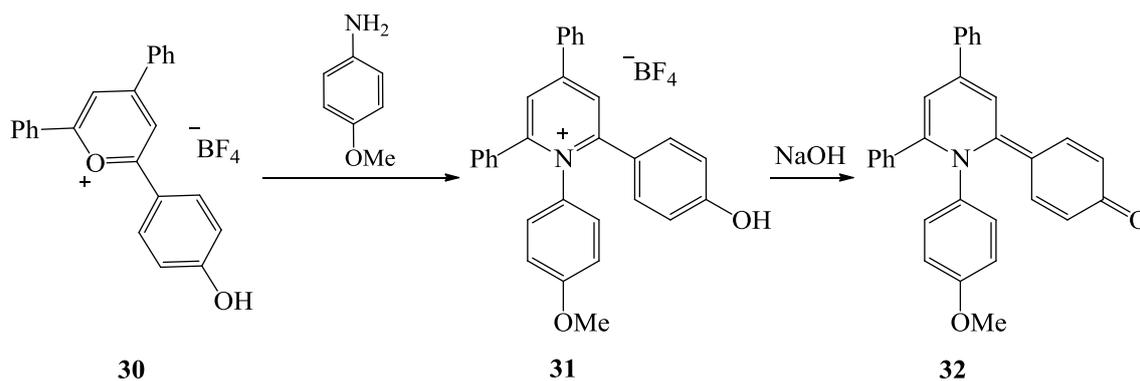


Esquema 3. Síntese da merocianina **26**.

Muitas merocianinas também podem ser obtidas utilizando sais de heterociclos nitrogenados, tais como piridinas, indóis ou benzoxazóis como eletrófilos precursores. Essa abordagem permitiu a obtenção de produtos com elevados rendimentos, como é o caso das merocianinas **29** e **32** (**Esquemas 4 e 5**).^{67,68}

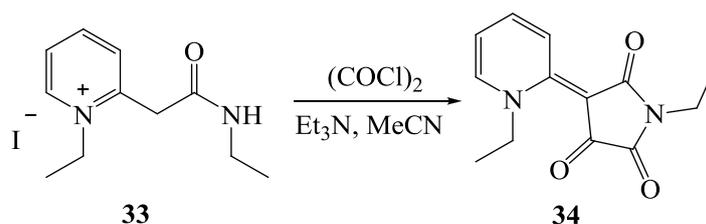


Esquema 4. Síntese da merocianina **29**.

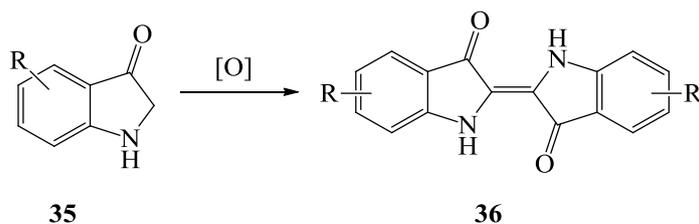


Esquema 5. Síntese da merocianina **32**.

Outras abordagens de grande importância, envolvem as reações de ciclização, como no caso da merocianina **34**, obtida a partir da reação entre o sal de piridínio precursor **33** e o cloreto de oxalila (**Esquema 6**)⁶⁹ e as reações de oxidação, largamente empregadas na síntese do famoso corante Indigo (**Esquema 7**).⁷⁰



Esquema 6. Síntese da merocianina **34**.

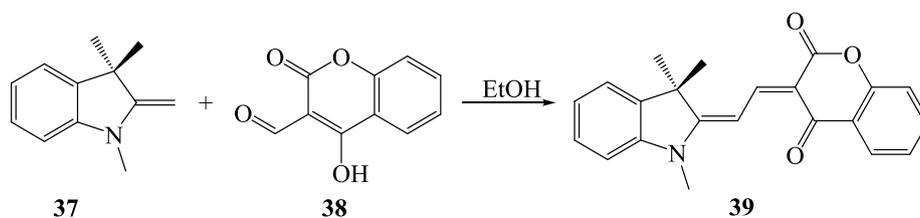


Esquema 7. Síntese da merocianina **36**.

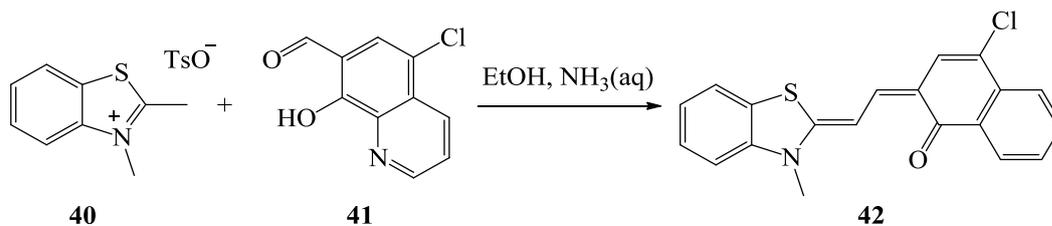
Síntese das merocarbocianinas (n=1)

Os métodos utilizados para a síntese de merocarbocianinas (n=1) e meropolycarbocianinas (n>1) são bastante variados. Analogamente às merocianinas simples, a síntese de merocarbocianinas geralmente ocorre com altos rendimentos e com produtos de alta pureza, mesmo com a utilização de substratos precursores impuros. O método clássico empregado envolve a reação entre um heterociclo nitrogenado

contendo um grupo enamina ou sais de heterocícl^{os} *N*-quaternários contendo uma metila ativada, com hidroxibenzaldeídos ou heterocícl^{os} análogos. A síntese utilizando heterocícl^{os} na forma de enaminas requer apenas aquecimento para a promoção da reação de condensação (**Esquema 8**), enquanto que a utilização de sais de heterocícl^{os} *N*-quaternários necessita de catálise básica (**Esquema 9**).^{71,72}

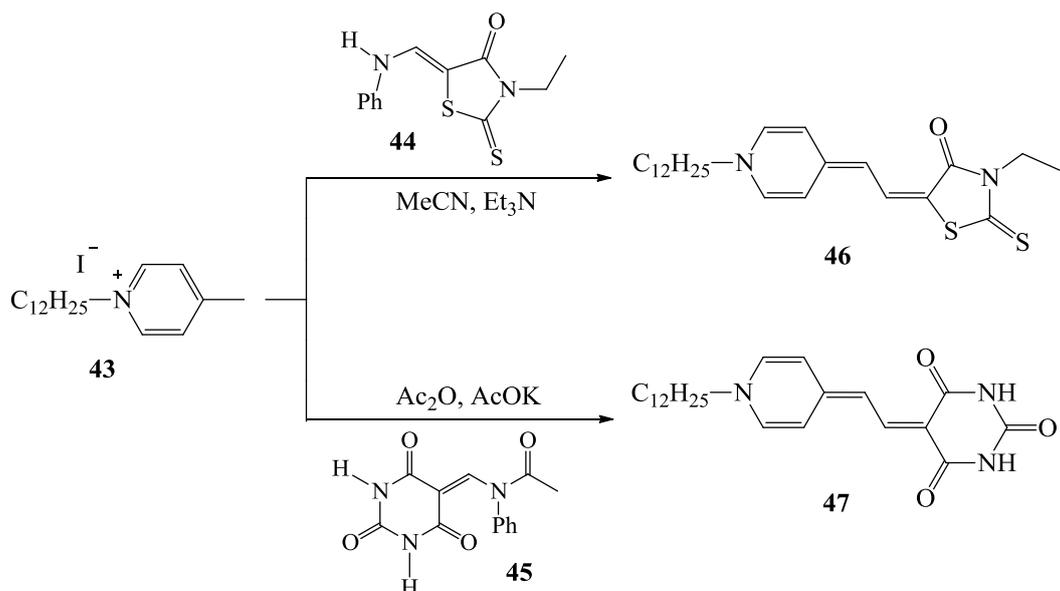


Esquema 8. Síntese da merocianina **39**.



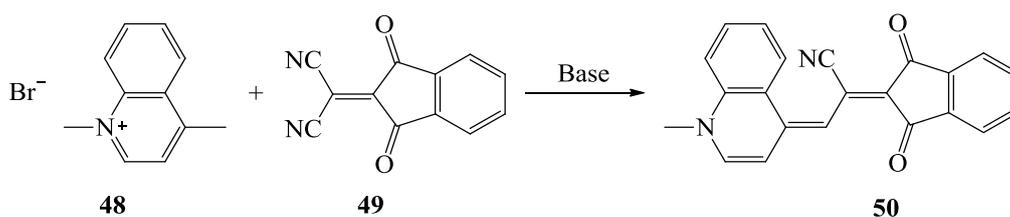
Esquema 9. Síntese da merocianina **42**.

Outro método largamente empregado envolve as reações, também promovidas por catálise básica, entre heterocícl^{os} *N*-quaternários contendo um grupo metil ativado com cetonas aromáticas substituídas com grupos anilinetilênicos ou acetanilidometilênicos (**44** e **45**) como espécies eletrofílicas. A introdução do grupo acetil no eletrófilo pode ser realizada em uma etapa anterior à etapa de síntese da merocianina ou durante a própria reação a partir da utilização de anidrido acético como solvente. Dentro dessa metodologia, destacam-se as merocianinas derivadas da reação de sais de piridíⁿⁱum (**43**) com diversas cetonas heterocíclicas, como rodaninas (**44**) e ácido barbitúrico e/ou derivados (**45**) (**Esquema 10**).⁷³⁻⁷⁵



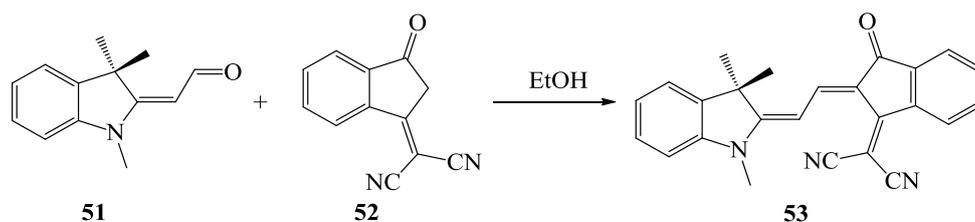
Esquema 10. Síntese de merocianinas a partir de eletrófilos do tipo acetanilidometilênicos.

Uma abordagem também importante, não apenas do ponto de vista sintético, mas também com relação à estrutura do produto final, envolve a utilização de eletrófilos contendo grupos dicianometilênicos (**Esquema 11**). A reação entre o brometo de 4-metilquinolínio (**48**) com o composto **49** leva a formação da merocianina **50**, que contém um substituinte ciano na cadeia metínica, modificando as propriedades fotofísicas e gerando um sítio reativo para futuras transformações.⁷⁶



Esquema 11. Síntese da merocianina **50**.

Quando a síntese dos aldeídos ou derivados precusores é de difícil realização, a transferência do grupo formil (ou derivados) para o heterociclo que contém o átomo de nitrogênio torna-se uma alternativa sintética importante, como na síntese do composto **53** (**Esquema 12**).⁷⁷⁻⁷⁹



Esquema 12. Síntese da merocianina **53**.

Síntese das meropolycarbocianinas ($n > 1$)

Muitas das metodologias empregadas para a síntese de merocarbocianinas são também empregadas na síntese de moléculas com cadeias polimetínicas mais extensas. Entretanto, o maior obstáculo relacionado à síntese de merocianinas com longas cadeias polimetínicas encontra-se na dificuldade de obtenção das moléculas precursoras e do grande número de processos paralelos que ocorrem durante a síntese, diminuindo a acessibilidade à produtos com bons rendimentos e alta pureza.¹⁷ Por esta razão, atualmente as merocianinas com cadeias mais curtas têm sido alvo do maior número de trabalhos publicados.

As principais rotas sintéticas utilizadas na síntese dessa família de merocianinas envolvem o emprego de precursores de cadeias polimetínicas, dos quais os mais utilizados são os dialdeídos e seus derivados. Para a síntese de merocianinas com cadeias polimetínicas contendo quatro átomos de carbono, são utilizados os derivados do malonaldeído (**Figura 25**).^{29,78,79} Já para os compostos contendo seis átomos de carbono na PC, utilizam-se derivados do glutaconaldeído (**Figura 26**).^{80,81} Também são encontrados precursores com anéis, interessantes para a síntese de moléculas com maior foto, quimio e termoestabilidade e maior rendimento quântico de fluorescência (**Figura 27**).⁸⁰

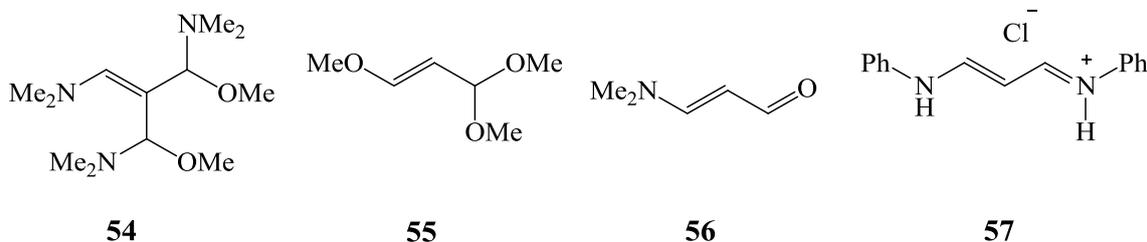


Figura 25. Derivados do malonaldeído para a síntese de merotetracarbocianinas.

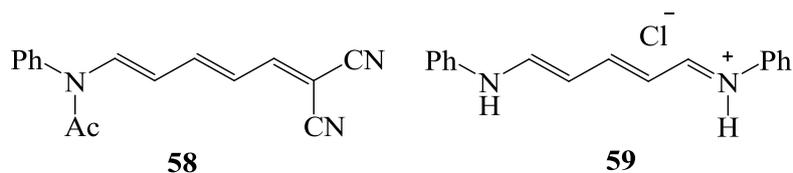


Figura 26. Derivados do glutaconaldeído para a síntese de merohexacarbocianinas.

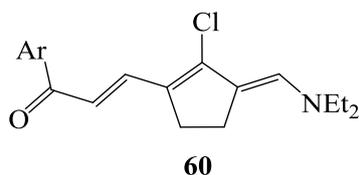
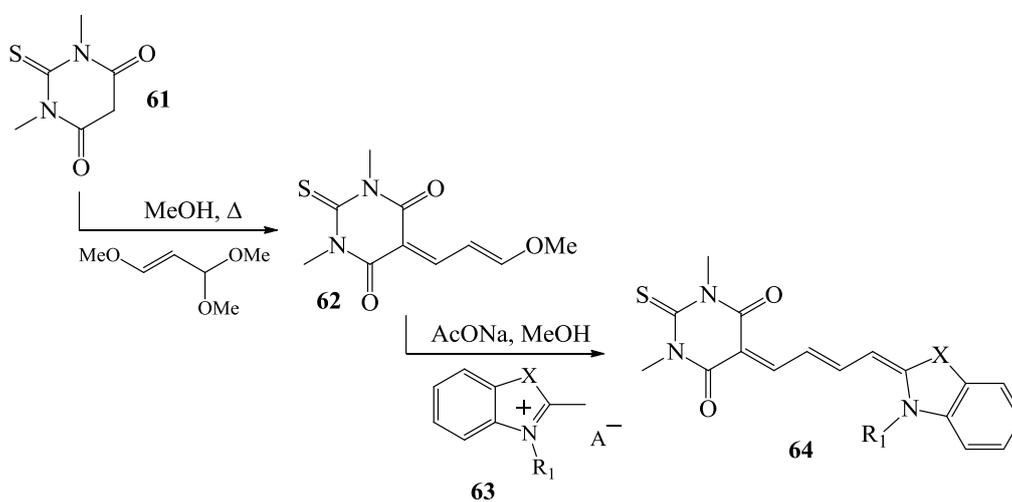


Figura 27. Precursor para a síntese de merocianinas cíclicas.

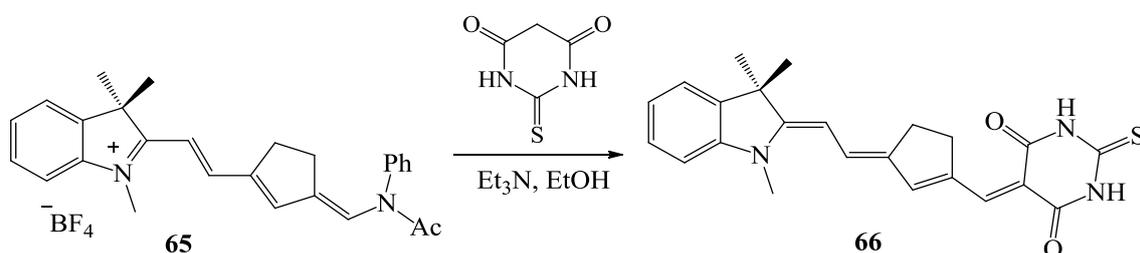
Todos os precursores apresentados são moléculas bifuncionalizadas que podem sofrer reações de condensação em ambas as extremidades levando a formação das respectivas merocianinas. É importante destacar ainda que as reações, na grande maioria dos casos, são realizadas em mais de uma etapa, para controlar a entrada dos grupos laterais. No **Esquema 13**, é apresentado um esquema geral de síntese de merotetracarbocianinas (**64**), a partir de derivados do ácido tiobarbitúrico.⁸²



Esquema 13. Esquema geral de síntese de merotetracarbocianinas, onde R_1 = alquil ou aril e $X = S$ e $C(CH_3)_2$.

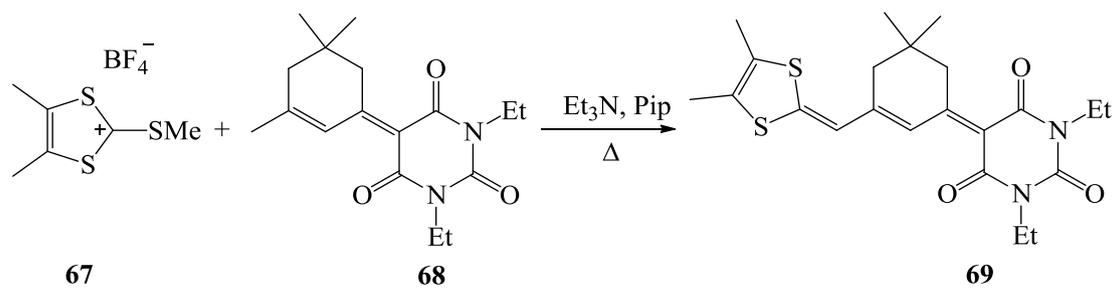
O esquema apresentado acima é geral e representativo para a síntese de moléculas com cadeia polimetínica contendo quatro ou mais átomos de carbono para qualquer heterociclo ou cetona cíclica contendo grupo metilênico reativo. Em muitos

casos, a separação do intermediário formado é de difícil realização e o processo reacional é executado de modo *one-pot two-step*, ou seja, após o consumo completo do derivado de ácido tiobarbitúrico, adiciona-se o heterociclo nitrogenado ao meio reacional. Desta forma, é importante controlar tanto a formação do intermediário, minimizando a formação do subproduto oriundo da condensação em ambas as extremidades e garantir o máximo consumo do reagente precursor de cadeia polimetínica visto que a sua presença na segunda etapa do processo irá também competir pela reação com o heterociclo nitrogenado, levando a formação de um grande número de subprodutos. Um grande número de moléculas, inclusive a Merocianina 540 (MC-540) e análogas são sintetizadas a partir da abordagem esquematizada. Entretanto, devido às dificuldades sintéticas mencionadas, os rendimentos ainda são significativamente baixos.⁸³ O **Esquema 13** exemplifica apenas uma das possíveis rotas sintéticas. Uma segunda alternativa envolve primeiramente a condensação de um heterociclo nitrogenado ao precursor da cadeia polimetínica, formando o intermediário **65**, utilizado na síntese da merocianina **66** (**Esquema 14**).

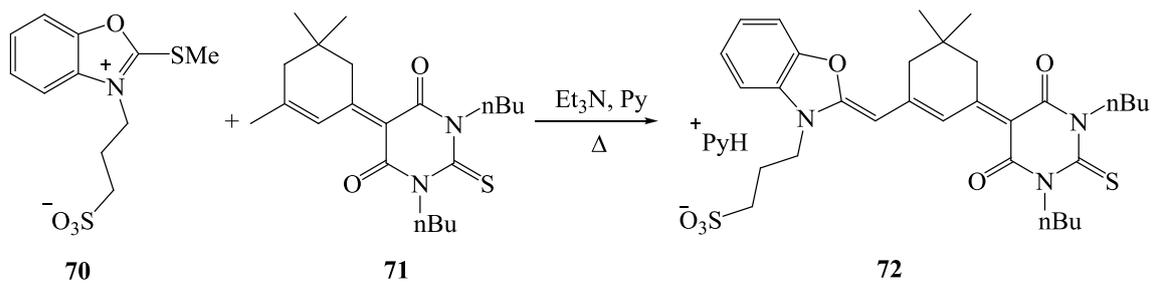


Esquema 14. Síntese da merocianina **66**.

Em ambas as abordagens apresentadas, os intermediários que continham o fragmento da cadeia polimetínica eram espécies eletrofílicas. Métodos sintéticos nos quais o nucleófilo contém o fragmento referente à cadeia polimetínica são bastante raros, mas alguns exemplos podem ser encontrados, como na síntese das merocianinas **69** (**Esquema 15**) e **72** (**Esquema 16**).^{83,84}



Esquema 15. Síntese da merocianina 69.



Esquema 16. Síntese da merocianina 72.

4. Experimental

4.1 Materiais e métodos

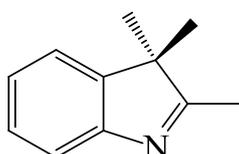
Para a realização deste trabalho foram utilizados os seguintes reagentes com pureza adequada: ácido clorídrico P.A. (Nuclear), ácido acético glacial P.A. (Nuclear), 1,4-dioxano P.A. (Neon), metanol (Synth), diclorometano (Neon), vanilina (Aldrich), acetona (Vetec), cloridrato de fenil hidrazina (Aldrich), 3-metil-2-butanona (Aldrich), ciclohexano (Nuclear), acetato de etila (Synth), acetonitrila (Synth), dimetilsulfóxido (Synth), *N,N*-dimetilformamida (Synth), metóxido de sódio (Aldrich), fluoreto de tetrabutilamônio (Aldrich), cloreto de tetrabutilamônio (Aldrich), iodeto de tetrabutilamônio (Aldrich), perclorato de tetrabutilamônio (Aldrich), hidrogenosulfato de tetrabutilamônio (Aldrich), brometo de tetrabutilamônio (Aldrich), cianeto de sódio (Aldrich), peróxido de benzoíla (Aldrich), solução de peróxido de hidrogênio (30%) (Vetec), peróxido de diterbutila (Aldrich). As purificações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando Sílica Gel 60G (70-230 Mesh) (aldrich) como fase estacionária.

As medidas de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis foram obtidas à temperatura de 25°C usando um espectrofotômetro Shimadzu UV 2450, com velocidade de scan média (1.0 nm) e slit (1.0 nm) em cubeta de quartzo de base quadrada de 4 faces e caminho óptico de 1 cm. Para as análises de reflectância difusa foi utilizada uma esfera de integração ISR 2200. As medidas de espectroscopia de emissão de fluorescência em solução e estado sólido foram realizadas em um espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC, em cubetas de quartzo de base quadrada de 4 faces, com caminho óptico de 1 cm. utilizando os máximos de absorção (λ_{abs}) como comprimento de onda de excitação (λ_{exc}). As medidas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram realizadas em aparelhos Varian Inova e Varian VNMRs utilizando como solventes deuterados DMSO- d_6 , CDCl_3 e $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$. Os espectros de hidrogênio foram obtidos a 300 MHz e os de carbono 75,5 MHz.

4.2. Síntese

4.2.1. Síntese do precursor indólico 74

Em um balão de 100 mL foram adicionados 40 mmol de cloridrato de fenil hidrazina (5,78 g), 50 mmol de 2-metil-3-butanona (5,4 mL) e 40 mL de etanol. A mistura foi aquecida na temperatura de refluxo por 4h, tempo necessário o completo consumo do precursor, verificado através de análises de cromatografia em camada delgada. Após o resfriamento a mistura reacional foi neutralizada com solução saturada de bicarbonato de sódio e foram realizadas 3 extrações com 30 mL de diclorometano. O solvente foi removido em evaporador rotatório, sendo obtido um óleo avermelhado.



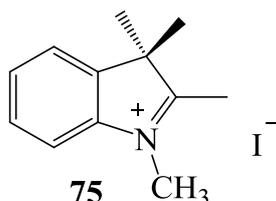
74

Indol **74**. Rendimento: 92% (5,85 g), óleo avermelhado. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,53 (d, 1H, $J_o = 6,6$), 7,26 (m, 2H), 7,18 (d, 1H, $J_o = 6,5$), 2,26 (s, 3H), 1,28 (s, 6H).

4.2.2. Síntese dos precursores indólicos *N*-quaternários 75-78

Procedimento I. Síntese dos precursores 75-77

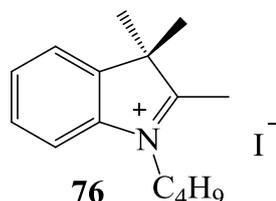
Em um balão de 50 mL foram adicionados 20 mmol (3,18 g) do precursor indólico, 24 mmol do respectivo iodeto de alquila e 10 mL de nitrometano. A mistura foi aquecida a 100°C por 24h. Após o resfriamento, a mistura foi vertida em 100 mL de éter etílico gelado obtendo-se um precipitado. O produto foi filtrado e lavado com diversas porções de acetato de etila até a solução de lavagem não apresentar mais coloração.



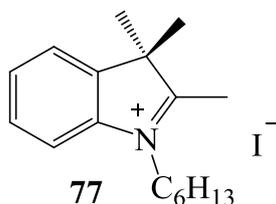
75

Indol **75**. Rendimento: 91% (5,48 g), sólido branco. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 7,90 (m, 1H), 7,82 (m, 1H), 7,59 (m, 2H), 3,97 (s, 3H), 2,78 (s, 3H), 1,52 (s,

6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 196,4; 142,5; 142,0; 129,7; 129,3; 123,8; 115,6; 54,4; 35,4; 22,2; 14,9.



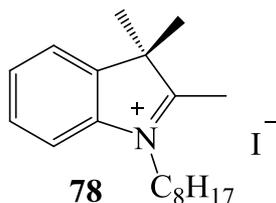
Indol **76**. Rendimento: 80% (5,50 g), sólido cinza. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,75 (m, 1H), 7,60 (m, 3H), 4,67 (t, 2H), 3,13 (s, 3H), 1,96 (m, 2H), 1,67 (s, 6H), 1,52 (m, 2H), 1,01 (t, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 195,6; 141,5; 140,8; 130,1; 129,4; 123,4; 115,3; 54,6; 49,7; 29,9; 23,1; 20,1; 17,0; 13,6.



Indol **77**. Rendimento: 76% (5,64 g), sólido cinza. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 8,00 (m, 1H), 7,87 (m, 1H), 7,62 (m, 2H), 4,47 (t, 2H), 2,89 (s, 3H), 1,83 (m, 2H), 1,55 (s, 6H), 1,42 (m, 2H), 1,29 (m, 4H), 0,85 (t, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ (ppm) = 196,8; 142,3; 141,5; 129,9; 129,4; 124,1; 116,0; 54,7; 48,2; 31,2; 27,7; 26,0; 22,5; 22,3; 14,9; 14,3.

Procedimento II. Síntese do precursor **78**

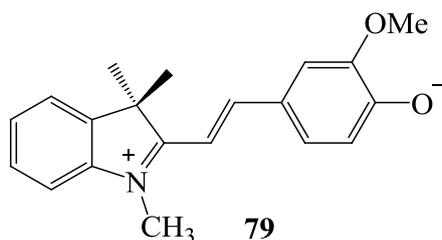
Em um balão de 50 mL foram adicionados 20 mmol (3,18 g) do precursor indólico e 24 mmol (5,76 g) de 1-iodooctano. A mistura foi aquecida a 100°C por 24h. Após o resfriamento, a mistura foi lavada com éter etílico e hexano obtendo-se um óleo marrom.



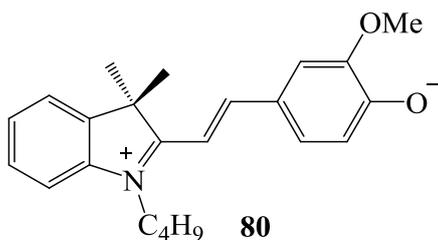
Indol **78**. Rendimento: 70% (5,60 g), óleo marrom. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,69 (m, 1H), 7,61 (m, 3H), 4,66 (t, 2H), 3,12 (s, 3H), 1,96 (m, 2H), 1,67 (s, 6H), 1,47 (m, 2H), 1,26 (m, 8H), 0,87 (t, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 195,5; 141,6; 140,8; 130,2; 129,5; 123,5; 115,3; 54,7; 50,0; 31,6; 29,0; 28,9; 28,0; 26,8; 23,2; 22,6; 17,1; 14,0.

4.2.3. Síntese das merocianinas 79-82

Em um balão de 50 mL foram adicionados 1,5 mmol do precursores indólicos **75-78**, 1,57 mmol de vanilina (240 mg), 1,57 mmol de metóxido de sódio (85 mg) e 20 mL de metanol. A mistura foi aquecida a temperatura de refluxo por 4h, com a reação sendo monitorada por cromatografia em camada delgada. Após o completo consumo do precursor indólico, o solvente foi removido em evaporador rotatório e o bruto reacional foi purificado por cromatografia em coluna, utilizando sílica gel como fase estacionária e uma mistura 95:5 de diclorometano:metanol como eluente.

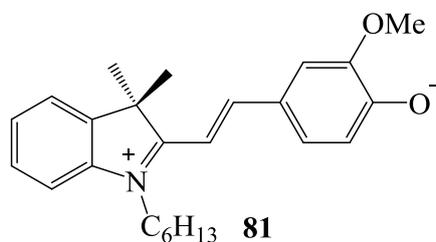


Merocianina **79**. Rendimento: 66% (305 mg), sólido verde metálico. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 8,25 (d, 1H, $J_{trans} = 15,8$ Hz), 7,76 (m, 3H), 7,68 (s, 1H), 7,56 (t, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,27 (d, 1H, $J_{trans} = 15,8$ Hz), 6,83 (d, 1H, $J_{orto} = 8,5$ Hz), 4,01 (s, 3H), 3,89 (s, 3H), 1,77 (s, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 179,3; 158,3; 152,7; 149,5; 143,0; 142,6; 129,3; 129,2; 128,0; 125,9; 123,1; 117,9; 114,1; 113,2; 107,2; 56,4; 51,4; 33,9; 26,5.

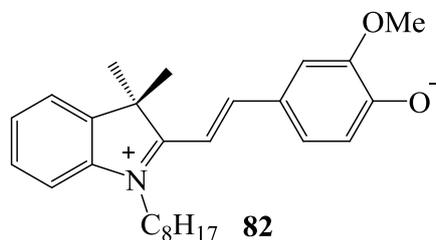


Merocianina **80**. Rendimento: 60% (315 mg), sólido verde metálico. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 8,02 (d, 1H, $J_{trans} = 14,9$ Hz), 6,65 (t, 2H), 7,44 (m, 2H),

7,36 (s, 1H), 7,29 (t, 1H), 6,84 (d, 1H, $J_{trans} = 14,9$ Hz), 6,54 (d, 1H, $J_{orto} = 9,0$ Hz), 4,32 (t, 2H), 3,79 (s, 3H), 1,69 (m, 8H), 1,38 (m, 2H), 0,92 (t, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$): δ (ppm) = 175,5; 173,6; 152,4; 151,1; 142,1; 141,1; 128,3; 124,8; 122,0; 121,7; 121,0; 110,6; 98,3; 54,4; 49,1; 43,2; 29,2; 26,7; 19,7; 12,9.



Merocianina **81**. Rendimento: 58% (330 mg), sólido dourado metálico. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 8,03 (d, 1H, $J_{trans} = 14,9$ Hz), 7,67 (m, 2H), 7,46 (m, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,29 (t, 1H), 6,85 (d, 1H, $J_{trans} = 14,9$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J_{orto} = 8,8$ Hz), 4,33 (t, 2H), 3,81 (s, 3H), 1,72 (s, 6H), 1,31 (m, 8H), 0,82 (t, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 178,7; 172,3; 155,7; 154,1; 147,1; 146,7; 137,3; 133,7; 130,5; 128,7; 127,7; 125,5; 116,9; 116,6; 106,4; 60,6; 54,6; 49,0; 36,0; 32,3; 32,2; 30,8; 27,2; 19,0.



Merocianina **82**. Rendimento: 54% (330 mg), sólido dourado metálico. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 8,23 (d, 1H, $J_{trans} = 15,2$ Hz), 7,77 (m, 2H), 7,68 (d, 1H, $J_{orto} = 7,6$ Hz), 7,58 (s, 1H), 7,53 (t, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,15 (d, 1H, $J_{trans} = 15,2$ Hz), 6,77 (d, 1H, $J_{orto} = 8,8$ Hz), 4,51 (t, 2H), 3,87 (s, 3H), 1,76 (m, 8H), 1,35 (m, 4H), 1,20 (m, 6H) 0,80 (t, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$): δ (ppm) = 179,3; 160,6; 154,3; 149,8; 142,7; 141,2; 129,6; 128,9; 127,7; 125,1; 122,5; 117,5; 113,2; 111,7; 105,2; 55,3; 51,2; 45,3; 31,5; 28,9; 27,8; 26,3; 26,0; 22,3; 13,1.

4.3. Preparo de amostras e medidas de fotofísica

4.3.1 Caracterização fotofísica em solventes orgânicos

Para o estudo fotofísico da merocianina **80** em solventes orgânicos foi primeiramente determinada a máxima concentração de corante na qual não foram observados efeitos de supressão de fluorescência devido à interações soluto-soluto, em virtude da baixa intensidade de emissão característica do corante. A concentração determinada e escolhida para as análises foi de 5 μM , utilizada também para a aquisição dos espectros de absorção na região do UV-Vis. Para os espectros de emissão de fluorescência foram utilizados como λ_{exc} o comprimentos de onda referentes aos máximos de absorção λ_{abs} . Para os espectros de excitação, utilizou-se como λ_{exc} o comprimento de onda referente ao máximo de emissão (λ_{em}).

Fluorímetro - **80**: velocidade de scan: 1.0 nm; Slits: (EX 5.0 nm - EM 5.0 nm).

Fluorímetro - **80b**: velocidade de scan: 1.0 nm; Slits (EX 5.0 nm - EM 10.0 nm).

4.3.2. Determinação do pKa e estudos de reversibilidade em função do pH

Foram preparados 100 mL de solução contendo o corante na concentração de 10 μM e água deionizada. O pH da solução foi ajustado inicialmente em 2 com uma solução HCl 2 M. A solução foi então titulada com uma solução de NaOH 2 M contendo concentração de corante de 10 μM até pH 12, monitorado continuamente com auxílio de um pHmetro digital. Durante a titulação, foram obtidos espectros de absorção e emissão de fluorescência em diferentes valores de pH, utilizando $\lambda_{\text{exc}} = 477$ nm (ponto isobéstico). Foram ainda obtidos espectros de fluorescência sincronizada, com $\Delta\lambda = 60$ nm.

Fluorímetro: velocidade de scan: 1.0 nm; Slits (EX 5.0 nm - EM 5.0 nm).

Para os estudos de reversibilidade, foram realizadas titulações sequenciais de uma solução aquosa contendo o corante na concentração de 10 μM , com soluções concentradas de HCl (9 M) e NaOH (15 M), ambas contendo a mesma concentração do corante. Foram realizados 5 ciclos de variação entre os pH 2 e 12. Foram obtidos espectros de absorção e emissão de fluorescência nesse valores de pH utilizando como λ_{exc} 438 e 546 nm.

Fluorímetro: velocidade de scan: 1.0 nm; Slits (EX 5.0 nm - EM 3.0 nm).

4.3.3. Obtenção de matrizes de sílica dopadas com corante

As matrizes de sílica dopadas foram obtidas a partir da adsorção do corante **80** em sílica gel comercial (Sílica Gel 60, 70-230 *Mesh*) nas seguintes proporções ($\mu\text{mol}_{\text{corante}}/\text{g}_{\text{sílica}}$): 0,5/1, 1/1, 2/1, 3/1 e 5/1. A impregnação foi realizada utilizando diclorometano destilado e tratado com carbonato de sódio como solvente. As quantidades exatas de corante foram adicionadas a partir de uma solução estoque do corante em acetonitrila. Durante o preparo dos materiais foi observada que a saturação da sílica com o corante foi alcançada na proporção de 1/1, indicada pela completa “migração” do corante da solução de diclorometano utilizada no processo para a fase sólida. Dessa forma, foi escolhido o material obtido na proporção de 1/1 para a realização dos estudos com vapores.

4.3.4. Estudo fotofísico das matrizes de sílica dopadas e expostas à vapores

O método escolhido para a realização das análises com diferentes vapores foi o método da saturação de vapor, utilizando o sistema mostrado na **Figura 28**. Como indicado, o vapor a ser estudado é produzido a partir da saturação do líquido com nitrogênio gasoso. A amostra (~ 100 mg) é adicionada em uma panelinha de vidro e colocada dentro da câmara previamente saturada com o vapor de estudo. O tempo de exposição a cada um dos vapores foi padronizado em 30 minutos, apesar de tempos mais curtos de exposição já proporcionarem significativas mudanças visuais. Após, foram realizadas análises de absorção e emissão de fluorescência em sólido. Para as análises de emissão de fluorescência, foi utilizado como λ_{exc} o comprimento de onda referente ao máximo de absorção (λ_{abs}).

Fluorímetro: velocidade de scan: 1.0 nm; Slits (EX 5.0 nm - EM 3.0 nm).

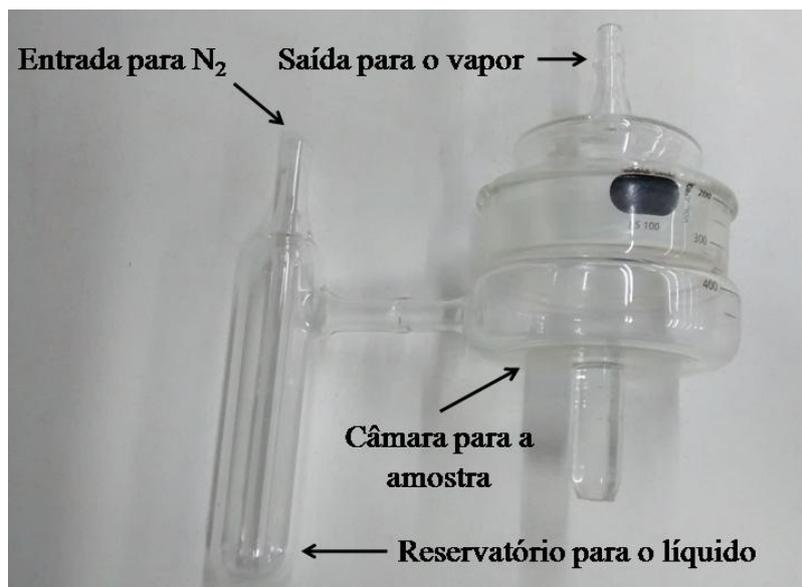


Figura 28. Sistema utilizado para a realização dos estudos com vapores.

4.3.5. Titulação com fluoreto de tetrabutylamônio (TBAF)

Para a titulação com TBAF foi inicialmente preparada uma solução do corante **80b** (10 μM) em acetonitrila e uma solução de TBAF (90 μM), contendo o corante também na concentração de 10 μM , no mesmo solvente. 2 mL de solução do corante foi então titulada a partir da adição de alíquotas de 50 μL da solução de TBAF, sendo realizadas análises de espectroscopia de absorção a cada adição. Todas as medidas foram realizadas diretamente na cubeta de análise.

4.3.6. Titulação com peróxido de hidrogênio

Para os estudos com peróxido de hidrogênio foram preparadas soluções do corante **80** de concentração 15 μM em água deionizada nos pHs 4 e 10, ajustados com soluções de HCl e NaOH 2 M, respectivamente. 2 mL de cada uma das soluções foram titulada, com solução de peróxido de hidrogênio (800 μM) em água deionizada, a partir da adição de alíquotas de 3 μL , sendo obtidos espectros de absorção após cada adição de peróxido. Todas as medidas foram realizadas diretamente na cubeta de análise.

4.3.7. Análises cinéticas com peróxidos

Para a realização das análises cinéticas foi preparada uma solução de 20 μM do corante **80** em misturas de acetonitrila:água, na proporção 1:1 (v:v) e soluções de cada um dos peróxidos (10 e 100 mM) em acetonitrila. A absorbância referente ao tempo

zero ($t = 0$ s) foi obtida a partir de análises de absorção de soluções contendo apenas o corante na respectiva concentração inicial (3 mL) (**Tabela 6**). Após, foram adicionadas alíquotas das soluções dos peróxidos de modo a serem obtidas as respectivas concentrações iniciais (**Tabela 6**). Foram realizadas análises de espectroscopia de absorção em diferentes tempos de reação. Todas as medidas foram realizadas diretamente na cubeta de análise.

4.3.8. Estudos de Associação com BSA

Todas as análises de associação com a BSA foram realizadas em tampão PBS, preparado a partir de uma mistura de 8,8 g de cloreto de sódio, 0,2 g de cloreto de potássio, 1,4 g de fosfato de sódio dibásico e 0,2 g de fosfato de potássio monobásico em 1 L de água deionizada, resultando em uma solução salina de pH 7,2. Após, foram preparados 100 mL de solução estoque de BSA (200 mg em 100 mL de PBS) de concentração 31 μM .

Para as análises de supressão de fluorescência da BSA, foram realizadas titulações a partir do preparo de 3 mL de soluções contendo BSA com concentração de 11 μM , preparadas a partir da solução estoque. Os corantes foram adicionados em concentrações de 0-20 μM a partir de soluções estoque dos corantes também em PBS (100 μM). As soluções foram deixadas em repouso durante 24h e após foram realizadas análises de absorção e emissão de fluorescência, com $\lambda_{\text{exc}} = 279$ nm.

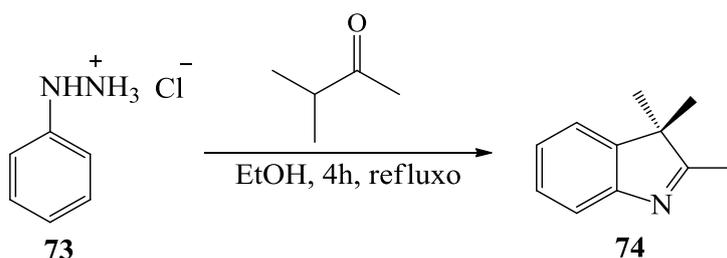
Para as análises de associação das merocianinas com a BSA, foram realizadas titulações a partir do preparo de 3 mL de soluções de corante de concentração fixa de 2 μM as quais foram adicionadas diferentes quantidades de BSA (0-12 μM). As soluções foram mantidas em repouso por 24 horas e após foram realizadas análises de absorção e emissão de fluorescência, com λ_{exc} referente ao máximo de absorção (λ_{abs}).

Fluorímetro: velocidade de scan: 1.0 nm; Slits (EX 3.0 nm - EM 5.0 nm).

5. Resultados e discussão

5.1. Síntese e caracterização

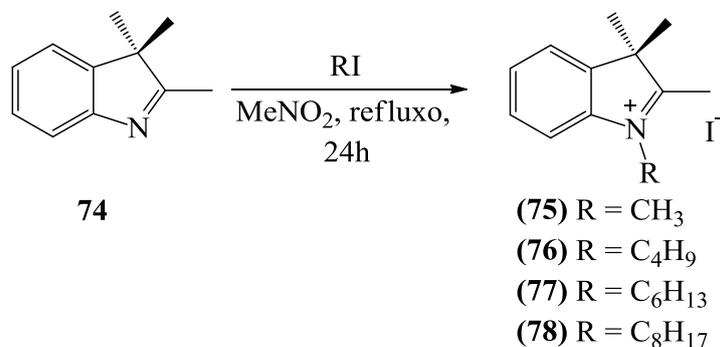
O precursor indólico **74** foi sintetizado a partir da reação entre o cloridrato de fenil hidrazina (**73**) e a 3-metil-2-butanona através da metodologia de Fischer (**Esquema 17**). O produto foi obtido com boa pureza para ser utilizado na etapa posterior sem processos de purificação adicionais. O indol **74** foi caracterizado através de análise de ressonância magnética nuclear de ^1H (**Anexo 6, Figura A19**).



Esquema 17. Síntese do precursor indólico **74**.

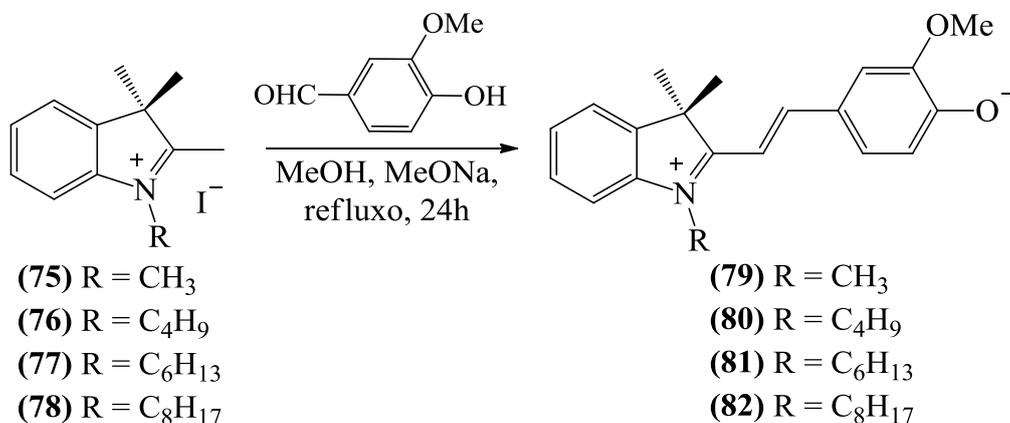
A metodologia de Fischer para a obtenção de indóis apresentou-se como uma excelente opção para a síntese do precursor **74**, uma vez que o composto carbonílico utilizado apresenta hidrogênios enolizáveis com diferentes reatividades, garantindo assim a formação do aza-enol mais substituído e de um único heterociclo como produto final.

Os precursores *N*-quaternários **75-78** foram sintetizados a partir de reações de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) entre o indol **74** e diferentes iodetos de alquila (**Esquema 18**). As reações foram realizadas em refluxo de nitrometano, por 24 horas. Os produtos foram caracterizados através de análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C (**Anexo 6, Figuras A5-12**).



Esquema 18. Síntese dos precursores indólicos *N*-quaternários **75-78**.

As merocianinas foram sintetizadas a partir de reações de condensação entre os precursores indólicos *N*-quaternários **75-78** e a vanilina. As reações foram realizadas na temperatura de refluxo em metanol durante 4 horas. As reações foram inicialmente monitoradas através da mudança de coloração, com o surgimento de uma cor vermelha e posteriormente através de análises de cromatografia em camada delgada. Após o consumo completo dos precursores os produtos foram purificados através de cromatografia em coluna utilizando sílica gel como fase estacionária e uma mistura de DCM:MeOH, 95:5 como eluente (**Esquema 19**). Os produtos foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C (**Anexo 6, Figuras A13-20**).



Esquema 19. Síntese das merocianinas **79-82**.

Na **Figura 29**, é apresentado o mecanismo de reação para a síntese das merocianinas. Inicialmente ocorre a remoção do hidrogênio α imínico levando a formação de um intermediário do tipo enamina. Em seguida, ocorre ataque nucleofílico do intermediário ao centro carbonílico da vanilina levando à formação da ligação C-C. Após um processo de enolização e a eliminação de uma hidroxila como grupo de saída via mecanismo E1_{CB} é obtido o produto reacional, na forma de hemicianina, que é convertido na respectiva merocianina através da remoção do hidrogênio do grupo fenol.

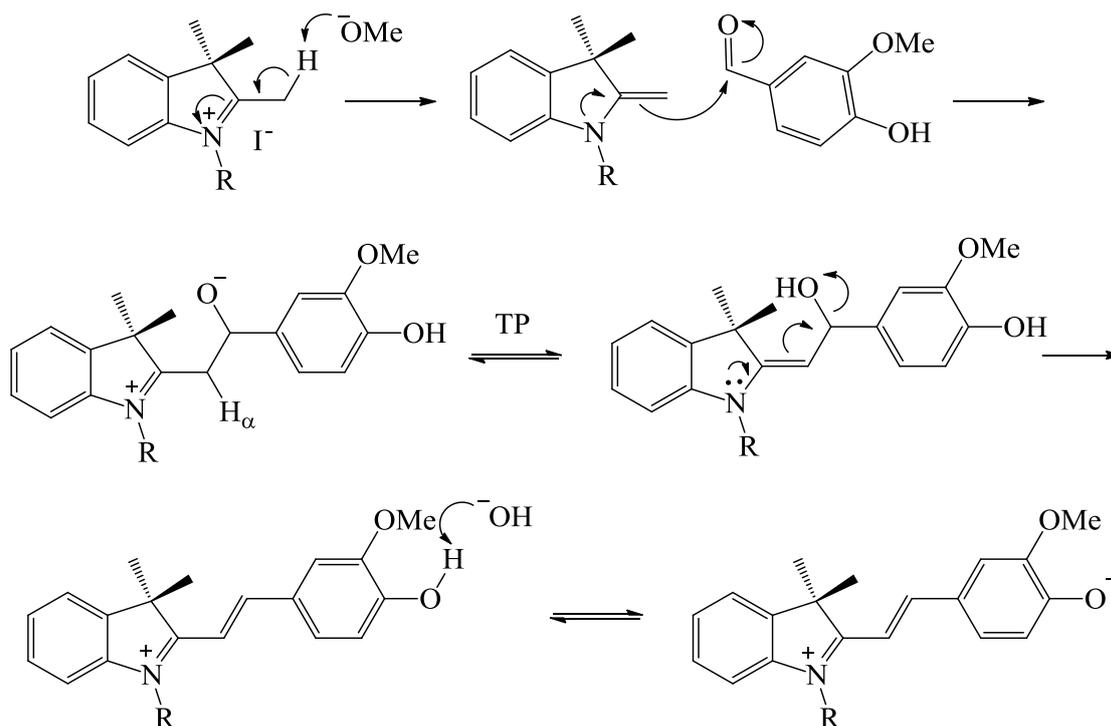


Figura 29. Mecanismo de síntese das merocianinas.

5.2. Estudo fotofísico

5.2.1. Estudo fotofísico em solventes orgânicos

5.2.1.1. Estudo fotofísico em solução da merocianina 80

Na **Figura 30** são apresentados os espectros de absorção na região do UV-Vis em solução utilizando diferentes solventes com ampla faixa de constante dielétrica, a saber: ciclohexano, 1,4-dioxano, acetato de etila, acetona, acetonitrila, dimetilsulfóxido e metanol. Pode-se observar que o comprimento de onda do máximo de absorção λ_{abs} encontra-se na faixa de 491 à 560 nm, com coeficientes de absorvidade molar ϵ_{max} característicos para transições eletrônicas do tipo ${}^1\pi\pi^*$. É possível observar ainda que o aumento da polaridade do solvente promove um deslocamento batocrômico de 70 nm na localização do máximo da banda de absorção, característico para um solvatocromismo positivo.

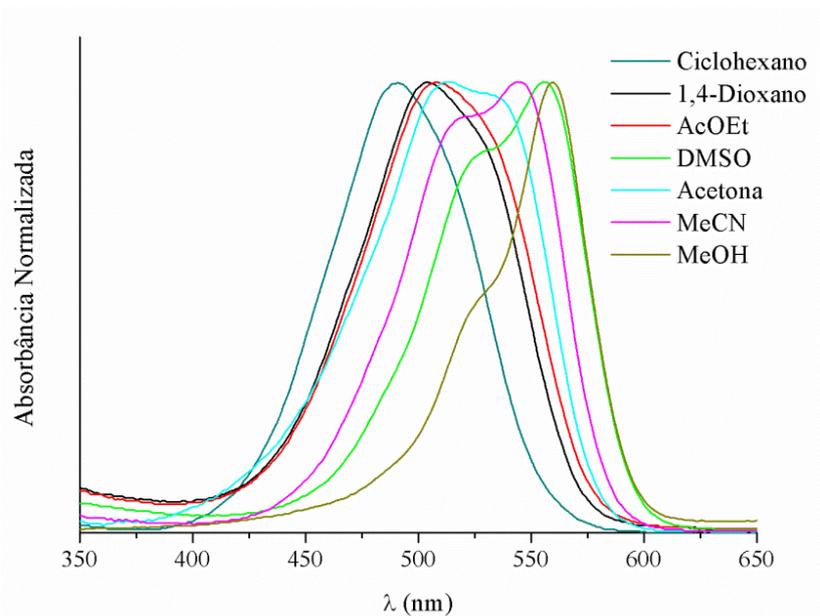


Figura 30. Espectros normalizados de absorção na região do UV-Vis para a merocianina **80** em diferentes solventes orgânicos.

Ao se analisar os espectros de absorção na região do UV-Vis apresentados na **Figura 30**, é possível perceber diferentes perfis de bandas e máximos de absorção em solventes de menor e maior polaridade. Como comentado anteriormente, merocianinas podem existir em duas diferentes configurações, neutra e zwitteriônica, de modo que, em solventes de menor polaridade, devido à baixa capacidade de solvatação e estabilização das cargas existentes, prevalece a formação da estrutura neutra (quinóide) e em meios de maior polaridade prevalece a estrutura zwitteriônica.

Procurando estudar o efeito da polaridade do solvente na converção entre as estruturas neutra e zwitteriônica da merocianina **80**, foram obtidos espectros de absorção em misturas de acetato de etila e acetonitrila em diferentes proporções. Na **Figura 31**, são apresentados os espectros de absorção na região do UV-Vis, onde é possível observar a gradativa conversão da espécie quinóide na espécie zwitteriônica com o aumento da fração volumétrica de acetonitrila na mistura.

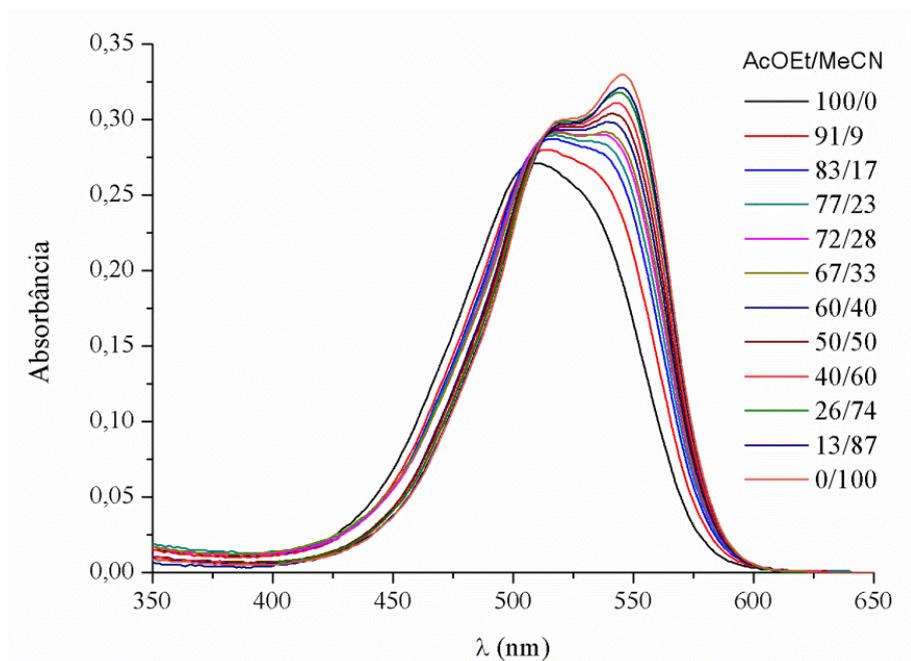


Figura 31. Espectros de absorção na região do UV-Vis para a merocianina **80** em diferentes misturas de acetato de etila e acetonitrila.

Na **Figura 32**, são apresentados os espectros de emissão de fluorescência para a merocianina **80**. É possível observar um efeito solvatocrômico de 13 nm na localização do comprimento de onda máximo de emissão λ_{em} . Na **Tabela 1**, são apresentados os dados relevantes do estudo fotofísico em solução para a merocianina **80**.

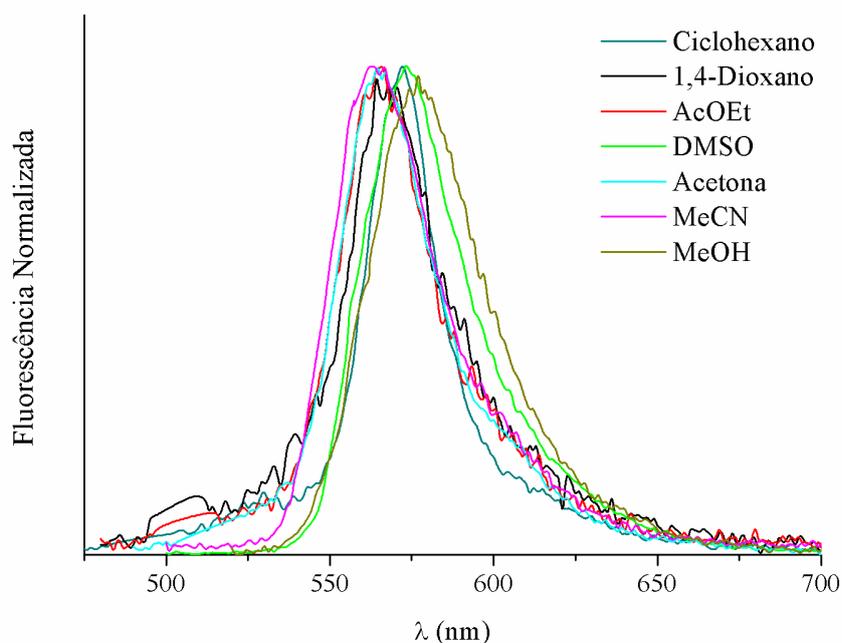


Figura 32. Espectros normalizados de emissão de fluorescência para a merocianina **80** em diferentes solventes.

Analisando os espectros de emissão de fluorescência, é possível observar uma menor dependência do máximo de emissão em função da polaridade do solvente, com máximos entre 564 e 577 nm. Esse comportamento pode estar indicando que a mesma espécie está presente no estado excitado tanto em solvente polares quanto apolares. Foram também realizados espectros de excitação de fluorescência nos máximos de emissão em quatro diferentes solventes: 1,4-dioxano, acetona, acetonitrila e metanol (**Figura 33**).

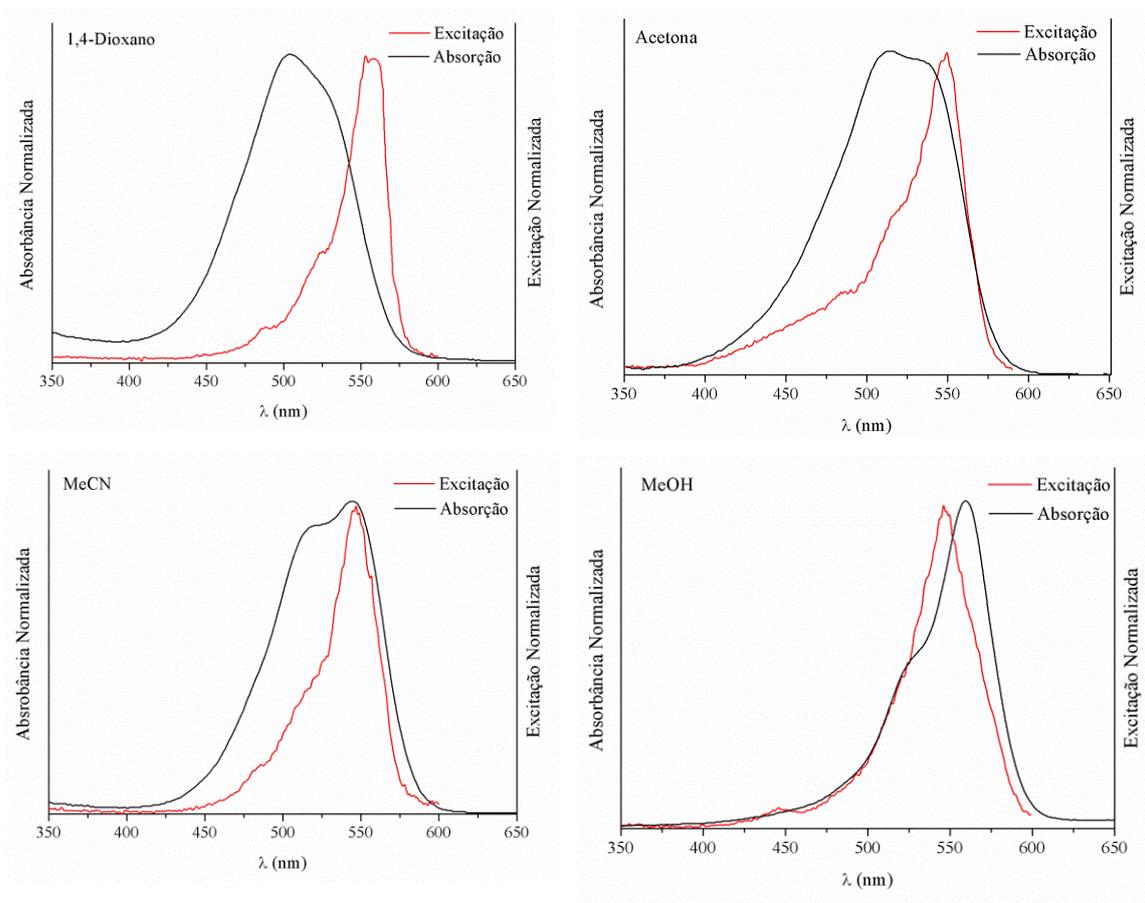


Figura 33. Espectros normalizados de excitação e absorção para a merocianina **80** em diferentes solventes.

Tabela 1. Dados de absorção de emissão de fluorescência para a merocianina **80** em solventes orgânicos, onde λ_{abs} e λ_{em} são os comprimentos de onda dos máximos de absorção e emissão, respectivamente e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes.

Solvente	Constante dielétrica	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$ (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)
Ciclohexano	2,02	491	571	80	49200
1,4-Dioxano	2,3	504	570	66	49400
Acetato de Etila	6,02	508	564	56	47600
Acetona	21	512	566	54	48400
Acetonitrila	37,5	545	564	19	55000
Dimetilsulfóxido	46,7	556	572	16	59000
Metanol	33	560	577	17	77600

A partir dos espectros apresentados na **Figura 33**, é possível observar que os máximos de excitação obtidos nos quatro solventes estudados aparecem próximos de 550 nm, região de absorção da espécie zwitteriônica, indicando que a mesma está presente mesmo em solventes de baixa polaridade no estado fundamental. Como discutido anteriormente, merocianinas tendem a assumir um estado mais próximo à estrutura completamente deslocalizada (limite da cianina) no estado excitado devido à formação de um estado de transferência de carga fotoinduzida. A fim de avaliar o efeito do solvente nas bandas de absorção e emissão de fluorescência, foi aplicada a equação de Lippert-Mataga para as espécies neutra e zwitteriônica em misturas de ciclohexano-1,4-dioxano e acetonitrila-dimetilsulfóxido, respectivamente, onde são levados em conta os espectros de absorção e emissão de fluorescência, com a construção das respectivas curvas de Lippert-Mataga para os máximos de absorção e emissão, λ_{abs} e λ_{em} , para misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido. Na **Figura 36** é apresentada a curva de Lippert-Mataga aplicada ao deslocamento de Stokes $\Delta\lambda_{\text{ST}}$, em cm^{-1} , em função de Δf para misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido. Por outro lado, na **Figura 37**, estão apresentados os espectros de absorção e a respectiva curva de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de absorção para misturas de ciclohexano-1,4-dioxano. Curvas para máximo de emissão e deslocamento de Stokes não são apresentadas devido à baixa emissão de fluorescência e a não dependência do máximo de emissão em função da composição do solvente devido à baixa polaridade.

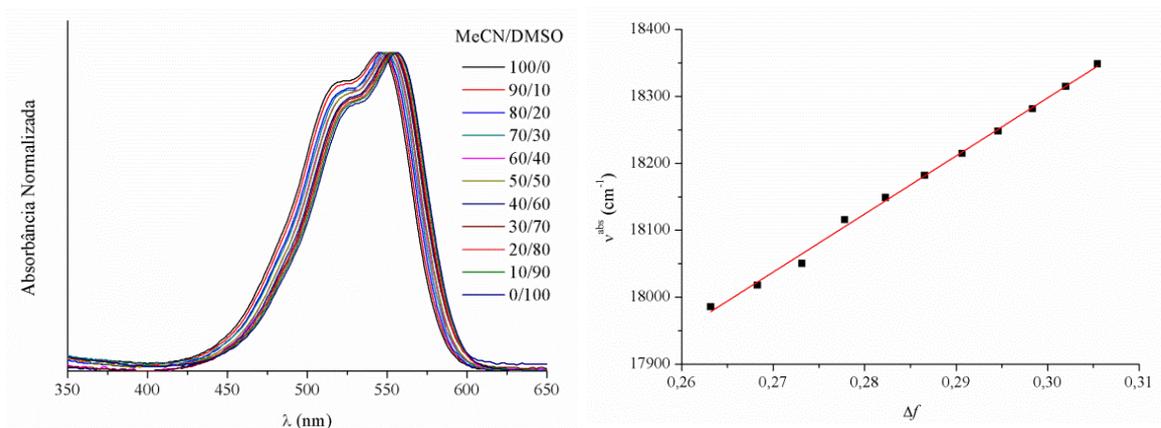


Figura 34. Espectros normalizados de absorção (esquerda) e equação de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de absorção (direita) da merocianina **80** em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,997$).

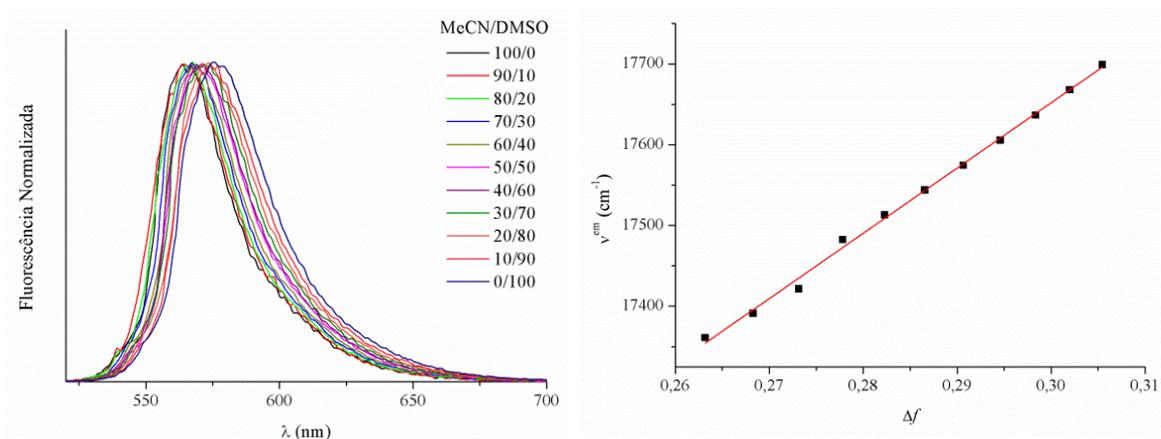


Figura 35. Espectros normalizados de emissão de fluorescência (esquerda) e equação de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de emissão (direita) da merocianina **80** em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,997$).

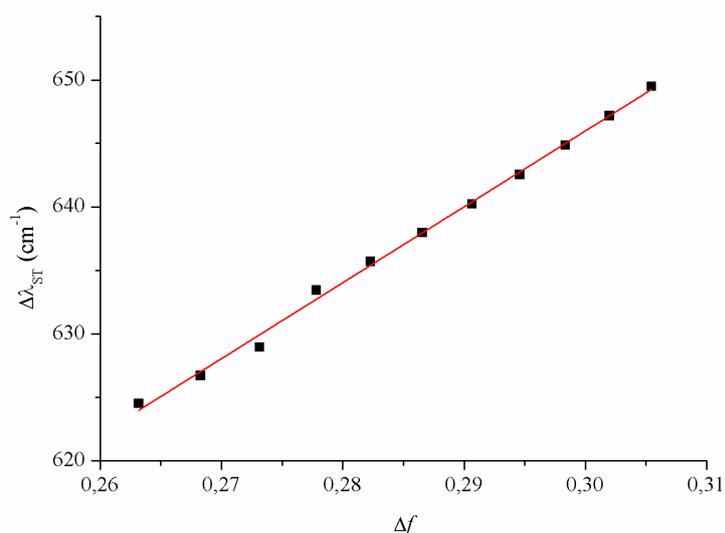


Figura 36. Equação de Lippert-Mataga aplicada ao deslocamento de Stokes em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido para a merocianina **80**. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,997$).

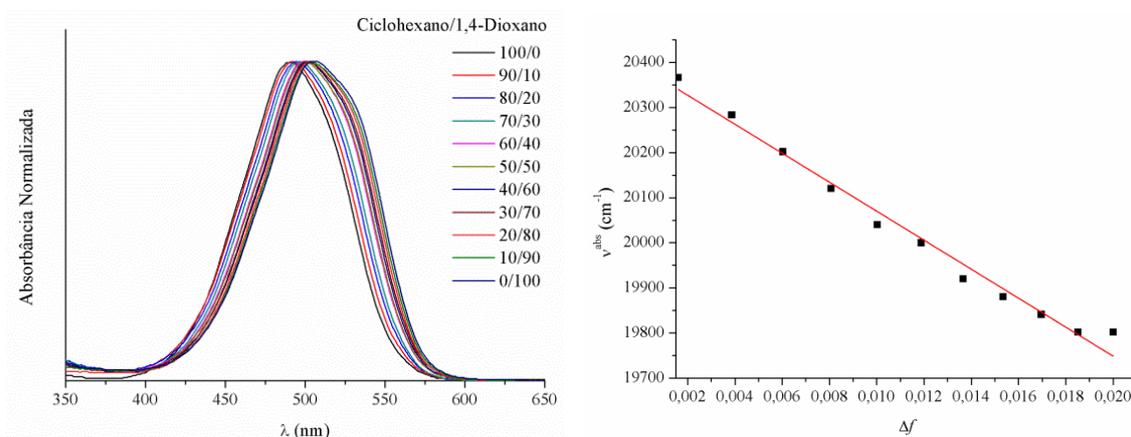
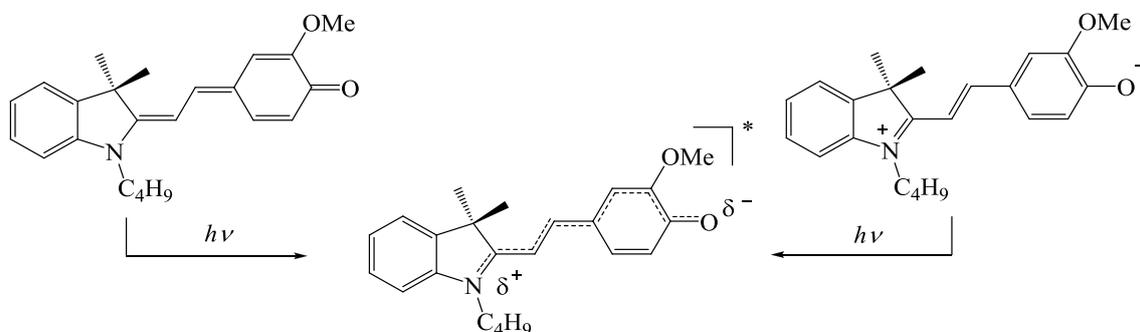


Figura 37. Espectro normalizado de absorção (esquerda) e equação de Lippert-Mataga aplicada ao máximo de absorção em misturas de ciclohexano-1,4-dioxano (direita) para a merocianina **80**. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear (absorção: $R^2 = 0,982$).

Ao se avaliar as curvas de absorção percebe-se que, em solventes apolares, o estado excitado de Franck-Condon possui maior momento de dipolo do que o estado fundamental. Em contrapartida, em solventes polares, o momento de dipolo do estado fundamental é superior ao do estado excitado. Essas observações corroboram para a formação de um estado com transferência interna de carga, com estrutura mais próxima

ao limite da cianina no estado excitado, com uma maior deslocalização eletrônica. No **Esquema 20**, é apresentada uma proposta para a estrutura formada no estado excitado. No **Anexo 1** são apresentados todos os dados referentes às curvas de Lippert-Mataga para a merocianina **80**.



Esquema 20. Proposta de estrutura formada no estado excitado para a Merocianina **80**.

Com relação à dependência dos máximos de emissão e do deslocamento de Stokes em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido, percebe-se também uma dependência absolutamente linear ($R^2 = 0,997$) indicando à formação de um estado de transferência interna de carga (ICT) no estado excitado para a merocianina **80**.

5.2.1.2 Estudo fotofísico em solução da hemicianina **80b**

Para a caracterização fotofísica da hemicianina **80b** foram utilizados solventes polares com constantes dielétricas entre 20-50, a saber: acetona, acetonitrila, *N,N*-dimetilformamida, dimetilsulfóxido e metanol. Nas **Figuras 38 e 39** são apresentados os espectros de absorção e emissão de fluorescência em solução para a hemicianina **80b**. Os dados referentes aos espectros obtidos estão apresentados na **Tabela 2**.

Na **Figura 38** estão apresentados os espectros de absorção na região do UV-Vis para a hemicianina **80b**, cujo comprimento de onda máximo de absorção está localizado em torno de 455 nm, com coeficientes de absorvidade molar ϵ característicos de transições eletrônicas do tipo $^1\pi\pi^*$. Observa-se ainda um efeito solvatocrômico negativo de 15 nm, indicando que o momento de dipolo da hemicianina (**5**) é maior no estado fundamental do que no estado excitado de Franck-Condon.

Na **Figura 39** são apresentados os espectros de emissão de fluorescência normalizada para a hemicianina **80b**, onde também é possível observar um efeito

solvatocrômico negativo de 19 nm, indicando que o momento de dipolo do corante é maior no estado fundamental do que no estado excitado “relaxado”, do qual ocorre a emissão, como ocorre com outras hemicianinas descritas na literatura.⁴⁵ Além disso, aparentemente apenas uma banda de emissão é observada em todos os solventes, com deslocamento de Stokes de aproximadamente 100 nm, indicando que molécula está emitindo provavelmente a partir de um estado de transferência interna de carga (ICT) e não de um estado localmente excitado (LE), a partir de uma estrutura tipo quinóide (**Esquema 22**), com a transferência da carga positiva para o átomo de oxigênio fenólico.

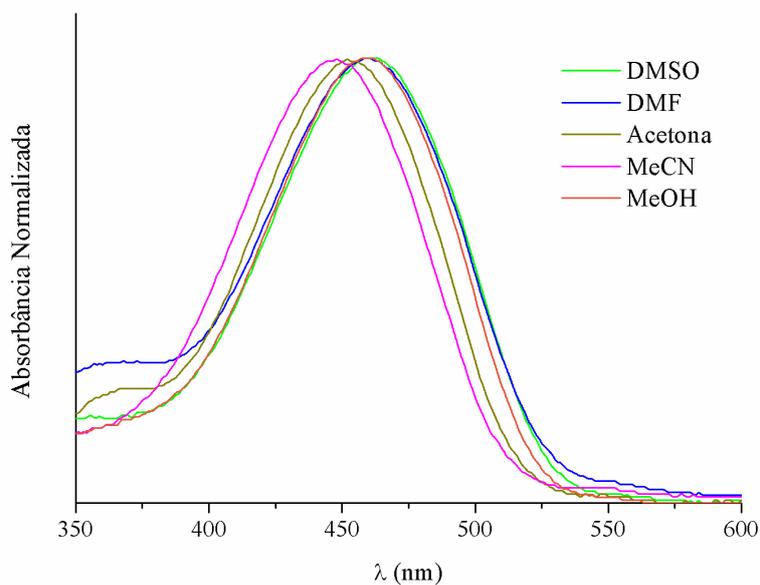


Figura 38 Espectros normalizados de absorção para a hemicianina **80b** em solventes polares.

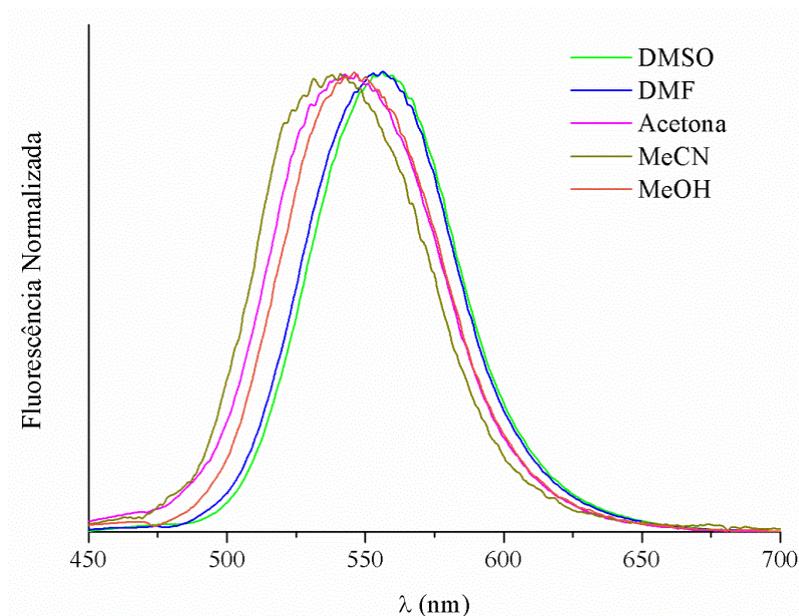


Figura 39. Espectros normalizados de emissão de fluorescência da hemicianina **80b**, com comprimento de onda de excitação referente ao máximo de absorção.

A fim de se avaliar o efeito do solvente e a formação de um estado de transferência interna de carga (ICT) foi aplicada a equação de Lippert-Mataga para os máximos de absorção, emissão e deslocamento de Stokes para a hemicianina **80b**, para os diferentes solventes estudados. Nas **Figuras 40 e 41** são apresentadas as curvas de λ_{abs} , λ_{em} e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$, em cm^{-1} , em função de Δf , para solventes polares. Os dados referentes às curvas de Lippert-Mataga são apresentados no **Anexo 1**.

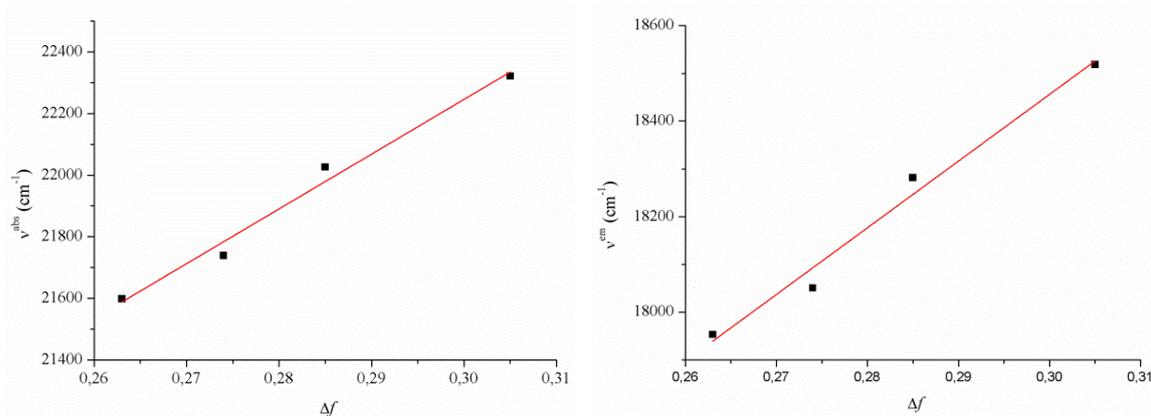


Figura 40. Equação de Lippert-Mataga aplicada aos máximos de absorção (esquerda) e emissão (direita) para a hemicianina **80b** em solventes polares. Em vermelho estão apresentadas as linhas de tendência linear (absorção: $R^2 = 0,978$; emissão: $R^2 = 0,974$).

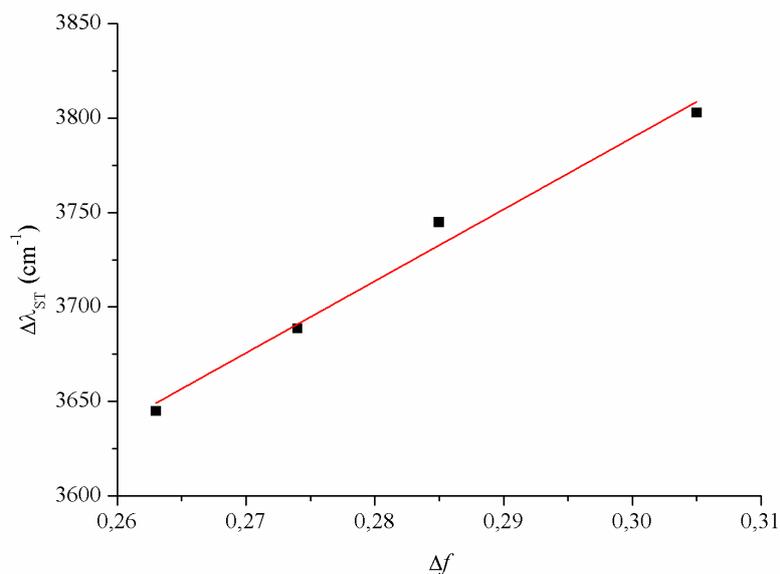
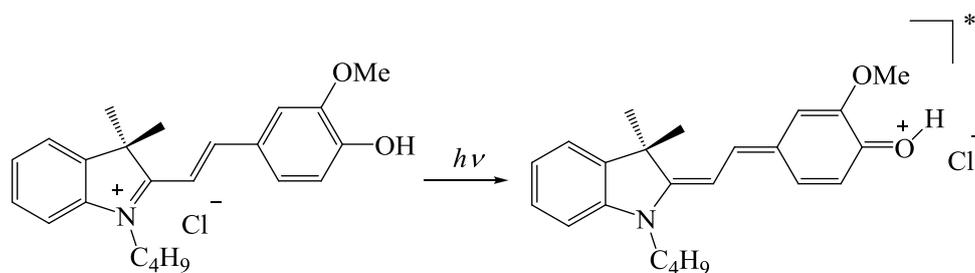


Figura 41. Equação de Lippert-Mataga aplicada ao deslocamento de Stokes em solventes polares para a hemicianina **80b**. Em vermelho está apresentada a linha de tendência linear ($R^2 = 0,978$).

Como é possível perceber, foram obtidas linhas de tendência linear com excelentes coeficientes de correlação (R^2) o que corrobora com a emissão da hemicianina **80b** a partir de um estado de transferência interna de carga (**Esquema 21**).



Esquema 21. Proposta de estrutura para o estado de transferência interna de carga para a hemicianina **80b**.

Tabela 2. Dados de absorção de emissão de fluorescência para a hemicianina **80b** em solventes orgânicos, onde Δf é a polarizabilidade de orientação, de acordo com a relação de Lippert-Mataga, λ_{abs} e λ_{em} são os comprimentos de onda dos máximos de absorção e emissão, respectivamente e $\Delta\lambda_{\text{ST}}$ é o deslocamento de Stokes.

Solvente	Δf	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$ (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)
DMSO	0,263	463	557	94	29000
DMF	0,274	460	554	94	33000
Acetona	0,285	454	547	93	28800
MeCN	0,305	448	540	92	29600
MeOH	0,309	459	546	87	32000

5.2.2 Sensor Ácido-Base

5.2.2.1. Determinação do pK_a da hemicianina **80b**

O conhecimento da constante de acidez (K_a) de ácidos orgânicos que apresentam potencial aplicação como sensores e/ou indicadores ácido-base é de grande importância. Assim, diversos são os métodos que podem ser utilizados para a determinação da constante de acidez, sendo que desses, um dos mais empregados é o método gráfico, que envolve a titulação espectrofotométrica do composto em função da variação de acidez em um determinado meio.⁸⁵ Nesse método, determina-se tanto a quantidade de espécies envolvidas em um determinado equilíbrio, quanto a proporção de cada uma em diferentes valores de pH (a partir do conhecimento dos coeficientes de absorvidade molar de cada espécie e dos valores de absorbância). Dessa maneira, o pK_a é obtido graficamente relacionando à razão molar das espécies em função o pH.

Um dos principais indicativos para a existência de um equilíbrio químico em solução, ao se analisar um espectro de absorção, é a existência de um ou mais pontos isobésticos, definido como o ponto onde a absorbância de uma solução não se altera com a mudança na proporção das espécies presentes em equilíbrio. No ponto isobéstico, caracterizado graficamente por ser um ponto comum de cruzamento de diferentes curvas de absorção, as espécies em solução apresentam ainda os mesmos valores de coeficientes de absorvidade molar.⁸⁶ Para um equilíbrio químico simples, como o equilíbrio ácido-base de um ácido monoprótico, por exemplo, observa-se apenas um único ponto isobéstico. Já para um equilíbrio envolvendo um número maior de espécies, um maior número de pontos isobésticos pode ser encontrado.

Na **Figura 42** são apresentados os espectros de absorção referentes à titulação de de uma solução contendo o corante **80** em diferentes valores de pH. Na **Figura 43** é apresentada a mudança colorimétrica da solução em diferentes valores de pH, indicando que o ponto de viragem é bastante próximo de pH 7. Na **Tabela 3**, apresentam-se os principais parâmetros obtidos e calculados a partir das curvas de absorção.

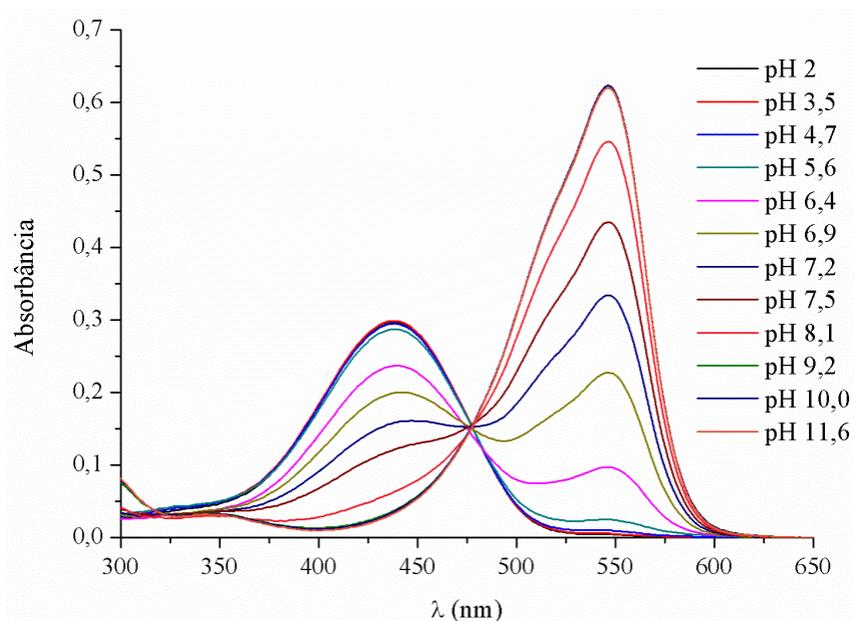


Figura 42. Espectros de absorção referentes à titulação espectrofotométrica da hemicianina **80b** em diferentes valores de pH.



Figura 43. Foto das mudanças colorimétricas obtidas durante a titulação espectrofotométrica em diferentes valores de pH (Esquerda para a direita: pH 9,0; 8,1; 7,1; 6,51; 6,0; 5,7 e 4,0).

Conforme esperado, observa-se a existência de apenas um ponto isobéptico (477 nm), característico para o equilíbrio entre a hemicianina **80b** (MerOH) e merocianina **80** (MerO⁻), conforme apresentado no **Esquema 22** abaixo.

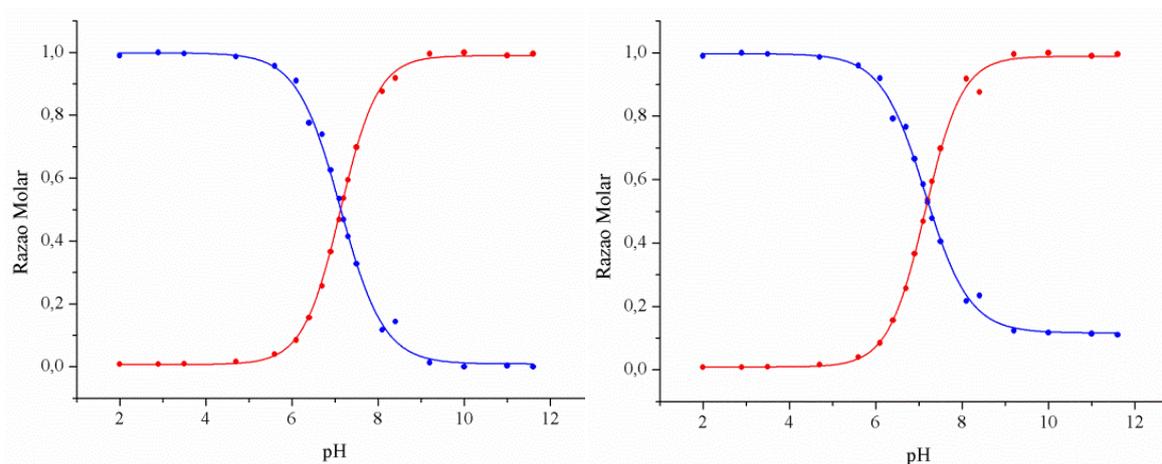


Figura 44. Curvas referentes à razão molar das espécies MerOH (azul) e MerO⁻ (vermelho) em função da variação de pH, considerando absorvância em 438 nm corrigida (esquerda) e não corrigida (direita).

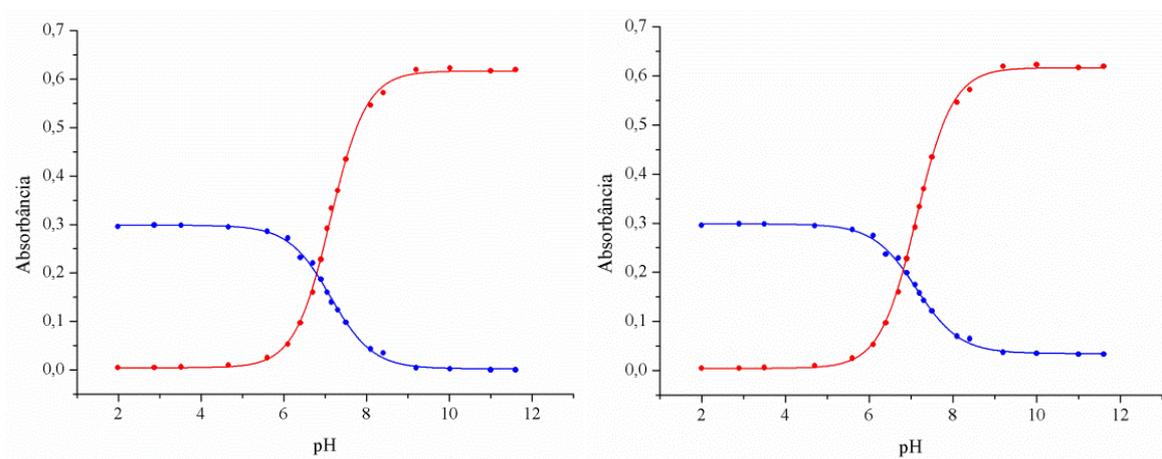


Figura 45: Curvas de variação das absorvâncias em 438 (azul) e 546 nm (vermelho) em função da variação do pH, considerando absorvância em 438 nm corrigida (esquerda) e não corrigida (direita).

Tabela 3. Dados referentes aos espectros de absorção para a titulação espectrofotométrica em função do pH para o corante **80**.

Entrada	Valores	
Máximo de Absorção	438 nm	546 nm
Absorbância (pH 2)	0,299	0,005
Absorbância (pH 11,6)	0,033	0,623
ϵ (L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹)	29900	62300
Parâmetro de correção (A ₅₄₆ /A ₅₄₆ ⁰)x0,033	0,05297A ₅₄₆	-
Absorbância corrigida	$A_{438}^{corr} = A_{438} - 0,05297 \times A_{546}$	-

A₅₄₆⁰ - absorbância máxima em 546 nm; A₅₄₆ - absorbância mediada em função do pH.

Analisando as duas curvas (**Figura 44**) percebe-se claramente a importância na correção da absorbância da banda referente à espécie protônica. Ao se comparar os valores de razão molar referentes à intersecção das curvas azul e vermelha, é possível ver que no caso em que não há correção, o ponto de intersecção mostra uma razão molar de 0,52 enquanto que ao se corrigir os valores de absorbância a intersecção ocorre exatamente a uma razão molar de 0,5. Além disso, a não correção falsamente indica que mesmo em meios mais alcalinos a espécie protônica sempre estará presente, uma vez que o valor de razão molar não tende ao zero. Considera-se o valor de 7,14 como valor de pK_a da espécie MerOH (pK_b da espécie MerO⁻ de 6,86), obtido a partir das curvas corrigidas nas **Figuras 44** e **45**, indicando que a hemicianina **80b** é um ácido significativamente mais forte quando comparado à merocianinas derivadas de heterocíclis da classe das piridinas.^{45,87}

5.2.2.2. Estudos de emissão de fluorescência do corante **80** em função do pH

A fim de se avaliar o efeito do pH na emissão do corante **80**, foram obtidos espectros de emissão de fluorescência e de fluorescência sincronizada em diferentes valores de pH. Na **Figura 46**, são apresentados os espectros de emissão de fluorescência em função do pH para excitação no ponto isobéstico ($\lambda_{ex} = 477$ nm). Como é possível observar, há a existência de duas bandas de emissão, uma com máximo localizado em 542 nm, referente à emissão da espécie protônica e outra com máximo localizado em

578 nm, referente à base conjugada. Além disso, é possível observar que há forte sobreposição das bandas de emissão das duas espécies. É possível observar ainda que em meios mais ácidos (pH < 4,9) há apenas a presença da emissão da espécie protônica, com máximo em 540 nm, enquanto que em meios alcalinos há apenas a emissão da base conjugada, com máximo em 578 nm. Em valores intermediários de pH é possível observar que a banda de emissão formada possui contribuição de ambas espécies em solução.

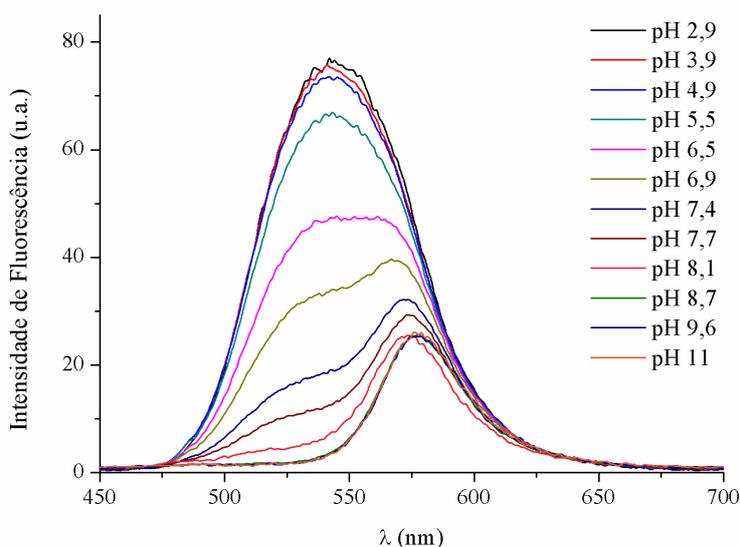


Figura 46. Espectros de emissão de fluorescência, com comprimento de onda de excitação referente ao ponto isobéptico (477 nm), referentes à titulação fluorimétrica em diferentes valores de pH.

As medidas de emissão de fluorescência sincronizada são mais seletivas quando comparadas aos espectros de emissão de fluorescência convencionais. Uma medida sincronizada permite a obtenção de espectros com bandas mais resolvidas na faixa de comprimentos de onda desejada e, possibilita identificar, mais precisamente, o número de espécies emissivas existentes em uma amostra. O espectro de fluorescência sincronizada, cuja intensidade de emissão é descrita pela Equação (8) é função tanto dos espectros de emissão e excitação quanto da concentração de cada composto presente na amostra.

$$I_s = KcbEx(\lambda_{ex})Em(\lambda_{ex} + \Delta\lambda), \quad (8)$$

onde I_s é a intensidade de fluorescência sincronizada, c é a concentração do analito, E_x é a intensidade do espectro de excitação em λ_{ex} , E_m é a intensidade do espectro de emissão em $\lambda_{ex} + \Delta\lambda$, b é a espessura da amostra e K é a constante que engloba parâmetros instrumentais. A escolha do valor de $\Delta\lambda$ é extremamente importante e possui profundo impacto na natureza e no formato do espectro. Entretanto, não há, de fato, uma regra específica para a escolha do valor de $\Delta\lambda$, embora valores pequenos (10 a 20 nm) normamente sejam utilizados para a análise de compostos com baixos deslocamentos de Stokes e maiores valores para compostos com deslocamentos maiores.⁴⁵

A fim de se avaliar a emissão das espécies MerOH e MerO⁻ em função do pH, foram obtidos espectros de emissão de fluorescência sincronizada, com valores de $\Delta\lambda$ de 20, 40, 60, 70 e 80 nm. Na **Figura 47**, são apresentados os espectros obtidos para $\Delta\lambda=60$ nm.

De acordo com a **Figura 47**, é possível perceber a presença de duas bandas resolvidas em 525 e 590 nm, referentes às espécies protonada e desprotonada, respectivamente. Também é possível observar que não há emissão da espécie protônica acima de pH 8,7, sendo possível observar a presença das espécies em equilíbrio até pH próximo de 4,9 nm.

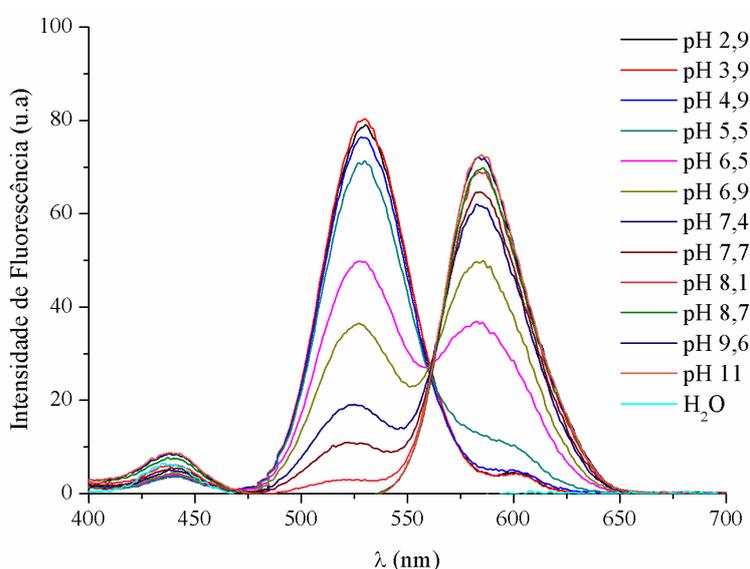


Figura 47. Espectros de emissão de fluorescência sincronizados para $\Delta\lambda=60$ nm referentes à titulação fluorimétrica em diferentes valores de pH.

5.2.2.3. Estudos de reversibilidade merocianina-hemicianina, do corante 80, em função do pH

A análise da estabilidade do corante em função da variação extrema de pH é um parâmetro bastante importante para algumas aplicações. Como observado a partir do estudo de emissão de fluorescência em função do pH, em meios ácido e alcalinos observam-se apenas as bandas de emissão das espécies protonada e desprotonada, respectivamente. Dessa forma, a variação do pH pode ser utilizada para a construção de um sistema molecular inteligente (ou *Logic Gates*) para processamento de dados.^{9,10}

A fim de se avaliar a estabilidade do corante, foram realizados cinco ciclos de variação de pH, em meio ácido (pH=2) e meio alcalino (pH=12), onde foram obtidos espectros de absorção e emissão de fluorescência. Na **Figura 48**, são apresentados os espectros de absorção após cinco ciclos de alternância entre pH 2 e 12. Como é possível observar, os máximos de absorção permanecem praticamente constantes, o que indica que o corante é estável à ciclos de variações bruscas de pH.

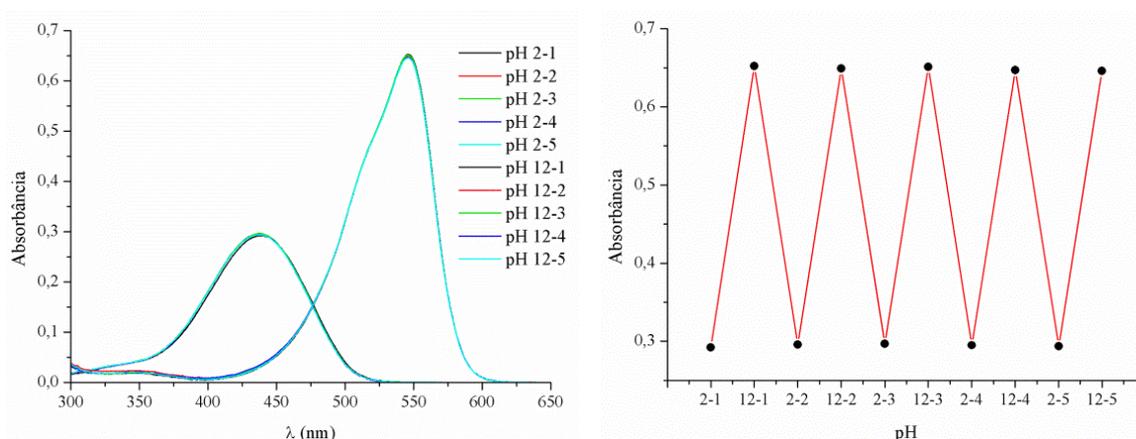


Figura 48. Espectros de absorção (esquerda) e máximos de absorção em função do pH (direita), em meio ácido (pH=2) e alcalino (pH=12), para cinco ciclos de variação de pH.

Na **Figura 49** são apresentados os espectros de emissão de fluorescência para cinco ciclos de variação de pH. É possível observar que os máximos de emissão de fluorescência também permanecem constantes, mesmo com o aumento da concentração de íons em solução, provenientes da adição alternada de ácido clorídrico e hidróxido de sódio na solução. Na **Figura 50**, é apresentado o gráfico de variação da intensidade de fluorescência em função do pH.

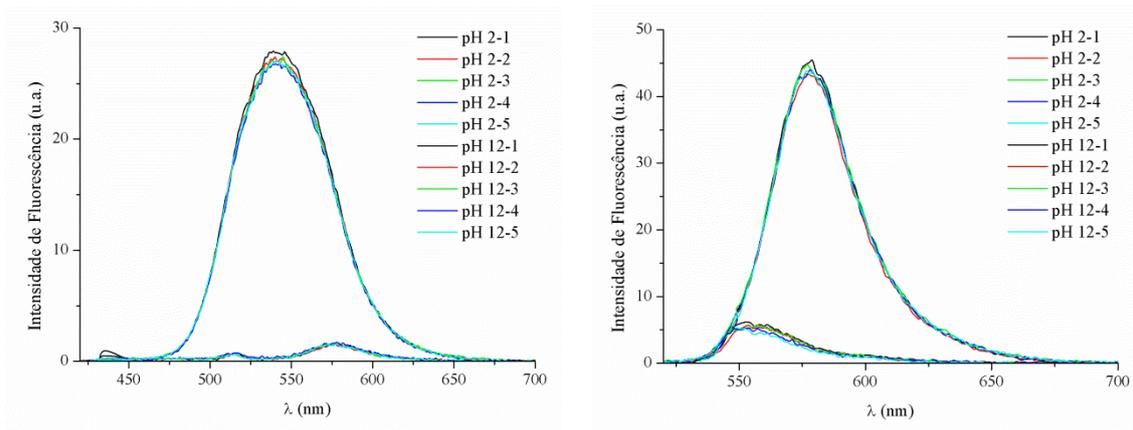


Figura 49. Espectros de emissão de fluorescência em meio ácido (pH = 2) e alcalino (pH = 12), após cinco ciclos de variação de pH, com comprimentos de onda de excitação de 440 nm (esquerda) e 546 nm (direita).

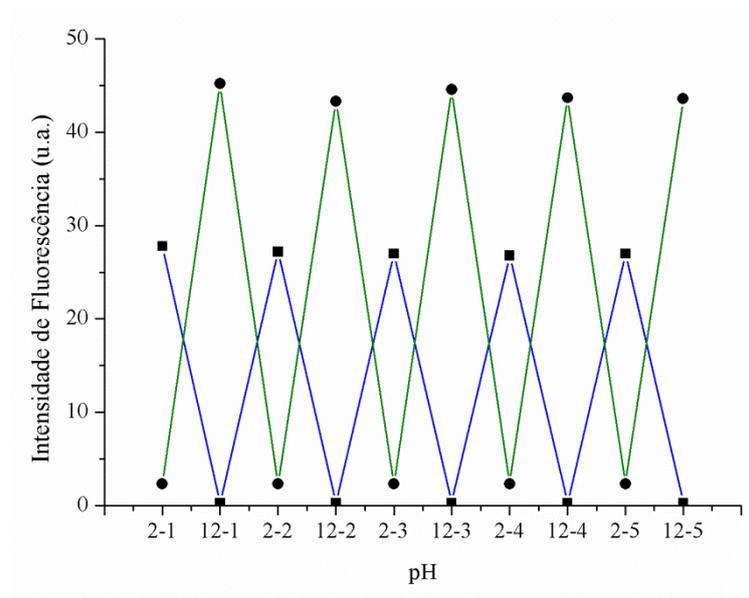


Figura 50. Variação dos máximos de emissão em 540 nm (azul) e 578 nm (verde) após cinco ciclos de variação de pH.

5.2.3. Sensor de vapor

Sensores de vapor para a identificação de ácidos minerais e orgânicos e de aminas possuem um grande número de aplicações.^{88,89} O monitoramento da acidez presente na atmosfera de determinados locais pode ser realizado de maneira simples, com controle em tempo real, com a utilização de sensores ópticos capazes de fornecer uma rápida resposta visual à presença do vapor. Já a identificação de aminas também se mostra bastante importante, inclusive para a indústria de alimentos, principalmente em

peixes e outras carnes, uma vez que a ação de microorganismos promovem reações de descarboxilação de aminoácidos levando a produção de histamina e tiramina,⁹⁰ além de aminas voláteis como amônia, dimetilamina e trietilamina.^{91,92}

Com o intuito de explorar o efeito do equilíbrio ácido-base da merocianina **80** para a identificação de vapores ácidos (ácido clorídrico e acético) e aminas (trietilamina e hidróxido de amônio), foram preparados materiais, a partir da impregnação/adsorção em dois suportes sólidos (papel filtro e sílica) com diferentes quantidades da merocianina **80**, buscando obter uma boa relação entre a quantidade de corante a ser utilizada e a resposta óptica (contraste) obtida na presença de diferentes vapores.

5.2.3.1. Estudo fotofísico em matriz de sílica

Nas **Figuras 51 e 52**, são apresentados os espectros de absorção e emissão de fluorescência em estado sólido para as matrizes de sílica referentes às análises com vapores. Na **Tabela 4** são apresentados os dados obtidos no estudo fotofísico para as matrizes de sílica.

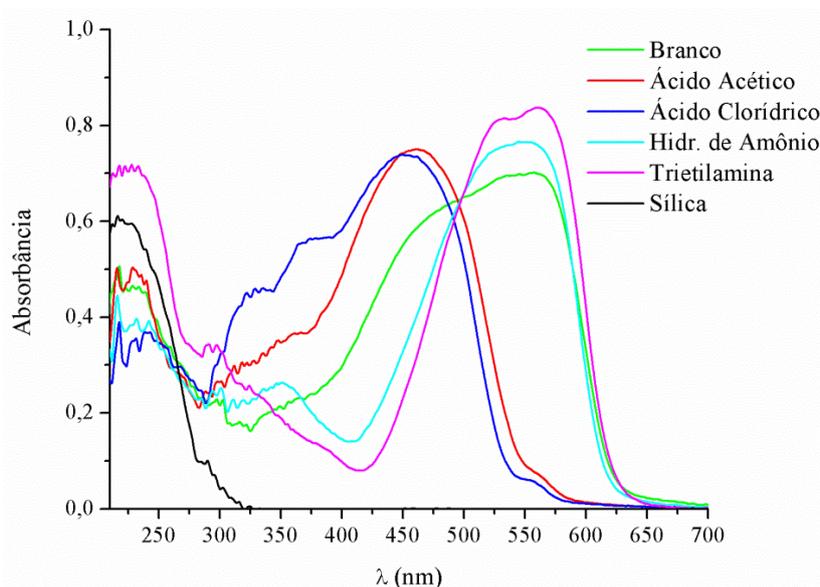


Figura 51. Espectros de absorção no estado sólido das matrizes de sílica expostas aos vapores.

Analisando os espectros de absorção no estado sólido das matrizes de sílica, percebe-se que a matriz que não foi exposta a nenhum dos vapores (branco) apresenta uma banda mais alargada, provavelmente devido à presença das espécies merocianina e

hemicianina. Acredita-se que, devido à acidez da sílica, uma parcela das moléculas tenham sido protonadas quando adsorvidas na matriz. Com relação às matrizes expostas aos vapores ácidos, observa-se a formação de uma banda próxima de 460 nm, referentes à formação da espécie protônica. Um leve deslocamento batocrômico é observado para a espécie exposta ao vapor de ácido acético. Já para as amostras expostas aos vapores de hidróxido de amônio e trietilamina, observa-se que o máximo de absorção se mantém na mesma região da amostra não exposta aos vapores, observando-se apenas o estreitamento da banda e o aumento da absorbância, devido ao aumento da concentração da espécie desprotonada formada em contato com os vapores alcalinos. Um deslocamento batocrômico é observado para a matriz exposta à trietilamina.

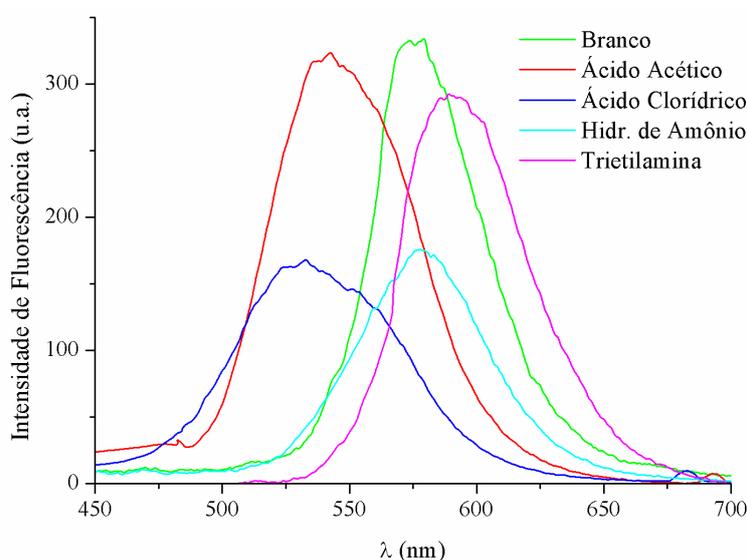


Figura 52. Espectros de emissão de fluorescência das matrizes de sílica expostas aos vapores, utilizando como λ_{ex} o comprimento de onda máximo de absorção (λ_{abs}).

Com relação aos espectros de emissão de fluorescência, observam-se bandas de emissão na região de 540 nm para as matrizes expostas aos vapores ácidos, também com um leve deslocamento batocrômico em vapores de ácido acético. Já para as amostras expostas aos vapores de trietilamina e hidróxido de amônio, observam-se bandas de emissão com máximos próximos à 580 nm, com um leve deslocamento batocrômico para a matriz exposta aos vapores de trietilamina. Nota-se ainda que as intensidades de fluorescência das matrizes expostas aos vapores de ácido clorídrico e hidróxido de amônio são significativamente inferiores, possivelmente resultado de efeitos de supressão de fluorescência devido à maior saturação da matriz de sílica uma vez que ambos analitos são vapores à temperatura ambiente.

Tabela 4. Dados do estudo fotofísico nas matrizes de sílica expostas aos vapores.

Vapor	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	$\Delta\lambda_{\text{ST}}$ (nm)
Branco*	558	576	16
Ácido Acético	461	542	81
Ácido Clorídrico	454	532	78
Hidróxido de Amônio	545	578	33
Trietilamina	562	590	28



* Matriz não exposta à nenhum dos vapores.

Com o objetivo de investigar a presença das duas espécies na matriz não exposta aos vapores, foram obtidos espectros de excitação de fluorescência em duas diferentes regiões, próximas aos máximos de emissão das matrizes expostas aos vapores ácidos e alcalinos: 540 e 577 nm, respectivamente. No **Anexo 3** são apresentados os espectros de excitação para todas as matrizes estudadas. Na **Tabela 5**, são apresentados os dados referentes aos estudos de excitação.

Tabela 5. Dados referentes aos estudos de excitação de fluorescência para as matrizes de sílica expostas aos vapores.

Vapor	λ_{exc} (nm)	λ_{obs} (nm)
Branco*	540/577	491/541
Ácido Acético	543	493
Ácido Clorídrico	535	480
Hidróxido de Amônio	578	549
Trietilamina	591	555

* Matriz não exposta à nenhum dos vapores.

Observa-se que para a matriz não exposta aos vapores, dois diferentes máximos de excitação são obtidos para os espectros com $\lambda_{\text{exc}}=540$ e 577 nm, confirmando à

presença das duas espécies presentes na matriz. É possível ver ainda que os máximos de absorção e de excitação para as matrizes expostas aos vapores de ácido acético e clorídrico diferem em aproximadamente 35 nm e 48 nm, respectivamente, o que pode indicar que o estado excitado do qual ocorre a emissão é diferente do estado de Franck-Condon.

Uma vez realizado os estudos em matrizes de sílica, foi avaliada a viabilidade de obtenção de um papel indicador, capaz de apresentar também um comportamento reversível. Para isso, foi realizada a impregnação de pequenas tiras de papel poroso utilizando à solução estoque do corante **80** ($4,13 \times 10^{-4}$ M). Em seguida, foi realizada a exposição dos papeis aos vapores de ácido clorídrico e hidróxido de amônio sucessivas vezes, de maneira alternada, onde foi possível constatar a reversibilidade e a estabilidade do corante. Na **Figura 53**, são mostradas as tiras de papel impregnadas, após a exposição aos vapores de ácido clorídrico e hidróxido de amônio.



Figura 53. Imagens das fitas de papel impregnadas com o corante **80** expostas aos vapores de ácido clorídrico (direita) e hidróxido de amônio (esquerda).

5.2.4. Sensor de ânions

Sensores moleculares capazes de identificar a presença de ânions em solução são cada vez mais desejados.⁷ A identificação colorimétrica, aliada a possibilidade de quantificação de espécies que apresentam alta periculosidade e toxicidade, como cianeto e fluoreto, são pontos que justificam a busca por novos sensores com maior sensibilidade e até mesmo simplicidade de utilização. A estrutura molecular da hemicianina **80b**, principalmente relacionada ao equilíbrio mero e hemicianina, mostra um elevado potencial para a identificação de ânions, uma vez que a sensibilidade ou, mais especificamente, a capacidade de ligação ou abstração do hidrogênio fenólico da

espécie por parte de determinados íons irá depender profundamente da basicidade e eletronegatividade da espécie aniônica em questão.⁷

Com o intuito de avaliar a seletividade na identificação de diferentes ânions, realizou-se um teste colorimétrico no qual foram preparadas soluções de concentração 10 μM do corante na forma de hemicianina, em acetonitrila, na presença de diferentes ânions (30 μM). Os ânions foram utilizados na forma de sais de tetrabutilamônio, com exceção do cianeto, onde se utilizou cianeto de sódio em presença equimolar de cloreto de tetrabutilamônio, como agente de transferência de fase. Na **Figura 54**, é mostrado o resultado do teste colorimétrico para diferentes ânions, com resultado positivo apenas para fluoreto e cianeto.



Figura 54. Teste de identificação colorimétrica de ânions. (Esquerda para direita Br^- , I^- , Cl^- , HSO_4^- , NO_3^- , ClO_4^- , F^- e CN^-).

Procurando obter uma seletividade à resposta dos dois ânions via teste colorimétrico, foram adicionados 5 e 10% (em volume) de água à solução contendo fluoreto e 10% (em volume) à solução contendo cianeto, mantendo-se a concentração de corante constante. Na **Figura 55** é possível observar os resultados do teste colorimétrico antes e após a adição de água as duas soluções.



Figura 55. Teste colorimétrico para as soluções de fluoreto e cianeto após a adição de água. Esquerda para direita: Fluoreto em 0, 5 e 10% de H_2O e cianeto em 0 e 10% de H_2O em acetonitrila.

Como é possível observar, a adição de água promove a inibição da resposta ao fluoreto e com 10% de água a supressão do sinal colorimétrico mostra-se praticamente completa. Isso se deve basicamente ao forte efeito de solvatação pelas moléculas de

água dos ânions fluoreto, altamente eletronegativos, diminuindo significativamente a capacidade de associação através de ligações de hidrogênio com o hidrogênio fenólico da hemicianina **80b**. Em contrapartida, praticamente nenhuma alteração visual é observada após a adição de água à solução contendo cianeto, possibilitando a identificação seletiva de cada um dos íons. Devido à maior basicidade, a remoção do hidrogênio ácido do grupo fenol ocorre normalmente na proporção estequiométrica corante:cianeto de 1:1. Já para o fluoreto, devido ao menor caráter básico, normalmente a remoção do hidrogênio fenólico envolve a presença de mais de um equivalente do ânion, ocorrendo primeiramente à formação de um complexo via ligação de hidrogênio, a partir da associação do ânion com o hidrogênio fenólico, o que promove enfraquecimento da ligação OH e/ou aumento da acidez do hidrogênio ácido. As relações estequiométricas corante:fluoreto podem ser 1:1, 1:2, 1:3 ou uma combinação de diferentes formas de associação.⁷

A fim de se determinar uma possível relação capaz de ser empregada na determinação da concentração ou número de mol de fluoreto em solução, foi realizada a titulação de uma solução de concentração 10 μM da hemicianina **80b** em acetonitrila com uma solução de TBAF, de concentração 90 μM contendo também a mesma quantidade de corante (10 μM). Na **Figura 56**, apresentam-se os espectros de absorção para a titulação com TBAF e também os espectros de absorção para a titulação com água, comprovando a supressão da banda de absorção, como observado nos testes colorimétricos.

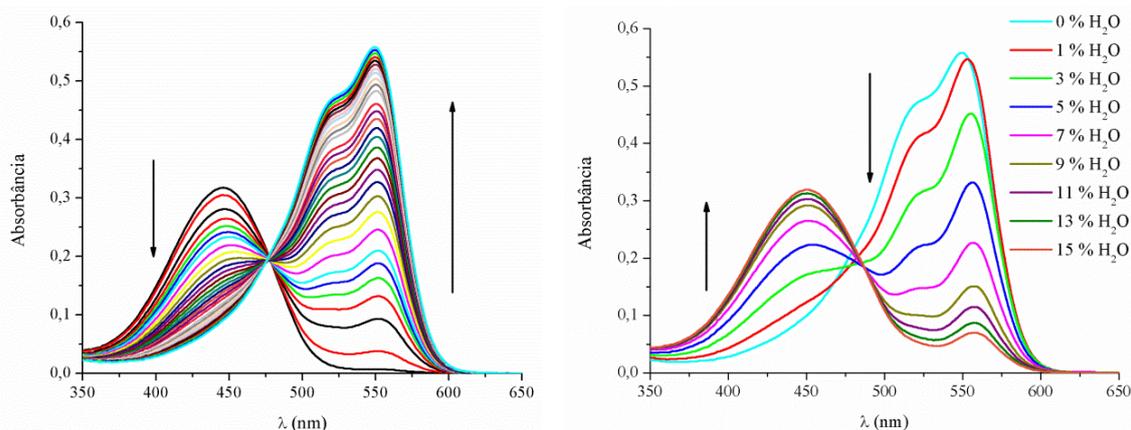


Figura 56. Espectros de absorção referentes à titulação da hemicianina **80b** com TBAF em acetonitrila (esquerda) e titulação com água (direita).

Na **Figura 57**, é apresentada a curva relacionando a absorbância da banda solvatocrômica em 546 nm com a concentração de fluoreto. Como é possível observar, o aumento da absorbância da banda em 546 nm não ocorre de forma linear com o

aumento da concentração de fluoreto, indicando realmente uma associação corante:fluoreto diferente da proporção estequiométrica de 1:1.

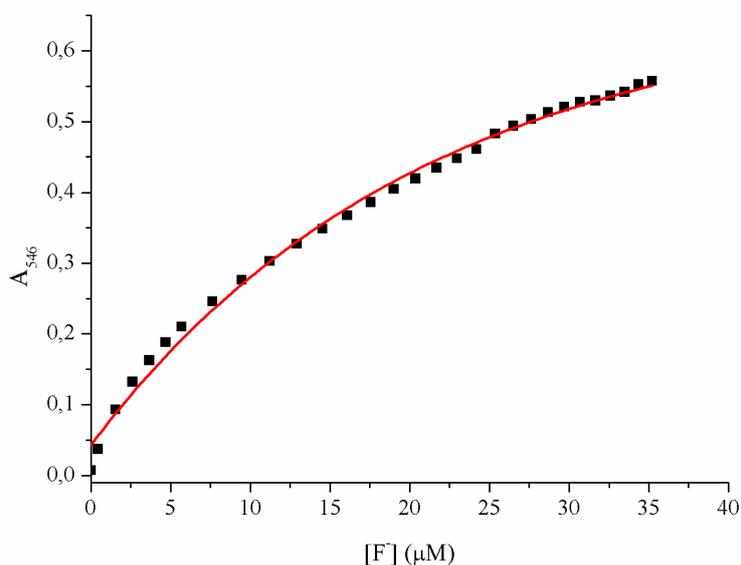


Figura 57. Curva de A_{546} x concentração de fluoreto $[F^-]$ referente à titulação da hemicianina **80b** com TBAF.

Procurando encontrar uma relação que possibilite a determinação da quantidade de fluoreto em solução, foram obtidas curvas relacionando a razão das absorbâncias das bandas em 546 e 445 nm em função da concentração e do número de mols de fluoreto. Nas **Figuras 58**, são apresentadas as curvas de $\left(\frac{A_{546}}{A_{445}}\right)$ e função da concentração e do número de mols de fluoreto, respectivamente.

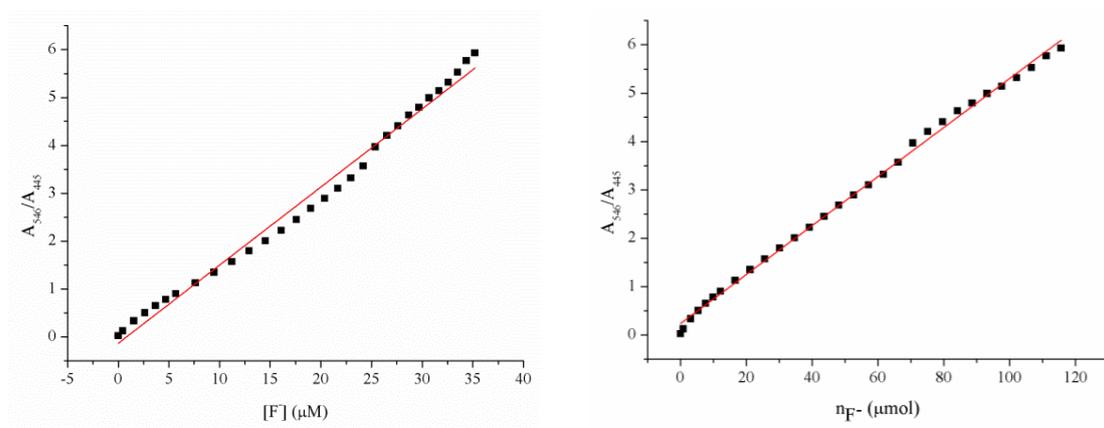


Figura 58. Curvas de A_{546}/A_{445} x $[F^-]$ ($R^2 = 0,988$, esquerda) e A_{546}/A_{445} x n_{F^-} ($R^2 = 0,998$, direita) com as respectivas linhas de tendência linear.

Embora não exista, de fato, uma relação física entre a razão das absorbâncias das duas bandas de absorção, foram obtidas curvas com excelentes coeficientes de correlação linear (R^2) que permitem a determinação da quantidade de fluoreto em solução. Todos os dados referentes à titulação da hemicianina **80b** com TBAF são apresentados no **Anexo 4**.

5.2.5. Sensor de peróxidos

5.2.5.1. Sensor de peróxido de hidrogênio

Tendo em vista que uma das diversas maneiras utilizadas para a síntese de epóxidos envolve a reação entre alcenos e peróxidos ou perácidos,⁹³⁻⁹⁵ investigou-se a possibilidade de utilização da merocianina **80** como um possível sensor para a determinação quantitativa de peróxido de hidrogênio em meio aquoso. Devido à estrutura da molécula apresentar uma ligação dupla conjugada central, unindo as duas porções aromáticas do sistema, uma possível reação com peróxidos nessa ligação levaria a quebra da conjugação eletrônica da molécula, promovendo à supressão da banda de absorção na região do visível, o que poderia vir a ser utilizado como resposta óptica. Para tanto, foram realizadas duas titulações, uma em meio ácido (pH 4) e uma em meio alcalino (pH 10), com concentração de corante igual à 15 μM , com uma solução de peróxido de hidrogênio aquoso 0,4 M. Ambos experimentos foram monitorados através de análises de absorção na região do UV-Vis.

Nas **Figuras 59 e 60** são apresentados os espectros de absorção no UV-Vis para as titulações realizadas em meio ácido e meio alcalino, respectivamente. Como é possível observar, a adição de peróxido à solução do corante em meio ácido não causou nenhuma modificação na banda de absorção indicando não haver a ocorrência de nenhuma reação química nessas condições.

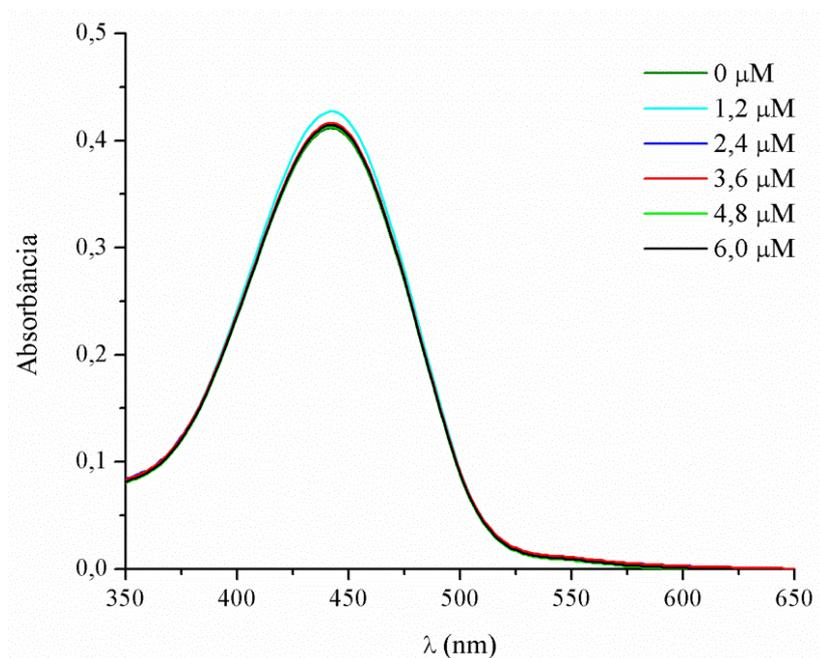


Figura 59. Titulação da hemicianina **80b** com peróxido de hidrogênio em água (pH 4).

Entretanto, ao se observar o espectro de absorção para a titulação em meio alcalino (**Figura 60**), percebe-se um comportamento completamente diferente. Como é possível observar, ao se aumentar a concentração de peróxido de hidrogênio no meio, observa-se a supressão da banda de absorção situada em 546 nm e o aumento na banda de absorção na região em 350 nm, possivelmente referente à absorção dos núcleos aromáticos das extremidades, não mais conjugados entre si. Além disso, é importante destacar que a diminuição de absorbância da banda em 546 nm ocorre de forma praticamente instantânea a cada adição de peróxido e de maneira linear ($R^2 = 0,999$), mostrando ainda uma relação estequiométrica 1:1 (merocianina:peróxido). Os dados referentes à titulação com peróxido de hidrogênio em meio alcalino são apresentados no **Anexo 5**.

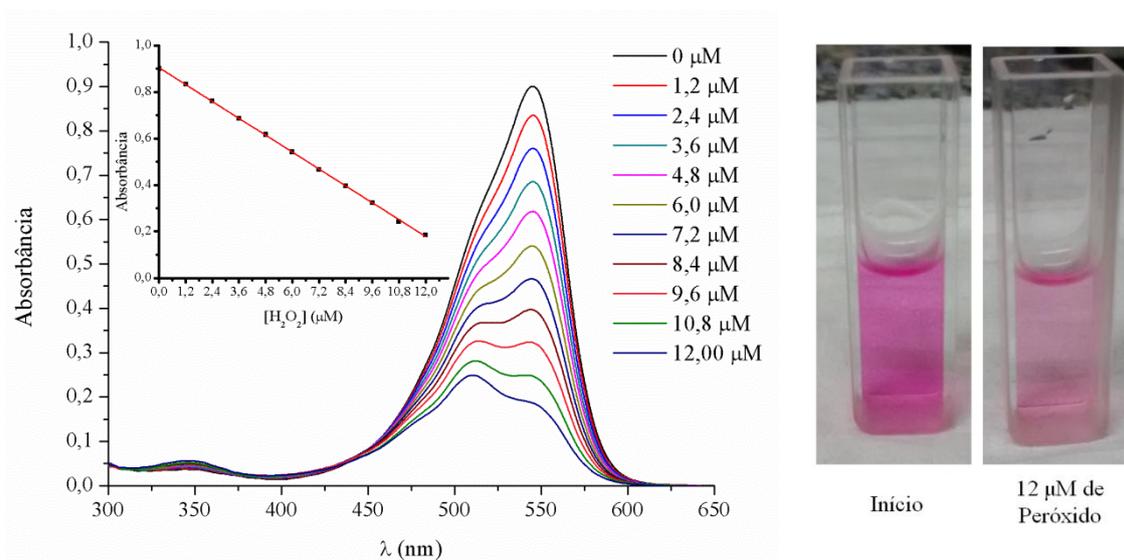
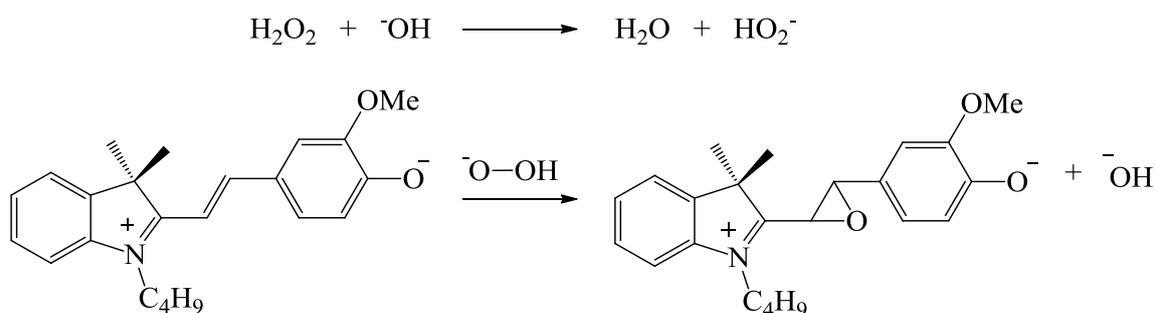


Figura 60. Titulação da merocianina **80** com peróxido de hidrogênio em água (pH 10) e imagens da solução de análise no início e após a adição de 12 μM do titulante.

Desta forma, acredita-se que o processo ocorra não através da reação entre peróxido e o corante (olefina) mas sim entre o ânion hidroperóxido formado em meio alcalino, como já é descrito para a oxidação e/ou epoxidação de olefinas desativadas, caso da merocianina **80**.⁹⁶⁻⁹⁹ No **Esquema 23** é apresentado o esquema proposto para o processo.

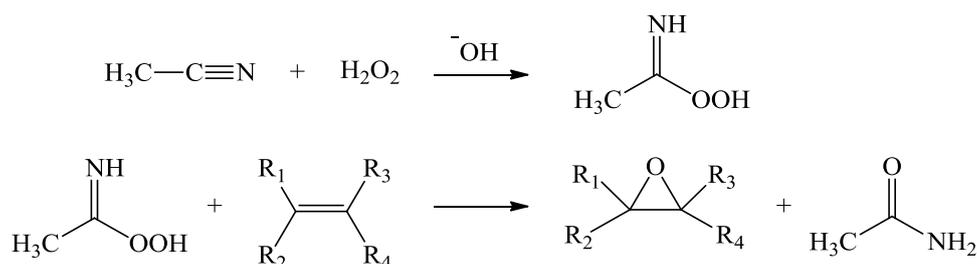


Esquema 23. Esquema proposto para a reação entre peróxido de hidrogênio e a merocianina **80** em meio aquoso alcalino.

5.2.5.2. Sensor de peróxidos orgânicos

Tendo em vista os resultados positivos para a determinação de peróxido de hidrogênio em solução aquosa alcalina, foi realizado um estudo a fim de se avaliar a possibilidade de determinação também dos peróxidos orgânicos de benzoflona (BPO) e diterbutila (DTBP).

Inicialmente se pensou em utilizar uma abordagem semelhante à utilizada anteriormente. Entretanto, como a solubilidade em água dos peróxidos orgânicos é bastante reduzida, o meio utilizado para o estudo foi uma mistura (1:1) de acetonitrila:água (pH 10) (v:v), na qual se observou uma boa solubilidade de ambos peróxidos. Além disso, a utilização de acetonitrila como um co-reagente na epoxidação de olefinas com peróxido de hidrogênio, como indicado no **Esquema 24**, já é reportada na literatura, justificando a escolha desse solvente para realização das análises.⁹⁶



Esquema 24. Epoxidação de olefinas via reação com peróxido de hidrogênio e acetonitrila.

Primeiramente, foi avaliada a possibilidade de identificação de peróxido de benzoíla (BPO). Entretanto, diferentemente do comportamento observado para peróxido de hidrogênio em água, o processo apresentou uma resposta cinética diferente, significativamente mais lenta, não permitindo a determinação direta da concentração de peróxido via titulação, uma vez que o consumo do corante não ocorreu de forma instantânea. Esse resultado corrobora para um caminho reacional distinto, podendo apresentar analogias ao apresentado no **Esquema 24**.

Desta forma, foram realizados estudos cinéticos com objetivo de se determinar a dependência da concentração de peróxido e corante na velocidade da reação (ordem de reação parcial e global), a lei cinética diferencial, lei cinética integrada e constante cinética do processo, e desta forma obter uma expressão matemática que permita a quantificação da concentração de peróxido. Na **Figura 61**, são apresentados os espectros de absorção e variação da absorbância com relação ao tempo ($A \times t$, com linha de tendência linear para conversões inferiores à 20%) para três diferentes condições, com proporções molares de merocianina:BPO de 1:4, 1:2 e 0,5:2 (**Tabela 6**).

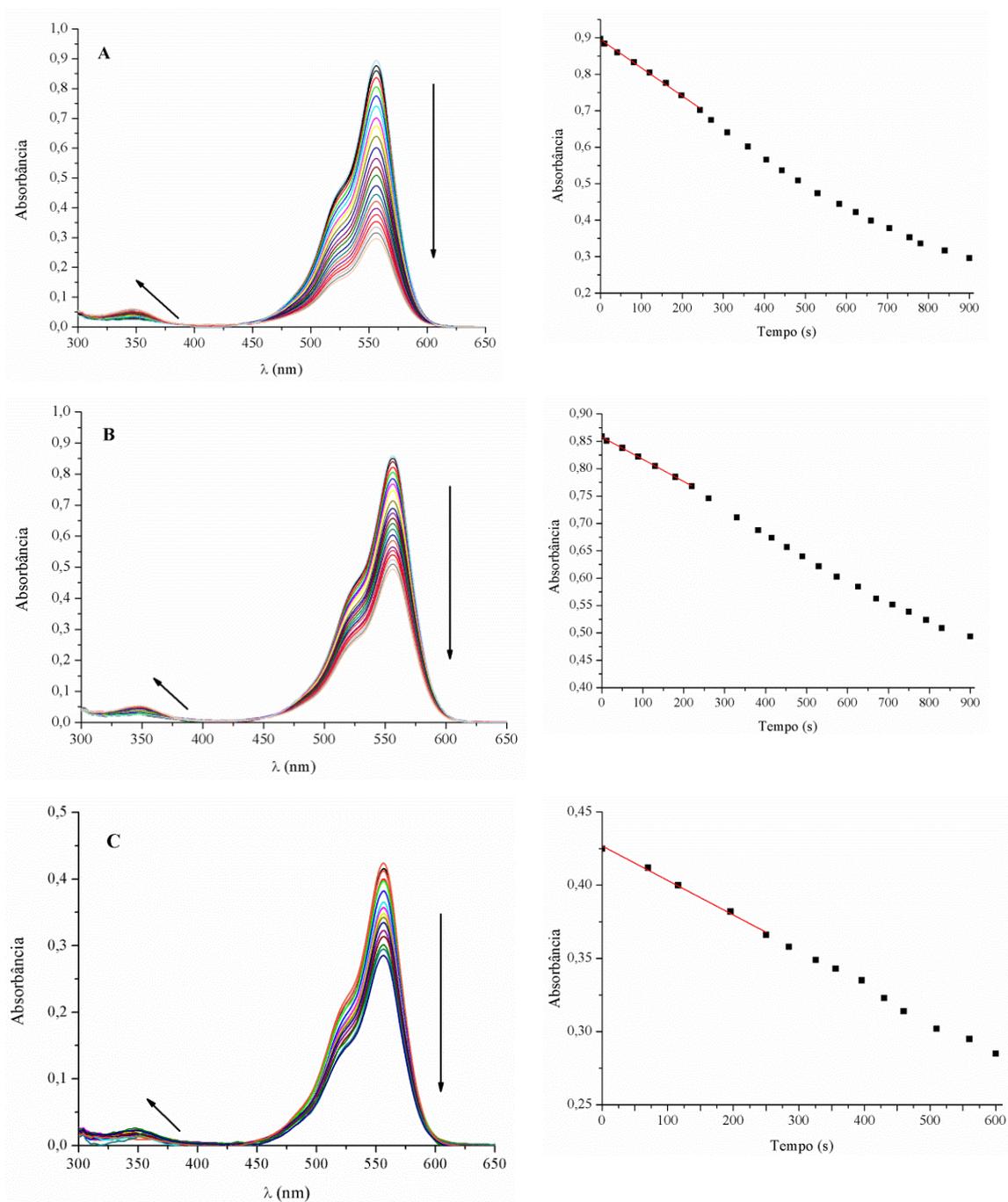


Figura 61. Espectros de absorção e respectivas curvas de $A \times t$, com linha de tendência linear apresentada para conversões inferiores à 20%, referentes ao estudo cinético para a reação entre a merocianina **80** e peróxido de benzoíla, com tempos de reação entre 10 e 15 minutos, nas proporções molares merocianina:BPO: A) 1:4; B) 1:2; C) 0,5:2.

Ao se observar as três curvas de absorção, percebe-se claramente a dependência tanto da concentração de peróxido quanto da concentração de corante na velocidade da reação. Como a medida da variação da absorbância com relação ao tempo é uma medida da velocidade da reação, a fim de se determinar a ordem de reação, foram obtidas linhas

de tendência linear para as três condições, para graus de conversão inferiores à 20%, onde o efeito da diminuição da concentração ainda é relativamente pequeno, de modo que a velocidade da reação pode ser aproximada como constante. Os dados obtidos a partir das regressões lineares estão apresentados na **Tabela 6**, onde é possível observar que a lei cinética possui ordem global de reação igual a 2 e ordem 1 para as concentrações de peróxido e corante.

Tabela 6. Dados referentes aos estudos cinéticos para as reações entre a merocianina **80** e peróxido de benzoíla (BPO).

Condição (C _{cor} :C _{per})	C _{cor} ⁰ (mol·L ⁻¹)	C _{per} ⁰ (mol·L ⁻¹)	Inclinação (A x t)	R ²
1:2	1,0 x 10 ⁻⁵	2,0 x 10 ⁻⁵	-4,0 x 10 ⁻⁴	0,996
1:4	1,0 x 10 ⁻⁵	4,0 x 10 ⁻⁵	-7,8 x 10 ⁻⁴	0,997
0,5:2	5,0 x 10 ⁻⁶	2,0 x 10 ⁻⁵	-2,2 x 10 ⁻⁴	0,993

Desta forma, tem-se a seguinte lei cinética diferencial a partir da Equação (9):

$$V_{reação} = \frac{dC_{cor}}{dt} = -K_{cor}C_{cor}C_{per}, \quad (9)$$

onde K_{cor} é a constante cinética K dividida pelo coeficiente estequiométrico do corante a, C_{cor} é a concentração de corante, C_{per} é a concentração de peróxido. Considerando ainda condições não estequiométricas entre as concentrações de peróxido e corante, tem-se a seguinte lei cinética integrada a partir da Equação (10):

$$\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right) = \left(\frac{bC_{cor}^0 - aC_{per}^0}{a}\right)K_{cor}t + \ln\left(\frac{C_{cor}^0}{C_{per}^0}\right), \quad (10)$$

onde, C_{cor} é a concentração do corante no tempo t, C_{per} é a concentração de peróxido no tempo t, C_{cor}^0 é a concentração inicial do corante, C_{per}^0 é a concentração inicial de peróxido, a é o coeficiente estequiométrico do corante e b é o coeficiente estequiométrico do peróxido. A partir dos dados cinéticos obtidos, foi determinada a constante cinética K_{cor} para a reação, a partir dos gráficos $\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right)$ x t, considerando

três diferentes relações estequiométricas corante:peróxido (a:b - 1:1, 1:2 e 2:1) para a reação esquematizada abaixo.



A única relação estequiométrica nos quais os valores obtidos de constante cinética convergiram para o mesmo valor médio ($35,64 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) nas três condições estudadas indica que a reação realmente ocorre na proporção estequiométrica merocianina:peróxido de 1:1 (a:b). Abaixo são apresentadas as curvas $\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right) \times t$ para as condições reacionais 1:2, 1:4 e 0,5:2 (merocianina:peróxido) (**Figura 62**), para as reações, considerando estequiometria 1:1 (a:b). Na **Tabela 7**, são apresentados os valores das constantes cinéticas obtidas a partir de cada curva.

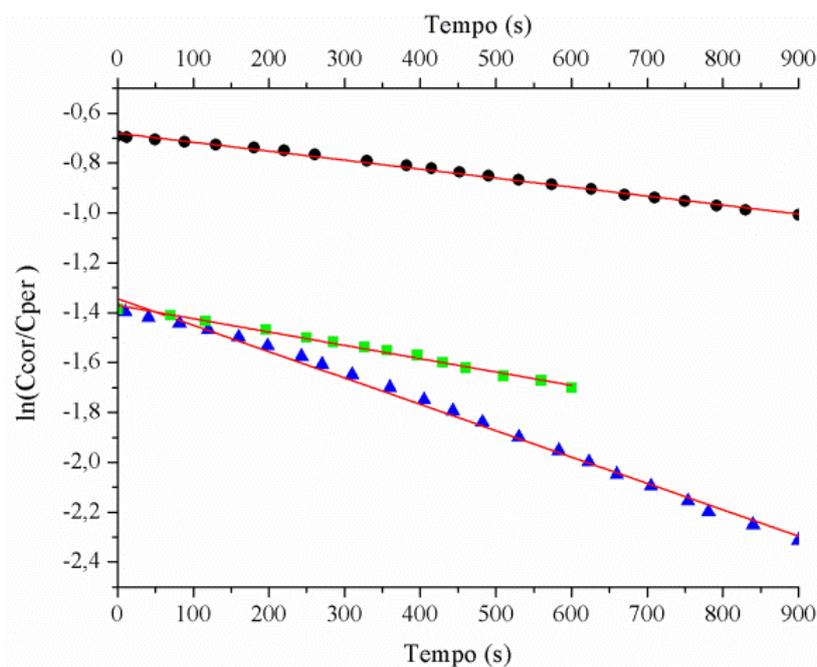


Figura 59. Gráficos da lei cinética integrada ($\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right) \times t$) para as condições reacionais 1:4 (azul), 1:2 (preto) e 0,5:2 (verde), considerando relação estequiométrica merocianina:BPO de 1:1 (a:b).

Tabela 7. Dados referentes à lei cinética integrada para as reações entre a merocianina **80** e peróxido de benzoíla (BPO).

Condição (C_{cor} : C_{per})	C_{cor}^0 ($mol \cdot L^{-1}$)	C_{per}^0 ($mol \cdot L^{-1}$)	$\left(\frac{bC_{cor}^0 - aC_{per}^0}{a}\right) K_{cor}$	K_{cor} ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)	R^2
1:2	$1,0 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-5}$	0,0003599	35,99	0,995
1:4	$1,0 \times 10^{-5}$	$4,0 \times 10^{-5}$	0,0010600	35,33	0,994
0,5:2	$5,0 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-5}$	0,0005340	35,60	0,993

Buscando simplificar a análise cinética, foi realizado um estudo utilizando-se de um largo excesso de peróxido de benzoíla (50 vezes), de modo a se reduzir o processo estudado à uma reação com cinética de pseudo-primeira ordem, ou seja, uma vez que a concentração de peróxido é suficientemente alta, pode-se considerar esta se mantém constante ao longo de toda reação, de modo que a velocidade dependerá apenas da concentração de corante, segundo a Equação (11):

$$V_{reação} = \frac{dC_{cor}}{dt} = -K_{app}C_{cor}, \quad (11)$$

onde $K_{app} = K_{cor}C_{per}$. A lei cinética integrada para a reação é definida, portanto, segundo o decaimento exponencial dado pela Equação (12):

$$C_{cor} = C_{cor^0}e^{-K_{app}t}, \quad (12)$$

que pode ser redefinida em termos da variação da absorbância em função do tempo através da Equação (13):

$$A = A_0e^{-K_{app}t} \quad (13)$$

Na **Figura 63** é apresentado o espectro de absorção e a curva cinética (e lei cinética integrada) $A \times t$ para a reação na proporção merocianina:BPO de 1:50, com concentração de corante igual a $10 \mu M$.

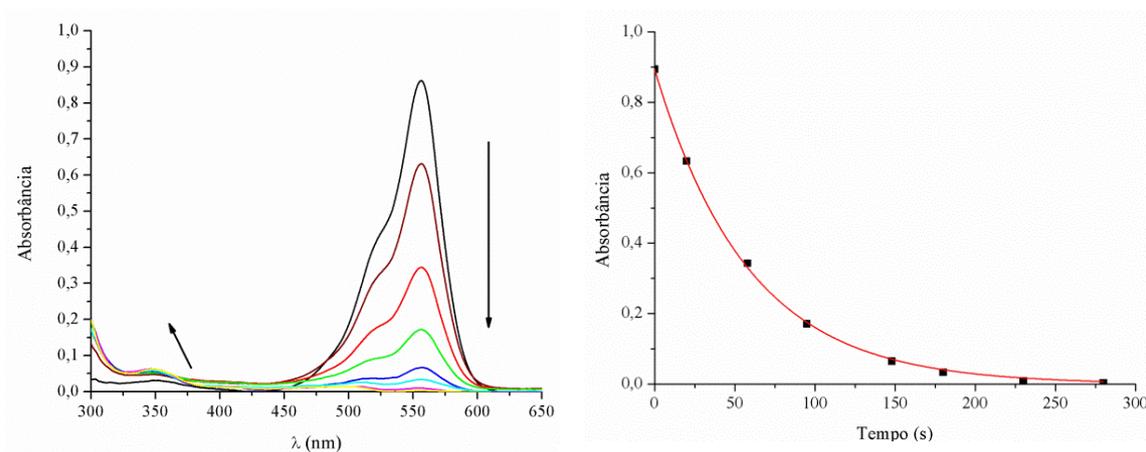


Figura 63. Espectro de absorção e respectiva curva $A \times t$ referente ao estudo cinético para a reação entre a merocianina **80** e peróxido de benzoíla na proporção merocianina:BPO de 1:50.

Como é possível observar, o decaimento da absorbância com relação ao tempo ocorre de forma exponencial, representando uma cinética de primeira ordem. A partir da curva de regressão exponencial ($R^2 = 0,999$), foi obtido o valor de K_{app} igual a $0,01716 \text{ s}^{-1}$ o que representa um valor de K_{cor} igual à $34,32 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, próximo ao valor médio obtido anteriormente (erro relativo de 3,7%). O conhecimento da lei cinética para o processo, aliada ao conhecimento do valor da constante cinética permite a determinação da concentração de peróxido de benzoíla. Entretanto, uma vez que a Equação (10) não permite expressar diretamente a concentração inicial de peróxido em função da concentração de corante, a sua resolução para a quantificação exata deve ser resolvida numericamente. Por outro lado, se a concentração a ser determinada for tal que uma reação de pseudo-primeira ordem possa ser satisfeita, a concentração pode ser estimada com boa exatidão de forma analítica a partir da determinação experimental da constante cinética aparente (K_{app}). Todos os dados do estudo cinético entre a merocianina **80** e o peróxido de benzoíla são apresentados no **Anexo 5**.

Para avaliar a possibilidade de resposta também ao peróxido de diterbutila (DTBP), foi realizada uma análise semelhante, na qual se avaliou o comportamento cinético em uma reação com concentração de peróxido 50 vezes superior a concentração de corante ($1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$). Entretanto, diferentemente do observado para peróxido de benzoíla, não foi observada nenhuma reação química após 5 minutos de reação (**Figura 64**), indicando que o sistema utilizado não é sensível à detecção de DTBP.

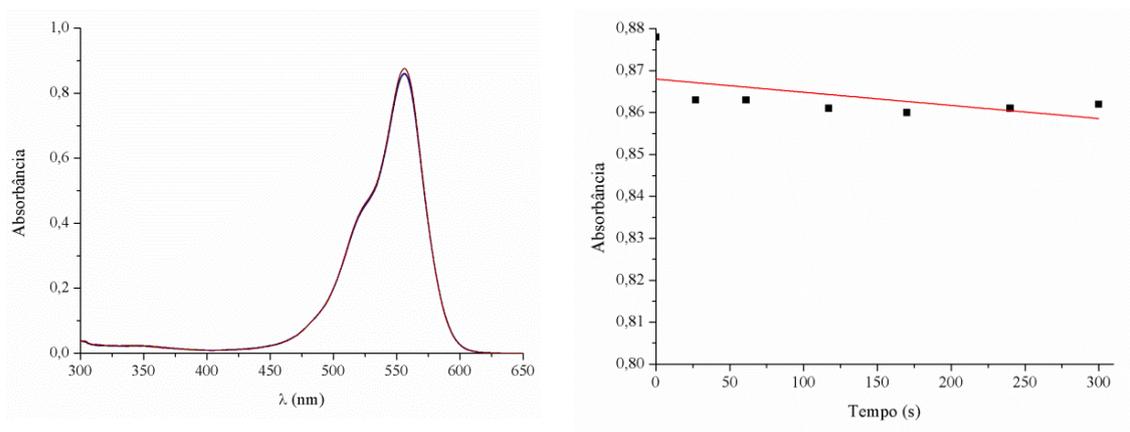


Figura 64. Espectros de absorção e respectiva curva $A \times t$ referente ao estudo cinético para a reação entre merocianina **80** e peróxido de diterbutila na proporção corante:peróxido de 1:50.

Uma possível explicação para essa seletividade frente aos dois peróxidos pode estar relacionada à possibilidade de formação ou não de um ânion peróxido, o que poderia desencadear uma reação análoga ao peróxido de hidrogênio (**Esquema 24**). Já é descrito que a adição de peróxido de benzoíla em presença de hidróxido de sódio promove cisão heterolítica da ligação O-O, levando à formação de um ânion benzoato e um perbenzoato. Em contrapartida, acredita-se que a não formação de espécie aniônica a partir do peróxido de diterbutila nas condições reacionais utilizadas faça com que o mesmo não seja ativo para reagir com a merocianina **80**.

Como forma de avaliar se o comportamento cinético é devido à natureza do peróxido, foi realizado um estudo também com peróxido de hidrogênio, nas mesmas condições reacionais, isto é, solução 1:1 (v:v) de acetonitrila:água (pH = 10), utilizando uma proporção molar merocianina:peróxido de hidrogênio (1:4). Os espectros de absorção na região do UV-Vis, a curva de variação da absorbância com relação ao tempo ($A \times t$) e a curva cinética são apresentadas no **Anexo 5**. É possível observar uma cinética muito semelhante para os peróxidos de benzoíla e de hidrogênio nessas condições reacionais, sendo que o primeiro mostra-se levemente mais reativo, o que realmente pode indicar um mecanismo semelhante ao esquematizado no **Esquema 24** para ambos os peróxidos.

5.2.5.3. Sensor de vapor de peróxido no estado sólido

Tendo em vista à excelente resposta à detecção de peróxido de hidrogênio em solução aquosa alcalina, buscou-se o desenvolvimento de um sensor sólido capaz de identificar também vapores de peróxido de hidrogênio. Para isso, foi obtido um material análogo aos sensores de vapor descritos na seção 3.3.3. Uma vez que a resposta ao peróxido depende da alcalinidade do meio, primeiramente realizou-se a saturação do material suportado em sílica com vapor de hidróxido de amônio. Uma vez saturado, fez-se a exposição desse material ao vapor de peróxido de hidrogênio durante um tempo de 30 minutos, onde se observou novamente o desaparecimento completo de coloração, indicando a quebra da conjugação do corante. Após o período de exposição ao vapor, foram realizadas medias de absorção e emissão de fluorescência em estado sólido, cujos espectros estão apresentados na **Figura 65**.

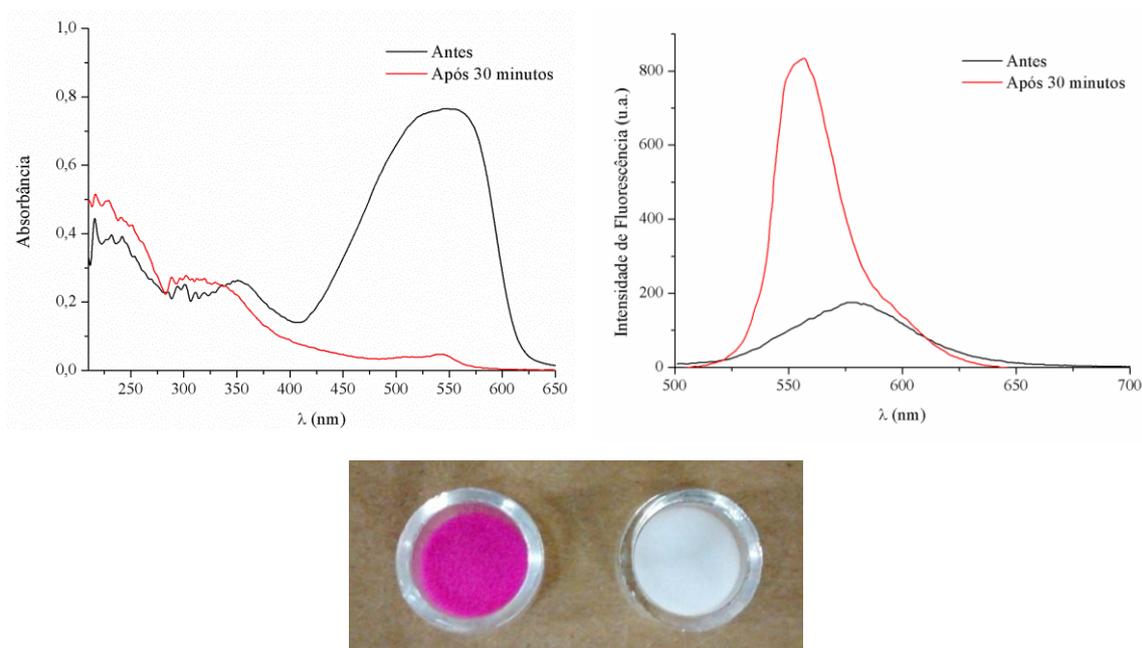


Figura 65. Espectros de absorção e emissão de fluorescência em matriz de sílica, referentes ao estudo de identificação de vapor de peróxido de hidrogênio. Abaixo está apresentada a foto do material antes e após a exposição ao vapor de peróxido de hidrogênio por 30 minutos.

Como já era esperado, percebe-se claramente a supressão quase que completa da banda de absorção no visível após o tempo de exposição ao vapor. Já no espectro de emissão de fluorescência, é possível observar um deslocamento hipsocrômico na

localização do máximo da banda de emissão e um aumento significativo de intensidade, indicando que antes da adição de peróxido, algum efeito de supressão de fluorescência estava ocorrendo, possivelmente devido à formação de algum tipo de agregado do corante adsorvido na matriz.

5.2.6. Associação com BSA

Albuminas são as proteínas mais abundantes presentes no plasma sanguíneo e possuem alta capacidade de associação à ligantes, com significativa importância no transporte de drogas através da corrente sanguínea a partir de interações não covalentes. A albumina sérica bovina (BSA) é amplamente empregada como um padrão para estudos uma vez que é um material de baixo custo e sua estrutura possui bastante semelhança com a albumina humana sérica (HSA).^{2,100}

A BSA é uma proteína globular multifuncional, composta por 583 aminoácidos residuais e massa molecular de 66,5 KDa, cujo o ponto isoelétrico em água é em pH 4,7. Possui uma banda de absorção na região do ultravioleta com máximo localizado em 279 nm além de emissão de fluorescência com máximo localizado em 340 nm, devido à presença de resíduos de triptofano. É caracterizada ainda pela presença de três diferentes domínios, cada um dividido em outros dois subdomínios (A e B). Possui ainda 17 pontes de dissulfeto responsáveis pela estabilidade desses domínios. Estudos tem mostrado que os sítios de associação encontram-se nos domínios hidrofóbicos da BSA, especificamente nos domínios IIA e IIIA.²

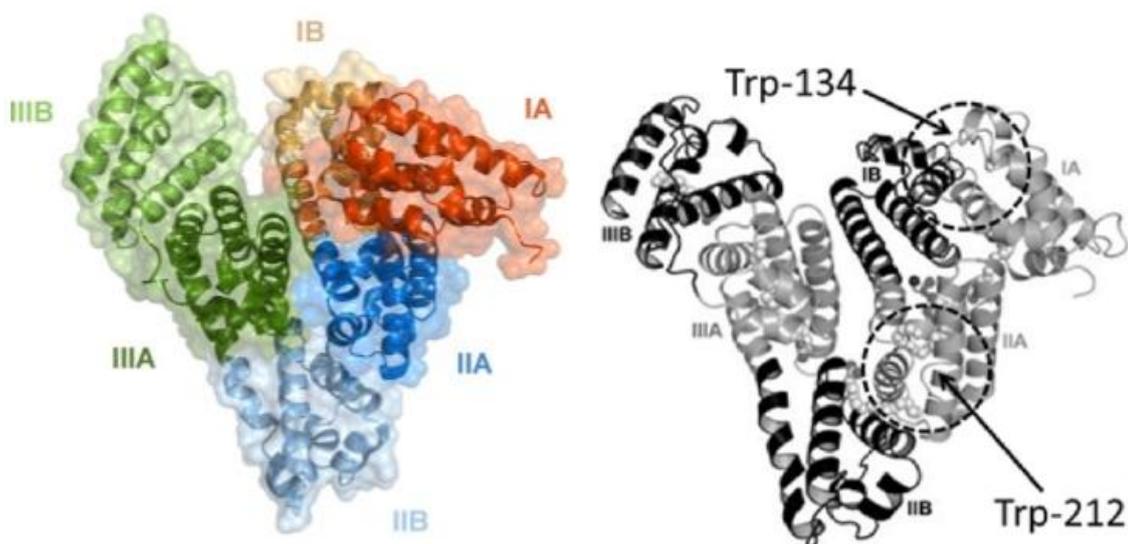


Figura 66. Estrutura da BSA.¹⁰⁰

Foram realizados estudos a fim de avaliar a associação das merocianinas **79-82** com a BSA em solução tampão de fosfato salino (PBS). A associação com BSA foi avaliada a partir de duas diferentes análises:

I. Supressão (ou *quenching*) de fluorescência da BSA: Como a BSA apresenta uma banda de emissão de fluorescência localizada em 340 nm, a interação com determinado analito pode ser avaliada a partir do monitoramento da variação da intensidade de emissão de fluorescência da BSA, em função da concentração do supressor. Basicamente, existem dois diferentes tipos de *quenching* da fluorescência: o estático, onde há a formação de um complexo entre o fluoróforo e o analito e o dinâmico, que pode ser devido, entre outros processos, a apenas um efeito colisional de desativação de fluorescência.

A determinação do mecanismo pode ser avaliada a partir de medidas de fluorescência em função da variação de temperatura. No caso de um *quenching* dinâmico, ao se aumentar a temperatura do sistema aumenta-se tanto a energia cinéticas das moléculas quanto os coeficientes de difusão, de modo que o percurso livre médio (distância média percorrida pelas moléculas entre cada colisão) irá diminuir. Dessa forma, observa-se um aumento da supressão de fluorescência com o aumento de temperatura. Já no caso de um *quenching* estático, o aumento de temperatura pode ou não reduzir o grau de supressão uma vez que o aumento de temperatura pode desestabilizar o complexo formado, levando à sua dissociação. Segundo descrito na literatura, os valores limites de constante de supressão para mecanismos dinâmicos estão na casa de $2,0 \times 10^{10} \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$.¹⁹

II. Aumento da fluorescência do analito: Da mesma forma que a emissão de fluorescência da BSA é fortemente influenciada pela presença de um analito, o comportamento fotofísico, principalmente no que diz respeito à intensidade de emissão de fluorescência de moléculas orgânicas pode também ser influenciado através da associação com a BSA, de modo que compostos caracterizados por fraca emissão de fluorescência podem apresentar significativo aumento quando associados à proteína.

5.2.6.1. Supressão da Fluorescência da BSA

A análise de supressão de fluorescência da BSA foi realizada a partir da titulação de uma solução de BSA [11 µM] com as merocianinas **79-82** (0 - 20 µM) em tampão de PBS (pH 7,4). Nas Figuras **67-70** são apresentados os espectros de absorção na região

do UV-Vis e emissão de fluorescência da BSA, com $\lambda_{\text{ex}} = 279 \text{ nm}$, para a titulação com as merocianinas.

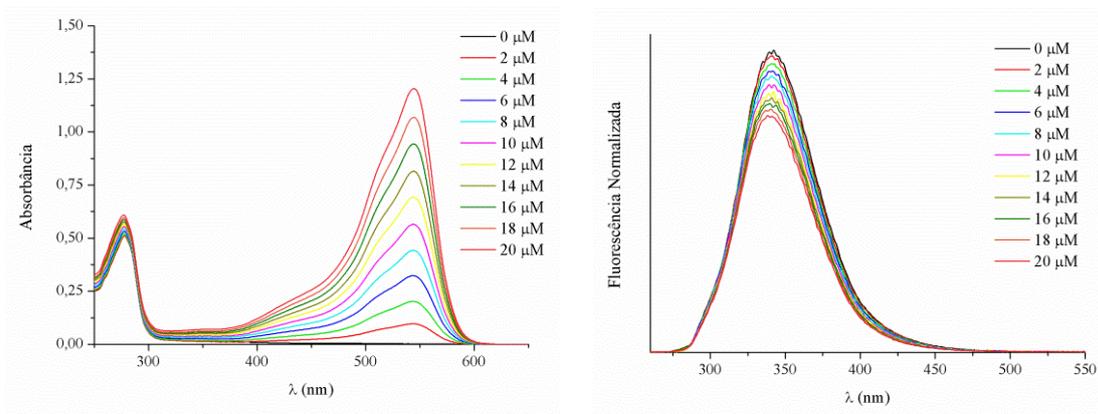


Figura 67. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{\text{ex}} = 279 \text{ nm}$ referentes à titulação da BSA com a merocianina **79**.

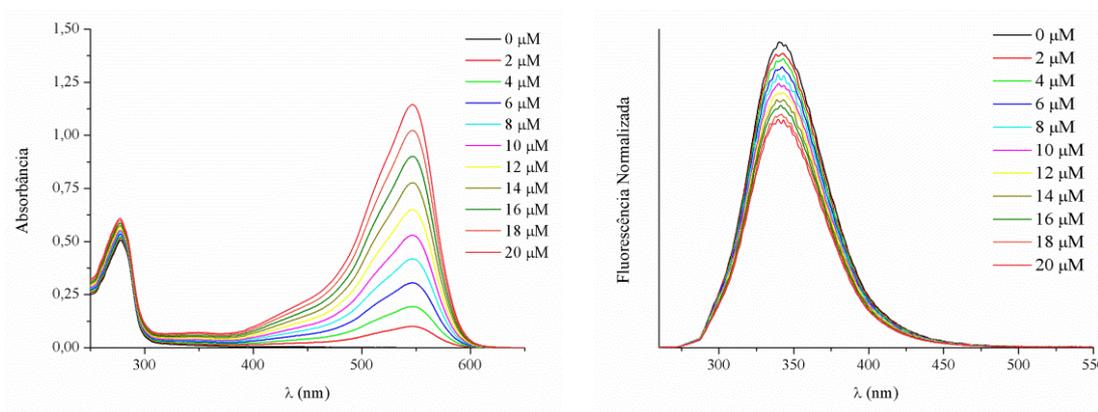


Figura 68. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{\text{ex}} = 279 \text{ nm}$ referentes à titulação da BSA com a merocianina **80**.

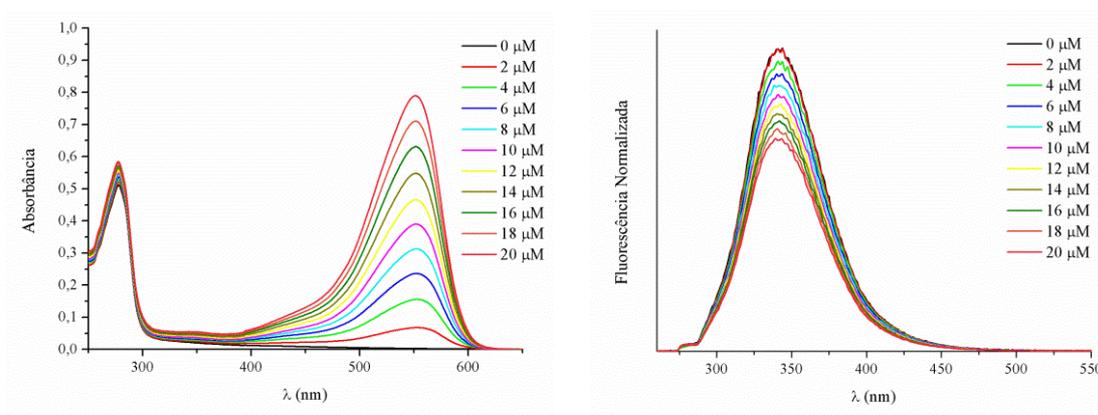


Figura 69. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{\text{ex}} = 279$ nm referentes à titulação da BSA com a merocianina **81**.

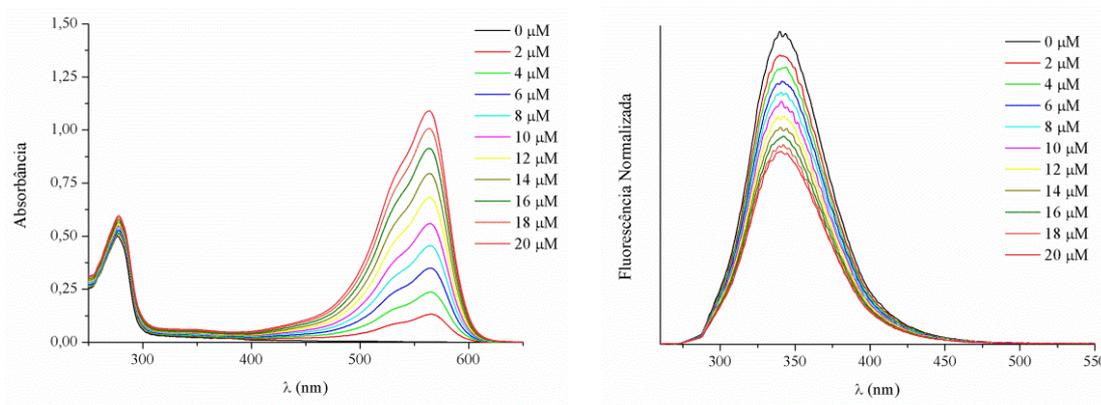


Figura 70. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita), com $\lambda_{\text{ex}} = 279$ nm referentes à titulação da BSA com a merocianina **82**.

Ao se analisar os espectros de absorção e emissão de fluorescência é possível perceber que a medida em que a concentração de merocianina aumenta, há um aumento na absorbância localizada em 279 nm, região de absorção da BSA, e a supressão da emissão de fluorescência em 340 nm. Observa-se ainda que o aumento da hidrofobicidade da merocianina possui significativa influência na supressão da fluorescência da BSA, sendo possível observar um aumento gradativo da supressão com o aumento do tamanho da cadeia alquílica ligada ao nitrogênio quaternário do corante.

Como forma de avaliar a natureza do *quenching*, e determinar o valor da constante de supressão, foram obtidas curvas de Stern-Volmer (Equação 14) para as quatro titulações (**Figura 71**).

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q \tau_0 [Dye] = 1 + K_{SV} [Dye], \quad (14)$$

onde F_0 é a intensidade de fluorescência da BSA pura; F é a intensidade de fluorescência da BSA na presença do supressor; K_q é a constante bimolecular de supressão; τ_0 é o tempo de vida do fluoróforo no estado excitado na ausência do supressor; $[Dye]$ é a concentração do supressor e K_{SV} é a constante de supressão de Stern-Volmer. O valor do tempo de vida no estado excitado (τ_0) para biomoléculas é de 10^{-8} s.¹⁰¹

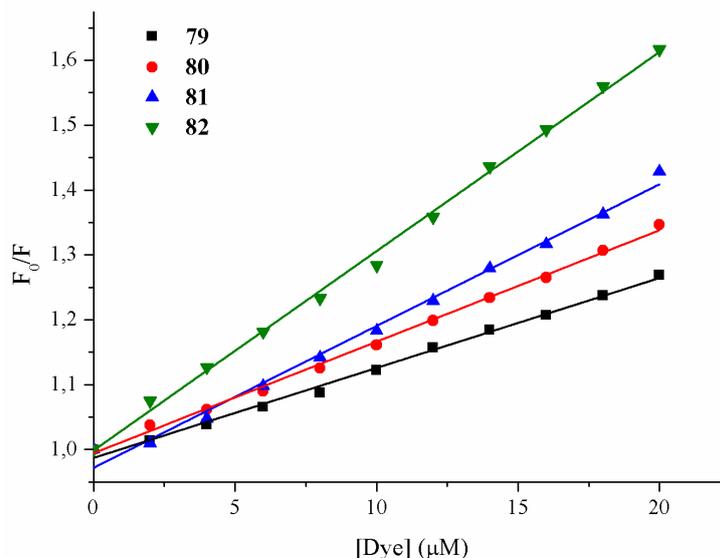


Figura 71. Curvas de Stern-Volmer aplicadas ao máximo de emissão do BSA em 340 nm na presença das merocianinas **79-82**.

Tabela 8. Dados obtidos a partir das curvas de Stern-Volmer.

Composto	Regressão Linear	R ²	K _{SV} (L·mol ⁻¹)	K _q (L·mol ⁻¹ ·s ⁻¹)
79	$F_0/F = 0,0139 + 0,99$	0,995	$1,39 \times 10^4$	$1,39 \times 10^{12}$
80	$F_0/F = 0,0172 + 0,99$	0,997	$1,72 \times 10^4$	$1,72 \times 10^{12}$
81	$F_0/F = 0,0218 + 0,97$	0,992	$2,18 \times 10^4$	$2,18 \times 10^{12}$
82	$F_0/F = 0,0307 + 1,00$	0,997	$3,07 \times 10^4$	$3,07 \times 10^{12}$

Os dados obtidos a partir das curvas de Stern-Volmer indicam que o *quenching* da fluorescência da BSA é de natureza estática, com valores de constante de supressão (K_q) duas ordens de grandeza superior ao valor limite para um *quenching* dinâmico. Além disso, o aumento de supressão observado com o aumento da cadeia alquílica do corante é também um forte indicativo de um *quenching* estático, mostrando que as espécies podem estar associadas devido à interações de natureza hidrofóbica no sítio ativo da proteína.

5.2.6.2. Aumento de fluorescência das merocianinas a partir da associação com a BSA

Como forma de avaliar também a associação das merocianinas **79-82** com a BSA, foram realizadas titulações a partir da adição de BSA (0-12 μM) à soluções

contendo os corantes em concentração fixa de 2 μM . Nas **Figuras 72-75**, são apresentados os espectros de absorção na região do UV-Vis e emissão de fluorescência, com λ_{ex} igual ao comprimento de onda referente ao máximo de absorção.

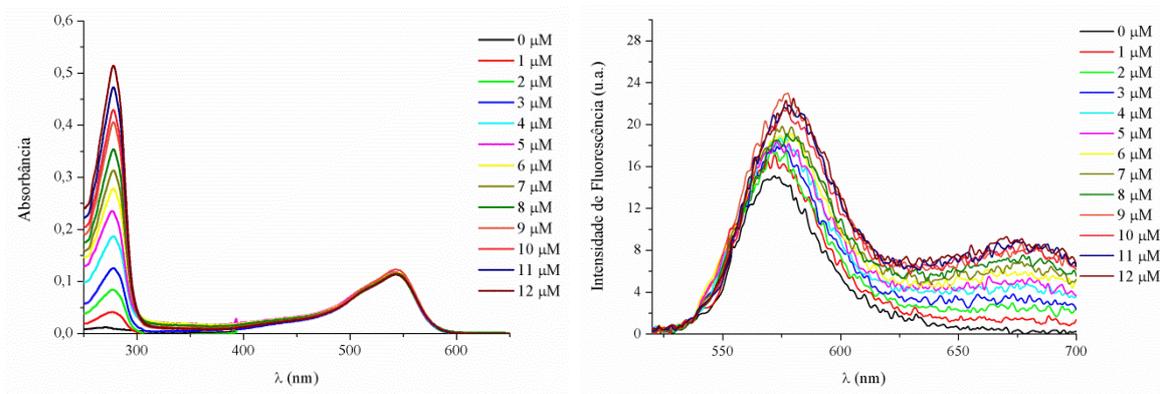


Figura 72. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina **79** com BSA.

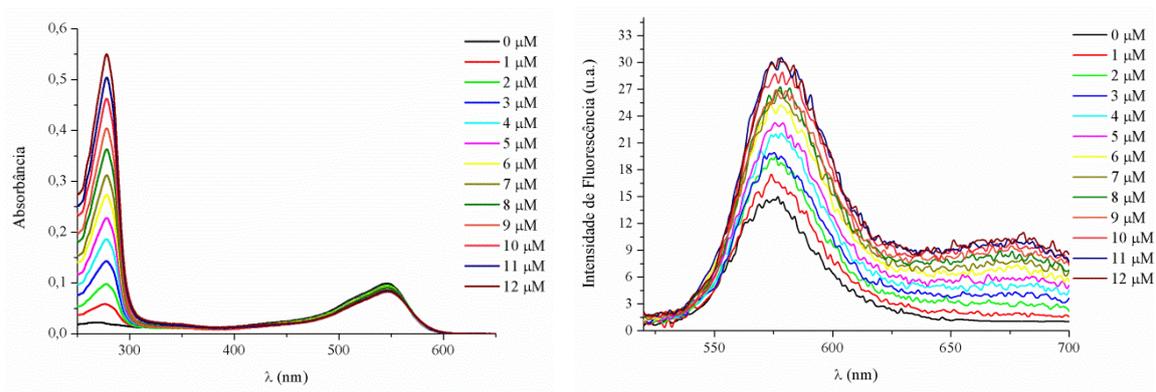


Figura 73. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina **80** com BSA.

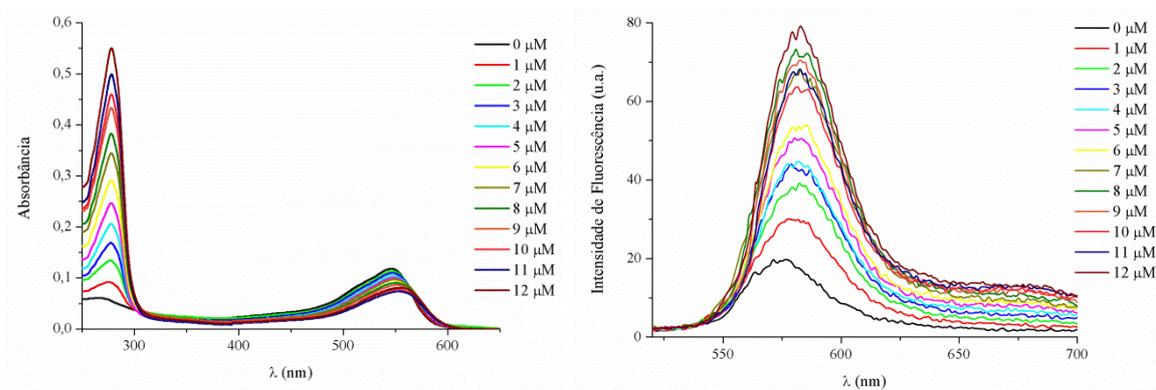


Figura 74. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina **81** com BSA.

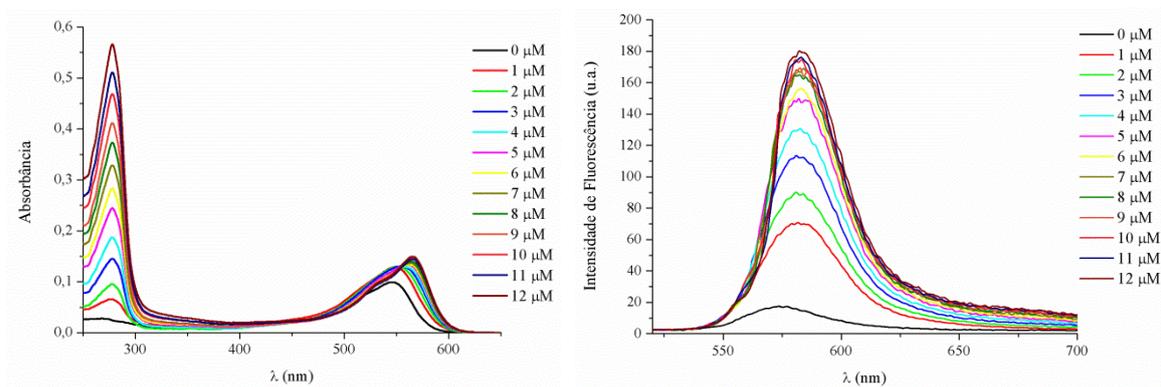


Figura 75. Espectros de absorção (esquerda) e emissão de fluorescência (direita) referentes à titulação da merocianina **82** com BSA.

Analisando os espectros de absorção no UV-Vis, é possível observar novamente a presença das duas regiões de absorção. Como esperado, observa-se o aumento da absorbância em 279 nm para todas as curvas, decorrente do aumento da concentração de BSA nas soluções. Já para as regiões de absorção dos corantes, em 550 nm, é possível perceber diferentes comportamentos. Para as merocianinas **79** e **80**, nenhuma alteração significativa é observada, com o máximo de absorção sendo praticamente constante. Já para as merocianina **81** e **82**, observam-se efeitos bastante diferentes. Para a merocianina **81**, a adição de BSA provoca tanto a diminuição da absorbância quanto um deslocamento batocrômico do máximo de absorção. Para o corante **82**, observa-se um aumento na absorbância juntamente com um deslocamento batocrômico no máximo de absorção. É possível observar ainda, para a merocianina **82** a presença de um ponto isobéptico aparente, indicando a existência de um equilíbrio entre a espécie livre e o conjugado merocianina-BSA.

Embora não tenha sido observada nenhuma alteração pronunciada nos espectros de absorção, como o aparecimento de um ponto isobéptico para as merocianinas **79** e **80**, isso não significa que não há a formação de um conjugado merocianina-BSA para essas espécies. Como observado no estudo de supressão de fluorescência da BSA, os valores de constante de supressão indicam que a natureza do *quenching* é estática. A não observação de um ponto isobéptico pode estar indicando que o equilíbrio entre as espécies, nesse caso, não é simples.

Ao se analisar os espectros de emissão de fluorescência, é possível observar tanto um deslocamento batocrômico quanto um aumento da intensidade de emissão das merocianinas na presença da BSA. É possível perceber ainda que a sensibilidade à

presença da BSA está diretamente relacionada ao comprimento da cadeia alquílica da merocianina. Para a merocianina **80** observa-se um aumento de duas vezes na intensidade de emissão após a adição de 12 μM da BSA, enquanto que para a merocianina **81**, há um aumento de 4 vezes na intensidade de fluorescência. Já a merocianina com cadeia octílica **82**, observa-se uma maior sensibilidade a presença da proteína, sendo observado um aumento de 4 e 10 vezes na intensidade de emissão após a adição de 1 e 12 μM de BSA, respectivamente.

É importante observar ainda a direta relação entre o aumento da fluorescência da merocianina na presença da BSA e a supressão da fluorescência da proteína. O corante que proporcionou a maior supressão (merocianina **82**) foi o que apresentou também o maior aumento na sua emissão de fluorescência.

Como é possível perceber, as merocianinas apresentaram diferentes interações com a BSA, mostrando que a habilidade de associação de cada corante com a proteína é função da quantidade de BSA presente. Como forma de avaliar a sensibilidade de cada molécula, foram obtidas curvas de intensidade de fluorescência relativa (F/F_0) em função da razão entre as concentrações de corante e BSA (C/P) (**Figura 76**).

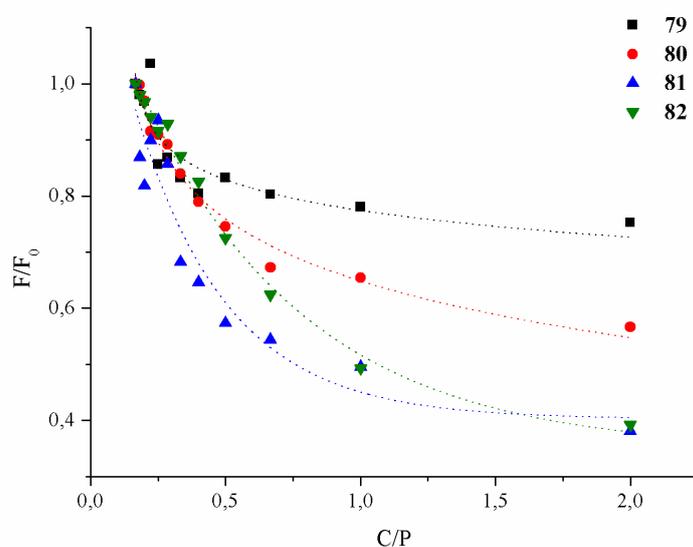


Figura 76. Curvas de intensidade relativa em função da razão entre concentração de corante e proteína.

Como é possível observar, o aumento relativo da emissão de fluorescência da molécula com o aumento da hidrofobicidade indica que há, de fato um aumento na agregação da merocianina com a BSA com o aumento da cadeia alquílica. Assumindo

ainda que a associação merocianina-BSA ocorre na proporção de 1:1, a determinação das constantes de associação (K_a) foi realizada a partir da Equação (15):

$$\frac{(F_{\infty}-F_0)}{(F_x-F_0)} = 1 + \frac{1}{K_a[BSA]}, \quad (15)$$

onde F_0 , F_x e F_{∞} são as intensidades de fluorescência das merocianinas na ausência, na presença de certa quantidade de BSA e na completa associação, respectivamente.¹⁰² Na **Figura 77** são apresentadas as curvas de $(F_{\infty} - F_0)/(F_x - F_0)$ em função da $[BSA]^{-1}$, para as merocianinas **80-82**. Na **Tabela 9**, são apresentados os dados referentes às curvas, indicando um aumento linear na constante de associação com o aumento da cadeia alquílica, com valores similares aos reportados na literatura para corantes polimetínicos.¹⁰³

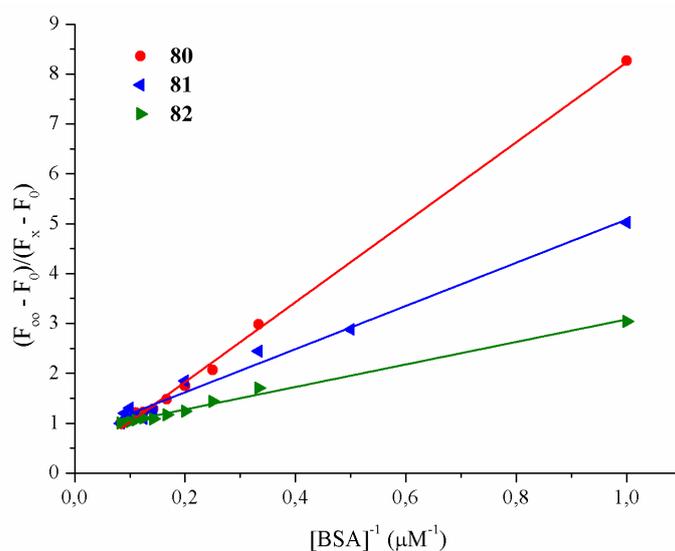


Figura 77. Curvas de $(F_{\infty} - F_0)/(F_x - F_0)$ em função da $[BSA]^{-1}$, com concentração de merocianina de 2 μM.

Tabela 9. Dados referentes às curvas apresentadas na Figura 78.

Corante	Curva de Regressão Linear	K_a (M ⁻¹)	R^2
80	$Y = 0,2226 + 8,014 \times 10^{-6} [BSA]^{-1}$	$1,25 \times 10^5$	0,998
81	$Y = 0,7535 + 4,330 \times 10^{-6} [BSA]^{-1}$	$2,31 \times 10^5$	0,983
82	$Y = 0,8215 + 2,258 \times 10^{-6} [BSA]^{-1}$	$4,43 \times 10^5$	0,991

6. Conclusões

O precursor indólico **74** foi sintetizado a partir da reação de Fischer com pureza adequada para a etapa seguinte. Os precursores indólicos *N*-quaternários **75-78** foram obtidos com bons rendimentos e excelente pureza a partir de reações de alquilação com iodetos de alquila. As merocianinas **79-82** foram sintetizadas com sucesso e caracterizadas através de análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C .

O estudo fotofísico em solução evidenciou que a merocianina **80** apresenta bandas de absorção na região do visível, com significativo efeito solvatocrômico positivo decorrente da existência de duas diferentes espécies em solução de solventes apolares e polares (quinóide e *zwitterion*). Estudos de emissão de fluorescência mostraram efeito solvatocrômico menos pronunciados, porém permitiram evidenciar, através das curvas de Lippert-Mataga a formação de um estado de transferência de carga intramolecular em misturas de acetonitrila-dimetilsulfóxido.

O estudo fotofísico em solução para a hemicianina **80b** mostrou que a molécula possui bandas de absorção na região do visível (~ 450 nm), com pequeno efeito solvatocrômico em solventes polares. O estudo de emissão de fluorescência mostrou que a molécula emite a partir de um estado de transferência interna de carga possivelmente do tipo quinóide, com largo deslocamento de Stokes (~ 90 nm), evidenciado a partir das curvas de Lippert-Mataga.

O estudo do equilíbrio ácido-base em meio aquoso mostrou que o $\text{p}K_{\text{a}}$ da hemicianina **80b** é de 7,14 apresentando uma faixa de coloração variável em valores de pH entre 8 e 5, com mudança mais pronunciada próxima ao valor do $\text{p}K_{\text{a}}$, o que possibilita o seu emprego como um indicador ácido-base. Além disso, o corante se mostrou estável à ciclos de variações de pH, evidenciado através da manutenção dos máximos de absorção de UV-Vis e emissão de fluorescência.

O estudo em matrizes de sílica mostrou elevada sensibilidade para a detecção de vapores ácidos e aminas, sem a necessidade de altas concentrações de corante para a obtenção de materiais com excelente contraste visual. O estudo fotofísico evidenciou também a presença do corante nas formas de hemicianina e merocianina quando adsorvido em sílica. Fitas de papel indicador também foram obtidas com sucesso e mostraram elevada estabilidade à exposição alternada à vapores de ácido clorídrico e hidróxido de amônio.

A hemicianina **80b** mostrou ainda seletividade na identificação de ânions fluoreto e cianeto em solução de acetonitrila, sendo possível ainda obter uma relação matemática para a determinação quantitativa da quantidade de fluoreto em solução. A mesma foi ainda utilizada com sucesso como sensor para a quantificação de peróxido de hidrogênio em solução na identificação de vapores de peróxido. Foi determinada a lei cinética para a reação entre peróxido de benzoíla e a merocianina **80** em misturas de acetonitrila e água, com ordem de reação igual a 1 para cada um dos reagentes e constante cinética igual a $35,6 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$.

Os estudos de associação com BSA mostraram que o aumento da cadeia alquílica das merocianinas promove um aumento da supressão da fluorescência da BSA, com valores de constante de supressão (K_q) indicando um *quenching* estático. As titulações das merocianinas com BSA também mostraram que o aumento da cadeia alquílica do corante promove um aumento na constante de associação (K_a), indicando uma relação direta entre os efeitos de supressão da fluorescência da BSA e constante de associação, indicando que a interação merocianinas no sítio ativo da BSA é de natureza hidrofóbica.

7. Referências

- [1] J. Kabatc, K. Jurek, Ł. Orzeł, *J. Mol. Struct.*, **2015**, 1084, 114-121.
- [2] D. S. Pisoni, L. Todeschini, A. C. A. Borges, C. L. Petzhold, F. S. Rodembusch, L. F. Campo, *J. Org. Chem.*, **2014**, 79, 5511-5520.
- [3] J. T. Alander, I. Kaartinen, A. Laakso et al., “A Review of Indocyanine Green Fluorescent Imaging in Surgery,” *International Journal of Biomedical Imaging*, vol. **2012**, 26 pages.
- [4] G. S. Anderson, K. Miyagi, R. W. Sampson, F. Sieber, *J. Photochem. Photobiol., B Biol.*, **2002**, 68, 101-108.
- [5] A. Mamoon, A. M. Gamal-Eldeen, M. E. Ruppel, R. J. Smith, T. Tsang, L. M. Miller, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2009**, 6, 105-116.
- [6] H. -J. Lim, C. -H. Oh, *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, **2011**, 8, 337-342.
- [7] L. M. Zimmermann-Dimer, V. G. Machado, *Dyes Pigments*, **2009**, 82, 187-195.
- [8] Y. P. Kovtun, Y. O. Prostota, M. P. Shandura, Y. M. Poronik, A. I. Tolmachev, *Dyes Pigments*, **2004**, 14, 215-221.
- [9] H. Y. Xia, Y. Y. Xu, G. Yang, H. Jiang, G. Zou, Q. J. Zhang, *Macromol. Rapid Commun.*, **2014**, 35, 303-308.
- [10] T. A. Darwish, R. A. Evans, T. L. Hanley, *Dyes Pigments*, **2012**, 92, 817-824.
- [11] T. Kolev, B. Koleva, S. Stoyanov, M. Spitteller, I. Petkov, *Spectrochim. Acta, Part A*, **2008**, 70, 1087-1096.
- [12] N. Sato, T. Fujimura, T. Shimada, T. Tani, S. Takagi, *Tetrahedron Lett.*, **2015**, 56, 2902-2905.
- [13] G. B. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, *J. Surface Sci. Technol.*, **2007**, 23, 1-31.
- [14] S. Singh, V.R. Kanetkar, G. Sridhar, V. Muthuswamy, K. Raja, *J. Lumin.*, **2003**, 101, 285-291.
- [15] S. Cogal, S. Erten-Ela, K. Ocakoglu, A. U. Oksuz, *Dyes Pigments*, **2015**, 113 474-480.
- [16] F. J. Duarte, *Tunable laser Handbook*. 1st. ed. New York: Academic Press. **1995**. 477 p.
- [17] T. Horiuchi, H. Miuraa, S. Uchida, *Chem. Commun.*, **2003**, 24, 3036-3037.
- [18] B. Wardle, *Principles and Applications of Photochemistry*, 1st. ed. UK: Wiley, **2010**. 266 p.

- [19] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd. ed. New York: Springer, **2006**. 954 p.
- [20] R. M. Silverstein, *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. **1994**. 387 p.
- [21] D. L. Pavia, G. M. Lampam, G. S. Kriz, *Introduction to Spectroscopy: A Guide For Students Of Organic Chemistry*. 3rd. Ed. USA: Thomson, **2001**. 579 p.
- [22] C. H. Reichardt, *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, (Weinheim: Wiley-VCH, **2003**).
- [23] T. Yoshihara, S. I. Druzhinin, K. A. Zachariasse, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 8535-8539.
- [24] E. Lippert, W. Lüder, F. Moll, W. Nägele, H. Boos, H. Prigge, I. Seibold-Blankenstein, *Angew. Chem.*, **1961**, 73, 695-706.
- [25] N. M. Kronenberg, M. Deppisch, F. Wuerthner, H. W. A. Lademann, K. Deing, K. Meerholz, *Chem. Commun.*, **2008**, 48, 6489-6491.
- [26] D. F. Taber, P. K. Tirunahari, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 67, 7195-7210.
- [27] E. Fischer, F. Jourdan, *Chem. Ber.*, **1883**, 16, 2241-2245.
- [28] J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers, *Organic Chemistry*. IE - Oxford, **2000**.
- [29] F. M. Hamer, *The Cyanine Dyes and Related Compounds* (New York, London: Interscience, **1964**).
- [30] G. Bach, S. Daehne, in *Rodd's Chemistry of Carbon Compounds Vol. IVB* (Ed.M Sainsbury) (Amsterdam: Elsevier, **1997**) Ch. 15, p. 383.
- [31] Functional Organic Materials. Syntheses, Strategies and Applications Vol. 1 (Eds T. J. J. Müller, U. H. F. Bunz) (New York: Wiley, **2007**).
- [32] A. Mishra, R. K. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, G. B. Behera, *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 1973-2012.
- [33] K. Yesudas, E. D. Jemmis, K. Bhanuprakash, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2015**, 17, 12988-12999.
- [34] J. T. C. Wojtyk, A. Wasey, P. M. Kazmaier, S. Hoz, E. Buncel, *J. Phys. Chem. A*, **2000**, 104, 9046-9055.
- [35] S. T. Abdel-Halim, M. K. Awad, *J. Mol. Struct.*, **2005**, 754, 16-24.
- [36] W. Leng, F. Wurthner, A. M. Kelley, (2005) *J. Phys. Chem. A*, **2005**, 109, 1570-1575.
- [37] I. D. L. Albert, T.J. Marks, M. A. Ratner, *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 9714-9725.

- [38] Z. Voitenko, M. R. Mazieres, M. Sanchez, J. G. Wolf, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 57, 1059-1066.
- [39] K. Burger, *Solvation, Ionic, and Complex Formation Reactions in Non-Aqueous Solvents: Experimental Methods for Their Investigation* (Amsterdam: Elsevier, 1983).
- [40] A. V. Kulinich, N. A. Derevyanko, A. A. Ishchenko, *Izv. Ros. Akad. Nauk, Ser. Khim.*, **2005**, 12, 2726-2735.
- [41] A. V. Kulinich, N. A. Derevyanko, A. A. Ishchenko, *J. Photochem. Photobiol., A Chem.*, **2008**, 198, 119-125.
- [42] A. V. Kulinich, N. A. Derevyanko, A. A. Ishchenko, *Zh. Obshch. Khim.*, **2006**, 76(9), 1503-1520.
- [43] M. Dekhtyar, W. Rettig, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2001**, 3, 1602-1610.
- [44] C. Reichardt, *J. Phys. Org. Chem.*, **1995**, 8, 761-773.
- [45] D. Prukała, W. Prukała, M. Gierszewski, J. Karolczak, I. Khmelinskii, M. Sikorsk, *Dyes Pigments*, **2014**, 108, 126-139.
- [46] L. Viteva, T. Gospodova, J. Rashkova, I. Abrahams, I. Timtcheva, S. Simova, M. - R. Mazieres, J. -G. Wolf, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 19, 3102-3114.
- [47] G. S. Bahra, J. Griffiths, W. Healy, V. Millar, S. J. Till, J. Till, *Dyes Pigments*, **1995**, 28, 327-339.
- [48] G. Kwak, S. Wang, M. S. Choi, H. Kim, K. H. Choi, Y. S. Han, Y. Hur, S. H. Kim, *Dyes Pigments*, **2008**, 78, 25-33.
- [49] C. -F. Shu, W. J. Tsai, A. K. -Y. Jen, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 7055-7058.
- [50] L. Viteva, T. Gospodova, J. Rashkova, I. Abrahams, I. Timtcheva, S. Simova, M. - R. Mazieres, J. -G. Wolf, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 19, 3102-3114.
- [51] A. A. Ishchenko, A. V. Kulinich, S. L. Bondarev, V. N. Knyukshto, *J. Phys. Chem. A*, **2007**, 111, 13629-13637.
- [52] S. Dähne, *Chimia*, **1991**, 45, 288-296.
- [53] S. Wang, S. -H. Kim, *Dyes Pigments*, **2009**, 80, 314-320.
- [54] S. Cha, M. G. Choi, H. R. Jeon, S.-K. Chang, *Sensor. Actuat. B*, **2011**, 157, 14-18.
- [55] A. V. Kulinich, A. A. Ishchenko, U. M. Groth, *Spectrochim. Acta, Part A*, **2007**, 68, 6-14.
- [56] E. Buncl, S. Rajagopal, *Acc. Chem. Res.*, **1990**, 23, 226-231.
- [57] A. I. Kiprianov, *Tsvet i Stroenie Tsianinovykh Krasitelei, Colour and Structure of Cyanine Dyes* (Kiev: Naukova Dumka, **1979**).

- [58] A. V. Kulinich, N. A. Derevyanko, A. A. Ishchenko, *J. Photochem. Photobiol., A Chem.*, **2007**, 188, 207-217.
- [59] A. Toutchkine, V. Kraynov, K. Hahn, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 4132-4145.
- [60] R. Detty, S. L. Gibson, S. J. Wagner, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 3897-3915.
- [61] H. -L. Lee, E. A. Dubikovskaya, H. Hwang, A. N. Semyonov, H. Wang, L. R. Jones, R. J. Twieg, W. E. Moerner, P. A. Wender, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 9364-9370.
- [62] I. J. Vereyken, J. A. Kuik, T. H. Evers, P. J. Rijken, B. de Kruijff, *Biophys. J.*, **2003**, 84, 3147-3154.
- [63] L. Sikurova, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, **2002**, 7, pg 300.
- [64] F. Würthner, S. Yao, T. Debaerdemaeker, R. Wortmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 9431-9447.
- [65] L. G. S. Brooker, G.H. Keyes, R. H. Sprague, R. H. Van Dyke, E. Van Lare, G. Van Zandt, F. L. White, *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 5326-5332.
- [66] S. -Y. Park, S. -W. Oh, *Bull. Korean. Chem. Soc.*, **2003**, 24, 569-572.
- [67] C. Aliaga, J. S. Galdames, M. C. Rezende, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2*, **1997**, 1055-1058.
- [68] J. -F. Xiang, Y. -X. Liu, D. Sun, S. -J. Zhang, Y. -L. Fu, X. -H. Zhang, L. -Y. Wang, *Dyes Pigments*, **2012**, 93, 1481-1487.
- [69] M. Kawakami, M. Suzuki, H. Kawai, K. Ogawa, T. Shishido, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 1763-1766.
- [70] R. J. H. Clark, C. J. Cooksey, M. A. M. Daniels, R. Withnall, *Endeavour*, **1993**, 17, 191-199.
- [71] V. F. Traven, V. S. Miroshnikov, T.A. Chibisova, V. A. Barachevsky, O. V. Venidiktova, Y. U. P. Strokach, *Russ. Chem. Bull. Int. Ed.*, **2005**, 54, 2417-2424.
- [72] Y. U. P. Kovtun, Y. A. O. Prostota, A. I. Tolmachev, *Dyes Pigments*, **2003**, 58, 83-91.
- [73] K. Pudhom, K. Kasai, H. Terauchi, H. Inoue, M. Kaiser, R. Brun, M. Ihara, K. Takasu, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 8550-8563.
- [74] M. Kawakami, K. Koya, T. Ukai, N. Tatsuta, A. Ikegawa, K. Ogawa, T. Shishido, L. B. Chen, *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 130-142.
- [75] F. Würthner, S. J. Yao, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 8943-8949.
- [76] V. N. Nesterov, I. A. Aitov, Y. U. A. Sharanin, Y. U. T. Struchkov, *Russ. Chem. Bull.*, **1996**, 45, pg 164.

- [77] D. Peckus, A. Devizis, R. Augulis, S. Graf, D. Hertel, K. Meerholz, V. Gulbinas, *J. Phys. Chem. C*, **2013**, 117, 6039-6048.
- [78] G. E. Ficken, in *The Chemistry of Synthetic Dyes* (Ed. K Venkataraman), New York: Academic Press, **1971**, p. 212.
- [79] A. Toutchkine, D.-V. Nguyen, K. M. Hahn, *Bioconjug. Chem.* **2007**, 18, 1344-1348.
- [80] S. V. Popov, Yu. L. Slominsky, M. L. Dekhtyar, A. B. Rozhenko, *Dyes Pigments*, **1992**, 18, 151-162.
- [81] Z. Voitenko, M. R. Mazieres, M. Sanchez, J. G. Wolf, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 57, 1059-1066.
- [82] A. Toutchkine, V. Kraynov, K. Hahn, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 4132-4145.
- [83] A. C. Benniston, A. Harriman, C. McAvoya, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1997**, 93, 3653-3662.
- [84] R. Andreu, J. Garin, J. Orduna, R. Alcala, B. Villacampa, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 3143-3146.
- [85] J. Reijenga, A. van Hoof, A. van Loon, B. Teunissen, *Anal. Chem. Insights*, **2013**, 8, 53-71.
- [86] S. E. Braslavsky, *Pure Appl. Chem.*, **2007**, 79, 293-465.
- [87] D. Prukala, W. Prukala, M. Gierszewski, J. Karolezak, I. Khmelinskii, M. Sikorski, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2012**, 11, 1454-1464.
- [88] D. S. Ballantine, G. J. Maclay, J. R. Statter, D. Callahan, *Talanta*, **1992**, 39, 1657-1667.
- [89] Y. Takagai, Y. Nojiri, T. Takase, W. L. Hinze, M. Butsuganc, S. Igarashid, *Analyst*, **2010**, 135, 1417-1425.
- [90] E. M. -Atenza, G. Landeta, B. de las Rivas, B. G. -Sala, R. Muñoz, P. E. Hernandez, L. M. Cantas, C. Herranz, *Int. J. Food Microbiol.*, **2011**, 146, 212-216.
- [91] A. Pacquit, K. T. Lau, H. McLaughlin, J. Frisby, B. Quilty, D. Diamond, *Talanta*, **2006**, 69, 515-520.
- [92] E. H. Gruger Jr., *J. Agric. Food Chem.*, **1972**, 20, 781-785.
- [93] N. Mizuno, K. Yamaguchi, K. Kamata, *Coord. Chem. Rev.*, **2005**, 249, 1944-1956.
- [94] R. Mello, A. A.-Aragones, M. E. G. Núñez, G. Asensio, *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 6409-6413.
- [95] J. Rebek, Jr., L. Marshall, J. McManis, R. Wolak, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 1649-1653.

- [96] G. B. Payne, P. H. Deming, P. H. Williams, *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 659-663.
- [97] H. E. Zimmerman, L. Singer, B. S. Thyagarajan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 108-116.
- [98] Y. Apeloig, M. Karni, Z. Rappoport, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 2784-2793.
- [99] D. Y. Ye, F. Fringuelli, O. Piermatti, F. Pizzo, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 3748-3750.
- [100] K. A. Majorek, P. J. Porebski, A. Dayal, M.D. Zimmerman, K. Jablonska, A.J. Stewart, M. Chruszcz, W. Minor, *Molecular Immunology* **2012**, 52, 174-182.
- [101] Q. Wang, P. Liu, X. Zhou, X. Zhang, T. Fang, X. Min, X. Li, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2012**, 230, 23-30.
- [102] Y. Zhang, Q. F. Wang, H. Y. Du, Y. L. Tang, G. Z. Xu, W. P. Yan, *Chin. J. Chem.* **2008**, 26, 397-401.
- [103] E. N. Kurtaliev, *J. Lumin.* **2012**, 132, 2281-2287.

ANEXOS

Anexo 1

Tabela A1. Dados referentes à curva de Lippert-Mataga para a merocianina **76** em misturas de acetonitrila:dimetilsulfóxido.

DMSO:Acetonitrila	Δf	ν_{abs} (cm ⁻¹)	ν_{em} (cm ⁻¹)	$\Delta\lambda_{ST}$ (cm ⁻¹)
100:0	0,2632	17986	17361	624,5
90:10	0,2682	18018	17391	626,7
80:20	0,2732	18050	17422	628,9
70:30	0,2778	18116	17482	633,4
60:40	0,2823	18149	17513	635,7
50:50	0,2866	18182	17544	637,9
40:60	0,2906	18215	17575	640,2
30:70	0,2946	18248	17606	642,5
20:80	0,2983	18281	17637	644,8
10:90	0,3020	18315	17668	647,2
0:100	0,3054	18349	17699	649,5

Tabela A2. Dados referentes à curva de Lippert-Mataga para a merocianina **76** em misturas de ciclohexano-1,4-dioxano.

1,4-Dioxano:Ciclohexano	Δf	ν_{abs} (cm ⁻¹)
100:0	0,02	19801
90:10	0,01851	19841
80:20	0,01697	19841
70:30	0,01535	19880
60:40	0,01365	19920
50:50	0,01188	20000
40:60	0,01002	20040
30:70	0,00807	20120
20:80	0,00602	20202
10:90	0,00387	20283
0:100	0,016	20366

Tabela A3. Dados referentes às curvas de Lippert-Mataga para a hemicianina **77** em solventes polares.

Solvente	Δf	ν_{abs} (cm ⁻¹)	ν_{em} (cm ⁻¹)	$\Delta\lambda_{ST}$ (cm ⁻¹)
DMSO	0,263	21598	17953	3644
DMF	0,274	21739	18050	3688
Acetona	0,285	22026	18281	3745
MeCN	0,305	22321	18518	3803

Anexo 2

Tabela A4. Dados referentes aos espectros de absorção para a determinação do pKa.

pH	A ₄₃₈	A ₅₄₆	A ₄₃₈ ^{corr}	A ₄₃₈ /A ₄₃₈ ⁰	A ₄₃₈ ^{corr} /A ₄₃₈ ⁰	A ₅₄₆ /A ₅₄₆ ⁰
2	0,296	0,005	0,296	0,989966555	0,989966555	0,008026
2,9	0,299	0,005	0,299	1	1	0,008026
3,5	0,298	0,006	0,298	0,996655518	0,996655518	0,009631
4,7	0,295	0,01	0,295	0,986622074	0,986622074	0,016051
5,6	0,287	0,025	0,286	0,959866221	0,956521739	0,040128
6,1	0,275	0,053	0,272	0,919732441	0,909698997	0,085072
6,4	0,237	0,097	0,232	0,79264214	0,775919732	0,155698
6,7	0,229	0,16	0,221	0,765886288	0,739130435	0,256822
6,9	0,199	0,228	0,187	0,665551839	0,62541806	0,365971
7,1	0,175	0,292	0,16	0,585284281	0,535117057	0,4687
7,2	0,158	0,334	0,14	0,528428094	0,468227425	0,536116
7,3	0,143	0,37	0,124	0,47826087	0,414715719	0,5939
7,5	0,121	0,435	0,098	0,404682274	0,327759197	0,698234
8,4	0,065	0,572	0,035	0,217391304	0,117056856	0,918138
8,1	0,07	0,546	0,043	0,234113712	0,143812709	0,876404
9,2	0,037	0,62	0,004	0,123745819	0,013377926	0,995185
10	0,035	0,623	0,002	0,117056856	0,006688963	1
11	0,034	0,617	0,001	0,113712375	0,003344482	0,990369
11,6	0,033	0,62	0	0,110367893	0	0,995185

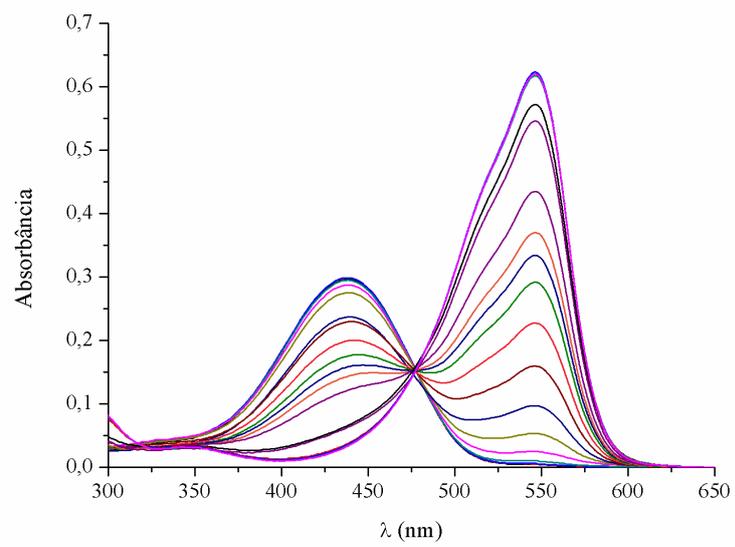


Figura A1. Espectros de absorção na região do UV-Vis em diferentes valores de pH.

Anexo 3

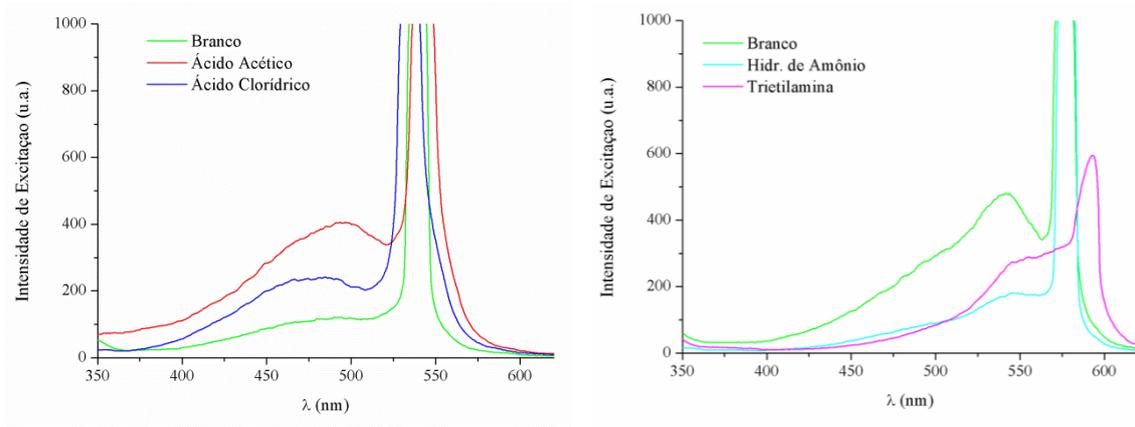


Figura A2. Espectros de excitação para as matrizes de sílica com comprimentos de onda de excitação (λ_{exc}) segundo dados da **Tabela 5**. Matrizes expostas aos vapores ácidos (esquerda) e alcalinos (direita).

Anexo 4

Tabela A5. Dados da Titulação da hemicianina **80b** com TBAF em acetonitrila.

n_{F^-} (μmol)	$[F^-]$ (μM)	A_{445}	A_{546}	A_{546}/A_{445}
0	0	0,3179	0,0074	0,02328
0,9	0,44776	0,3046	0,0375	0,12311
3,15	1,54791	0,2811	0,0933	0,33191
5,4	2,62136	0,2642	0,1325	0,50151
7,65	3,66906	0,2514	0,1629	0,64797
9,9	4,69194	0,2412	0,1882	0,78027
12,15	5,69087	0,233	0,2102	0,90215
16,65	7,62014	0,2182	0,2458	1,12649
21,15	9,46309	0,2049	0,2762	1,34797
25,65	11,22538	0,1932	0,303	1,56832
30,15	12,91221	0,1823	0,327	1,79375
34,65	14,5283	0,1738	0,3484	2,0046
39,15	16,07803	0,1654	0,3679	2,2243
43,65	17,56539	0,1577	0,3863	2,44959
48,15	18,99408	0,151	0,4047	2,68013
52,65	20,3675	0,1451	0,4195	2,89111
57,15	21,6888	0,1401	0,4348	3,1035
61,65	22,96089	0,1351	0,4482	3,31754
66,15	24,18647	0,1292	0,4611	3,56889
70,65	25,36804	0,1217	0,4831	3,9696
75,15	26,50794	0,1175	0,4942	4,20596
79,65	27,60832	0,1142	0,5034	4,40806
84,15	28,67121	0,1109	0,5138	4,633
88,65	29,69849	0,1087	0,521	4,79301
93,15	30,69193	0,1057	0,5279	4,99432
97,65	31,65316	0,1031	0,53	5,14064
102,15	32,58373	0,101	0,537	5,31683
106,65	33,48509	0,098	0,542	5,53061
111,15	34,35858	0,0958	0,553	5,77244
115,65	35,20548	0,0941	0,5579	5,9288

Anexo 5

Tabela A6. Dados referentes à titulação da merocianina **80** com peróxido de hidrogênio em água (pH = 10).

[H ₂ O ₂] (μM)	Absorbância (546 nm)
0	0,901
1,2	0,833
2,4	0,761
3,6	0,686
4,8	0,617
6	0,542
7,2	0,467
8,4	0,395
9,6	0,323
10,8	0,242
12	0,186

Tabela A7. Dados cinéticos referentes às curvas de absorção para a reação entre peróxido de benzoíla e a merocianina **80** na proporção de 1:4 de corante:peróxido.

Tempo (s)	Absorbância	$\frac{C_{cor}}{C_{per}}$	$\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right)$
0	0,897	0,25	-1,38629
10	0,884	0,247273	-1,39726
41	0,86	0,242185	-1,41805
82	0,833	0,236379	-1,44232
120	0,805	0,230263	-1,46853
160	0,776	0,223825	-1,49689
243	0,702	0,206897	-1,57554
270	0,675	0,200535	-1,60677
310	0,641	0,192377	-1,6483
360	0,602	0,182812	-1,6993
405	0,566	0,17378	-1,74997
443	0,537	0,166357	-1,79362
530	0,474	0,149763	-1,8987
583	0,445	0,141901	-1,95263
623	0,422	0,135561	-1,99834
660	0,399	0,129126	-2,04696
705	0,378	0,123167	-2,09421
754	0,353	0,115966	-2,15446
781	0,336	0,111001	-2,19822
840	0,317	0,105386	-2,25013
900	0,296	0,099096	-2,31167

Tabela A8. Dados cinéticos referentes às curvas de absorção para a reação entre peróxido de benzoíla e a merocianina **80** na proporção de 1:2 de corante:peróxido.

Tempo (s)	Absorbância	$\frac{C_{cor}}{C_{per}}$	$\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right)$
0	0,859	0,5	-0,69315
12	0,851	0,497661	-0,69784
50	0,838	0,493813	-0,7056
89	0,822	0,488995	-0,7154
130	0,805	0,483774	-0,72614
180	0,785	0,477494	-0,7392
220	0,768	0,472034	-0,7507
261	0,746	0,464798	-0,76615
330	0,711	0,452866	-0,79216
382	0,688	0,444732	-0,81028
415	0,674	0,439661	-0,82175
452	0,657	0,433377	-0,83615
490	0,64	0,426951	-0,85109
530	0,622	0,419986	-0,86753
574	0,603	0,412449	-0,88564
626	0,585	0,405125	-0,90356
670	0,563	0,395921	-0,92654
710	0,552	0,391212	-0,93851
750	0,539	0,385551	-0,95308
792	0,524	0,378886	-0,97052
830	0,509	0,372076	-0,98866
900	0,494	0,365115	-1,00754

Tabela A9. Dados cinéticos referentes às curvas de absorção para a reação entre peróxido de benzoíla e a merocianina **80** na proporção de 0,5:2 de corante:peróxido.

Tempo (s)	Absorbância	$\frac{C_{cor}}{C_{per}}$	$\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right)$
0	0,425	0,25	-1,38629
70	0,412	0,244221	-1,40968
116	0,4	0,238806	-1,4321
196	0,382	0,230537	-1,46734
250	0,366	0,223035	-1,50043
285	0,358	0,219228	-1,51764
326	0,349	0,214901	-1,53758
356	0,343	0,21199	-1,55122
396	0,335	0,208075	-1,56986
430	0,323	0,202128	-1,59886
460	0,314	0,197609	-1,62147
510	0,302	0,191503	-1,65285
560	0,295	0,187898	-1,67186
600	0,285	0,182692	-1,69995

Tabela A10. Dados cinéticos referentes às curvas de absorção para a reação entre peróxido de benzoíla e a merocianina **80** na proporção de 1:50 de corante:peróxido.

Tempo (s)	Absorbância	$\frac{A}{A_0}$	$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right)$
0	0,894	1	0
20	0,633	0,708054	-0,34524
58	0,343	0,383669	-0,95798
95	0,171	0,191275	-1,65404
148	0,065	0,072707	-2,62132
180	0,033	0,036913	-3,2992
230	0,0088	0,009843	-4,62095
280	0,0034	0,003803	-5,57193

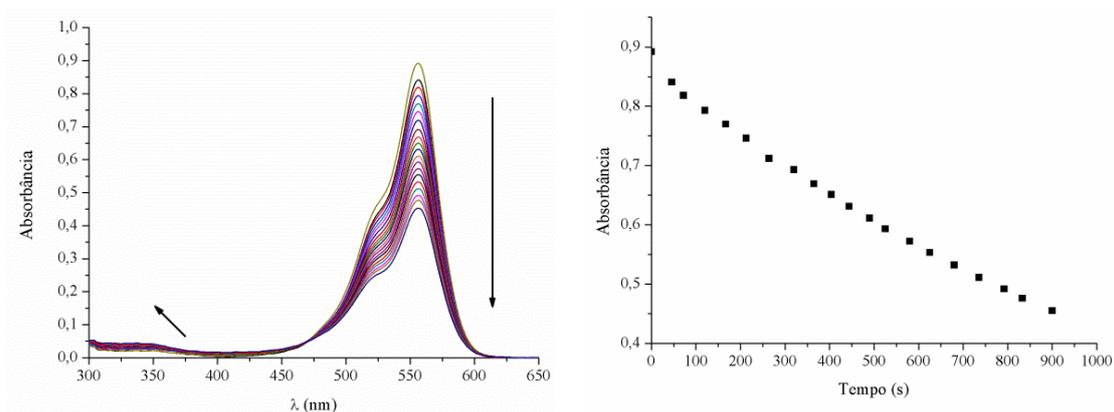


Figura A3. Espectros de absorção e curva A x t referentes à reação da merocianina **80** com peróxido de hidrogênio na proporção corante:peróxido de 1:4 (10 μ M:40 μ M), em mistura de acetonitrila-água (pH = 10) para 15 minutos de reação.

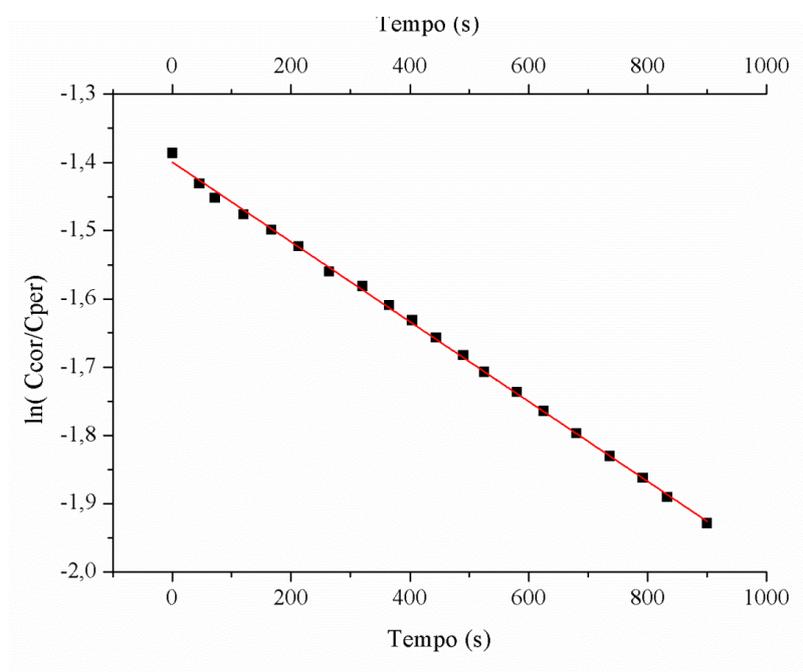


Figura A4. Gráfico da lei cinética integrada $\ln\left(\frac{C_{cor}}{C_{per}}\right) \times t$ para a reação entre a merocianina **80** e peróxido de hidrogênio em mistura de acetonitrila:água (pH = 10) para a proporção corante:peróxido de 1:4 (10 μ M:40 μ M).

Anexo 6

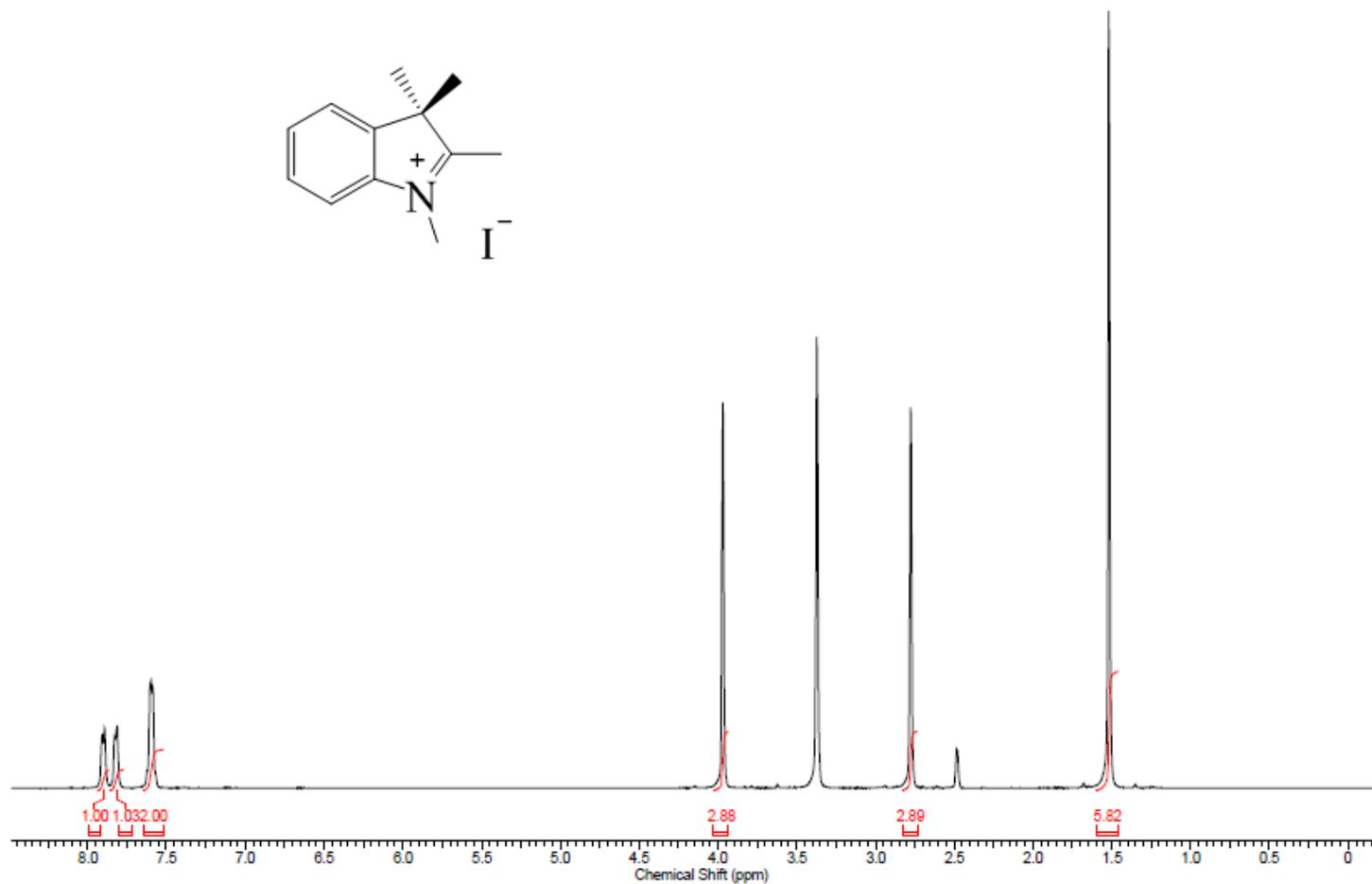


Figura A7. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) do precursor indólico **75**.

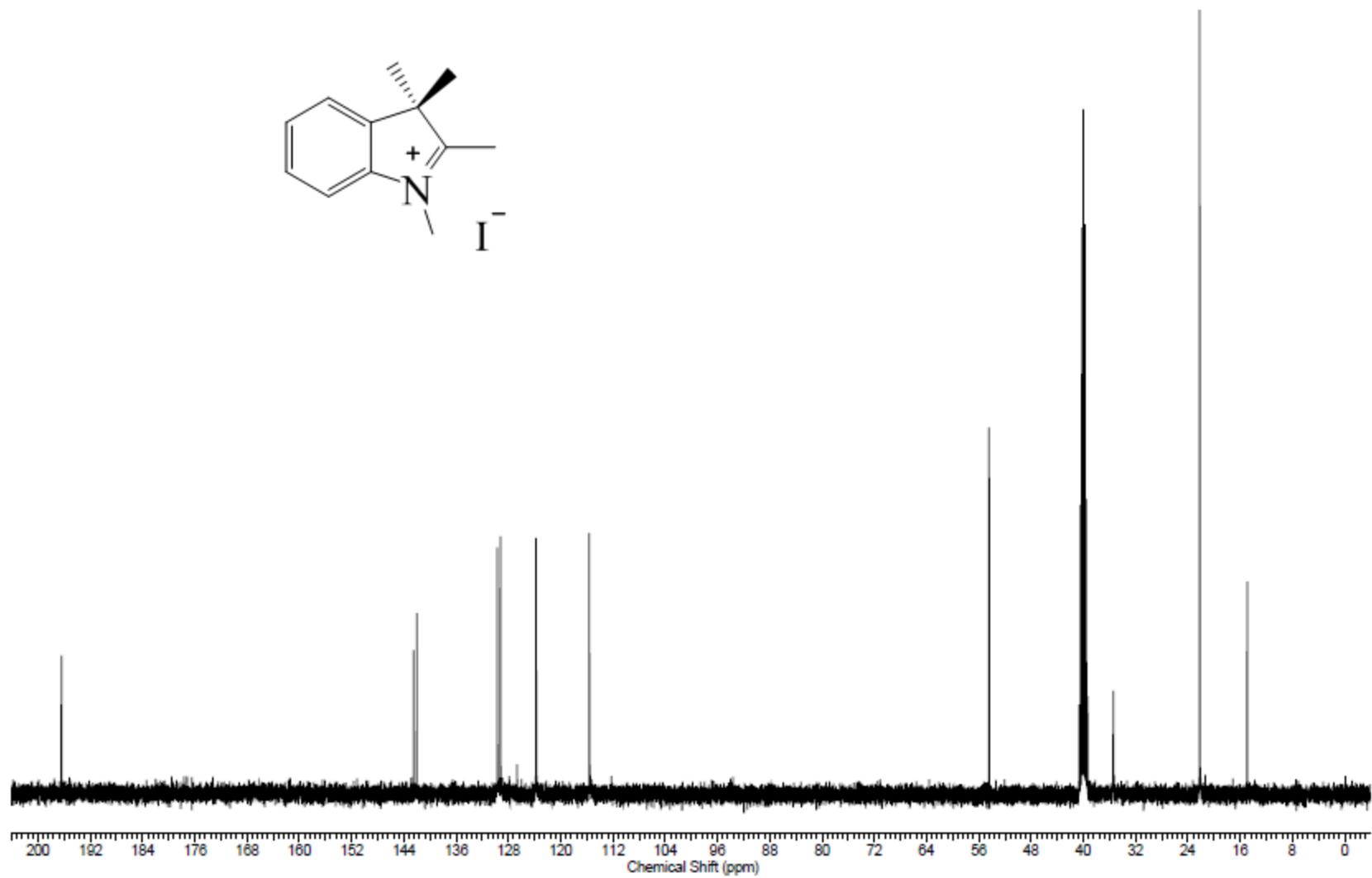


Figura A6. Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) do precursor indólico **75**.

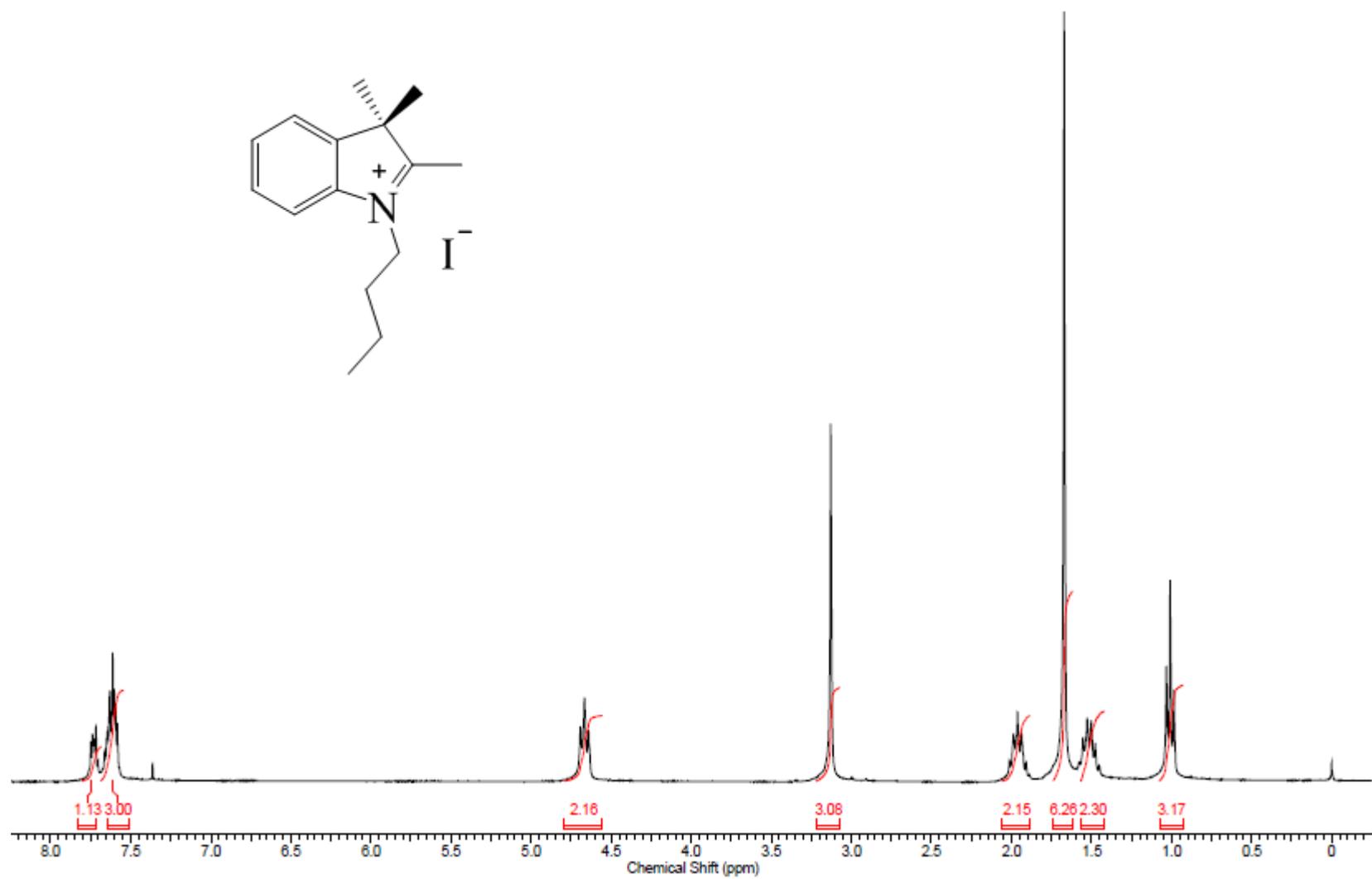


Figura A7. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do precursor indólico **76**.

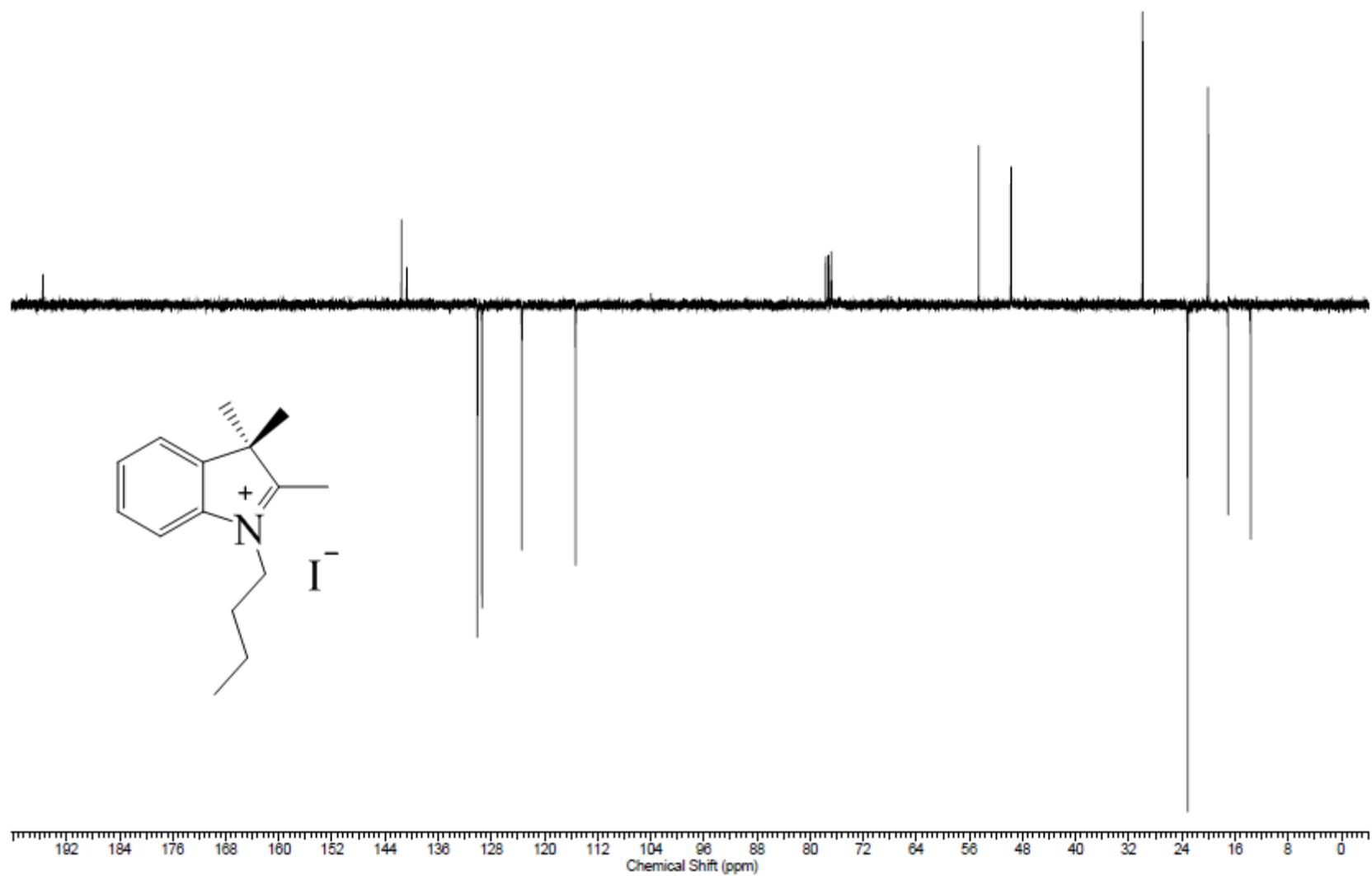


Figura A8. Espectro de RMN de ^{13}C (APT, 75 MHz, CDCl_3) do precursor indólico **76**.

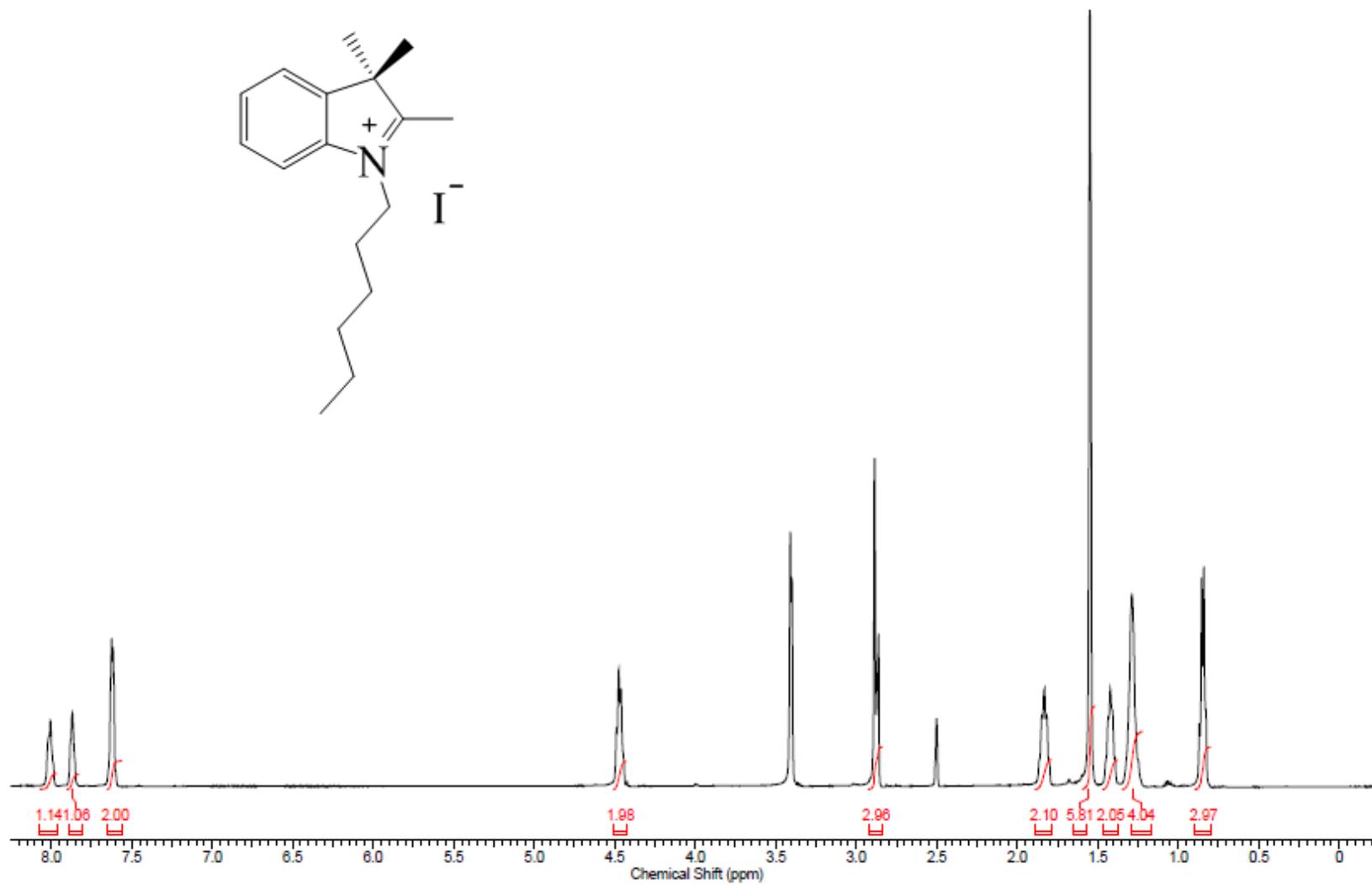


Figura A9. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do precursor indólico **77**

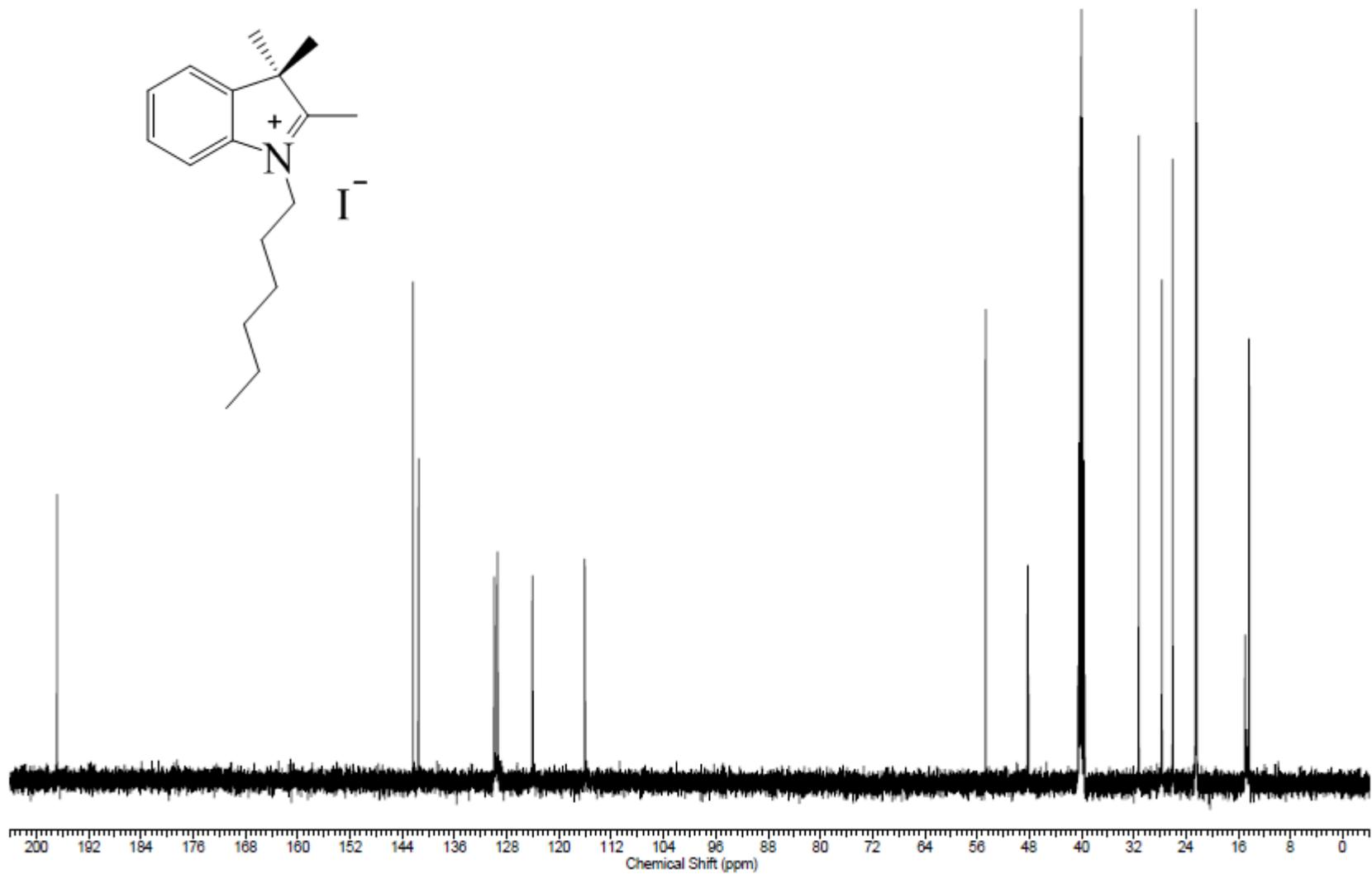


Figura A10. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do precursor indólico **77**.

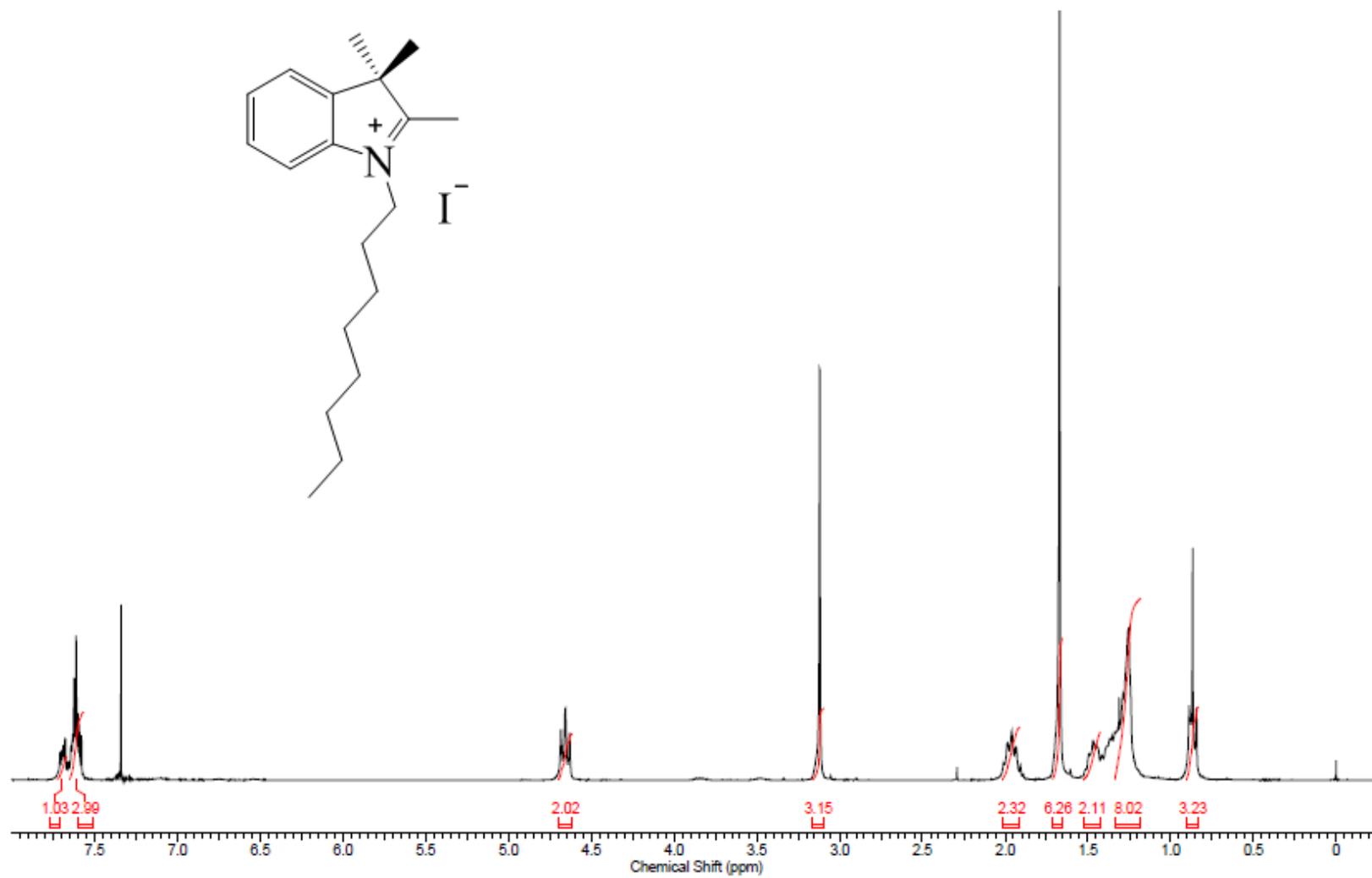


Figura A11. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do precursor indólico **78**.

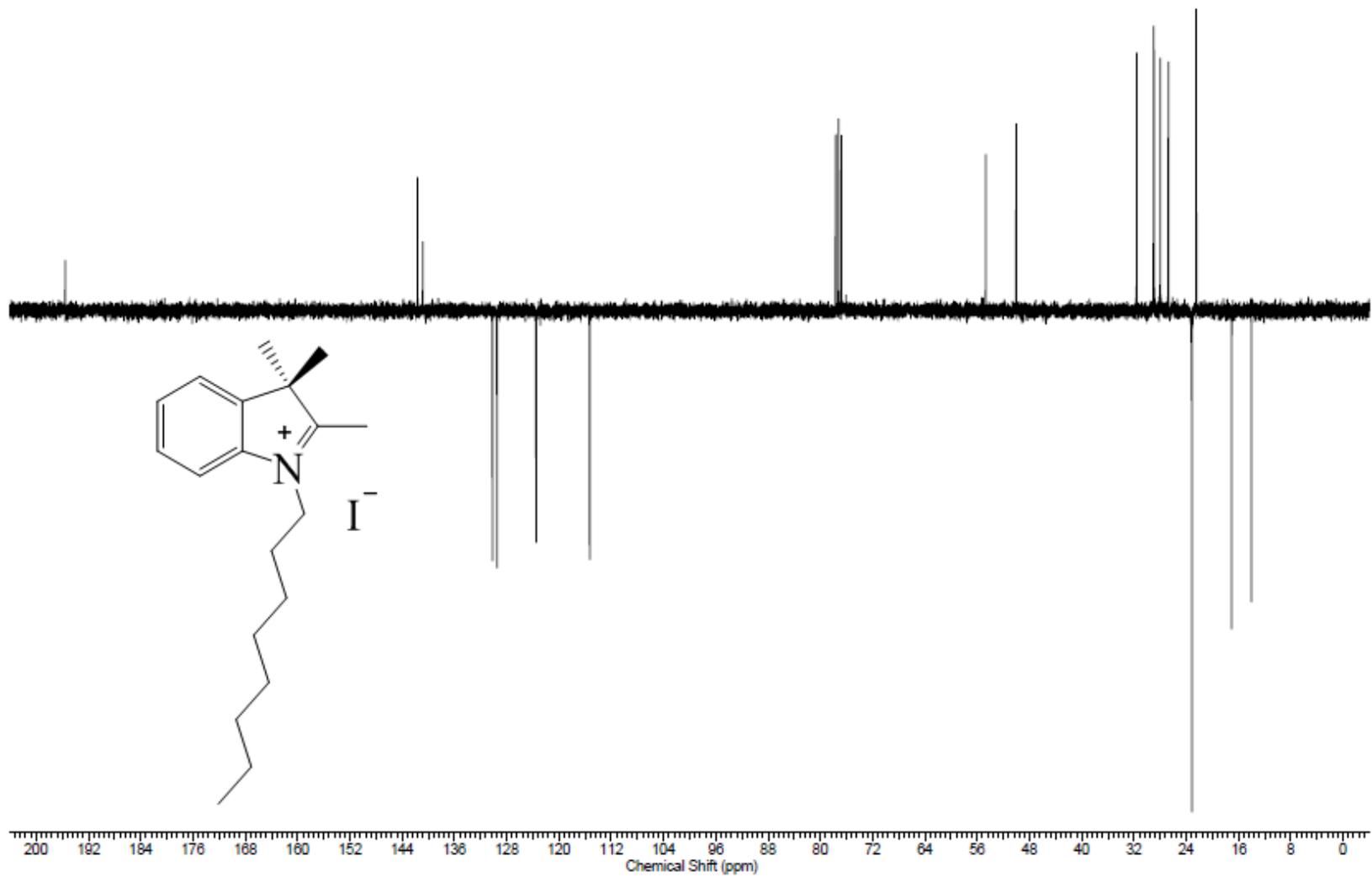


Figura A12. Espectro de RMN de ^{13}C (APT, 75 MHz, CDCl_3) do precursor indólico **78**.

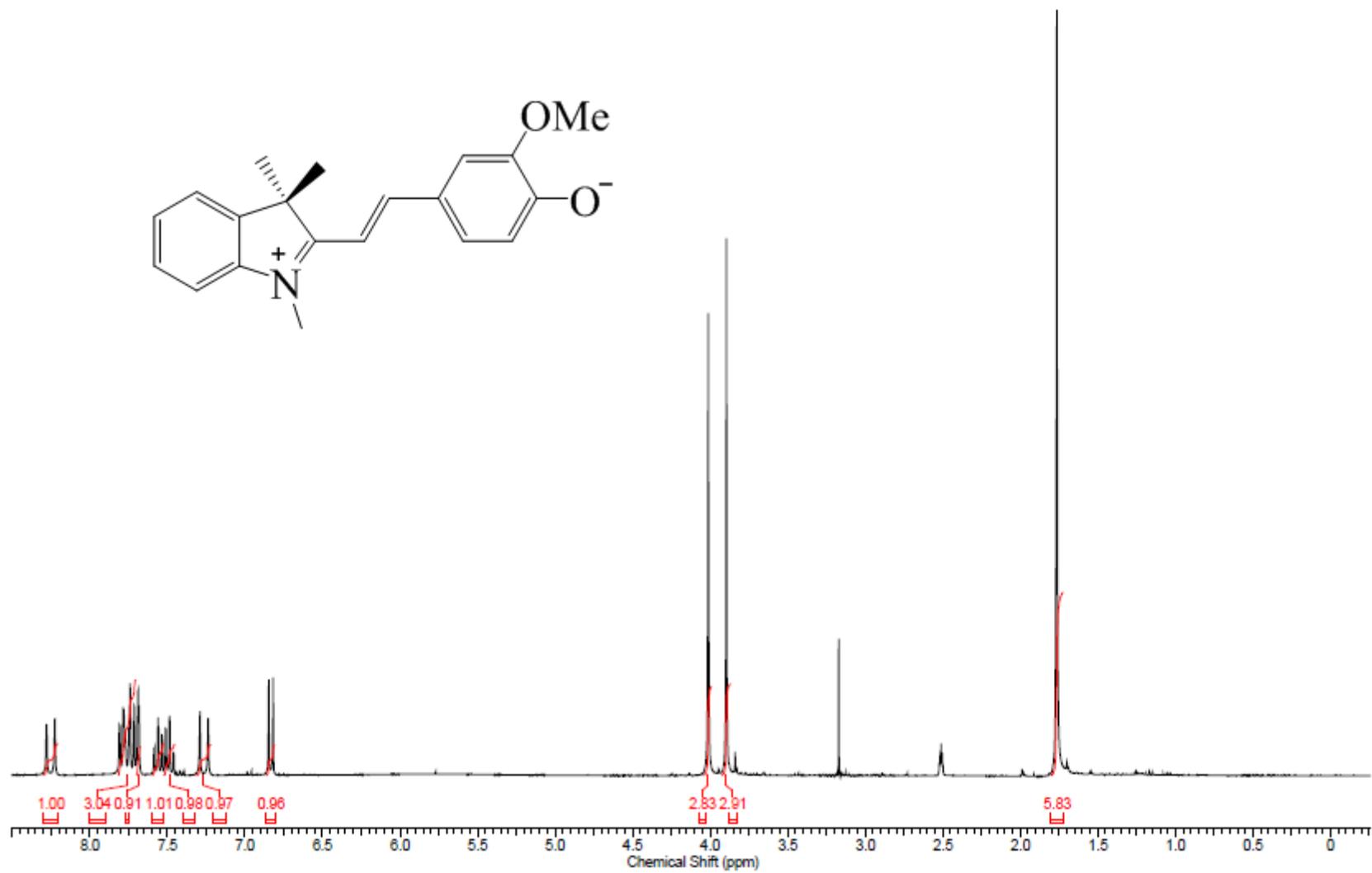


Figura A13. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da merocianina **79**.

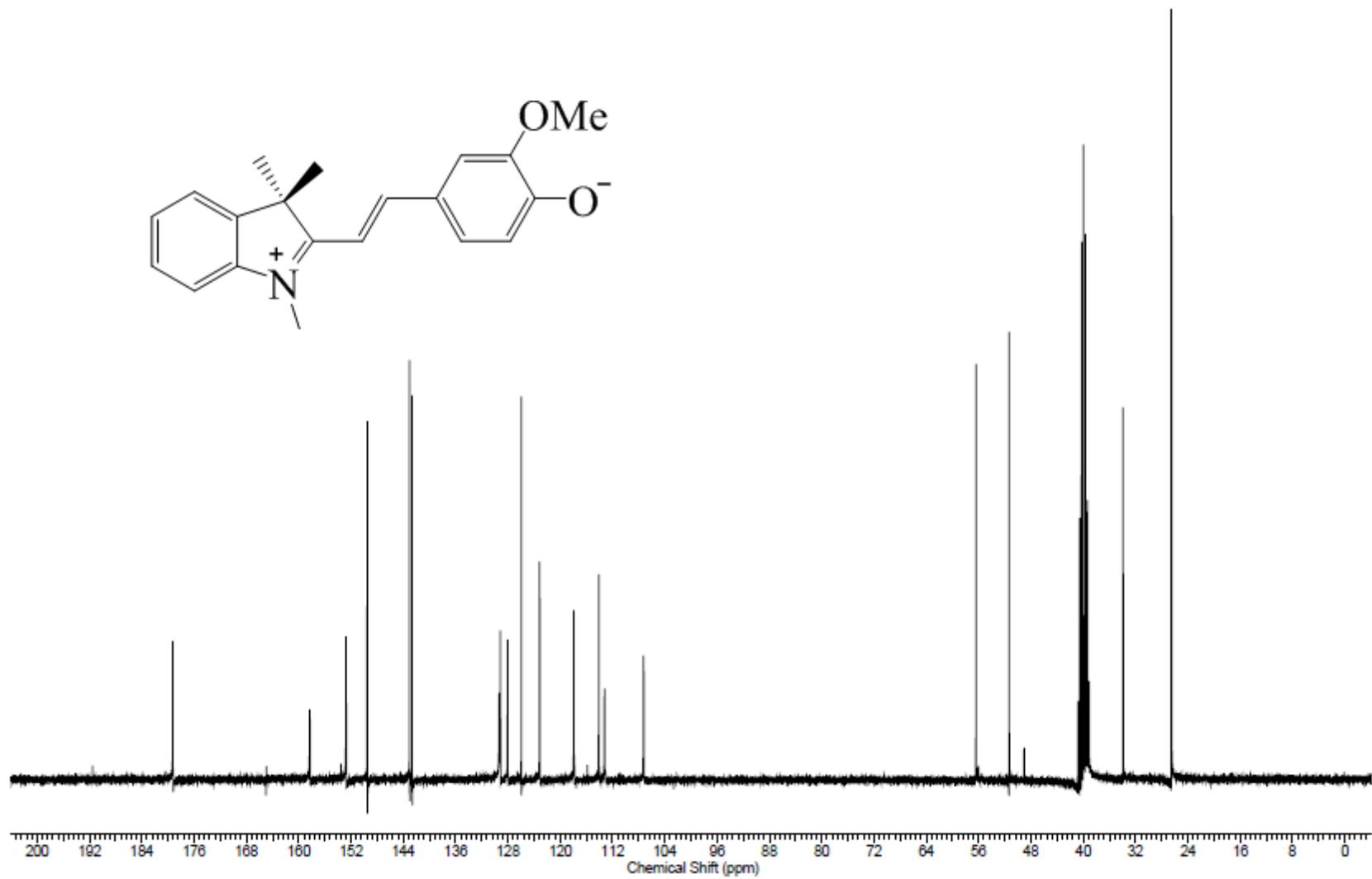


Figura A14. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da merocianina **79**.

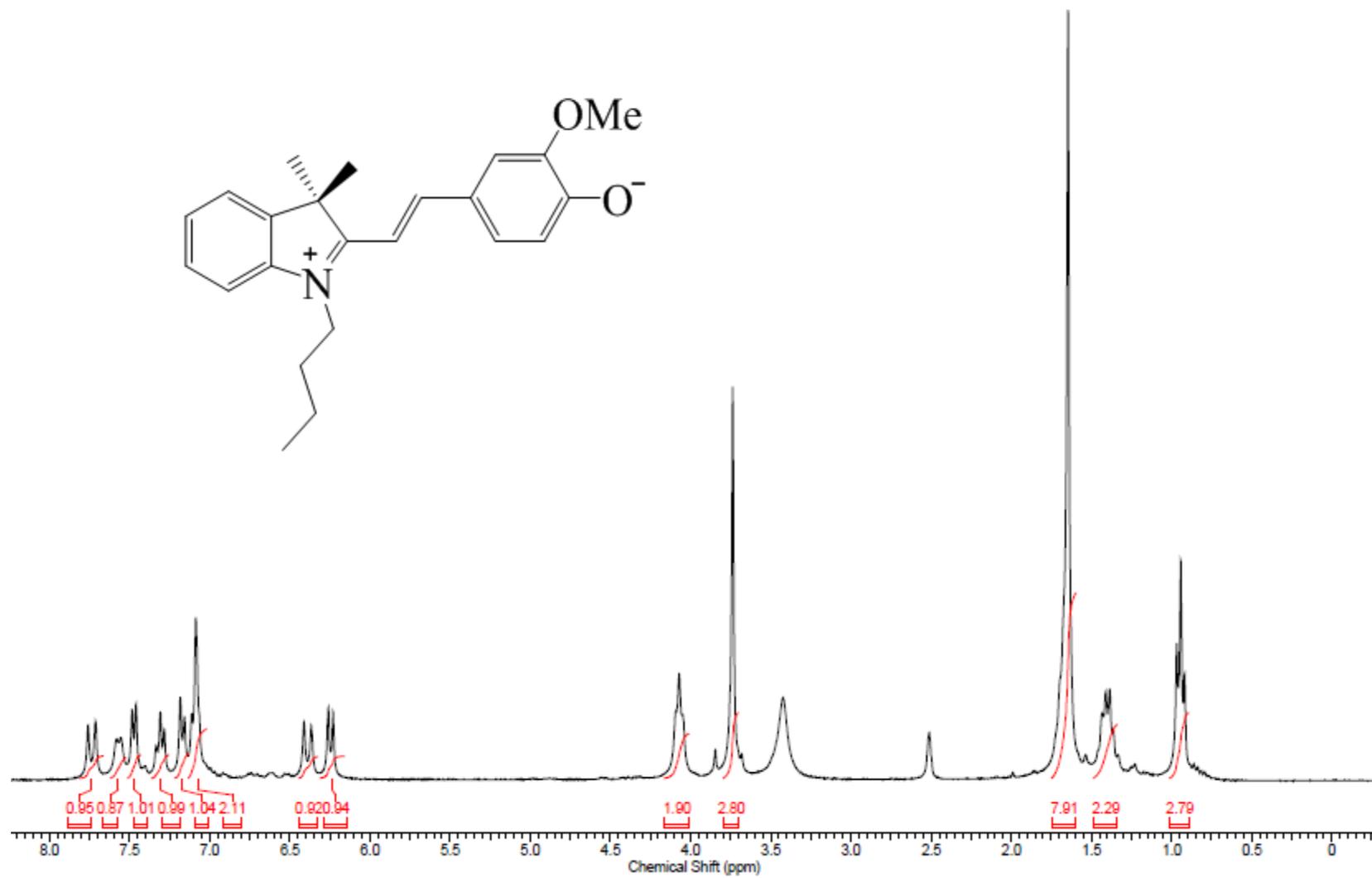


Figura A15. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da merocianina **80**.

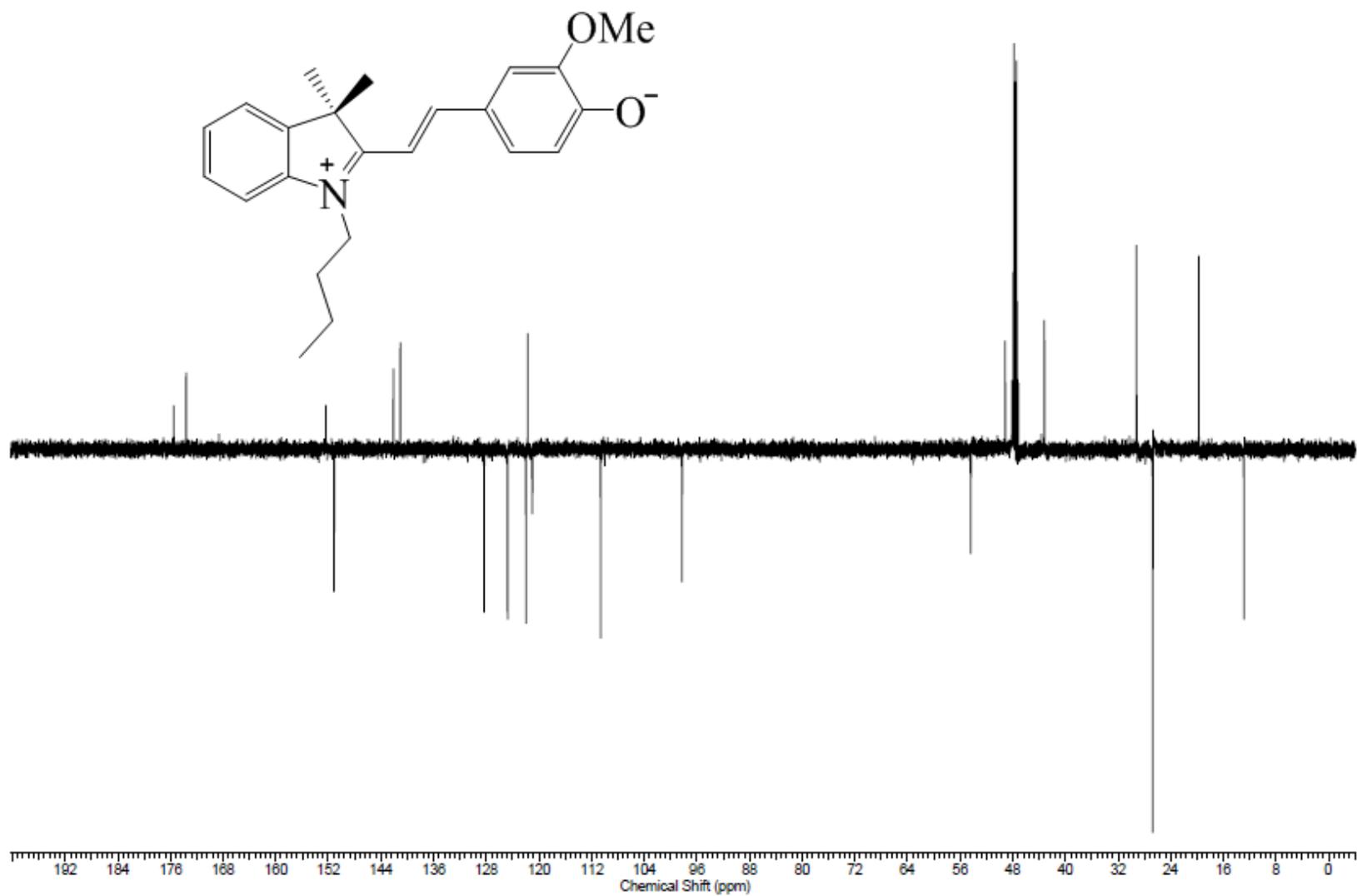


Figura A16. Espectro de RMN de ^{13}C (APT, 75 MHz, $\text{MD}_3\text{OD}-d_4$) da merocianina **80**.

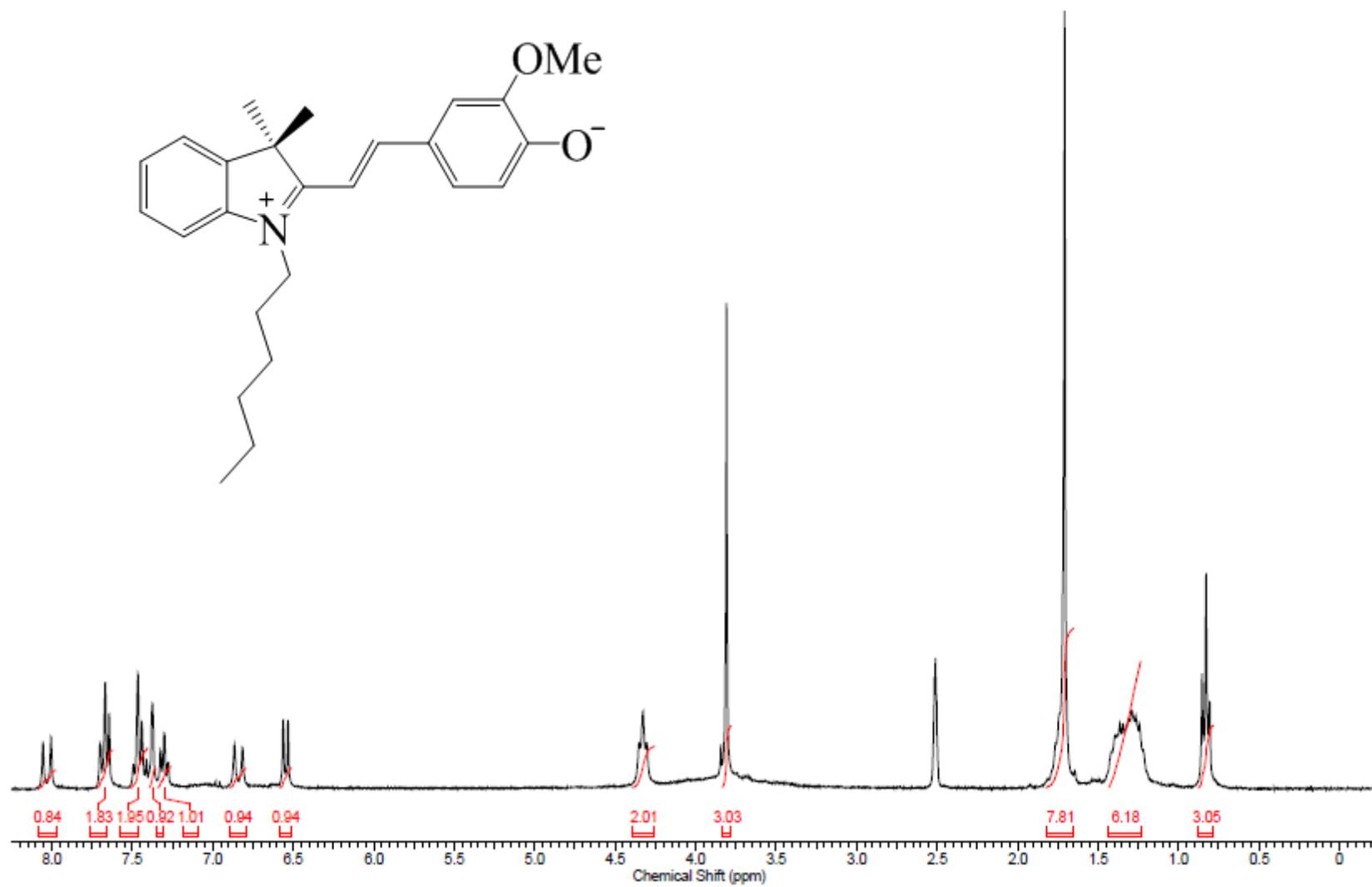


Figura A17. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) da merocianina **81**.

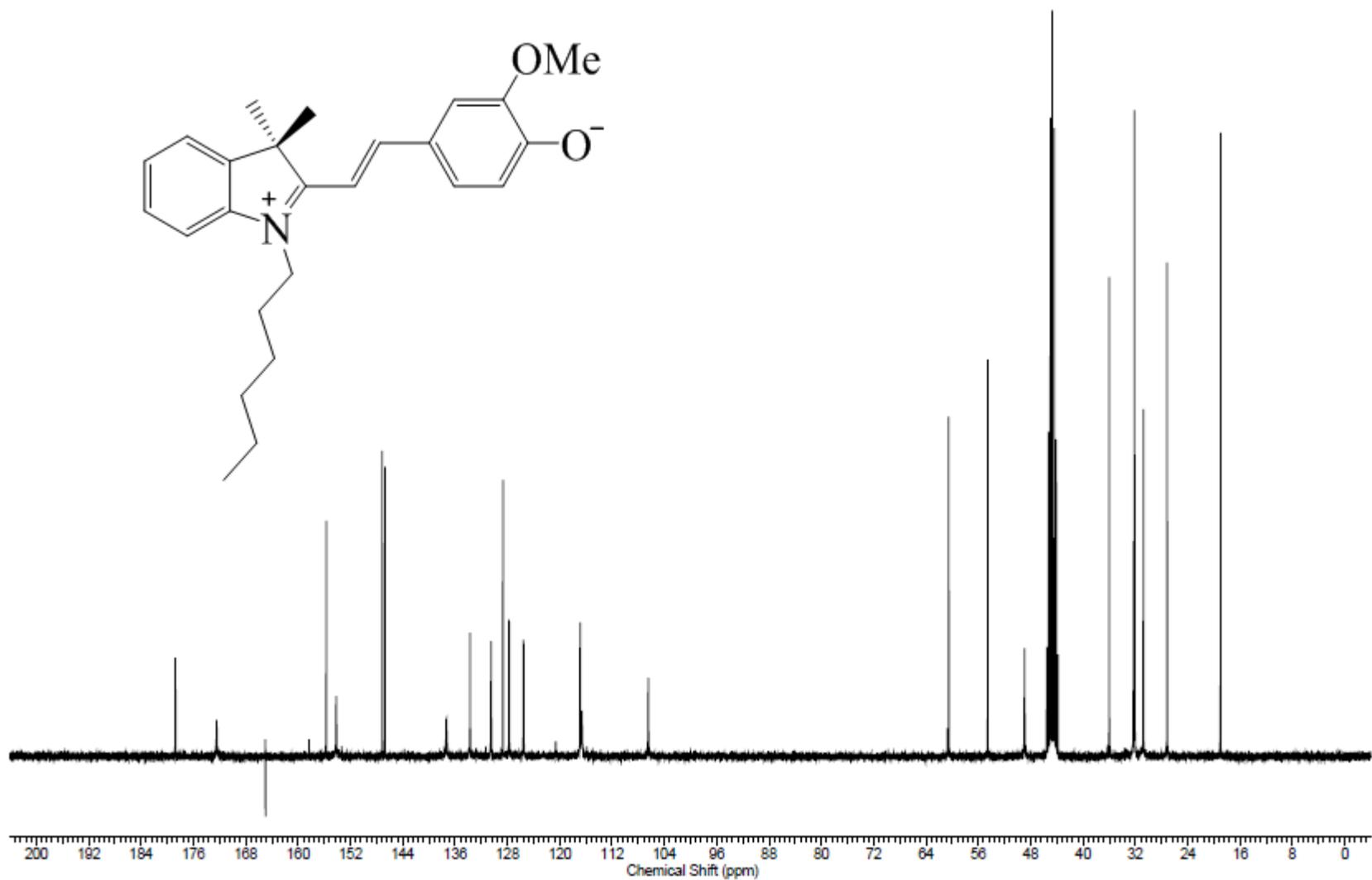


Figura A18. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) da merocianina **81**.

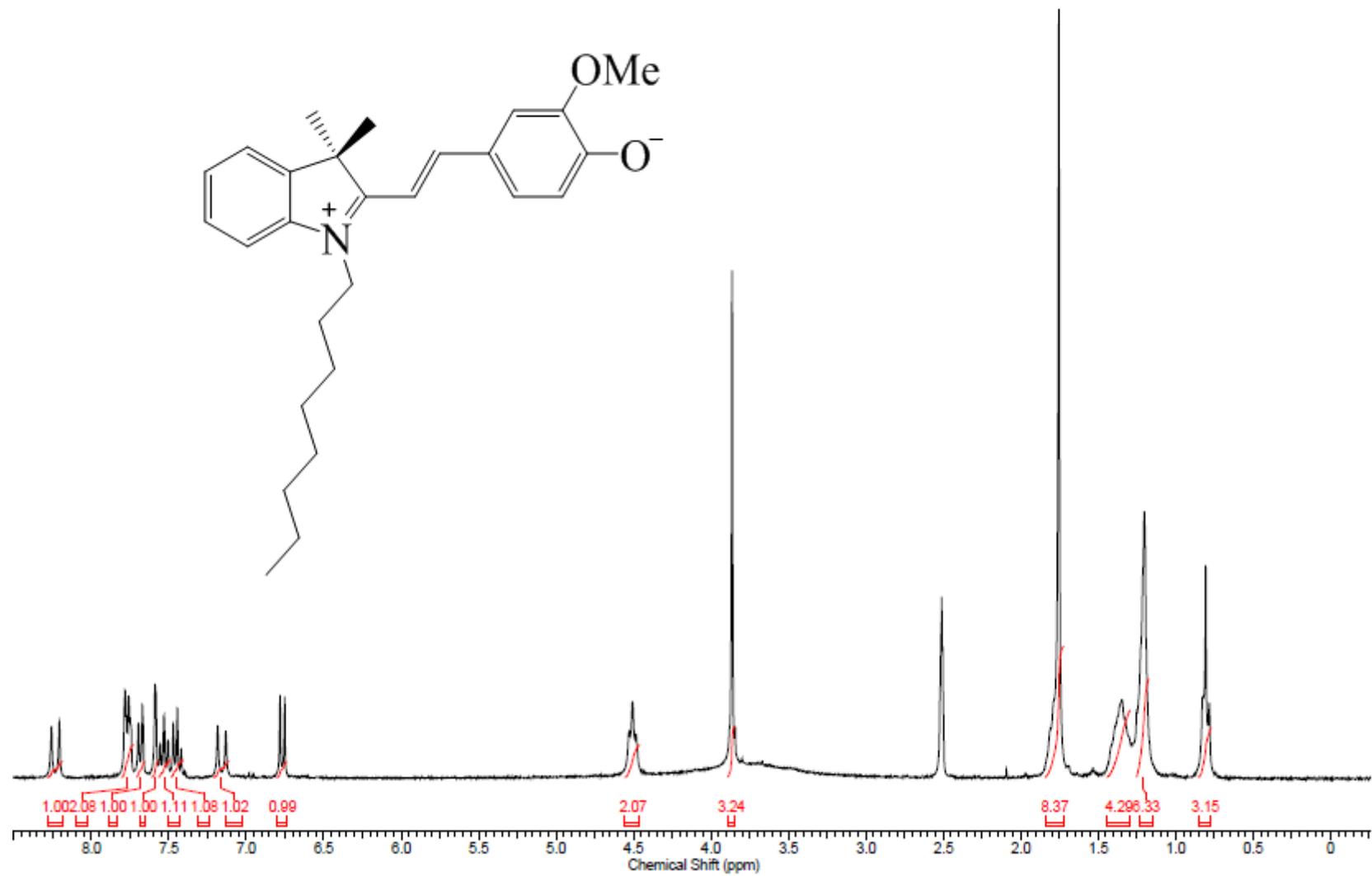


Figura A19. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) da merocianina **82**.

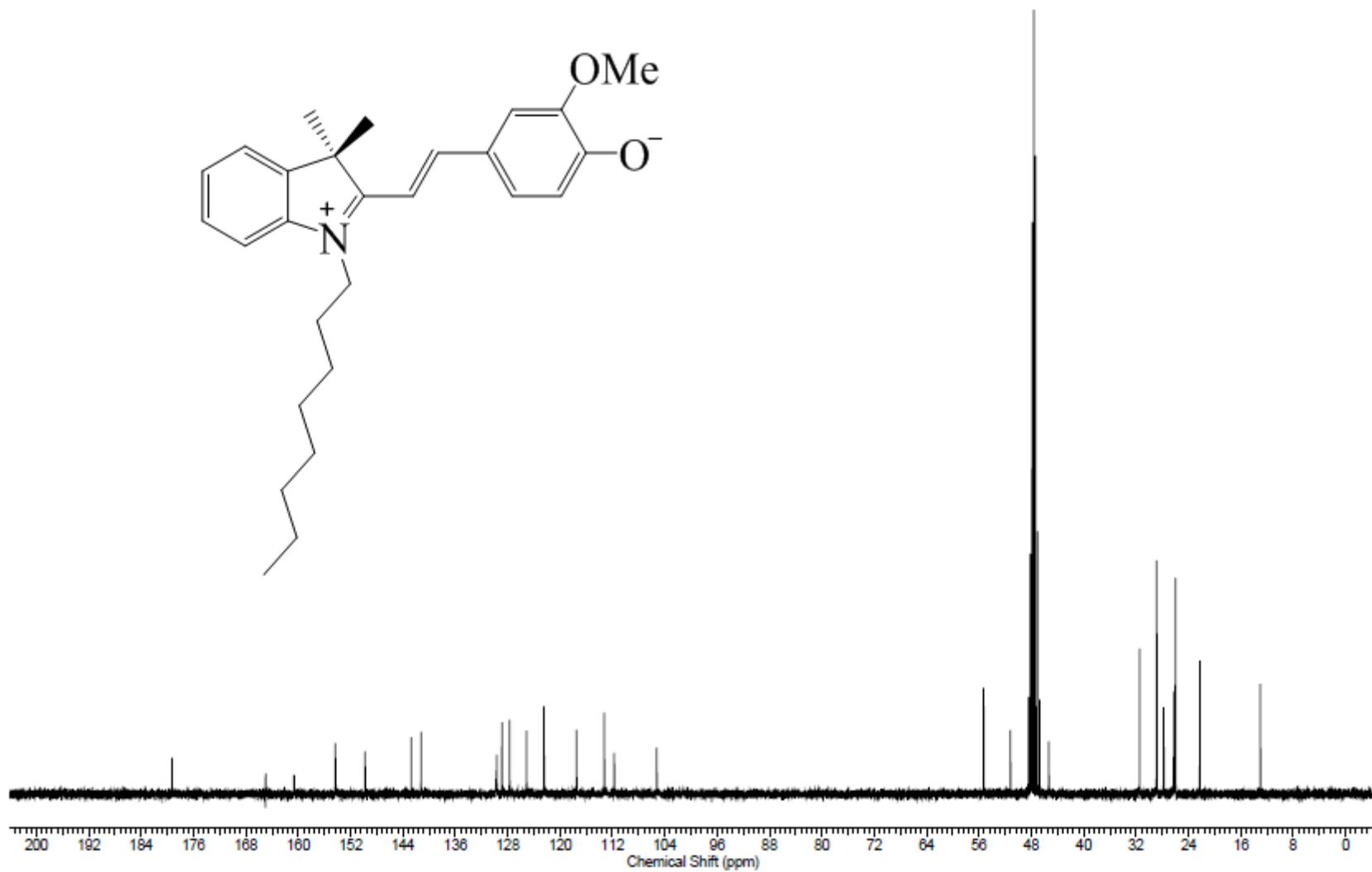


Figura A20. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, MD₃OD-*d*₄) da merocianina **82**.

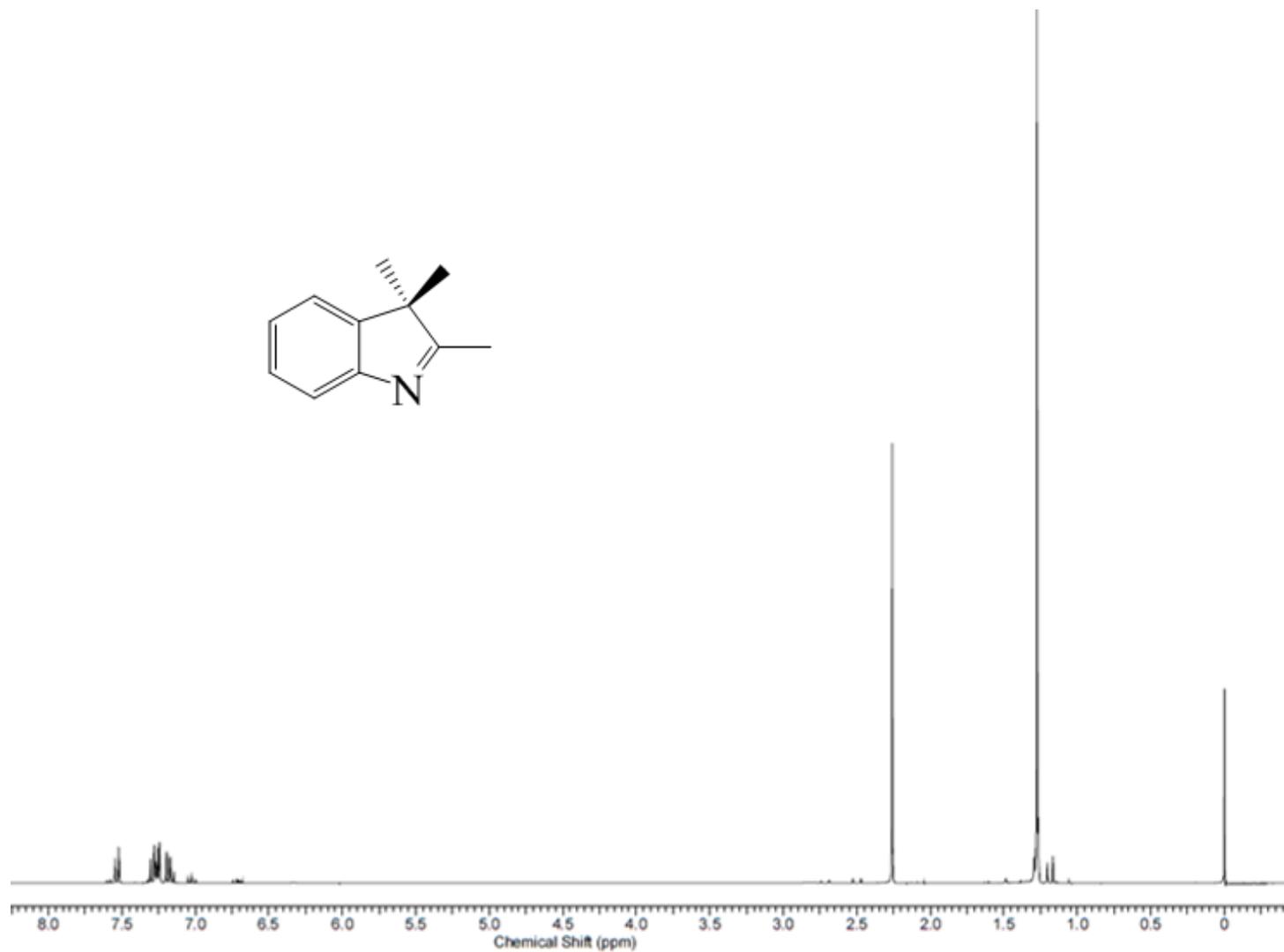


Figura A21. Espectro de ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) do indol **74**.