

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Síntese de sais de benzopirílio e aplicação
como sensores fluorescentes e grupos
protectores fotocliváveis**

João Miguel Ribeiro Avó

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em Bioorgânica, especialidade em Química Fina.

Orientador Científico: Prof. Dr. A. Jorge Parola

Co-orientador Científico: Prof. Dr. J.C. Lima

Lisboa

2009

*"Those who fear the darkness
have never seen what the light can do"*

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos Professores J.C. Lima e A. Jorge Parola, como meus orientadores de mestrado, pela orientação dada, e pelos esclarecimentos às minhas inúmeras questões.

Queria também agradecer ao meu grupo de trabalho pelo bom ambiente mantido no laboratório, e pelas especialidades gastronómicas trazidas nos dias especiais. Agradeço em especial à Ana Marta pela paciência mostrada no início do meu projecto, que me permitiu conhecer bem o laboratório e integrar bem no grupo.

Ao Professor Fernando Pina pelas críticas construtivas, e pelo interesse mostrado no meu projecto.

Aos meus pais e a todos os meus amigos, pelo apoio que me deram, e em especial à Carina por me ter aturado nos momentos mais difíceis, levantando-me sempre a moral.

Resumo

O trabalho de investigação elaborado no âmbito desta dissertação de Mestrado, teve como objectivo a síntese e aplicação de sais de flavílio funcionalizados na posição 4 como grupos protectores fotocliváveis ou sensores fluorescentes de concentração micelar crítica.

Inicialmente, pretendia-se aplicar derivados do 4-hidroximetil-flavílio como grupos protectores para a libertação de fosfatos por aplicação de estímulos luminosos. Tendo-se verificado que tal não era possível, foram preparados derivados do 4-fenoximetil-flavílio e as suas propriedades fotoquímicas foram avaliadas.

Foram igualmente sintetizados vários 4-alkil-flavílios que foram aplicados na medição de viscosidade de fluidos e determinação da concentração crítica micelar de surfactantes por espectrofluorimetria. Estes compostos mostraram ainda um acidocromismo reversível que pode ser controlado pela temperatura na presença de copolímeros do tipo Pluronic®, permitindo o desenvolvimento de sistemas termocrómicos.

Todos os compostos aplicados em estudos espectroscópicos foram caracterizados por técnicas correntes como espectroscopia de RMN, análise elementar e absorção em UV/Vis.

Abstract

The main objective of the research produced in the framework of this project was the synthesis of flavylum salts bearing moieties in the position 4 and their application as photolabile protecting groups and critical micelar concentration fluorescent sensors.

At first, 4-hydroxymethyl-flavylium derivatives were tested as phosphate photoreleasing agents. These compounds revealed unusable for this application and thus, 4-phenoxy-flavylium derivatives were prepared and their photochemical properties were evaluated.

On the other hand, 4-alkyl-flavylium derivatives were synthesized and applied in viscosity measurements and in the determination of the critical micelle concentration of several surfactants. These compounds showed reversible acidochromism in aqueous solution, which can be controlled by the variation of temperature in the presence of Pluronic® copolymers, allowing the development of thermochromic systems.

All flavylum derivatives applied in spectroscopic studies were characterized by NMR, UV/Vis spectroscopy and elementar analysis.

Símbolos e notações

AH ⁺	Catião flavílio
A	Base quinoidal
A ⁻	Base quinoidal ionizada
B	Hemicetal
Bt	Benzotriazole
BuLi	Butillítio
Cc	Chalcona <i>cis</i>
Cc ⁻	Chalcona <i>cis</i> ionizada
Ct	Chalcona <i>trans</i>
Ct ⁻	Chalcona <i>trans</i> ionizada
K _a	Constante de equilíbrio da reacção de desprotonação do catião flavílio
K _h	Constante de equilíbrio da reacção de hidratação do catião flavílio a hemicetal
k _d	Constante de velocidade da reacção directa de desprotonação do catião flavílio
A	Absorvância
A _{max}	Absorvância ao comprimento de onda de maior coeficiente de absorvidade molar
TLC	Cromatografia em camada fina
c.d.o/λ	Comprimento de onda
CMC	Concentração micelar crítica
COSY	“correlation spectroscopy”
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamónio
δ	Desvio químico
ε	Coefficiente de absorvidade molar
Φ	Rendimento quântico
¹ H RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de protão
I _{max}	Intensidade de emissão máxima
J	Constante de acoplamento escalar
SDS	Dodecissulfato de sódio
UV/Vis	Espectroscopia de ultravioleta-visível

Índice de Matérias

1. Introdução	15
I.1. A química dos flavílios	16
I.1.2 Comportamento em solução	18
I.1.2.1 Efeito de substituintes.....	19
I.2. Grupos protectores fotocliváveis	21
II. Resultados e discussão	24
II.1. Síntese e caracterização de sais derivados do 2-fenil-benzopirílio	24
II.1.1 Síntese de tetrafluoroboratos de 2-fenil-benzopirílio	24
II.1.1.1 Síntese do tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (1)	27
II.1.1.2 Síntese do tetrafluoroboratos de 2-(4'-metoxifenil)-benzopirílio (2).....	27
II.1.1.3 Síntese do tetrafluoroboratos de 2-fenil-(3-2'-etinil)-benzopirílio (3)....	27
II.1.2 Síntese de 2-fenil-4-benzotriazol-1-il-benzopiranos.....	27
II.1.3 Síntese de percloratos de 2-fenil-benzopirílio	29
II.1.3.1 Síntese do 2-fenil-(4-hidroximetil)-benzopirílio (7) e do 2-	
(4'metoxifenil)-(4-hidroximetil)-benzopirílio (8)	33
II.1.3.2 Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-heptil-benzopirílio (10).....	34
II.1.3.3 Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(2-naftilmetil)-benzopirílio (11)	34
II.1.3.4 Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(naftalen-2-il-metileno)-benzopirano	
(12) 34	
II.1.3.5. Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4 metil benzopirílio (9)	35
II.1.4. Síntese e caracterização de hidrogenossulfatos de 2-fenil-4-fenoximetil-	
benzopirílio	35
II.1.4.1 Síntese da 4-fenoxi-benzoilacetona (13).....	38
II.1.4.2 Síntese do hidrogenossulfato de 2-fenil-4-fenoximetil-7-hidroxi-	
benzopirílio (14) e do hidrogenossulfato de 2-fenil-4-fenoximetil-7-metoxi-	
benzopirílio (15)	38
II.2. Grupos protectores fotocliváveis.....	38
II.2.1 Percloratos de 4-hidroximetil-flavílio (7 e 8)	39
II.2.2 Hidrogenossulfatos de 4-fenoximetil-flavílio (14 e 15)	39
II.2.2.1. Comportamento em solução	39
II.2.2.2. Fotoquímica	42

II.3 Sensores de viscosidade e micelas.....	42
II.3.1 Estudos espectroscópicos em derivados do 4-metil-2-fenil-benzopirílio	43
Perclorato de 4-(metil-2-naftil)-2-fenil-(3,2'-etnil)-benzopirílio (11)	43
II.3.1.1 Solvatocromismo	43
II.3.1.2 Acidocromismo.....	44
II.3.1.3 Fluorescência	50
II.3.2 Tetrafluoroborato de 2-fenil-(3,2'-etnil)-benzopirílio (3).....	51
II.3.2.1 Solvatocromismo	51
II.3.2.2 Acidocromismo.....	52
II.3.2.3 Fluorescência	53
II.3.3 Perclorato de 4-metil-2-fenil-benzopirílio (9)	54
II.3.3.1 Solvatocromismo	54
II.3.3.2 Acidocromismo.....	54
II.3.3.3 Fluorescência	56
II.3.4. Perclorato de 4-heptil-2-fenil-benzopirílio (10).....	57
II.3.4.1 Solvatocromismo	57
II.3.4.2 Acidocromismo.....	58
II.3.4.3 Fluorescência	60
II.3.5 Efeito do grupo substituinte da posição 4.....	61
II.4 Aplicações como sensores de micelas e viscosidade.....	63
II.4.1 Determinação da viscosidade por medidas de fluorescência.....	64
II.4.2 Surfactantes.....	64
II.4.2.1 2-fenil-(3,2'-etnil)-4-(2-naftilmetil)-benzopirílio (11).....	65
II.4.2.2. 2-fenil-(3,2'-etnil)-4-(2-naftilmetileno)-benzopirílio (12)	65
II.5 Termocromismo.....	77
III. Conclusões	81
IV. Parte Experimental	82
IV.1. Aparelhagem	82
IV.1.1 Espectrofotómetro.....	82
IV.1.2 Lâmpadas de irradiação e filtros.....	82
IV.1.3 Potenciómetro	82
IV.1.4 Cromatografia em camada fina.....	83
IV.1.5 Balança.....	83
IV.1.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	83

IV.1.7	Análise Elementar	83
IV.2	Grau de pureza dos solventes e compostos	83
IV.3	Soluções stock de derivados de 2-fenil-benzopirílio.....	84
IV.4	Titulações espectrofotométricas	84
IV.5	Estudos cinéticos de ácido base	85
IV.6	Estudos espectroscópicos com tensioactivos	85
IV.6.1	Soluções de surfactantes iónicos.....	85
IV.6.2	Triton X-100	86
IV.6.3	Pluronic F-127	86
IV.7	Cálculos computacionais.....	86
IV.8	Síntese de sais de 2-fenil-benzopirílio	87
IV.8.1	Método geral para a preparação de tetrafluoroboratos de benzopirílio (I)	87
IV.8.1.2	Tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (1)	87
IV.8.1.3	Tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (2)	88
IV.8.1.4	Tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (3)	88
IV.8.2	Método geral para a preparação de 4-bentriazolil-benzopiranos (II).....	89
IV.8.2.1	2-fenil-4-benzotriazol-1-il-benzopirano (4).....	89
IV.8.2.2	2-fenil-4-benzotriazol-1-il-7'-metoxi-benzopiranos (5)	89
IV.8.2.3	2-fenil-4-benzotriazol-1-il-7'-metoxi-benzopiranos (6)	90
IV.8.3	Método geral para a preparação de percloratos de 4-alquil-benzopirílio (III)....	90
IV.8.3.1	2-fenil-(4-hidroximetil)-benzopirílio (7)	91
IV.8.3.2	2-(4'metoxifenil)-(4-hidroximetil)-benzopirílio (8).....	91
IV.8.3.3	2-fenil-(3,2'-etnil)-4 metil-benzopirílio (9).....	91
IV.8.3.4	2-fenil-(3,2'-etnil)-4-heptil-benzopirílio (10)	92
IV.8.3.5	2-fenil-(3,2'-etnil)-4-(2-naftilmetil)-benzopirílio (11).....	93
IV.8.3.6	2-fenil-(3,2'-etnil)-4-(2''-naftilmetileno)-benzopirano (12)	93
IV.8.4	Síntese da 4-fenoxi-benzoilacetona (13).....	94
IV.8.5	Síntese do 2-fenil-4-fenoximetil-7-hidroxi-benzopirílio (14).....	95
IV.8.6	Síntese do 2-fenil-4-fenoximetil-7-metoxi-benzopirílio (15)	96
V.	Bibliografia	97

Índice de Figuras

Figura 1 – a) catião flavílio não substituído; b) exemplo de uma antocianina natural ...	15
Figura 2 – 4-metil-coumarina	22
Figura 3 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 14 entre pH 1 e 11	40
Figura 4 - espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 15 entre pH 1 e 11	40
Figura 5 – espectros de absorção de soluções orgânicas de 11	43
Figura 6 – espectros de absorção obtidos para soluções de 11 entre pH 1 e 10	45
Figura 7 – curva de titulação de 11 e respectivo ajuste teórico aos valores experimentais	47
Figura 8 – espectros de absorção de 11 e espécies em equilíbrio gerados por computação	48
Figura 9 – evolução temporal do espectro de absorção de uma solução de 11 a pH 2,5	49
Figura 10 – valores da constante de velocidade de desprotonação de 11 em função da concentração em protões.....	50
Figura 11 - Espectro de emissão e absorção de uma solução de 11 em clorofórmio	50
Figura 12 - Espectro de emissão e absorção de uma solução de 12 em acetonitrilo	51
Figura 13 – espectros de absorção de soluções orgânica de 3	52
Figura 14 – espectros de absorção de 3 e espécies em equilíbrio gerados por computação	52
Figura 15 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 3 entre pH 1 e 11	53
Figura 16 – espectros de emissão e absorção de uma solução de 3 em diclorometano ..	53
Figura 17 – espectros de absorção de soluções orgânicas de 9	54
Figura 18 – a) espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 9 entre pH 1 e 11; b) curva de titulação e respectivo ajuste teórico	55
Figura 19 – espectros de absorção de 9 e espécies em equilíbrio gerados por computação	56
Figura 20 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 9 em clorofórmio.....	57
Figura 21 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 9 em acetonitrilo.....	57
Figura 22 - espectros de absorção de soluções orgânicas de 9	58
Figura 23 – a) espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 10 entre pH 1 e 11; b) curva de titulação e respectivo ajuste teórico	59
Figura 24 – espectros de absorção de 10 e espécies em equilíbrio gerados por computação	59

Figura 25 – evolução temporal do espectro de absorção de uma solução de 10 a pH 3,5.....	60
Figura 26 – valores de kd de 10 em função da concentração em protões.....	60
Figura 27 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 10 em clorofórmio....	61
Figura 28 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 10 em acetonitrilo.....	61
Figura 29 – estrutura molecular do SDS.....	65
Figura 30 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 12 com diferentes concentrações de SDS.....	66
Figura 31 – espectros de emissão obtidos para soluções aquosas de 12 com diferentes concentrações de SDS.....	67
Figura 32 – valores de intensidade de emissão máxima (■) e de condutividade (●) de soluções aquosas de 12 em função da concentração de SDS	68
Figura 33 – estrutura molecular do CTAB	68
Figura 34 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 12 com diferentes concentrações de CTAB	69
Figura 35 – espectros de emissão obtidos para soluções aquosas de 12 com diferentes concentrações de CTAB	70
Figura 36 – valores de intensidade de emissão máxima (■) e de condutividade (●) de soluções aquosas de 11 em função da concentração de CTAB.....	70
Figura 37 – estrutura molecular do Triton X-100.....	71
Figura 38 – espectros de absorção obtidos para soluções de 11 na presença de 20% de Pluronic entre pH -1 e 2.....	73
Figura 39 – curva de titulação e ajuste experimental obtidos para uma solução de 11 na presença de 20% de Pluronic F-127	74
Figura 40 – espectros de emissão obtidos para uma solução de 12 na presença de Pluronic F-127 entre 5 e 35 °C.....	75
Figura 41 – Variação dos valor máximo de intensidade com a temperatura; (■) aquecimento; (●) arrefecimento.....	75
Figura 42 – espectros de absorção (—) e excitação(—) de uma solução de 12 com [SDS] = 12 mM, depois de 2h de irradiação a 366 nm.....	76
Figura 43 – espectros de absorção obtidos para uma solução aquosa de 11 com Pluronic F-127 a 20% a pH = 0	78
Figura 44 - valores de A420 (■) e A375 (●) de uma solução de 11 a 5 e 35 °C.....	79

Figura 45 – comportamento termocrómico de uma solução de 9 a pH = 2,5 com 20% de Pluronic F-127: a) espectros de absorção entre 5 e 35°; b) valore de A410 e A340 a 5 e 35 °C..... 80

Índice de Esquemas

Esquema 1 - Métodos para a preparação de sais de flavílio sintéticos	17
Esquema 2 - Caminho sintético para a derivatização de sais de flavílio na posição 4 ...	18
Esquema 3 - rede de equilíbrios estabelecidos em solução aquosa por um flavílio não substituído	19
Esquema 4 - rede de equilíbrios estabelecidos em solução aquosa por um 4-alkil-4'-hidroxi-2-fenil-benzopirílio	20
Esquema 5 - fotoclivagem de derivados do álcool o-nitrobenzílico.....	21
Esquema 6 – A) fotólise do complexo dimetilaminocomarina(DEACM)-ATP; B) representação da transcrição controlada pela luz – a) fotolibertação de ATP, b) transcrição de RNA.....	23
Esquema 7 – mecanismo da síntese de sais de flavílio por condensação de salicilaldeídos com acetofenonas em meio ácido	25
Esquema 8 – Mecanismo da síntese de 4-bentriazol-1-il-benzopiranos em meio básico	28
Esquema 9 - mecanismo da síntese de 4-alkil-4-benzotriazol-1-il-benzopiranos por substituição electrófila	29
Esquema 10 – mecanismo da clivagem do grupo benzotriazole na síntese de 4-alkil-flavílios e 4-metileno-benzopiranos.....	30
Esquema 11 – mecanismo da síntese de benzoilacetonas a partir de uma condensação em meio básico	36
Esquema 12 – equilíbrios estabelecidos em solução por 14 e 15	41
Esquema 13 – comportamento ácido-base exibido por 4-alkil-flavílios	44
Esquema 14 - comportamento ácido base exibido pelo flavílio 11	45
Esquema 15 – equilíbrios mantidos por 11 em solução de pH > 2.....	48
Esquema 16 – representação da agregação de monómero de surfactante em micelas esféricas	64

Esquema 17 – modelo de equilíbrios numa solução aquosa de 11 na presença de pluronic	73
Esquema 18 – mecanismo proposto para o comportamento termocrómico do sistema 11-Pluronic F-127	78

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Análise e caracterização dos tetrafluoroboratos de flavílio 1, 2 e 3	26
Tabela 2 – Análise e caracterização dos benzopiranos 4, 5 e 6	28
Tabela 3 – Análise e caracterização dos percloratos de flavílio 7, 8 e 9	31
Tabela 4 – Análise e caracterização dos percloratos de flavílio 10 e 11, e do benzopirano 3	32
Tabela 5 – Análise e caracterização dos hidrogenossulfatos de flavílio 14 e 15	36
Tabela 6 – propriedades fisicoquímicas em função do grupo substituinte da posição 4	62

1. Introdução

Os sais de flavílio constituem uma importante classe para a investigação científica na área dos corantes funcionais, visto que têm elevados coeficientes de extinção molar na região do visível e apresentam elevados rendimentos quânticos de fluorescência.^[1,2]

Estes compostos são derivados de benzopirílio substituídos na posição 2 com um grupo fenilo, (figura 1a) e ocorrem naturalmente sob a forma de antocianinas (figura 1b), um dos grupos mais importantes de pigmentos naturais, responsáveis pelas cores azul, magenta e violeta das plantas. Por esta razão, são amplamente utilizados na indústria alimentar e cosmética como corantes naturais, devido aos baixos efeitos nocivos.^[2,3]

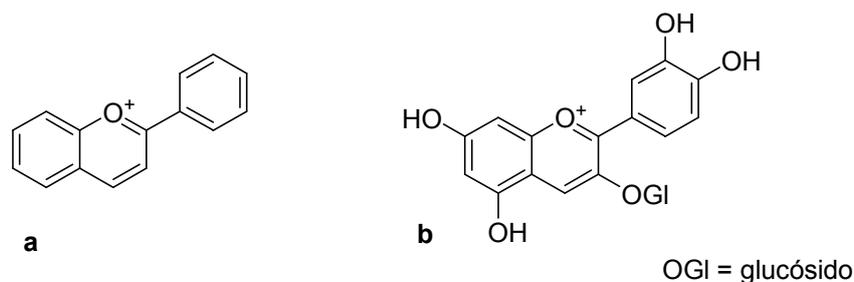


Figura 1 – a) catião flavílio não substituído; b) exemplo de uma antocianina natural

Com efeito, a primeira síntese de um sal de flavílio foi descrita no início do século XX como resultado de investigação na área dos corantes.^[4] Mais tarde, foi demonstrado que a estrutura das antocianinas tem como base um núcleo flavílio, e que apenas um destes pigmentos naturais pode ser responsável por todos os tons do vermelho ao azul, surgindo um novo interesse em sais de flavílios sintéticos para o desenvolvimento de sistemas multiestado.^[5,6]

Actualmente, os compostos de flavílio são objecto de importantes pesquisas e encontram aplicações em sistemas de memória óptica^[1,7], sensores fluorescentes de humidade ou gases^[8], sistemas fotocromáticos^[9,10], termocromáticos^[11] ou dispositivos supramoleculares^[12].

I.1. A química dos flavílios

I.1.1. Síntese

A primeira síntese de um sal de flavílio, descrita por Bullöw e Wagner^[4] no início do século XX, baseava-se na condensação de fenóis com 1,3-dicetonas sob um fluxo de ácido clorídrico gasoso. Esta técnica ainda é utilizada, sendo particularmente útil na preparação de flavílios substituídos na posição 4.

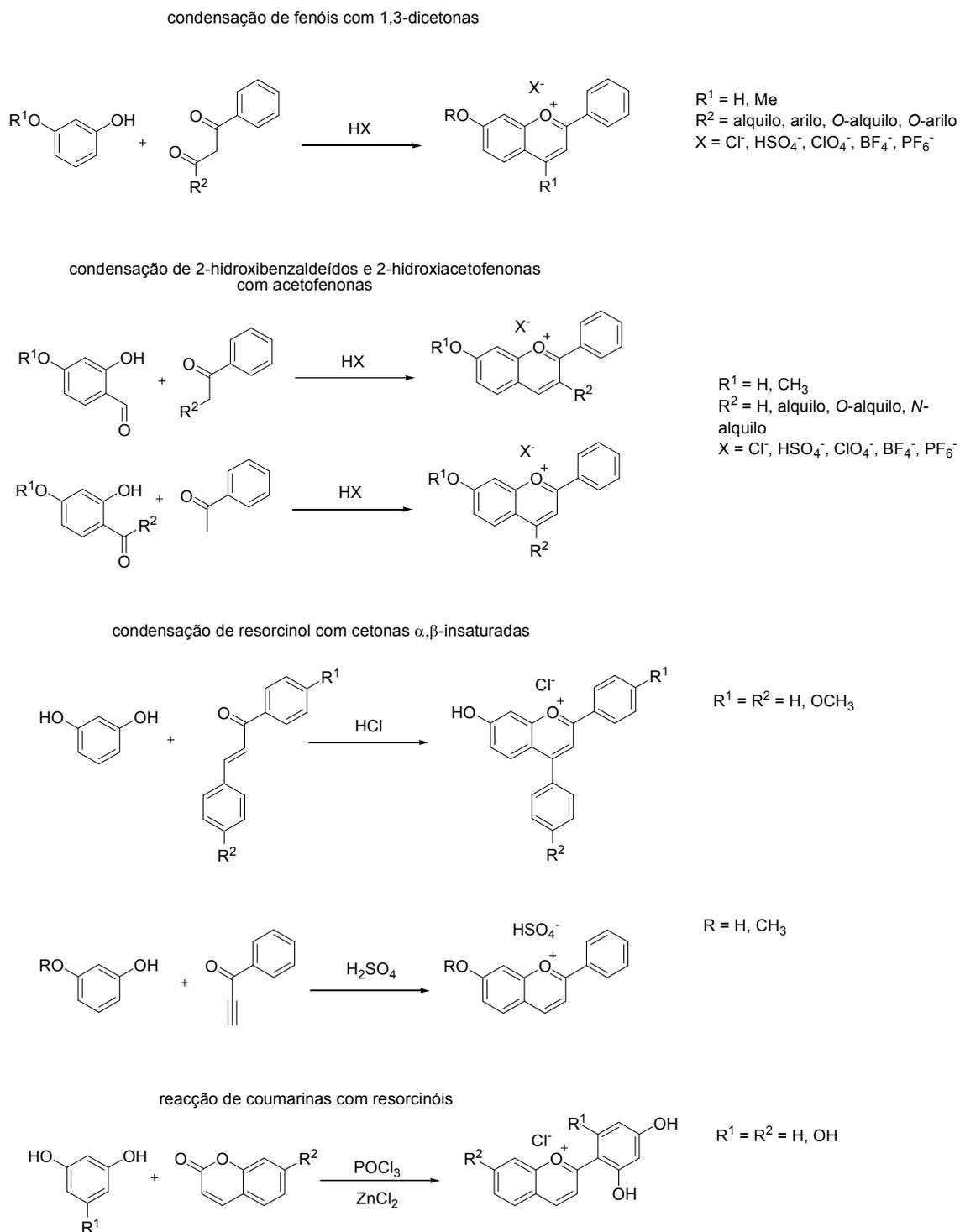
Posteriormente foram desenvolvidas outras técnicas a partir de outros precursores, sendo o método desenvolvido por Robinson^[13] a partir da condensação de 2-hidroxibenzaldeídos (sacilaldeídos) com acetofenonas um dos mais utilizados actualmente, uma vez que permite preparar sais de flavílio com substituintes em diversas posições. Mais tarde^[14] este procedimento foi adaptado para a preparação de flavílios a partir da condensação de 2-hidroxi-acetofenonas com benzaldeídos e acetofenonas.

Entre outros métodos utilizados para a preparação de sais de flavílio, encontra-se a condensação do resorcinol e outros fenóis meta-substituídos com cetonas α,β - insaturadas na presença de ácido e coumarinas com benzenos substituídos na presença de cloreto de zinco.^[15,16]

No esquema 1, estão representados os métodos referidos para a preparação de sais de flavílio.

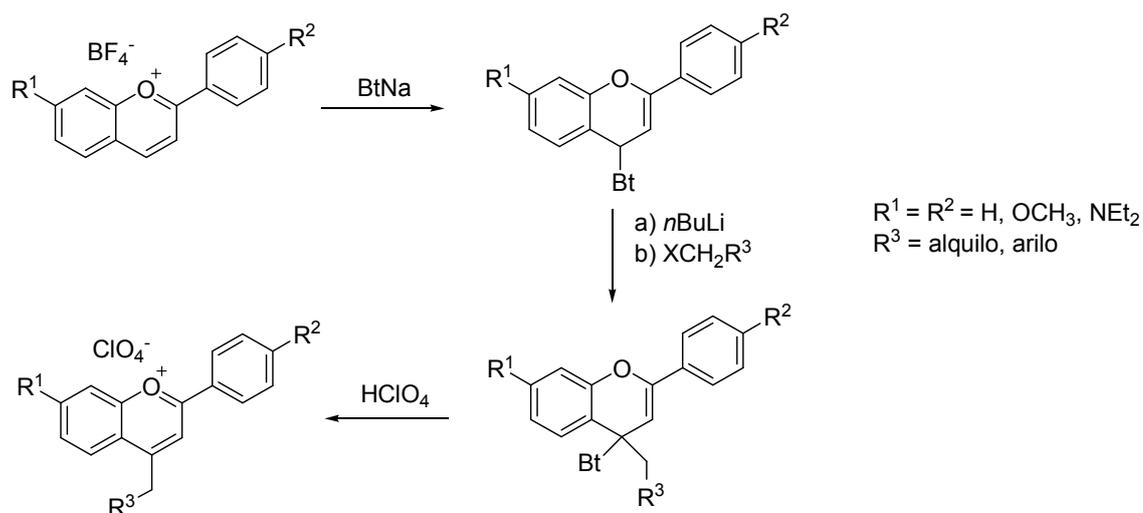
Além dos métodos de síntese apresentados, foram ainda desenvolvidas técnicas para a derivatização de posições específicas do núcleo de flavílio.^[17,18]

Por exemplo, os sais de flavílio substituídos na posição 4 são de particular interesse uma vez que demonstram maior estabilidade da forma corada, permitem aceder à extensão do sistema conjugado e apresentam maiores rendimentos quânticos de fluorescência.^[19,20]



Esquema 1 - Métodos para a preparação de sais de flavílio sintéticos

Deste modo, têm sido investigados diversos métodos para a funcionalização desta posição. Entre as mais utilizadas, a técnica desenvolvida por Katrizky *et al.*^[21,22] que envolve uma substituição electofílica indirecta, é particularmente importante devido à elevada diversidade de grupos funcionais que permite introduzir (esquema 2).



Esquema 2 - Caminho sintético para a derivatização de sais de flavílio na posição 4

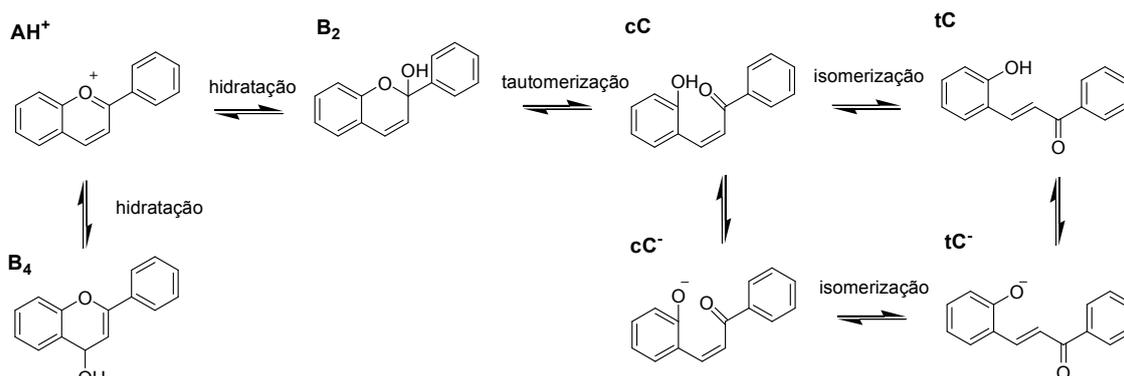
I.1.2 Comportamento em solução

A importância dos flavílios sintéticos na pesquisa científica, bem como a sua larga aplicabilidade em diferentes áreas, deve-se principalmente à complexa rede de equilíbrios que se pode estabelecer por aplicação de estímulos externos.

No esquema 3 estão representados os equilíbrios possíveis de um flavílio não substituído em solução aquosa demonstrados por McClelland e Gedge^[23] por espectroscopia de UV-Vis e ressonância magnética nuclear.

A pH ácido verificou-se que a espécie termodinamicamente mais estável é o catião flavílio (AH^+), que absorve fortemente na região de luz visível. Por subida do pH para valores neutros ou ligeiramente ácidos, a cor característica da espécie catiónica desaparece, formando-se duas espécies neutras sem cor, os hemiacetais B_2 e B_4 , por hidratação das posições 2 e 4, respectivamente. Adicionalmente, a espécie B_2 pode sofrer uma tautomerização estabelecendo um equilíbrio com a *cis*-chalcona (Cc). Por sua vez, a Cc, por isomerização da ligação dupla, converte-se lentamente na espécie termodinamicamente mais estável, a *trans*-chalcona (Ct).

Estudos posteriores evidenciaram que a pH básicos, a rede de equilíbrios é alargada por desprotonação das chalconas Cc e Ct, formando-se as espécies aniónicas Cc^- e Ct^- , respectivamente, que podem igualmente interconverter-se por isomerização.^[24]



Esquema 3 - rede de equilíbrios estabelecidos em solução aquosa por um flavílio não substituído

I.1.2.1 Efeito de substituintes

A introdução de substituintes na estrutura do catião flavílio pode alargar ou reduzir o número de espécies envolvidas na rede de equilíbrios dos sais de flavílio.^[1,9,10,25]

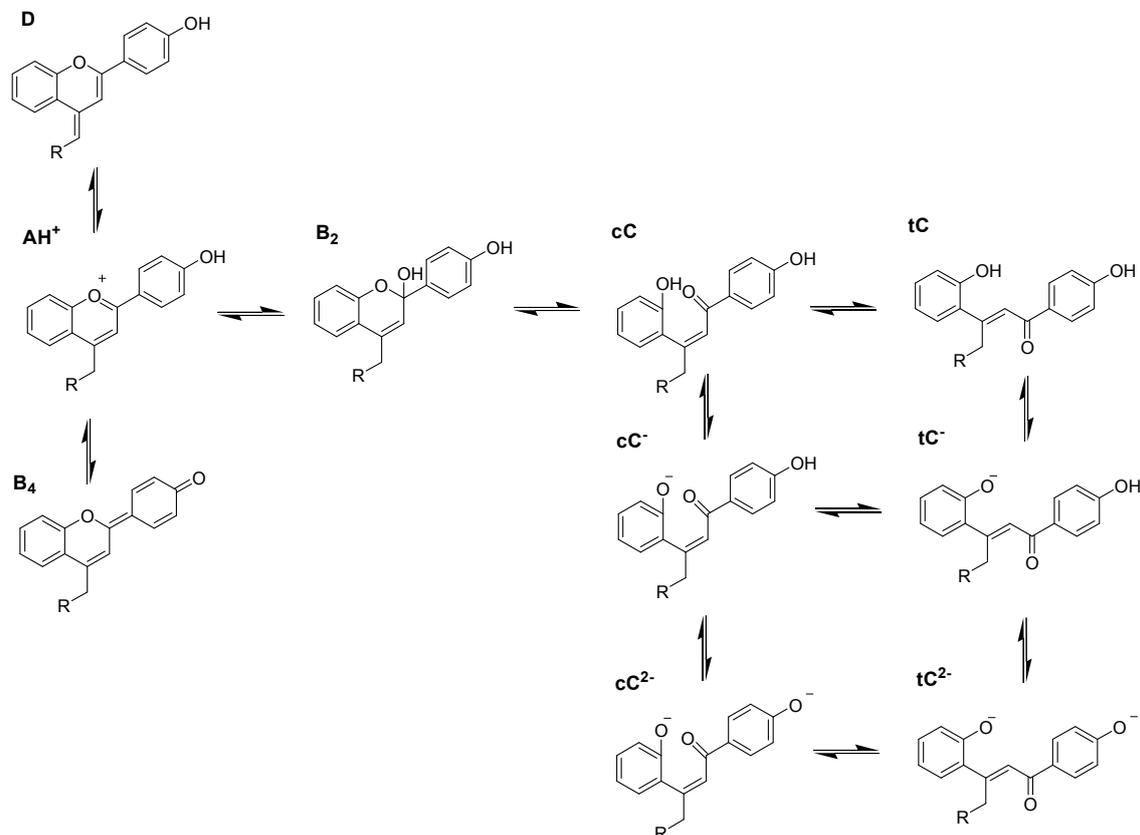
A presença de um grupo hidroxilo na posição 7 estabelece um novo equilíbrio ácido base entre a espécie AH^+ e a sua base quinoidal A, que compete com a formação dos hemiacetais B_2 e B_4 .^[1,9]



A formação de A ocorre mais rapidamente que a formação dos hemiacetais, e desse modo, afecta a evolução do sistema até à formação da *trans*-chalcona Ct. A introdução de um grupo hidroxilo na posição 4' permite ainda extensão da rede de equilíbrios por desprotonação das espécies aniónicas Cc^- e Ct^- , para formar Cc^{2-} e Ct^{2-} respectivamente.^[25] Múltiplos substituintes hidroxilo permitem obter espécies desprotonadas da base quinoidal e das espécies aniónicas Cc^{2-} e Ct^{2-} .^[1]

Num estudo recente, Czerney e Grummt revelam que a presença de grupos alquilo na posição 4 introduz um novo tipo de equilíbrio ácido-base entre a espécie AH^+ e uma espécie neutra D, como será averiguado posteriormente.^[26] No esquema 4 está representada a rede de equilíbrios alargada de um 4-alkil-4'-hidroxi-2-fenil-benzopirílio.

Para além da extensão da rede de equilíbrios, a introdução de substituintes afecta ainda as constantes cinéticas e termodinâmicas do sistema, bem como a barreira energética entre as várias espécies, permitindo um maior controlo por aplicação de estímulos externos.^[1,10]



Esquema 4 - rede de equilíbrios estabelecidos em solução aquosa por um 4-alkil-2-fenil-4'-hidroxibenzopirílio

Por esta razão, os flavílios são particularmente interessantes no desenvolvimento de sistemas de processamento de informação ao nível molecular. Desde que a barreira energética para a isomerização da espécie Ct em Cc seja suficientemente elevada de modo a que não possa ocorrer espontaneamente.^[24,27-31] Deste modo, é possível estabelecer um sistema de memória molecular capaz de realizar ciclos *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, onde a espécie de escrita (Ct) e a de leitura (AH⁺) estão cineticamente afastadas por equilíbrios de isomerização, tautomerização e hidratação, condicionados por dois estímulos externos diferentes (p.e. aplicação de luz e variação de pH). Esta característica permite um maior controlo da reversibilidade do sistema em relação a sistemas de memória óptica binários.^[29-31]

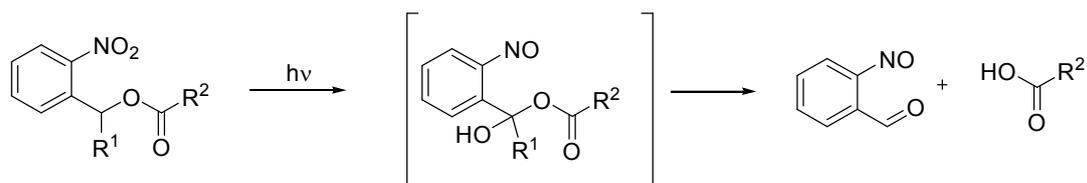
Para além da potencial aplicabilidade como dispositivos de memória molecular, os flavílios são ainda investigados na indústria farmacêutica, exibindo actividade antiinflamatória, antioxidante bem como inibição de diversas enzimas^[32], utilizados como sensores fluorescentes (p.e. de água e amónia)^[8], ou aplicados em sistemas termocrómicos.^[11]

Neste projecto, teve-se como objectivo a extensão da aplicabilidade dos sais de flavílio, nomeadamente nas áreas de grupos protectores fotolábeis e rotores moleculares, a partir da derivatização na posição 4.

I.2. Grupos protectores fotolábeis

A utilização de grupos protectores é uma ferramenta importante em química e biotecnologia, que toma uma posição de destaque em síntese orgânica.^[33,34] A escolha de grupos protectores adequados permite obter o produto desejado com elevados rendimentos por redução de produtos secundários. Contudo, com a complexidade crescente das moléculas alvo de pesquisas em síntese orgânica, tornam-se necessários métodos para a clivagem selectiva de grupos funcionais, permitindo um maior controlo da reacção.^[33,35] Desta forma, a fotólise (clivagem por acção da luz) apresenta-se como uma alternativa aos métodos clássicos de clivagem química, permitindo uma maior selectividade na remoção de grupos protectores.^[35,36] Além disso, a ausência de reagentes químicos para a desprotecção torna este método aplicável em estudos com biomoléculas.^[36,37]

Os primeiros relatos de grupos fotocliváveis surgiram na década de 1960, por Baltrop *et al.*, que utilizaram derivados do álcool *o*-nitrobenzílico na protecção de ésteres e aminoácidos.^[35] Por irradiação dos compostos com luz UV, é promovida a sua isomerização, que resulta na saída de um ácido carboxílico, obtendo-se um *o*-nitrosobenzaldeído. (esquema 5)



Esquema 5 - fotoclivagem de derivados do álcool *o*-nitrobenzílico

Este grupo protector foi, mais tarde, aplicado a moléculas biologicamente activas, entre as quais o ATP, introduzindo o conceito de composto "caged".^[38] Este tipo de técnica consiste em desactivar uma biomolécula por introdução de um grupo protector (*caging*), que pode ser re-activada por aplicação de um estímulo luminoso. Porém, os derivados do álcool *o*-nitrobenzílico possuem a desvantagem de dar origem a um composto prejudicial para sistemas biológicos.^[39] Posteriormente foram desenvolvidos outros tipos de grupos protectores de modo a reduzir os efeitos adversos dos produtos secundários da fotoclivagem, nomeadamente os derivados do hidroxifenancilo e álcool nitrofeniletilíco.^[36-39] Todavia, todos estes grupos apresentavam uma limitação na sua aplicabilidade em estudos bioquímicos, isto é, todos eles absorvem radiação ultravioleta, têm baixos coeficientes de extinção molar e reduzidos rendimentos quânticos de clivagem. Por esta razão, são necessários longos tempos de irradiação com luz altamente energética, que resultam geralmente na danificação das biomoléculas e redução da sua actividade, nomeadamente quando aplicados a sistemas com enzimas.^[37]

Os grupos protectores baseados na 4-metil-coumarina (figura 2), introduzidos no final do século XX, reduzem os efeitos adversos da utilização de grupos fotolábeis, uma vez que absorvem fortemente na região do visível (< 420 nm) e demonstram bons rendimentos quânticos e reduzidos tempos de clivagem.^[40] A sua utilização foi especialmente aplicada na protecção de nucleótidos, nomeadamente em estudos de transcrição de ácidos nucleicos activada pela luz. (esquema 6).^[41] Contudo, estes grupos protectores apresentam ainda a limitação de terem baixa solubilidade em meio aquoso, o que reduz a sua aplicabilidade em sistemas *in vivo*.

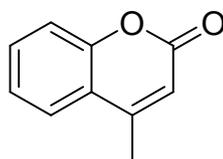
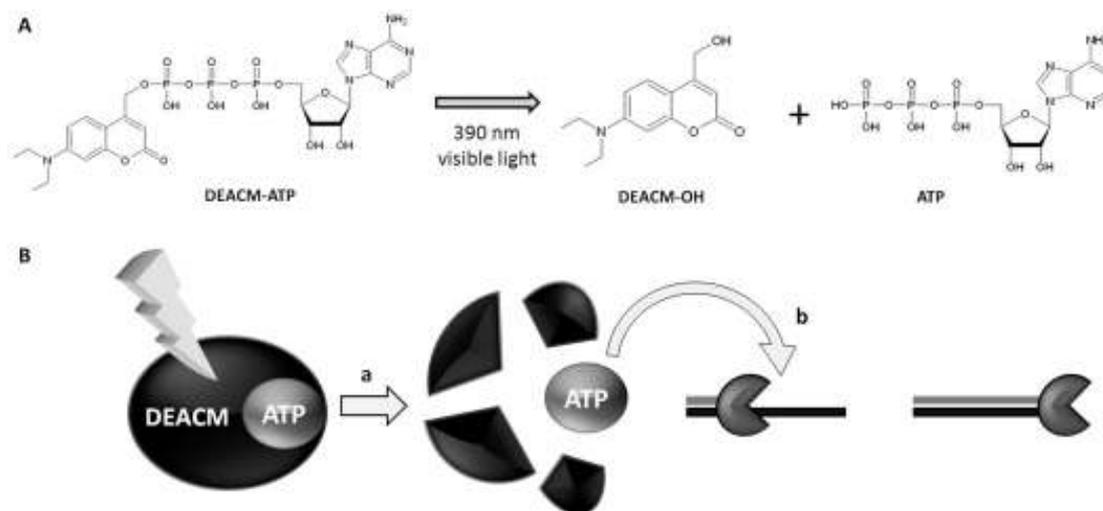


Figura 2 – 4-metil-coumarina



Esquema 6 – A) fotólise do complexo dimetilaminocumarina(DEACM)-ATP; B) representação da transcrição controlada pela luz – a) fotolibertação de ATP, b) transcrição de RNA

Neste trabalho pretende-se o desenvolvimento de grupos protectores fotocliváveis baseados em flavílios, que, para além de terem elevados coeficientes de extinção molar para a zona do visível, possuem ainda uma solubilidade em água superior à das coumarinas. [1,2]

Estes grupos protectores são preparados a partir de sais de flavílio substituídos na posição 4. Este tipo de compostos tem elevado interesse uma vez que demonstram maior resistência a ataques nucleófilos, possuindo maior estabilidade da forma corada a valores de pH mais elevados.

Os sais de flavílio utilizados neste projecto, derivados do 4-metil-2-fenilbenzopirílio, demonstram ainda uma elevada acidez no carbono ligado ao núcleo de flavílio, o que alarga a sua aplicabilidade na síntese de pigmentos funcionais (esquema 4). [26]

II. Resultados e discussão

O trabalho experimental desenvolvido envolveu 3 componentes distintas, nomeadamente a síntese e caracterização de sais derivados do 2-fenil-benzopirílio, o desenvolvimento de grupos protectores fotolábeis, e a aplicação de sais de flavílio derivatizados como sensores fluorescentes de viscosidade e de concentração micelar crítica.

Desta forma, os resultados obtidos serão apresentados em três capítulos distintos

II.1. Síntese e caracterização de sais derivados do 2-fenil-benzopirílio

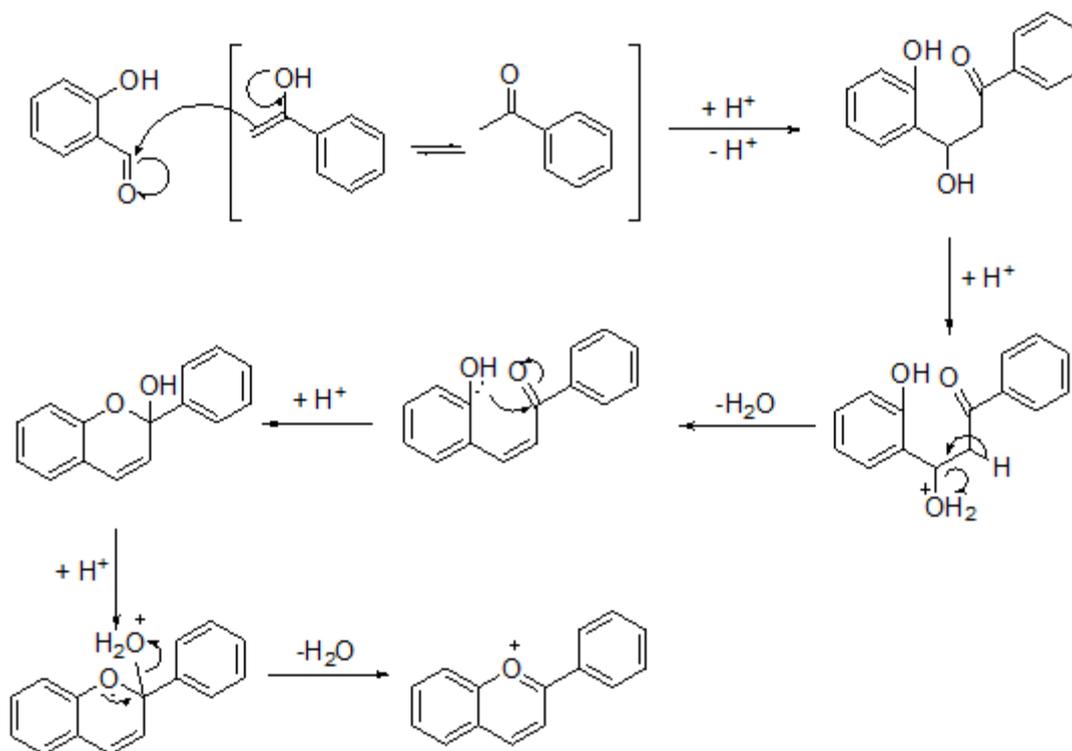
Neste capítulo serão discutidos os métodos de síntese e derivatização de sais de flavílio. É possível obter sais de 2-fenil-4-alkil-benzopirílio por dois processos distintos. O primeiro a ser apresentado envolve a preparação de compostos sem substituintes na posição 4, seguida de uma funcionalização por substituição nucleofílica indirecta, via incorporação de um benzotriazole.^[21]

O segundo processo envolve a funcionalização prévia de um precursor, seguida de uma condensação em meio ácido para formar um sal de flavílio funcionalizado na posição 4.^[15]

II.1.1 Síntese de tetrafluoroboratos de 2-fenil-benzopirílio

Neste trabalho os tetrafluoroboratos de flavílio foram utilizados como precursores para os compostos funcionalizados. A sua preparação foi feita pelo método descrito por Robinson^[16], através da condensação de um salicilaldeído com uma acetofenona em meio ácido. No esquema 7 está representado o mecanismo proposto para a reacção. A condensação das duas moléculas inicia-se pelo ataque nucleófilo do enol (em equilíbrio com a acetofenona) ao salicilaldeído, sendo este passo favorecido pela recuperação do grupo carbonilo. A perda subsequente de uma molécula de água resulta na extensão da conjugação das ligações π , por formação de uma chalcona. Posteriormente o ataque nucleófilo ao grupo carbonilo, seguida da perda de uma molécula de água, dá origem a

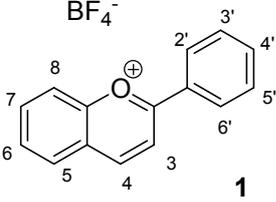
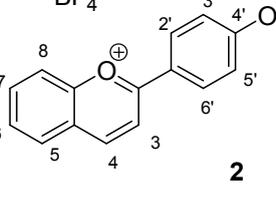
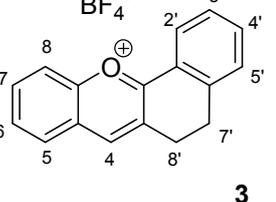
um sistema aromático com maior conjugação, sendo a carga positiva resultante, estabilizada por ressonância.



Esquema 7 – mecanismo da síntese de sais de flavílio por condensação de salicilaldeídos com acetofenonas em meio ácido

Utilizou-se o ácido tetrafluorobórico visto que, como os sais de flavílio preparados foram utilizados como precursores em reacções posteriores, era necessário aumentar a sua solubilidade em solventes orgânicos.^[21]

Tabela 1 – Análise e caracterização dos tetrafluoroboratos de flavílio 1, 2 e 3

Composto						
ϵ	45369,62 (em CH ₂ Cl ₂)		42129,55 (em CH ₂ Cl ₂)		47219,68 (em CH ₂ Cl ₂)	
AE	C₁₅H₁₁BF₄O·(3/2)H₂O:		C₁₆H₁₃BF₄O₂·H₂O:		C₁₇H₁₃BF₄O:	
	Calc.	Det.	Calc.	Det.	Calc.	Det.
	C: 56,11 H: 4,39	C: 56,11 H: 4,39	C: 56,18 H: 4,42	C: 56,27 H: 4,79	C: 63,79 H: 4,09	C: 63,51 H: 4,50
¹ H RMN	7,50 (t, H ⁶ +H ⁷); 7,67 (t, H ⁶); 7,79 (t, H ²); 8,12-8,16 (m, H ³ +H ⁴ +H ⁵); 8,28 (d, H ⁵ + H ⁸); 8,52 (d, H ³); 9,27 (d, H ⁴).		3,67 (s, H ₃ ⁷); 6,89 (d, H ³ + H ⁵) 7,61 (t, H ⁶); 7,91 (m, H ⁷ + H ² +H ⁶); 8,17 (m, H ³ + H ⁵ + H ⁸); 8,89 (d, H ⁴).		3,04 (t, 2H ⁷); 3,17 (t, 2H ⁸); 7,34 (d, H ⁵); 7,40 (t, H ⁴); 7,59 (t, H ³); 7,72 (t, H ⁶); 8,03 (m, H ² +H ⁵ +H ⁸); 8,26 (t, H ⁷); 8,97 (s, H ⁴).	
¹³ C RMN	_____		_____		26,2; 26,6; 118,4; 123,9; 125,0; 128,4; 129,1; 131,2; 131,4;	131,5; 131,8; 138,1; 138,7; 146,7; 154,1; 155,2; 172,9;

II.1.1.1 Síntese do tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (1)

O composto **1**, obtido pela condensação entre o salicilaldeído e a acetofenona, foi caracterizado por espectroscopia de RMN. Uma vez que o composto já havia sido previamente sintetizado no grupo onde o trabalho prático foi desenvolvido, a sua estrutura foi comprovada por comparação de espectros de ^1H RMN. A totalidade dos sinais a campo muito baixo, e em particular o duplete acima dos 9,0 ppm de desvio químico, correspondente ao protão H_4 , é característica deste tipo de composto.^[42]

II.1.1.2 Síntese do tetrafluoroboratos de 2-(4'-metoxifenil)-benzopirílio (2)

O flavílio **2** foi obtido pelo método descrito anteriormente, e foi igualmente caracterizado por espectroscopia de RMN. A comprovação da sua estrutura foi feita por comparação do espectro de ^1H RMN com o espectro de **1**. O desvio para campo mais alto de todos os sinais, em particular os dos protões $\text{H}^{3'}$ e $\text{H}^{5'}$, indicam a presença do grupo metoxi na posição 4.

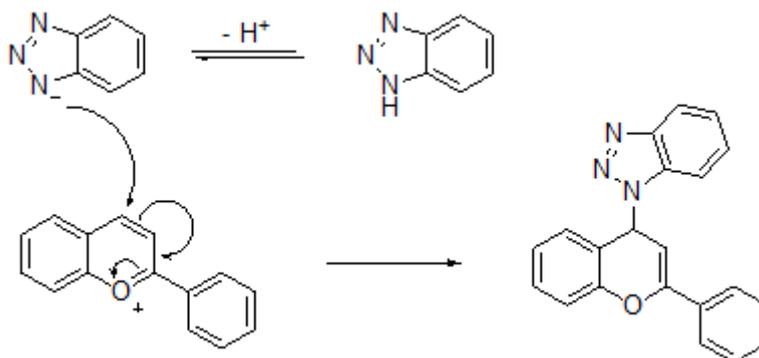
II.1.1.3 Síntese do tetrafluoroboratos de 2-fenil-(3-2'-etnil)-benzopirílio (3)

O composto **3** foi obtido pela condensação da α -tetralona com o salicilaldeído em meio ácido, rendendo um precipitado amarelo após a adição de éter etílico ao meio reaccional. A sua caracterização foi feita por técnicas mono e bidimensionais de espectroscopia de RMN. Em relação ao seu análogo **1**, **3** apresenta sinais a campo alto característicos do grupo etnil. Para além disso, verifica-se o desaparecimento do sinal a cerca de 8,50 ppm, correspondente ao protão H^3 . Consequentemente, o sinal correspondente ao protão H_4 surge como um singuleto a cerca de 9,0 ppm.

II.1.2 Síntese de 2-fenil-4-benzotriazol-1-il-benzopiranos

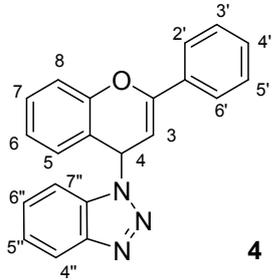
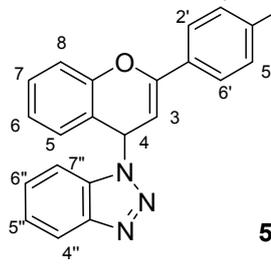
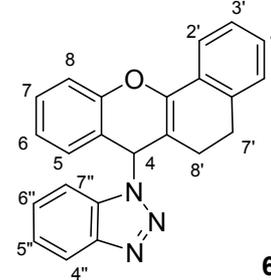
A funcionalização da posição 4 do núcleo de flavílio foi efectuada através da substituição electrofílica indirecta, utilizando o método descrito por Katrizky *et*

al.^[21,22,43] Para isso foi necessário introduzir o grupo benzotriazole, que permite a formação de um carbanião no passo de preparação de percloratos de 2-fenil-benzopirílio. O mecanismo envolve a desprotonação do 1H-benzotriazole e posterior ataque nucleófilo à posição mais electrodeficiente do núcleo de flavílio (esquema 8). A conjugação do sistema é reduzida, sendo a reacção caracterizada por uma perda de cor da mistura reaccional.



Esquema 8 – Mecanismo da síntese de 4-benzotriazol-1-il-benzopiranos em meio básico

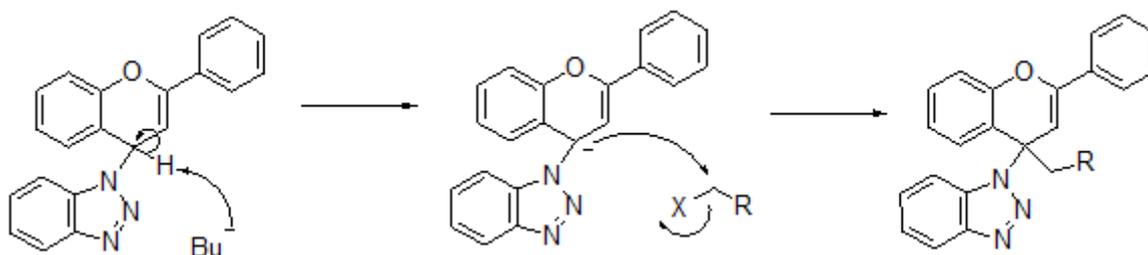
Tabela 2 – Análise e caracterização dos benzopiranos 4, 5 e 6

Composto			
¹ H RMN	<p>5,80 (d, H⁴);</p> <p>7,02, (t, H⁷);</p> <p>7,15-7,43 (9H, m);</p> <p>7,77 (m, H^{3'}+H^{4'}+H^{5'});</p> <p>8,01 (d, H^{4''});</p>	<p>3,83 (s, H₃^{7'});</p> <p>5,70 (d, H⁴);</p> <p>6,95-7,07 (m, H³+H^{3'}+H^{5'});</p> <p>7,15-7,43 (7H, m);</p> <p>7,70 (m, H^{3'}+H^{4'}+H^{5'});</p> <p>8,01 (1H, d, H^{4''});</p>	<p>1,89 (m, H_a^{7'});</p> <p>2,36 (m, H_a^{8'});</p> <p>2,65 (m, H_b^{7'});</p> <p>2,89 (m, H_b^{8'});</p> <p>6,99-7,40 (8H, m);</p> <p>7,63 (t, H^{4'});</p> <p>7,79 (d, H^{3'});</p> <p>7,90-8,01 (m, H^{4'}+H^{5'});</p> <p>8,25 (s, H^{4''});</p>

Uma vez que os 4-benzotriazolil-benzopiranos sintetizados serviram simplesmente como reagentes da derivatização da posição 4 dos sais de flavílio, a sua caracterização foi feita apenas por espectroscopia de ^1H RMN, de modo a comprovar a entrada total do grupo benzotriazole. O desvio de todos os sinais para campo mais alto, especialmente do próton H^4 , em relação aos flavílios precursores, e um aumento da intensidade de sinais em torno dos 7,30 ppm é indicativo da presença de benzotriazole na estrutura do composto. Os acoplamentos múltiplos entre os prótons $\text{H}^{4''-7''}$ diminuem a resolução dos sinais, impedindo a sua total identificação.

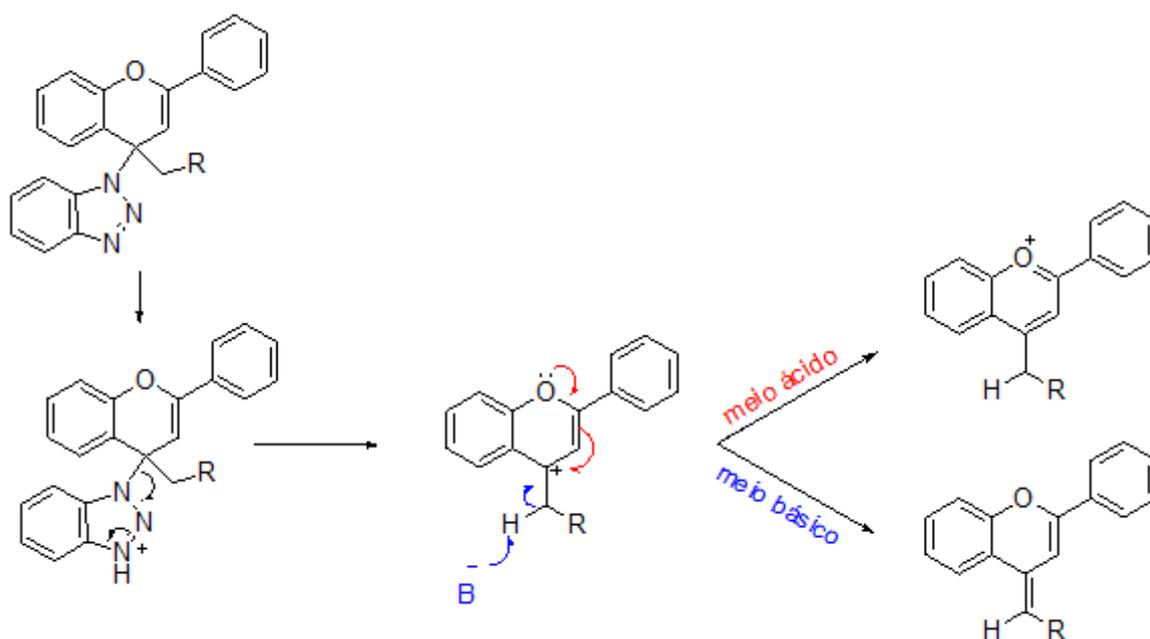
II.1.3 Síntese de percloratos de 2-fenil-benzopirílio

O passo final para a introdução de grupos alquilo na posição 4 do benzopirílio requer a formação de um carbanião e posterior ataque nucleófilo a um haleto de alquilo, tal como descrito por Katrizky *et al.*^[21,22,43] O mecanismo proposto para a reacção encontra-se representado no esquema 9. A desprotonação do carbono 4 é favorecida pela presença do grupo benzotriazole, que activa a reactividade da posição por efeito indutivo.



Esquema 9 - mecanismo da síntese de 4-alquil-4-benzotriazol-1-il-benzopiranos por substituição electrófila

A clivagem do grupo benzotriazole é conseguida por tratamento da mistura reaccional com ácidos fracos. Este método permite não só a preparação de sais de 2-fenil-4-alquil-benzopirílio com uma enorme variedade de grupos substituintes, como também a síntese das suas bases conjugadas, resultantes da desprotonação do carbono adjacente à posição 4 (esquema 10). O tipo de tratamento do carbocatião formado pela saída do benzotriazole define o produto da reacção.^[22,26]



Esquema 10 – mecanismo da clivagem do grupo benzotriazole na síntese de 4-alkil-flavílios e 4-metileno-benzopiranos

Tabela 3 – Análise e caracterização dos percloratos de flavílio 7, 8 e 9

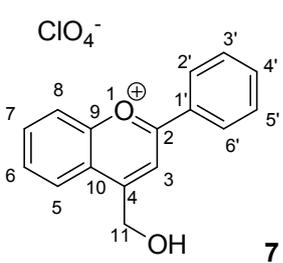
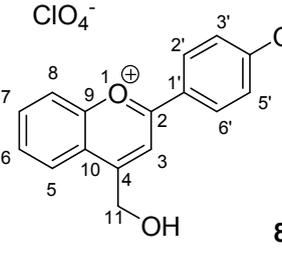
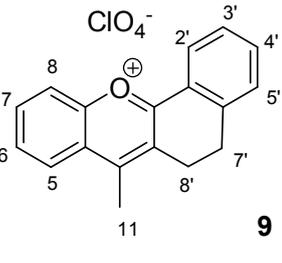
Composto						
	ϵ	$C_{16}H_{13}ClO_6 \cdot (3/2)H_2O$	$C_{17}H_{15}ClO_7 \cdot H_2O$	$C_{18}H_{15}ClO_5$		
AE	Calc.		Calc.		Calc.	
	Det.		Det.		Det.	
	C: 52,83 H: 4,43	C: 53,13 H: 4,09	C: 53,07 H: 4,42	C: 53,23 H: 4,03	C: 62,35 H: 4,36	C: 61,64 H: 4,21
1H RMN	_____		_____		3,06 (t, $H_2^{7'}$); 3,20 (t, $H_2^{8'}$); 4,70 (s, H_3^{11}); 7,37 (d, $H^{5'}$); 7,43 (t, $H^{4'}$); 7,61 (t, $H^{3'}$); 7,76 (t, H^6); 8,02 (m, H^5+H^8); 8,23 (m, $H^7+H^{2'}$);	
^{13}C RMN	_____		_____		29,4; 131,4; 29,7; 131,5; 34,5; 131,8; 127,1; 138,1; 127,9; 141,3; 128,4; 145,9; 128,8; 158,7; 129,7; 159,2; 131,2; 172,9.	

Tabela 4 – Análise e caracterização dos percloratos de flavílio 10 e 11, e do benzopirano 3

Composto	 10	 11	 12			
ϵ	35817,64 (em CH ₂ Cl ₂)	47530,40 (em CH ₂ Cl ₂)	15423,12 (em CH ₂ Cl ₂)			
AE	C₂₄H₂₇ClO₅:		C₂₈H₂₁ClO₅·H₂O:		C₂₈H₂₀O·(1/2)H₂O:	
	Calc.	Det.	Calc.	Det.	Calc.	Det.
	C: 66,89 H: 6,32	C: 66,54 H: 6,21	C: 69,79 H: 4,60	C: 69,89 H: 4,49	C: 88,16 H: 5,55	C: 87,73 H: 5,19
¹ H RMN	<p>0,80 (s, H₃^{7''});</p> <p>1,12-1,34 (m, H₂^{4''}+H₂^{6''}+H₂^{6''});</p> <p>1,51 (m, H₂^{3''});</p> <p>1,83 (m, H₂^{4''});</p> <p>3,07 (t, H₂^{7''});</p> <p>3,17 (t, H₂^{8''});</p> <p>3,41 (t, H₂^{1''});</p> <p>7,33 (d, H^{5'});</p> <p>7,43 (t, H^{4'});</p> <p>7,64 (t, H^{3'});</p> <p>7,76 (t, H^{6'});</p> <p>8,00 (m, H⁵+H⁸);</p> <p>8,23 (m, H⁷+H^{2'})</p>		<p>3,27 (t, H₂^{7'});</p> <p>3,40 (t, H₂^{8'});</p> <p>5,05 (s, H₂¹¹);</p> <p>7,33 (d, H^{3''});</p> <p>7,40-7,47 (m, H^{6''}+H^{7''})</p> <p>7,58 (t, H⁷);</p> <p>7,70-7,76 (m, H⁶+H^{2'}+H^{1''})</p> <p>7,78-7,88 (m, H^{4'}+H^{4'}+H^{5''}+H^{8''})</p> <p>8,15 (t, H^{3'})</p> <p>8,24 (d, H⁵)</p> <p>8,39 (d, H⁵)</p> <p>8,48 (d, H⁸)</p>		<p>2,77 (t, H₂^{7'})</p> <p>2,98 (t, H₂^{8'})</p> <p>6,53 (s, H¹¹)</p> <p>6,77 (m, H^{6'}),</p> <p>7,23-7,45 (m, H⁵+H⁷+H⁸+H^{2'-5'})</p> <p>7,59-7,83 (m, H^{1''-8''})</p>	

¹³ C RMN	11,3;		24,3;	130,1;		127,3;
	22,6;	129,6;	26,7;	130,5;	22,4 (C ⁷);	127,4;
	26,7;	131,1;	33,0;	131,2;	27,1 (C ⁸);	128,3;
	26,9;	131,3;	114,1;	132,2;	111,5;	128,4;
	27,4;	131,5;	116,7;	132,9;	111,8;	129,3;
	27,5;	132,0;	118,1;	135,5;	113,2;	138,2;
	29,4;	139,1;	119,3;	136,8;	114,9;	138,4;
	29,7;	141,8;	123,7;	149,3;	117,3;	143,7
	36,6;	146,2;	126,1;	153,3;	120,3;	(C ⁴ +C ^{2'});
	127,0;	158,7;	127,4;	163,6;	121,7;	151,5
	127,7;	159,2;	128,6;	169,1;	122,6;	(C ²);
	128,1;	172,9	128,9;	169,4	122,9;	159,5
	128,5;		129,3;		126,4;	(C ⁹);
			129,4;			

II.1.3.1 Síntese do 2-fenil-(4-hidroximetil)-benzopirílio (7) e do 2-(4'metoxifenil)-(4-hidroximetil)-benzopirílio (8)

A síntese dos sais de 4-hidroximetil-benzopirílio foi feita a partir da desprotonação do respectivo bentriazolil-benzopirano, seguida da reacção com acetato de bromometilo. Uma vez que o passo final envolve a adição de ácido perclórico concentrado, admite-se que ocorre a hidrólise ácida do grupo acetato, obtendo-se um grupo hidroximetil na posição no final da reacção. Contudo, a análise por espectroscopia de RMN não permitiu tirar conclusões acerca da estrutura do produto final, uma vez que a sua estabilidade em solução é muito reduzida, não sendo possível obter um espectro anterior à degradação da amostra.

II.1.3.2 Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-heptil-benzopirílio (10)

O composto **10** foi preparado a partir do benzopirano **6** pelo método anteriormente referido, utilizando-se o 1-brometo de *n*-heptilo como haleto de alquilo. A sua caracterização foi feita por espectroscopia de ^1H RMN e ^{13}C RMN. Por comparação com os espectros obtidos para **3**, o seu precursor, verifica-se que existe um número adicional de sinais a campo alto, correspondentes à cadeia longa de sete carbonos. Para além disso, não se observa um sinal a cerca de 9,0 ppm, indicando a ausência de um protão em C₄. Desta forma é possível afirmar que a reacção se completou na totalidade, obtendo-se um único sal de flavílio no final.

II.1.3.3 Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(2-naftilmetil)-benzopirílio (11)

O flavílio **11** sintetizou-se do mesmo modo que **10**, utilizando-se o brometo de metil-2-naftaleno como electrófilo. A sua caracterização foi igualmente feita por técnicas mono e bidimensionais de espectroscopia de ^1H RMN e ^{13}C RMN, que permitiram comprovar a sua estrutura molecular.

Por comparação com os espectros obtidos para o precursor **3**, é possível verificar que existe um novo sinal a 5,05 ppm que indica a presença dos protões H₂¹¹. A elevada intensidade de sinais entre 7,40-7,65 ppm, corresponde à presença do grupo naftaleno. A ausência de um singuleto a 9,0 ppm, indica que não existe nenhum protão em C₄. Desta forma é possível afirmar que a reacção se completou na totalidade, obtendo-se um único sal de flavílio no final.

II.1.3.4 Síntese do 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(naftalen-2-il-metileno)-benzopirano (12)

O composto **12** foi sintetizado a partir do benzopirano **6** seguindo o método utilizado na síntese de **11**. Contudo, o passo final envolveu a adição de água, ao invés de uma solução de ácido perclórico. Desta forma, a subida de pH do meio (ácido acético como solvente) leva à desprotonação do carbono ácido C₁₁, obtendo-se **12** sob a forma de um precipitado fino ligeiramente amarelo. A identificação estrutural foi conseguida por espectroscopia de ^1H e ^{13}C RMN. O aparecimento do singuleto correspondente ao

protão H₁₁ a 6,53 ppm e a ausência de um sinal a ca. 33 ppm no espectro de ¹³C RMN comprovam a extensão da conjugação do sistema, estando H₁₁ (6,53 ppm) e C₁₁ (ca. 128 ppm) a campo mais baixo relativamente aos núcleos homólogos do flavílio **11** (5,05 e 33,0 ppm, respectivamente).

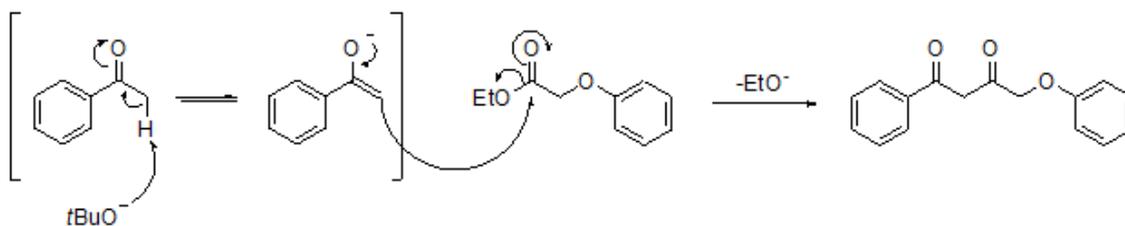
II.1.3.5. Síntese do 2-fenil-(3,2'-etnil)-4 metil benzopirílio (9)

A síntese do composto **9** foi abordada por dois métodos distintos. O método utilizado para a preparação dos outros percloratos de flavílio revelou-se eficaz, tendo sido utilizado o iodeto de metilo como electrófilo. Contudo, a elevada volatilidade, e a reactividade pouco selectiva, deram origem a uma mistura de dois compostos no final (provavelmente **9** e o precursor **3**). Deste modo, foi necessário sintetizar este flavílio por condensação directa de acetofenona com 2'-hidroxi-acetofenona, por um mecanismo semelhante ao utilizado na preparação de tetrafluoroboratos de 2-fenil-benzopirílio.

Apesar de tecnicamente mais eficiente, esta técnica não permite a síntese directa da base conjugada de **9** pelo método utilizado na preparação de **12**.^[26]

II.1.4. Síntese e caracterização de hidrogenossulfatos de 2-fenil-4-fenoximetil-benzopirílio

A síntese de derivados do 2-fenil-4-fenoximetil-benzopirílio utilizada neste trabalho envolveu dois passos distintos. O primeiro consistiu na preparação de uma benzoilacetona substituída (**13**) a partir da condensação do fenoxiacetato de etilo à acetofenona em meio básico. O mecanismo proposto, representado no esquema 11, envolve o ataque nucleófilo do enolato ao grupo carbonilo da acetofenona, seguido da recuperação da ligação C=O e saída de etóxido.^[44,45]



Esquema 11 – mecanismo da síntese de benzoilacetonas a partir de uma condensação em meio básico

A benzoilacetona obtida é atacada por um fenol meta-substituído em meio ácido, obtendo-se um sal de flavílio no final.^[15,23]

Tabela 5 – Análise e caracterização dos hidrogenossulfatos de flavílio 14 e 15

Composto	13		14		15	
ϵ	_____		14487.80 (em CH_2Cl_2)		12721.36 (em CH_2Cl_2)	
AE	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$:		$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$		$\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{O}_7\text{S}$:	
	Calc.	Det.	Calc.	Det.	Calc.	Det.
	C: 75,57 H: 5,55	C: 76,11 H: 5,05	C: 59,45 H: 4,54	C: 59,27 H: 4,79	C: 62,72 H: 4,58	C: 63,51 H: 4,50

¹ H RMN	<p> 5,18 (s, H₂⁹) 6,58 (s, H⁷), 7,00 (m, H¹+H³+H⁵) 7,32 (t, H²+H⁴) 7,46 (t, H²+H⁴) 7,56 (t, H³) 7,99 (d, H¹+H⁵) 15,92 (s, H¹⁰) </p>	<p> 5,86 (s, H₂¹¹) 7,12 (t, H⁴), 7,26 (d, H²+H⁶) 7,45 (t, H³+H⁵) 7,67 (dd, H⁶) 7,79 (t, H³+H⁵) 7,80 (d, H⁸) 7,90 (t, H⁴) 8,40 (d, H⁵) 8,47 (d, H²+H⁶) 8,60 (s, H³) </p>	<p> 3,76 (s, H₃¹²) 5,73 (s, H₂¹¹) 7,07 (t, H⁴) 7,21 (d, H²+H⁶) 7,37 (dd, H⁶) 7,45 (t, H³+H⁵) 7,52 (d, H⁸) 7,81 (t, H³+H⁵) 7,84 (t, H⁴) 8,32 (d, H⁵) 8,39 (d, H²+H⁶) 8,55 (s, H³) </p>
¹³ C RMN	<p>_____</p>	<p> 103,19; 129,90; 110,84; 130,11; 115,10; 136,25; 115,21; 157,53; 122,30; 159,15; 122,53; 166,64; 128,47; 169,37; 129,18; 171,69; 129,47; 180,50 </p>	<p> 58,9, 102,29; 131,14; 111,78; 131,78; 113,60; 132,51; 115,41; 136,73; 121,66; 156,49; 123,73; 159,78; 126,56; 166,62; 129,87; 169,07; 130,23; 171,54; 130,45; 180,99 </p>

II.1.4.1 Síntese da 4-fenoxi-benzoilacetona (**13**)

A benzoilacetona **13** foi utilizada como precursor dos flavílios **14** e **15**. Tendo-se verificado que a funcionalização da posição 4 com o grupo hidroximetilo deu origem a compostos muito instáveis, foi necessário recorrer à técnica de derivatização prévia de reagentes.

A caracterização deste composto foi feita por espectroscopia de ^1H RMN. Verifica-se que o produto obtido se encontra sob a forma enólica **13B**, facto demonstrado pela presença do singuleto a 5,68 ppm correspondente ao protão H_7 e pelo sinal largo a 15,92 ppm que corresponde ao protão H^{10} . A estabilidade deste enol pode ser explicada pela formação de ligações de hidrogénio com o carbonilo adjacente. É por essa razão o protão H^{10} surge a campo muito baixo.

II.1.4.2 Síntese do hidrogenossulfato de 2-fenil-4-fenoximetil-7-hidroxi-benzopirílio (**14**) e do hidrogenossulfato de 2-fenil-4-fenoximetil-7-metoxi-benzopirílio (**15**)

A condensação do enol **13B** com o resorcinol ou *m*-metoxifenol, em meio ácido, rendeu os sais de flavílio **14** e **15**. As suas estruturas foram comprovadas por espectroscopia de RMN. A ausência de sinal a cerca de 9,0 ppm indica novamente que não existem protões na posição 4, e o sinal a cerca de 5,8 ppm corresponde aos protões H_2 ¹¹. Desta forma é possível verificar que a técnica utilizada é uma alternativa eficaz na preparação de sais de flavílio substituídos na posição 4, permitindo maiores rendimentos e graus de pureza igualmente elevados.

II.2. Grupos protectores fotocliváveis

Neste capítulo serão estudadas as propriedades físico-químicas de dois tipos de sais de flavílio, percloratos de 2-fenil-4-hidroximetil-benzopirílio (**7** e **8**) e

hidrogenossulfatos de 2 fenil-4-fenoximetil-benzopirílio (**14** e **15**). A sua aplicabilidade como grupos protectores fotolábeis será igualmente averiguada.

II.2.1 Percloratos de 4-hidroximetil-flavílio (7 e 8)

Como referido anteriormente (II.1.3.1), os sais de flavílio funcionalizados com um grupo hidroximetil na posição 4 exibiram elevada instabilidade em solução. Desta forma não foi possível testar a sua aplicabilidade como grupos protectores para a libertação de fosfatos por acção da luz, metodologia já desenvolvida com 4-metil-coumarinas.^[41] A ausência de sais de 4-hidroximetil-flavílio descritos na literatura, levou a crer que a instabilidade exibida se deve ao grupo hidroxilo livre na posição 11.

Desta forma, foram sintetizados sais de flavílio com estrutura semelhante, em que o grupo hidroxilo foi substituído por um grupo fenoxi.

II.2.2 Hidrogenossulfatos de 4-fenoximetil-flavílio (14 e 15)

II.2.2.1. Comportamento em solução

Ao contrário do que se verificou no caso de **7** e **8**, os compostos fenoximetilados **14** e **15** demonstraram-se estáveis em solução, permitindo a sua análise espectroscópica. Os espectros de absorção de ambos os compostos, obtidos em soluções aquosas com pH entre 1 e 10 estão representados nas figuras 3 e 4.

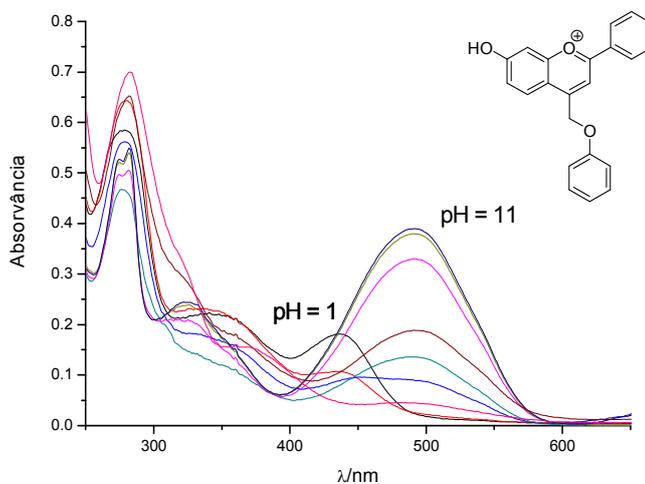


Figura 3 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 14 entre pH 1 e 11

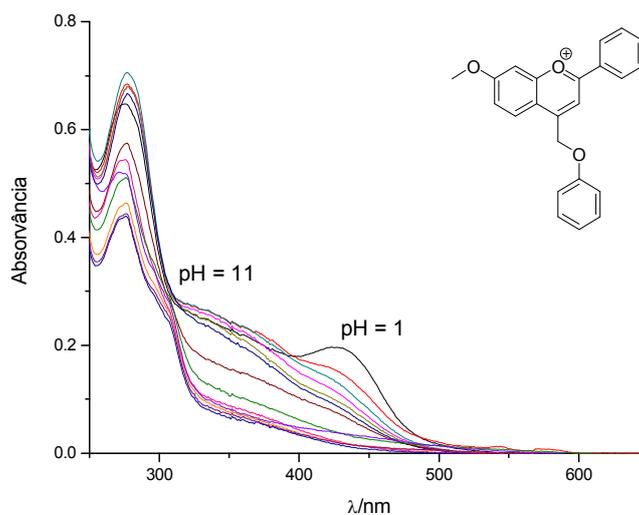


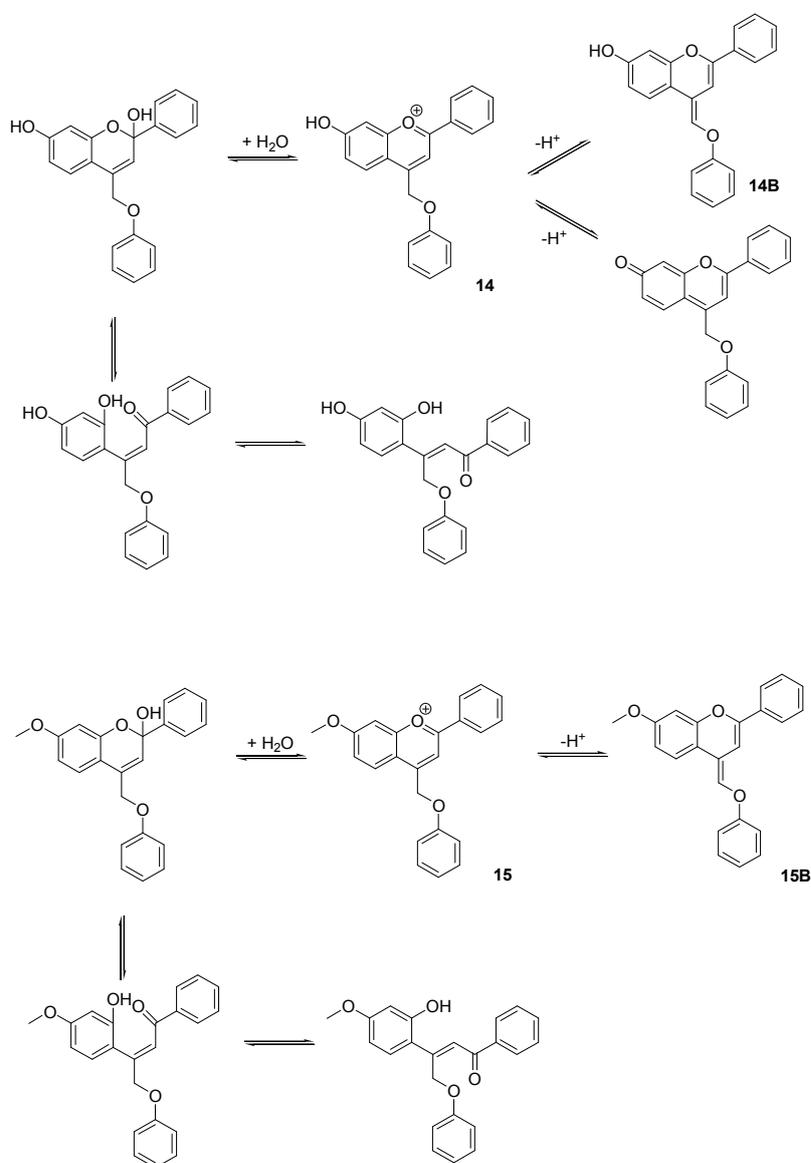
Figura 4 - espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 15 entre pH 1 e 11

Verifica-se que, em solução aquosa os dois compostos apresentaram diferenças consideráveis no seu comportamento, provavelmente devido ao grupo funcional da posição 7. Deste modo, a rede de equilíbrios estabelecidos em solução será diferente em cada composto.

Enquanto **14** possui um grupo hidroxilo que permite estabelecer equilíbrios ácido base por formação da base quinoidal, caracterizado pelo aumento da absorvância a 500 nm, em **15** devido à presença do grupo metoxi isso não é possível.^[1,9]

Além disso, a presença de uma cadeia alquílica na posição 4, pode dar origem a um comportamento ácido base que envolve a desprotonação do carbono 11, tal como reportado por Czerney e Grummt.^[26] O aumento da absorvância a cerca de 350 nm com a subida de pH é um possível indicador da formação das espécies desprotonadas **14B** e **15B**.

Contudo, os espectros de ¹H RMN obtidos a pH = 3 revelaram que se encontram diversas espécies em solução, impossibilitando a sua interpretação. A rede de equilíbrios proposta para cada composto está representada no esquema 12.



Esquema 12 – equilíbrios estabelecidos em solução por **14** e **15**

II.2.2.2. Fotoquímica

Foram irradiadas soluções aquosas de **14** e **15** a diferentes valores de pH, de modo a avaliar a fotorreatividade de cada espécie presente em solução. No caso de estes flavílios serem aplicáveis como grupos protectores fotocliváveis, esperar-se-ia que, à semelhança do que se verificou com 4-metil-coumarinas, ocorresse a clivagem da ligação C₁₁-O com conseqüente libertação do grupo fenoxi.

Contudo, em soluções equilibradas termicamente, não se observaram variações nos espectros de absorção e emissão das soluções, verificando-se que estes derivados do 4-metil-flavílio não possuem aplicabilidade como grupos protectores fotocliváveis.^[37]

II.3 Sensores de viscosidade e micelas

Neste capítulo serão estudadas as propriedades espectroscópicas do 4-(metil-2-naftil)-2-fenil-(3,2'-etnil)-benzopirílio **11** em solução e será testada a sua aplicabilidade como sensor de viscosidade, concentração micelar crítica e temperatura na presença de surfactantes de baixo peso molecular, nomeadamente o dodecilsulfato de sódio (SDS), brometo de hexadeciltrimetilamónio (CTAB), e Triton x-100, e do copolímero Pluronic® F-127.

Nos estudos espectroscópicos anteriormente realizados em **14** e **15**, foi possível verificar que a introdução de um substituinte alquilo na posição 4 do núcleo de flavílio afecta o comportamento deste tipo de composto em solução, no que respeita à possibilidade de estabelecer novos equilíbrios. Desta forma, será ainda investigada a influência do tipo de substituinte nas propriedades fisico-químicas dos sais de flavílio, através de estudos espectroscópicos do tetrafluoroborato de 2-fenil-(3,2'-etnil)-benzopirílio **3**, perclorato de 4-metil-2-fenil-(3,2'-etnil)-benzopirílio **9** e perclorato de 4-heptil-2-fenil-(3,2'-etnil)-benzopirílio **10**.

II.3.1 Estudos espectroscópicos em derivados do 4-metil-2-fenil-benzopirílio

Perclorato de 4-(metil-2-naftil)-2-fenil-(3,2'-etinil)-benzopirílio (11)

II.3.1.1 Solvatocromismo

Na figura 1a estão representados graficamente os espectros de absorção de soluções de **11** equilibradas termicamente entre 200 e 700 nm em diferentes solventes orgânicos. Pela análise dos espectros é possível verificar que o aumento da polaridade do solvente provoca uma alteração no máximo de absorção, ocorrendo um desvio hipsocrômico de aproximadamente 45 nm. Este comportamento é ainda acompanhado por uma redução significativa do coeficiente de extinção molar, demonstrado pela diminuição do valor de absorvância.

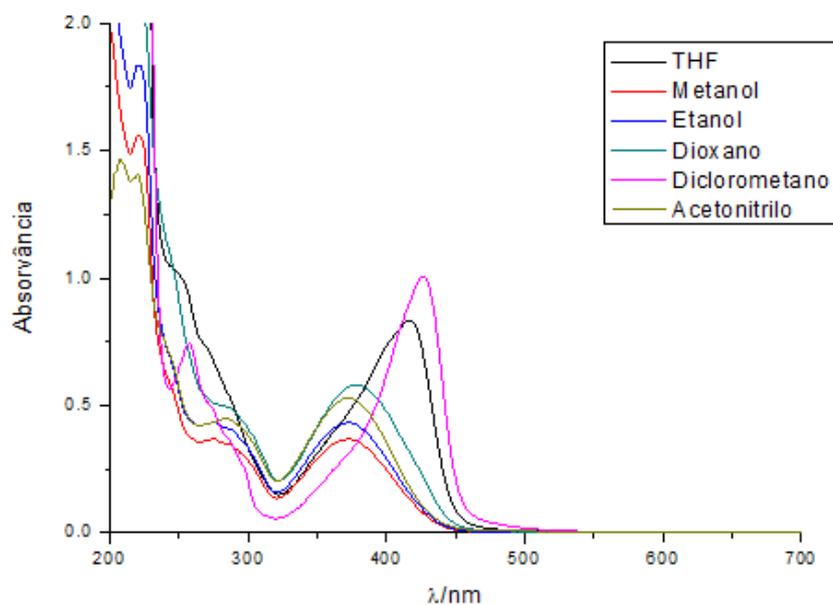
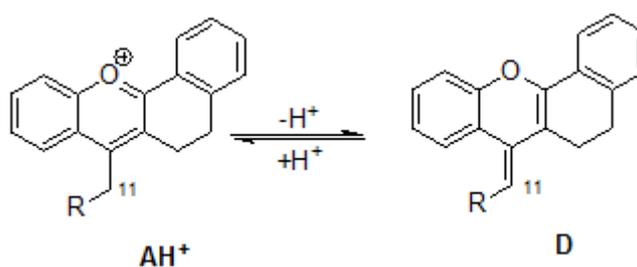


Figura 5 – espectros de absorção de soluções orgânicas de **11**

Estes dados sugerem que o flavílio **11** sofre uma transformação em solventes polares. ^[1] Contudo, a análise estrutural por espectroscopia de ressonância magnética nuclear em clorofórmio-*d* e metanol-*d*₄ rendeu dois espectros semelhantes, pertencentes ao mesmo composto. Este resultado revela que o processo responsável pela alteração do

espectro de absorção em função do solvente orgânico utilizado ocorre apenas a baixas concentrações de sal de flavílio (para $^1\text{H RMN}$ [**11**] \approx 4,2 mM).

Estudos anteriores demonstraram que derivados de sais de 4-metil-2-fenil benzopirílio exibem acidocromismo reversível devido à protonação e desprotonação do carbono 11, estabelecendo-se um equilíbrio entre o catião flavílio, AH^+ , e a forma neutra, D (esquema 13).^[26] Desta forma, investigou-se a possibilidade da formação de um equilíbrio ácido-base ser responsável pelo comportamento solvatocrômico demonstrado em vários solventes orgânicos.



Esquema 13 – comportamento ácido-base exibido por 4-alkil-flavílios

II.3.1.2 Acidocromismo

Para estudar o comportamento ácido-base de **11** efectuou-se uma titulação espectrofotométrica. Na figura 6 estão representados os espectros de absorção obtidos a diferentes valores de pH. Utilizaram-se misturas de etanol e água na proporção de 1:1 como solvente, devido à baixa solubilidade do composto em soluções aquosas. Verifica-se então que os espectros de absorção obtidos a $\text{pH} > 2$ são semelhantes aos obtidos em solventes polares.

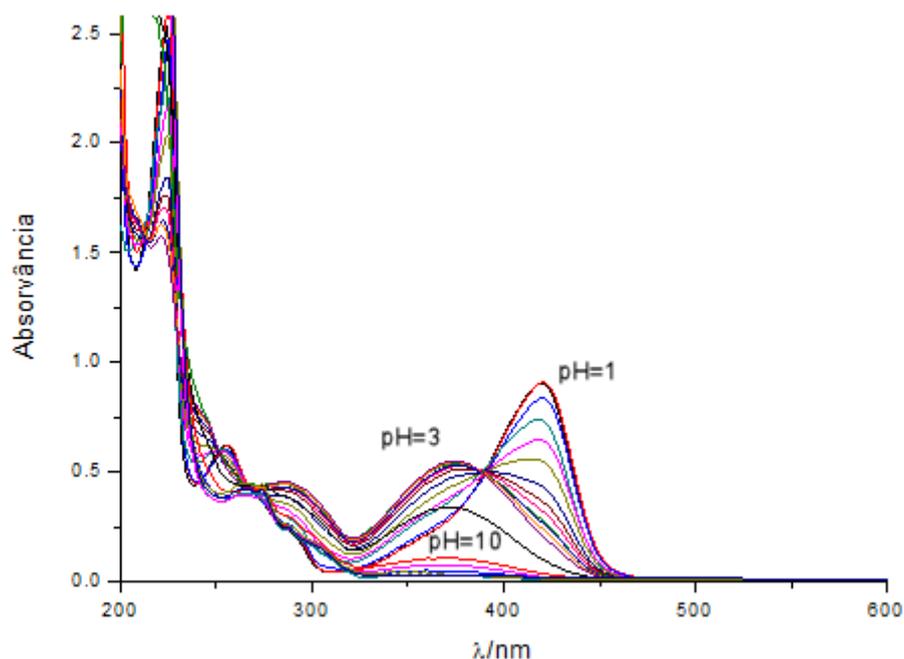
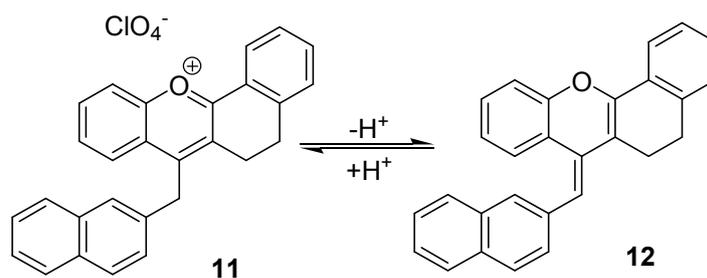


Figura 6 – espectros de absorção obtidos para soluções de **11** entre pH 1 e 10

Assim, assumiu-se que o solvatocromismo e o acidocromismo exibidos pelo flavílio **11** têm origem na desprotonação do carbono 11, para dar origem ao composto neutro **12** (esquema 14), segundo o processo demonstrado por Czerney e Grummt para este tipo de sais de flavílio.^[26]

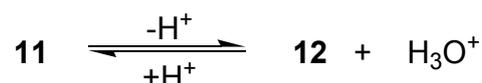


Esquema 14 - comportamento ácido base exibido pelo flavílio **11**

Para comprovar esta hipótese, o composto **12** foi sintetizado directamente e analisado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (ver II.1.3.)

Através dos dados obtidos na titulação espectrofotométrica é possível determinar a constante de acidez do flavílio **11**.

Dado que:



A constante da reacção, K_a , será:

$$K_a = \frac{[12] [H_3O^+]}{[11]}$$

Assumindo que até $pH = 3$ apenas existem as duas espécies em equilíbrio, é possível definir K_a em função das fracções molares:

$$K_a = \frac{\chi_{12} [H_3O^+]}{\chi_{11}}$$

Pela lei de Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c,$$

é possível relacionar a fracção molar de **11** e **12** com os valores de absorvância ao comprimento de onda de maior coeficiente de extinção molar, i.e., por normalização dos valores de A_{420} e A_{375} obtêm-se os valores de χ_F e χ_B , respectivamente.

Pela equação de Henderson-Hasselbalch é possível estabelecer a relação entre o valor de pH do meio, a constante de acidez e a fracção molar das espécies:

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{\chi_{12}}{\chi_{11}}\right)$$

Pela aproximação anterior, para $pH < 3$, $\chi_{11} + \chi_{12} = 1$, então:

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{1 - \chi_{11}}{\chi_{11}}\right) \Leftrightarrow$$

$$pH - pK_a = \log\left(\frac{1 - \chi_{11}}{\chi_{11}}\right) \Leftrightarrow$$

$$10^{pH - pK_a} + 1 = \frac{1}{\chi_{11}} \Leftrightarrow$$

$$\chi_{11} = \frac{1}{(10^{pH - pK_a}) + 1} \quad (2)$$

Fazendo o ajuste da função (2) aos valores experimentais é, então, possível determinar um valor da constante de acidez, K_a , de $10^{-1,8}$. Na figura 7 estão representados os valores de χ_F em função do pH, bem como o ajuste dos valores teóricos obtidos pela função (2)

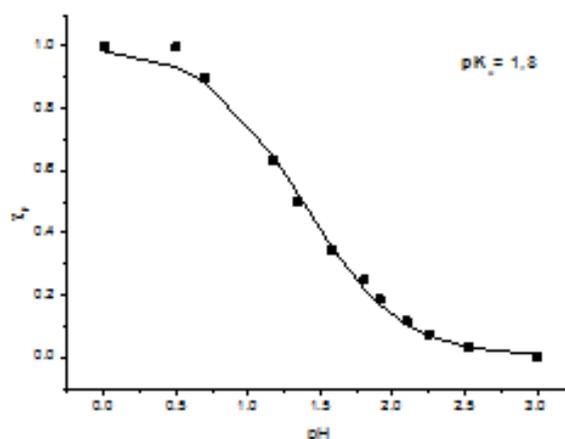


Figura 7 – curva de titulação de 11 e respectivo ajuste teórico aos valores experimentais

Por outro lado, na figura 6 observa-se que a $\text{pH} > 4$ ocorre uma redução da absorvância a 375 nm, acompanhada de um aumento em torno dos 250 nm. Este resultado pode ser explicado pela transformação do flavílio **11** em espécies não coradas (hemiacetal e chalconas), demonstrando-se que a desprotonação do carbono 11 compete com as reacções de hidratação, tautomerização e isomerização típicas dos sais de flavílio (esquema 15). A previsão espectral por cálculos computacionais demonstra que os espectros obtidos para $\text{pH} > 4$ são compatíveis com a mistura das espécies, como se pode verificar pela análise da figura 8.

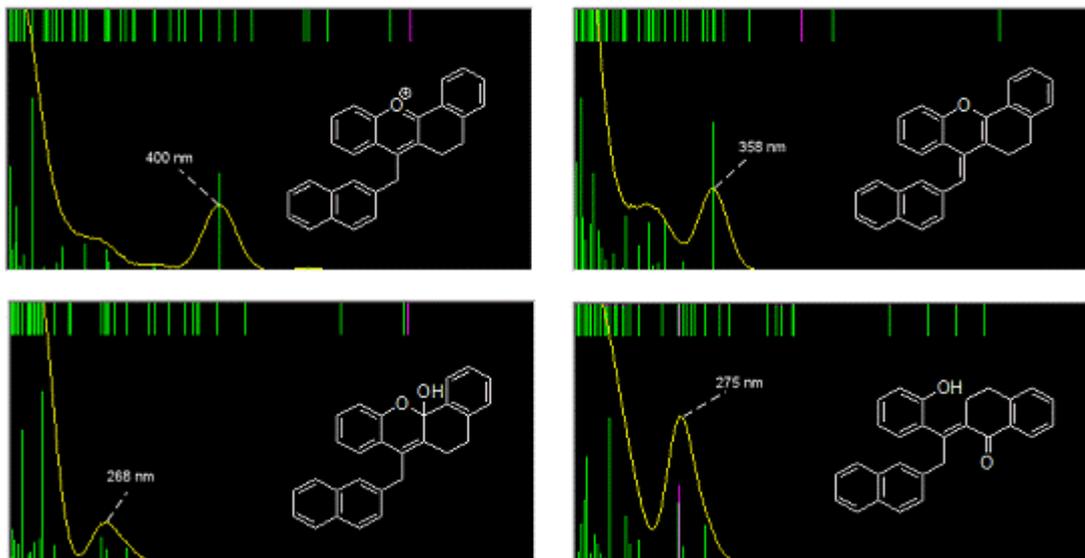
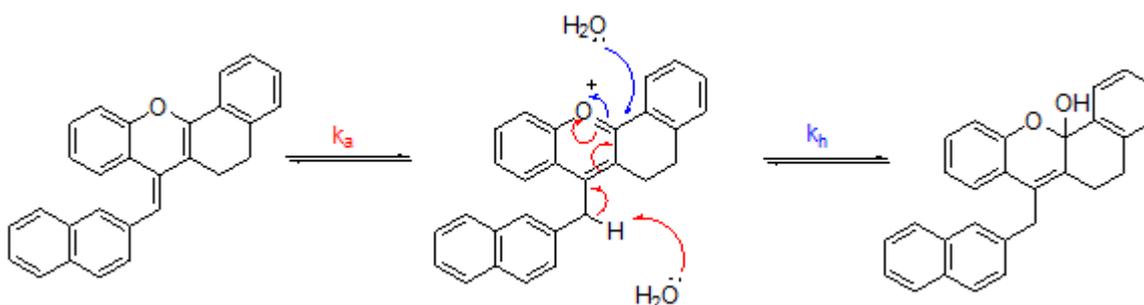


Figura 8 – espectros de absorção de **11** e espécies em equilíbrio gerados por computação

II.3.1.2.1 Cinética

Tendo em consideração que a formação das espécies resultantes da hidratação do núcleo de flavílio é relevante a valores de pH mais elevados, torna-se mais favorável que a formação de **12** por desprotonação do carbono 11. (esquema 15)



Esquema 15 – equilíbrios mantidos por **11** em solução de pH > 2

De facto, os estudos cinéticos da reacção ácido-base revelaram que a velocidade de formação da espécie desprotonada diminui com o aumento de pH.

Na figura 9 estão representados os espectros de absorvância obtidos durante dez minutos após a adição de uma solução concentrada da espécie **11** a uma mistura de água e etanol 1:1 a pH = 2,5.

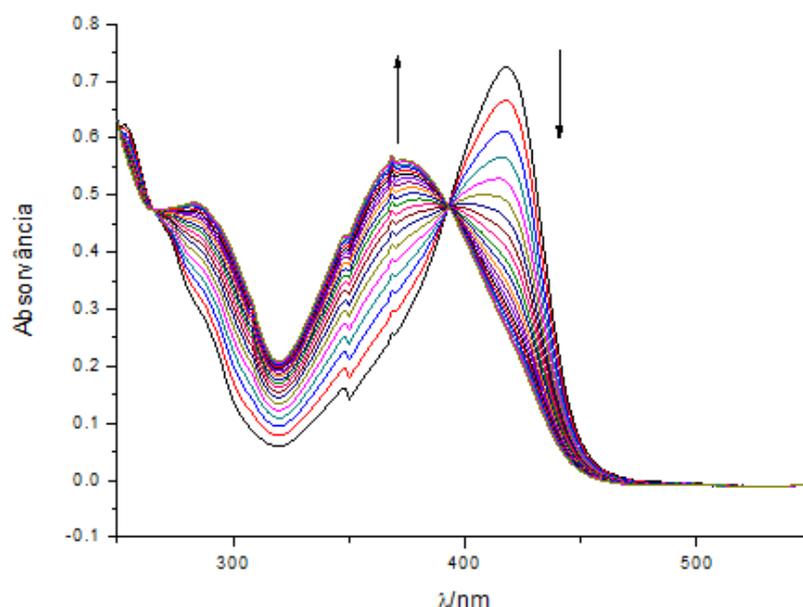


Figura 9 – evolução temporal do espectro de absorção de uma solução de 11 a pH 2,5

A partir da variação da absorvância ao longo do tempo é possível determinar a constante cinética da reacção, através da linearização da curva A_{\max} vs. tempo. A linearização obtida corresponde a uma cinética de primeira ordem, i.e. $\ln(A)$ vs tempo, cuja constante de velocidade pode ser calculada pelo ajuste da função

$$A = A_0 e^{-kt} + A_f$$

à curva A_{\max} vs. tempo, onde A_0 é a absorvância ao tempo 0, e A_f a absorvância para $t = \infty$. Dado que se trata de uma reacção ácido-base entre o flavílio **11** e a água, a ordem da reacção corresponde ao expectável.^[46] Contudo, o tempo necessário para atingir o equilíbrio, ca. oito minutos, revela que esta reacção envolve a permuta de protões ligados a carbonos.^[47-50]

Na figura 10 estão representados os valores das constantes cinéticas da reacção observadas em função da concentração de protões. Verifica-se então que a velocidade diminui com o aumento do pH, como seria de esperar pela análise da figura 6, i.e., para pH elevados a desprotonação de **11** é mais lenta, favorecendo a formação de outras espécies não coradas (possivelmente hemiacetal e chalconas)

É de notar ainda que os baixos valores das constantes cinéticas ($< 1 \text{ s}^{-1}$) contrastam bastante com os valores das constantes de reacção ácido-base de heteroátomos ($> 10^5 \text{ s}^{-1}$).^[51]

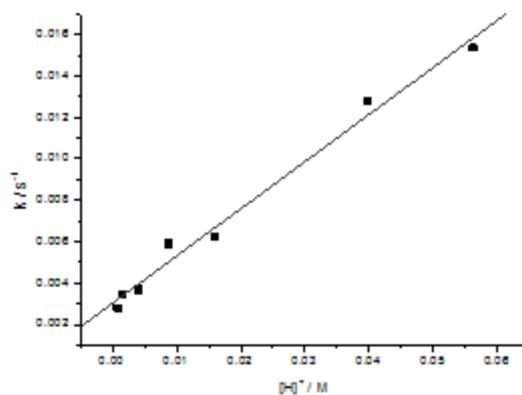


Figura 10 – valores da constante de velocidade de desprotonação observada de **11** em função da concentração em prótons

II.3.1.3 Fluorescência

As características de emissão das espécies **11** e **12** foram investigadas em solventes orgânicos e em misturas de água e etanol 1:1. Na figura 11 estão representados os espectros de emissão do composto **11** em clorofórmio, e do composto **12** em metanol. Verifica-se que ambas as espécies têm uma emissão residual, que difere bastante da emissão intensa típica dos flavílios. Este efeito deve-se provavelmente à presença do grupo naftaleno como substituinte da posição 4.

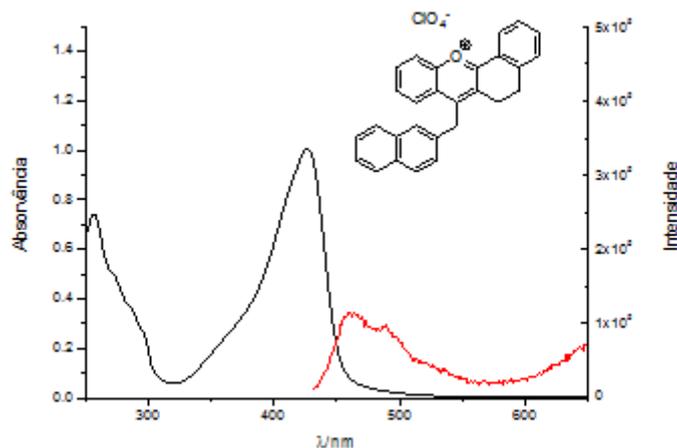


Figura 11 - Espectro de emissão e absorção de uma solução de **11** em clorofórmio

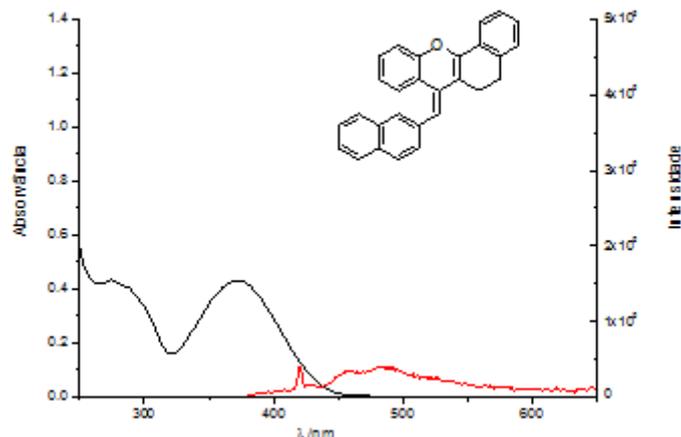


Figura 12 - Espectro de emissão e absorção de uma solução de 12 em acetonitrilo

De modo a avaliar a influência do grupo naftaleno nas propriedades físico-químicas do 4-(metil-2-naftil)-2-fenil-benzopirílio, foram estudados três compostos com diferentes grupos funcionais ligados à posição 4 do núcleo de flavílio (hidrogénio, metilo e heptilo).

II.3.2 Tetrafluoroborato de 2-fenil-(3,2'-etil)-benzopirílio (3)

II.3.2.1 Solvatocromismo

Na figura 13 estão representados os espectros de absorção de **3** obtidos em vários solventes orgânicos. O solvatocromismo exibido por este flavílio difere do comportamento apresentado por **11**, no que respeita à formação de uma banda de absorção a entre 320-350 nm. Este resultado sugere que o flavílio **3** não sofre a transformação estrutural demonstrada por **11**, dando apenas origem a espécies resultantes da hidratação. Tal resultado seria de esperar, visto que **3** não possui grupos substituintes que permitam estabelecer um equilíbrio ácido base. Os espectros de absorção gerados por cálculos computacionais, representados na figura 14, apoiam esta hipótese.

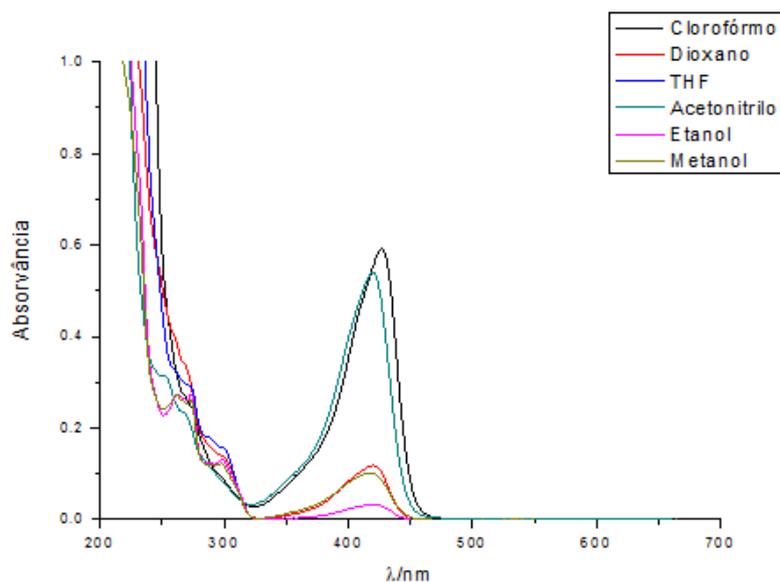


Figura 13 – espectros de absorção de soluções orgânica de 3

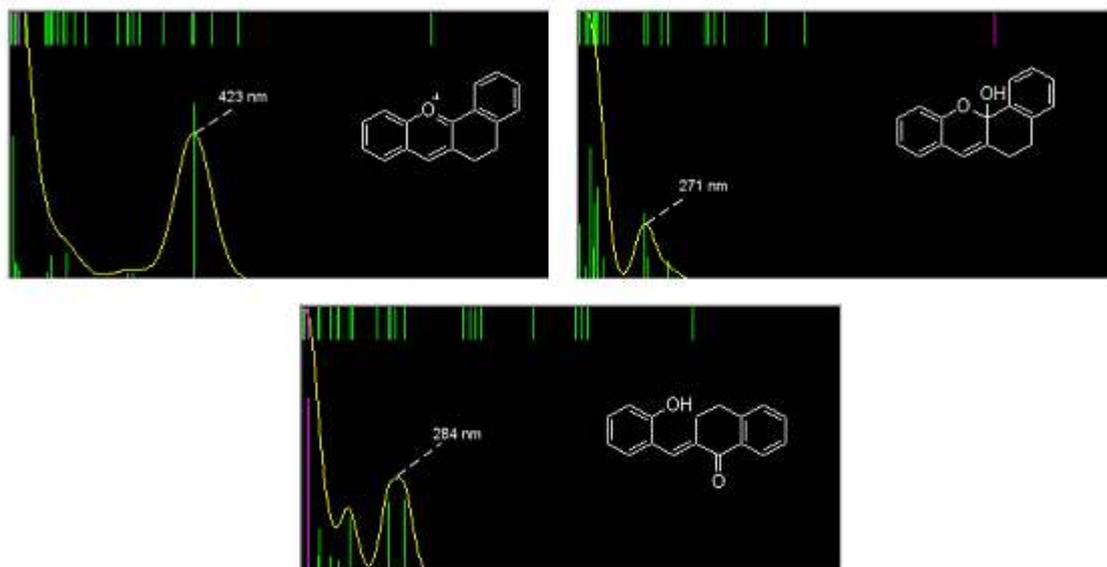


Figura 14 – espectros de absorção de 3 e espécies em equilíbrio gerados por computação

II.3.2.2 Acidocromismo

O acidocromismo exibido por **3** na titulação ácido-base foi semelhante ao solvatocromismo apresentado, verificando-se apenas a formação de espécies resultantes da hidratação. Deste modo, verifica-se que na ausência de um grupo substituinte na posição 4, o comportamento de **3** em solução aquosa é semelhante ao demonstrado por

sais de flavílio não funcionalizados. A pH = 11, observa-se um aumento na absorvância a cerca de 440 nm, que se deve provavelmente à formação da espécie Ct^- , por desprotonação de Ct (figura 15).

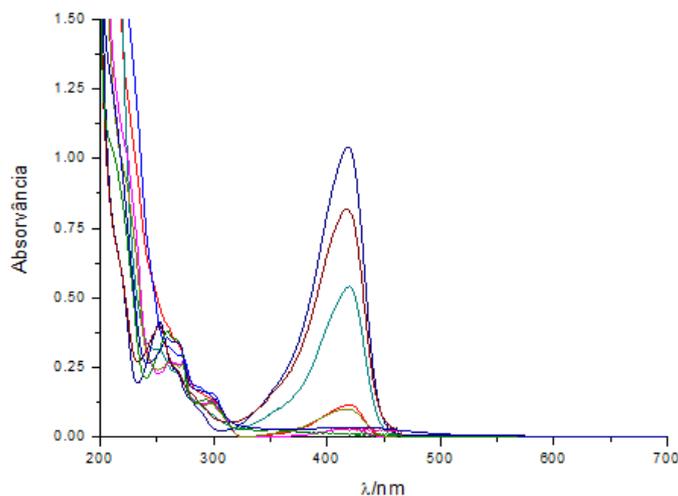


Figura 15 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de **3** entre pH 1 e 11

II.3.2.3 Fluorescência

Na figura 16 está representado o espectro de emissão de **3** em clorofórmio, sendo possível observar uma elevada intensidade de fluorescência típica dos sais de flavílio. Deste modo confirma-se que o grupo naftaleno de **11** demonstra uma influência significativa no comportamento do estado excitado deste composto, que reduz a sua intensidade de emissão.

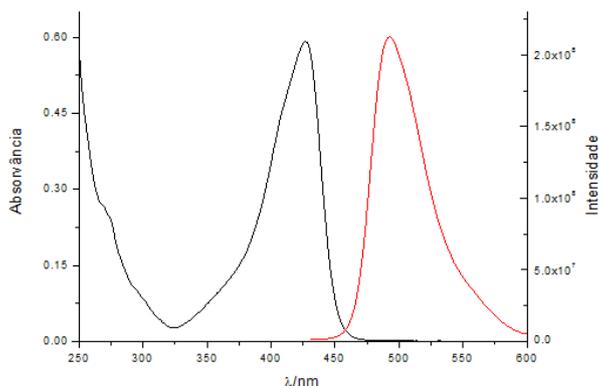


Figura 16 – espectros de emissão e absorção de uma solução de **3** em diclorometano

II.3.3 Perclorato de 4-metil-2-fenil-benzopirílio (9)

II.3.3.1 Solvatocromismo

Os espectros de absorção em vários solventes orgânicos do composto metilado na posição 4, **9**, estão representados na figura 17. À semelhança do que acontece com o composto **11**, verifica-se a ocorrência de um solvatocromismo acentuado, caracterizado por um hipsocromismo de ca. 60 nm, acompanhado de uma redução significativa do valor de absorvância em solventes polares. Novamente, esta transformação ocorreu apenas em soluções diluídas, não se notando diferenças entre os espectros de ^1H RMN obtidos em clorofórmio-*d* e metanol-*d*₄.

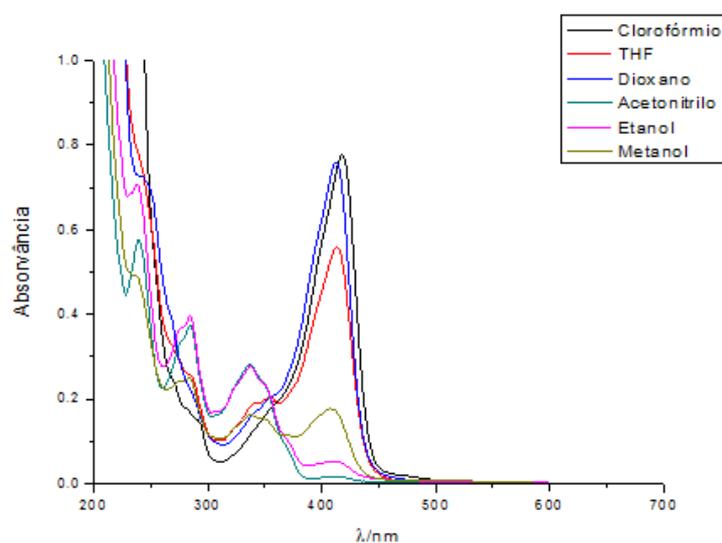


Figura 17 – espectros de absorção de soluções orgânicas de **9**

II.3.3.2 Acidocromismo

Através da titulação ácido-base espectrofotométrica o composto **9** exibiu um comportamento semelhante ao flavílio **11**, como se pode verificar pela análise da figura 18a, onde se encontram representados os espectros de absorção entre 200 e 600 nm de

pH 1 a 6. Contudo, a forma básica deste flavílio apresenta uma maior estabilidade a pH mais alto, não se verificando uma redução do valor de absorvância tal como acontecia para o composto **11**.

A constante de acidez foi determinada pelo método descrito anteriormente, obtendo-se um valor de $pK_a = 2,7$. A curva de titulação obtida está representada na figura 18b, bem como o respectivo ajuste teórico.

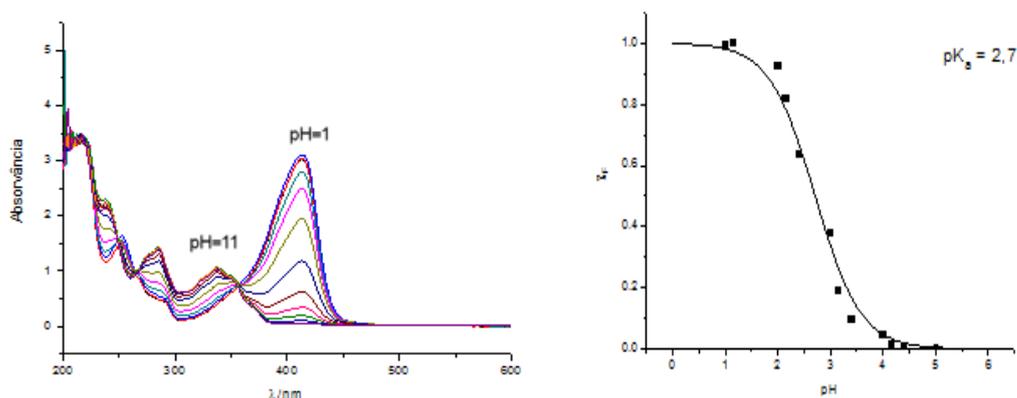


Figura 18 – a) espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 9 entre pH 1 e 11; b) curva de titulação e respectivo ajuste teórico

Devido às limitações técnicas a síntese directa da forma desprotonada do flavílio **9**, discutidas anteriormente (ver ponto II.1.3), foi necessário preparar uma solução de **9** em metanol-*d*4 na presença de hidróxido de sódio-*d* de modo a comprovar a estrutura da forma desprotonada por espectroscopia de RMN. Contudo os espectros obtidos revelaram a presença de mais do que uma estrutura, correspondendo provavelmente a uma mistura da espécie desprotonada **9B** e das espécies resultantes da hidratação do núcleo de flavílio - hemiacetal e chalconas. Esta hipótese é apoiada pelas bandas de absorção a 240 e 280 nm dos espectros obtidos para soluções com $pH > 2,5$. Os espectros de absorção gerados por cálculos computacionais são compatíveis com uma mistura entre base e chalcona, como se pode verificar pela análise da figura 19.

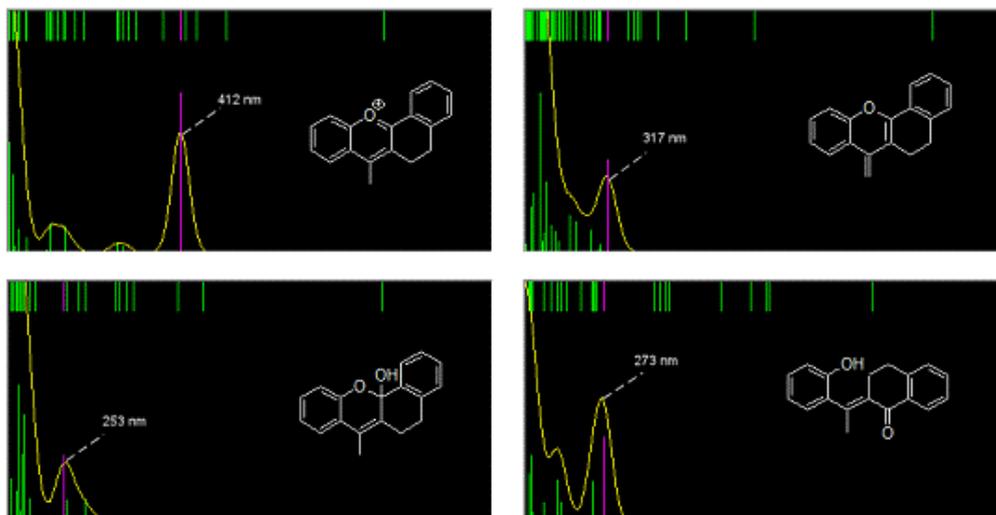


Figura 19 – espectros de absorção de **9** e espécies em equilíbrio gerados por computação

II.3.3.2.1 Cinética

Não foi possível determinar a constante cinética para a reacção de desprotonação do carbono 11 do flavílio **9**, uma vez que a reacção ocorre num intervalo de tempo muito reduzido. Devido a limitações instrumentais, só é possível obter o primeiro espectro cerca de 15 segundos depois da adição de flavílio ao meio, que é superior ao tempo necessário para a total extinção da espécie protonada aos valores de pH utilizados.

II.3.3.3 Fluorescência

Os espectros de fluorescência do composto **9** obtidos para uma solução em água e etanol 1:1 a pH = 1 e pH = 4 estão representados nas figuras 20 e 21. Verifica-se que a pH ácido a emissão é intensa, comparável à do composto não funcionalizado, **3**. Este resultado sugere que o grupo metilo não influencia significativamente o decaimento do estado excitado dos flavílios. Por outro lado, a pH mais alto, a intensidade de fluorescência é bastante mais reduzida, mostrando que o estado excitado da espécie neutra pode estar envolvido em processos não radiativos que competem com o decaimento por fluorescência.^[52]

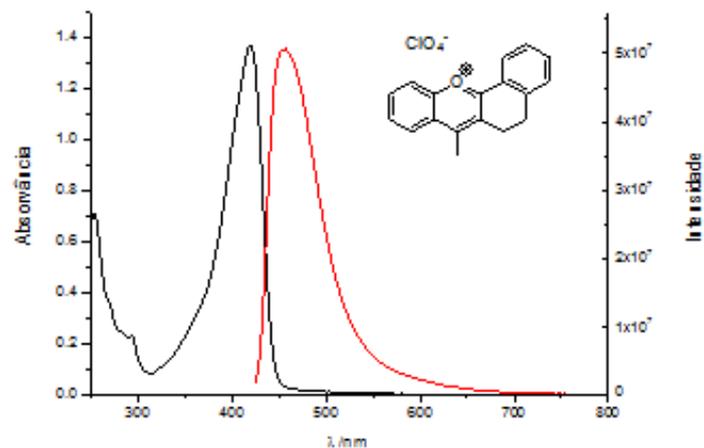


Figura 20 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 9 em clorofórmio

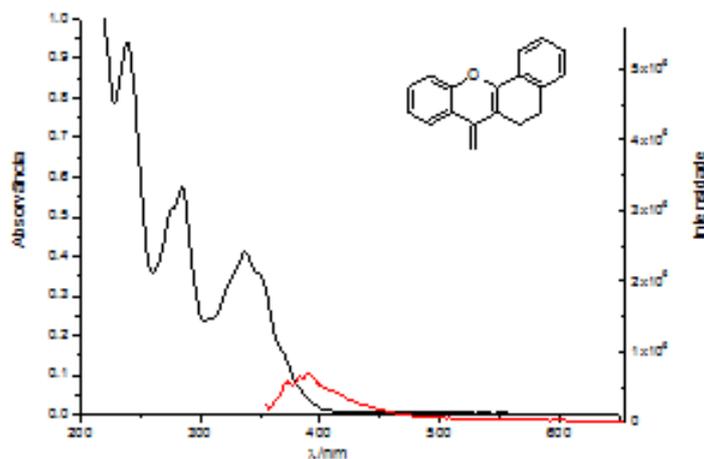


Figura 21 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 9 em acetonitrilo

II.3.4. Perclorato de 4-heptil-2-fenil-benzopirílio (10)

II.3.4.1 Solvatocromismo

Os espectros de absorção em vários solventes orgânicos do composto substituído na posição 4 com uma cadeia alquílica longa, **10**, estão representados na figura 22. Pela sua análise, é possível constatar que à semelhança do que ocorre nos flavílios **11** e **9**, existe ocorrência de solvatocromismo acentuado.

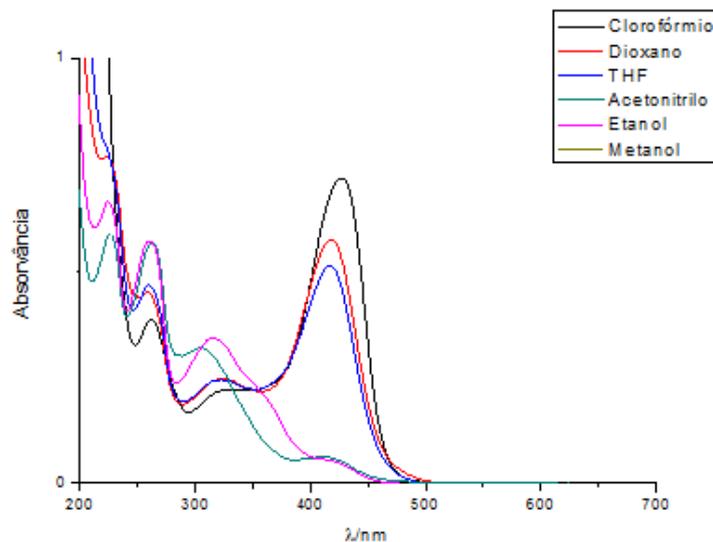


Figura 22 - espectros de absorção de soluções orgânicas de **9**

Mais uma vez, este efeito só era demonstrado em soluções diluídas, pelo que se obtiveram espectros de H-RMN idênticos em solventes de polaridades distintas (clorofórmio e metanol).

II.3.4.2 Acidocromismo

O acidocromismo exibido por **10**, evidenciado nos espectros da figura 23a, é semelhante ao demonstrado por **9**, i.e., com o aumento do valor de pH ocorre uma redução da absorvância a 430 nm correspondente ao cátion flavílio, acompanhado por uma subida da densidade óptica abaixo dos 350 nm, correspondente à forma desprotonada e às espécies resultantes da hidratação da posição 2. Os espectros de absorção gerados por cálculos computacionais são compatíveis com uma mistura entre base e chalcona, como se pode verificar pela análise da figura 24.

Ao contrário do comportamento exibido por **9**, a $\text{pH} > 4$, verifica-se uma redução do valor de absorvância correspondente à espécie desprotonada, à semelhança do que aconteceu na titulação de **11**.

O valor de pK_a obtido pelo ajuste da equação de Henderson-Hasselbalch aos valores de χ_F vs pH, foi de 2,7. A curva de titulação obtida está representada na figura 23b.

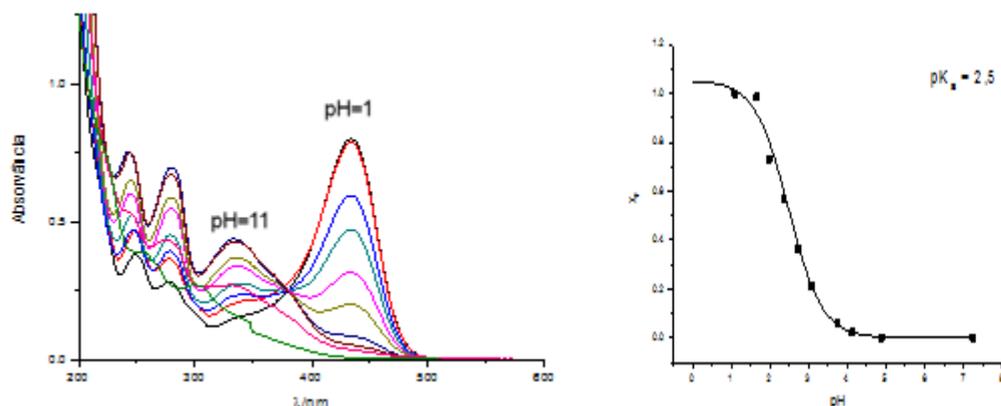


Figura 23 – a) espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de **10** entre pH 1 e 11; b) curva de titulação e respectivo ajuste teórico

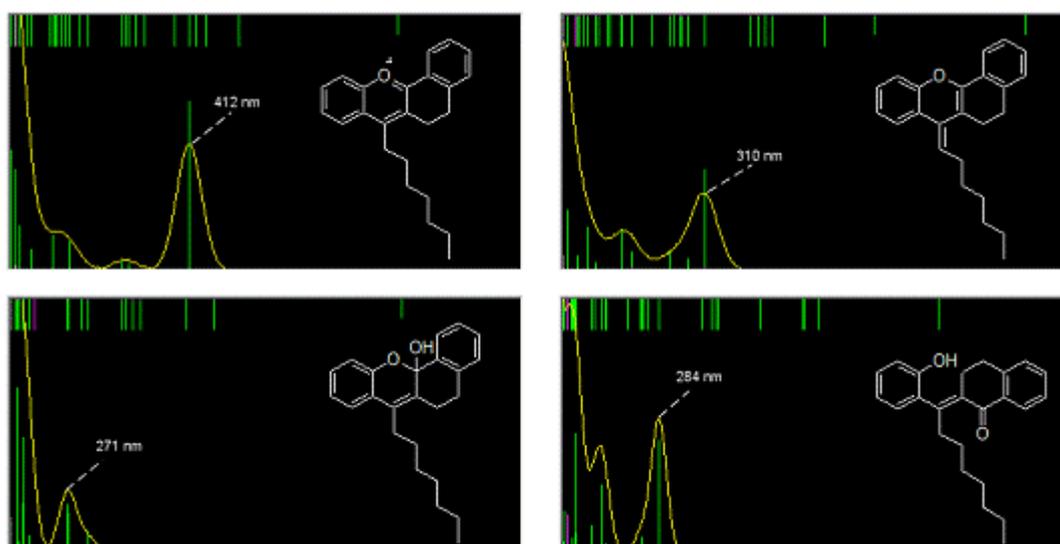


Figura 24 – espectros de absorção de **10** e espécies em equilíbrio gerados por computação

II.3.4.2.1 Cinética

A reacção de desprotonação do carbono 11 deste flavílio ocorre numa escala de tempo que permite a determinação da constante cinética pelo método utilizado anteriormente para **11**. Desta forma, calcularam-se as constantes de velocidade a seis valores de pH diferentes. À semelhança de **11**, este composto demonstrou uma dependência linear entre o valor da constante cinética observada e a concentração de prótons (figura 26), o que explica a redução da banda de absorção correspondente à forma **10B** a pH mais elevado.

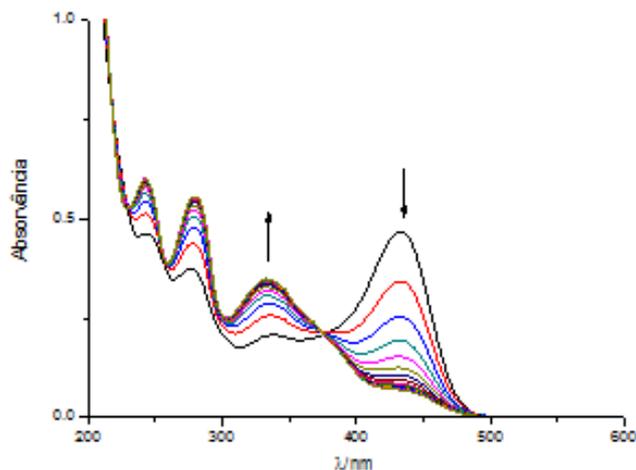


Figura 25 – evolução temporal do espectro de absorção de uma solução de 10 a pH 3,5

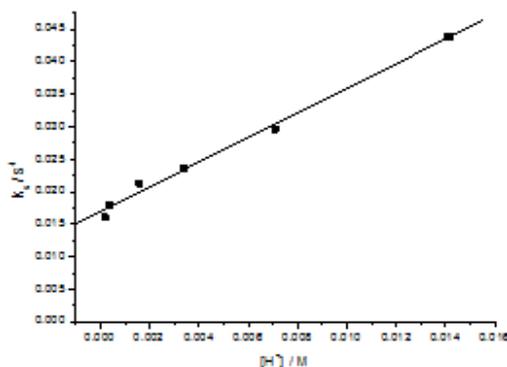


Figura 26 – valores de kd de 10 em função da concentração em prótons

II.3.4.3 Fluorescência

Nos espectros de emissão representados na figura 27, é possível observar que as espécies **10** e **10B** são ambas mais fluorescentes que os seus análogos com o grupo naftaleno. Por outro lado, as espécies metiladas apresentam maior intensidade de emissão. Apesar da natureza química semelhante do grupo metilo e heptilo (cadeias alifáticas saturadas), este resultado pode ser explicado pelo tamanho da cadeia linear, que possui diversos estados vibracionais e permite a desactivação do estado excitado por processos não radiativos.^[52]

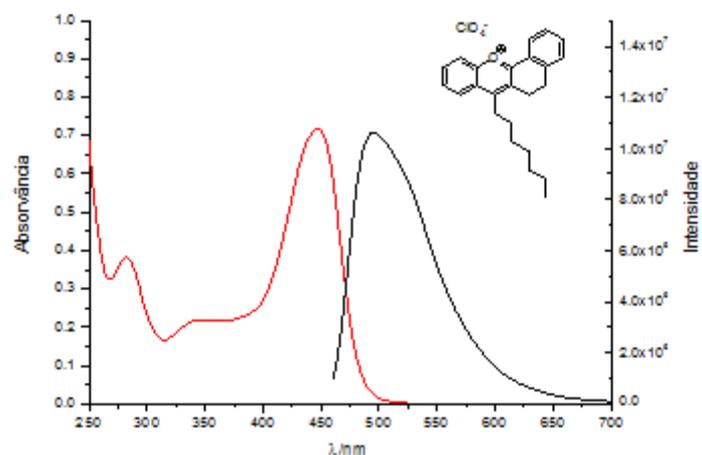


Figura 27 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 10 em clorofórmio

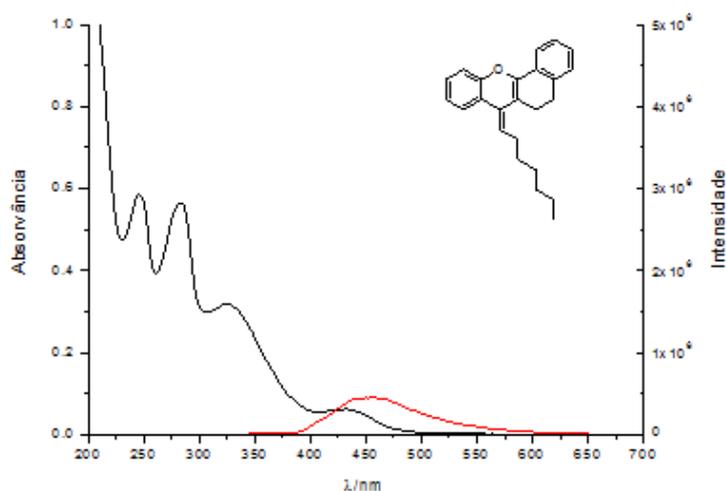
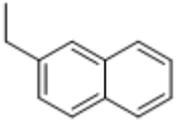


Figura 28 - Espectros de emissão e absorção de uma solução de 10 em acetonitrilo

II.3.5 Efeito do grupo substituinte da posição 4

Com estes resultados é possível concluir que a natureza do grupo substituinte na posição 4 tem grande influência nas propriedades físico-químicas dos sais de flavílio. Na tabela 6 estão sistematizadas as principais diferenças observadas nos estudos efectuados.

Tabela 6 – propriedades fisicoquímicas em função do grupo substituinte da posição 4

composto	11	9	10	3
substituinte		CH ₃	(CH ₂) ₆ CH ₃	H
pKa	1,8	2,7	2,5	Não determinado
k _d (ao pKa) (s ⁻¹)	0,0066	Não determinada	0,022	Não determinada
Emissão (intensidade relativa)	1,0	320	84	1290

Em relação ao equilíbrio ácido base estabelecido em solução verifica-se que o grupo substituinte altera não só o valor da constante de dissociação, como também a velocidade de desprotonação. Os valores de pKa obtidos para os compostos com substituintes alifáticos, 2,7 (**9**) e 2,5 (**10**), são semelhantes indicando que o comprimento da cadeia tem pouca influência na estabilidade da base conjugada. Contudo, a introdução de um grupo aromático aumenta dez vezes mais a constante de dissociação devido à estabilização da base por conjugação com o grupo naftaleno. Por outro lado, a velocidade da reacção de desprotonação diminui com o aumento do tamanho do substituinte. No composto **9**, onde o substituinte é um grupo metilo, a reacção de desprotonação ocorre num intervalo de tempo inferior a 15 segundos. No caso de **11** e **10**, com grupos substituintes mais volumosos, a velocidade da reacção é menor, sendo necessários alguns minutos para a total desprotonação do carbono 11 do catião flavílio. Além disso, as constantes cinéticas obtidas para **11** são cerca de dez vezes menores que as obtidas para o caso de **10**. Essa diferença pode ser explicada pela elevada densidade electrónica do grupo naftaleno, que dificulta o ataque ao protão, efeito menos acentuado no caso de uma cadeia alifática linear.

A funcionalização da posição 4 influencia igualmente as propriedades do estado excitado dos compostos estudados. Verifica-se que o flavílio não funcionalizado, **3**,

apresenta uma fluorescência mais intensa que qualquer outro análogo substituído na posição 4. Com efeito, o composto metilado, **9**, apresenta uma fluorescência cerca de quatro vezes menos intensa, indicando que a introdução do grupo metilo proporciona novos mecanismos de decaimento não radiativo que não estão presentes em **3**. O aumento da cadeia do substituinte alquílico provoca uma redução adicional da intensidade de fluorescência, sendo **10** cerca de quatro vezes menos emissivo que **9**. Este resultado deve-se provavelmente ao relaxamento vibracional permitido por uma cadeia linear de sete carbonos.^[52]

A presença do grupo naftaleno provoca ainda uma redução mais significativa na intensidade da fluorescência, sendo mais de mil vezes inferior à do flavílio não funcionalizado.

II.4 Aplicações como sensores de micelas e viscosidade

O flavílio **11** e a sua base conjugada **12** possuem na sua estrutura componentes que lhes conferem potencial interesse como sondas de fluorescência para medidas de viscosidade. Por um lado, o composto catiónico possui um núcleo electrodeficiente (2-fenil-benzopirílio) ao qual se encontra ligado um grupo aromático policíclico (naftaleno) que pode rodar livremente em torno da sua ligação sigma. Deste modo, espera-se que, à semelhança do que ocorre nos rotores moleculares^[53,54], este composto possa exibir a ocorrência de transferência de carga no estado excitado, introduzindo uma via de desactivação não radiativa que compete com a fluorescência típica dos flavílios.^[1,8,52] Por outro lado, a espécie neutra deste composto, **12**, poderá sofrer uma isomerização *cis-trans* da ligação dupla, processo que compete com o decaimento radiativo do composto.

Uma vez que, tanto a transferência de carga no caso do flavílio, como a isomerização no caso da sua base conjugada, envolvem um movimento rotacional em torno da ligação C¹⁰-C¹¹, estes processos poderão ser afectados pelo volume livre no microambiente circundante.

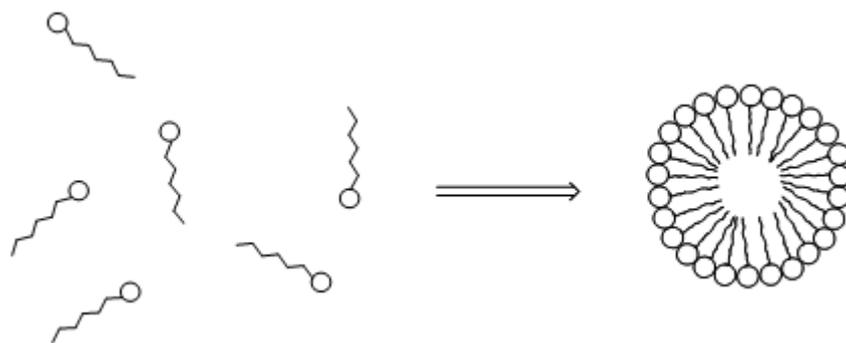
Esta hipótese foi testada em misturas de diclorometano e polisiloxano, e em soluções aquosas de glicerol e dos surfactantes dodecilsulfato de sódio (SDS), brometo de hexadeciltrimetilamónio (CTAB), Triton X-100 e Pluronic F-127®.

II.4.1 Determinação da viscosidade por medidas de fluorescência

Ambos os compostos **11** e **12** mostraram-se ineficazes como sensores fluorescentes de viscosidade, uma vez que os seus espectros de emissão permaneceram inalterados nas soluções de glicerol e polisiloxano.

II.4.2 Surfactantes

Surfactantes (*surface active agents*) são compostos orgânicos utilizados para reduzir a tensão superficial e aumentar o índice de molhabilidade de líquidos. O seu carácter anfílico, resultante de um grupo hidrofóbico e hidrofílico na sua estrutura, permitem a capacidade de formar agregados como micelas e vesículas em solução a partir de uma concentração característica, designada por concentração micelar crítica. (Esquema 16).



Esquema 16 – representação da agregação de monómero de surfactante em micelas esféricas

O interior desses agregados constitui um microambiente com características diferentes do solvente utilizado, nomeadamente ao nível da polaridade, viscosidade e tipos de interações intermoleculares. Existem diversos relatos da influência de micelas nas propriedades físico-químicas de compostos, em particular na alteração de equilíbrios e processos fotoquímicos de flavílios.^[55-57]

Neste capítulo serão estudados os efeitos da formação de micelas no comportamento de **11** e **12**.

II.4.2.1 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(2-naftilmetil)-benzopirílio (**11**)

O composto catiónico **11** não exibiu variações de fluorescência na presença de diferentes concentrações de surfactantes, pelo que só serão discutidos os resultados correspondentes ao composto **12**

A capacidade de **12** actuar como sensor de micelas foi avaliada por titulações espectrofluorimétricas com soluções aquosas de surfactantes.

A formação de micelas de surfactantes iónicos foi também determinada por medidas de condutimetria para efeitos de comparação com os resultados obtidos por espectrofluorimetria.

II.4.2.2. 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(2-naftilmetileno)-benzopirílio (**12**)

II.4.2.2.1 SDS

O dodecilsulfato de sódio (SDS) é um surfactante aniónico composto por uma cadeia alifática de 12 carbonos ligada a um grupo sulfato que lhe conferem as suas propriedades anfífilicas (figura 29). É um dos surfactantes mais utilizados em diversas aplicações, pelo que o seu comportamento em solução encontra-se extensivamente caracterizado. É de salientar que são admitidas duas concentrações críticas micelares para o SDS - CMC_1 e CMC_2 , correspondentes à formação de micelas esféricas e de agregados cilíndricos, respectivamente. Os valores descritos na literatura são de ca. 8,0 mM e ca. 40,0 mM.^[58-60]

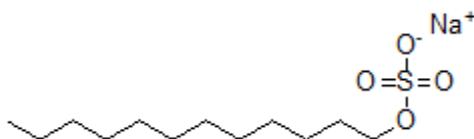


Figura 29 – estrutura molecular do SDS

Na figura 30 estão representados graficamente os espectros de absorção obtidos a diferentes concentrações de SDS. Verifica-se que **12** não exhibe solvatocromismo na presença deste surfactante, sendo, por isso, possível comparar os espectros de emissão entre si. Utilizou-se uma gama de concentrações em SDS entre 0,58 mM e 0,17 M, de modo a cobrir ambas as concentrações micelares críticas deste surfactante.

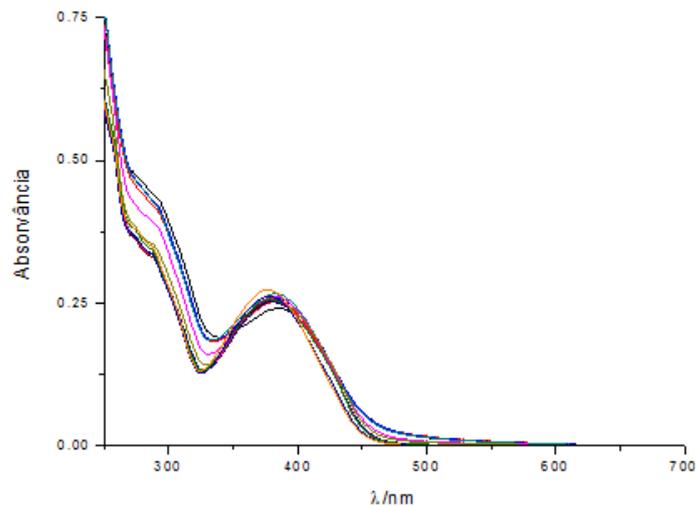


Figura 30 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 12 com diferentes concentrações de SDS

A análise dos espectros de emissão das mesmas soluções, representados na figura 31, permite verificar que existe um aumento da intensidade de emissão com o aumento de concentração de surfactante em solução. É de notar ainda que a intensidade se mantém constante nas soluções de menor concentração de surfactante, aumentando apenas a partir de 8,7 mM de SDS.

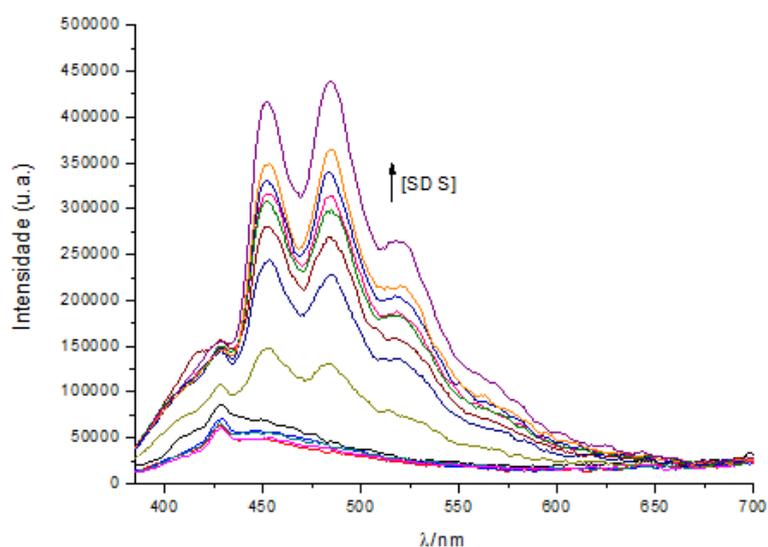


Figura 31 – espectros de emissão obtidos para soluções aquosas de **12 com diferentes concentrações de SDS**

As medidas de condutividade apoiam os resultados obtidos, permitindo concluir que o aumento de fluorescência está directamente relacionado com a formação de micelas.^[58,60]

É de notar ainda que o valor obtido para a CMC (ca. 8,7 mM) corresponde ao valor descrito na literatura, podendo-se concluir que a presença de **12** não tem influência na agregação de moléculas de SDS, à concentração utilizada.

Pela análise do gráfico de I vs [SDS] representado na figura 32, verifica-se ainda a presença de um segundo ponto de inflexão. Este dado pode estar relacionado com a alteração da estrutura das micelas que ocorre à segunda concentração micelar crítica.^[60] O valor obtido (ca. 43,4 mM) está de acordo com outros valores reportados na literatura.^[60] É de notar a importância das técnicas espectrofluorimétricas na detecção da CMC₂, que representam uma alternativa às técnicas convencionais de elevada complexidade técnica. Salienta-se ainda o facto de esta alteração estrutural dos agregados não ser detectada pela técnica de condutimetria vulgarmente utilizada.^[59]

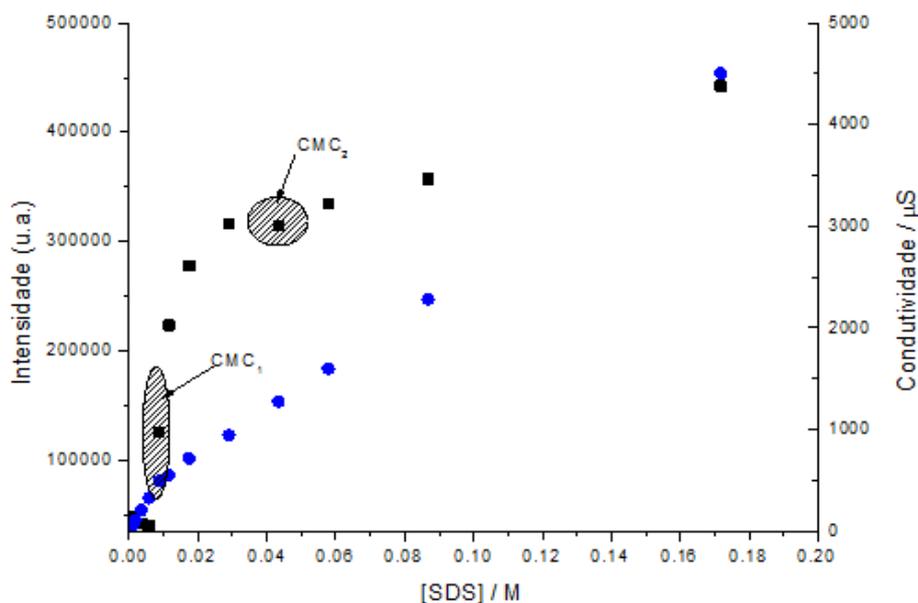


Figura 32 – valores de intensidade de emissão máxima (■) e de condutividade (●) de soluções aquosas de 12 em função da concentração de SDS

II.4.2.2.2. CTAB

O brometo de hexadeciltrimetil amónio (figura 33) é um surfactante catiónico com uma estrutura semelhante ao SDS, composto por uma cadeia de dezasseis carbonos ligada a um grupo amónio. Em solução demonstra também dois processos distintos, i.e., a formação de micelas esféricas, e a alteração da sua estrutura para formar agregados cilíndricos. Os valores descritos na literatura para a CMC_1 e CMC_2 são de ca. 0,85-1 mM e 20,0 mM, respectivamente.^[58,61]



Figura 33 – estrutura molecular do CTAB

Na figura 34 estão representados graficamente os espectros de absorção e emissão obtidos a diferentes concentrações de CTAB. Verifica-se que **11** não exhibe solvatocromismo na presença deste surfactante, sendo, por isso, possível comparar os

espectros de emissão entre si. Utilizou-se uma gama de concentrações em CTAB entre 0,13 mM e 0,27 M, de modo a cobrir ambas as concentrações micelares críticas deste surfactante.^[58]

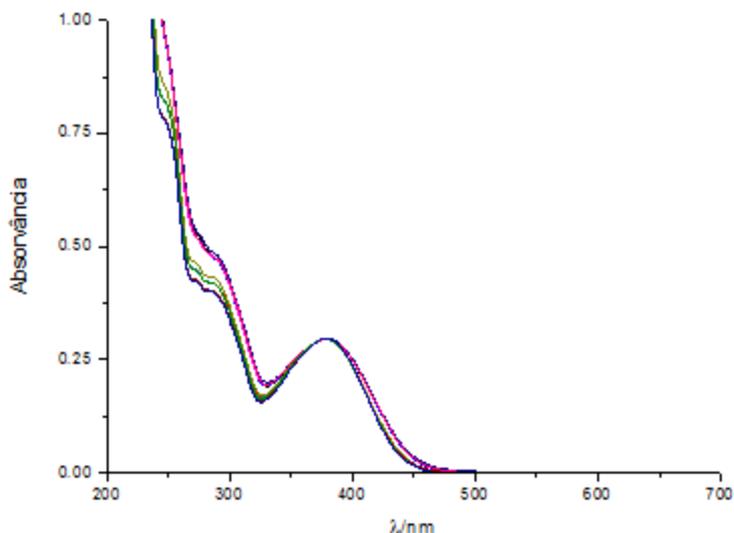


Figura 34 – espectros de absorção obtidos para soluções aquosas de 12 com diferentes concentrações de CTAB

Pela análise dos espectros de emissão (figura 35) é possível observar que a intensidade de fluorescência aumenta com a concentração de CTAB, sendo residual abaixo da concentração de 1,1 mM. As medidas de condutividade (figura 36) apoiam os resultados obtidos, permitindo concluir que o aumento de fluorescência está directamente relacionado com a formação de micelas.

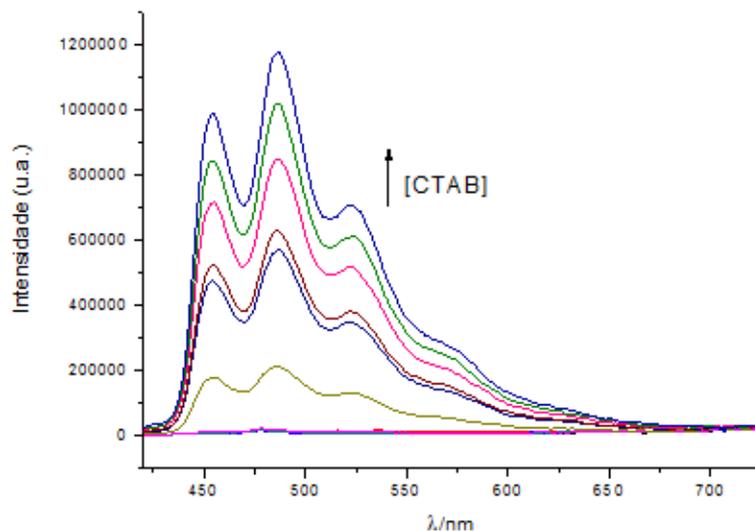


Figura 35 – espectros de emissão obtidos para soluções aquosas de **12 com diferentes concentrações de CTAB**

O valor obtido para a CMC_1 pelos métodos utilizados (ca. 1,1 mM) excede ligeiramente o valor descrito na literatura, podendo dever-se a uma interacção entre as moléculas de **12** e surfactante, que afecta a formação de micelas.^[58,61]

Não se verifica a existência de uma segundo ponto de inflexão da curva de I vs [CTAB] (figura 36) correspondente à alteração da organização dos agregados micelares. Este facto pode dever-se à incapacidade de **12** de detectar esta variação, mas também a um aumento do valor de CMC_2 que pode estar além da gama de concentrações utilizada.

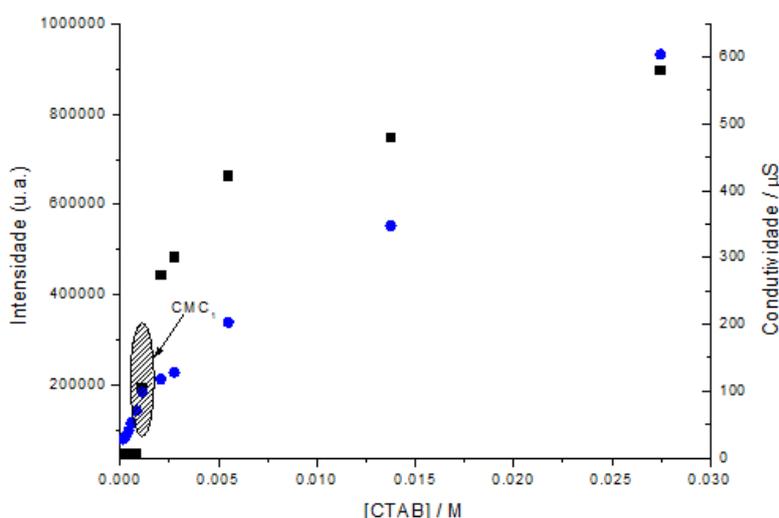


Figura 36 – valores de intensidade de emissão máxima (■) e de condutividade (●) de soluções aquosas de **11 em função da concentração de CTAB**

II.4.2.2.3 Triton x-100

O Triton x-100 é o nome comercial de um surfactante não iônico constituído por um grupo polietileno hidrofílico e um grupo hidrocarboneto hidrofóbico (figura 37), largamente utilizado na indústria farmacêutica devido à sua reduzida toxicidade. À semelhança do que ocorre com os surfactantes iônicos mencionados, o triton x-100 possui dois estágios de agregação, formando micelas esféricas à concentração de 0,31 mM em solução aquosa, e micelas cilíndricas a concentração de 13,0 mM.^[62]

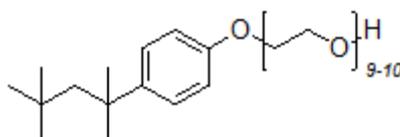


Figura 37 – estrutura molecular do Triton X-100

À semelhança do que ocorreu com os outros surfactantes, o composto **12** não exibiu alterações no seu espectro de absorção em soluções de Triton x-100. Utilizou-se uma gama de concentrações em Triton x-100 entre 0,01 mM e 20,0 mM, de modo a cobrir ambas as concentrações micelares críticas deste surfactante.^[62]

Contudo, ao contrário do que aconteceu no caso dos surfactantes iônicos, não se verificou uma variação na intensidade de emissão de **12** com o aumento da concentração de Triton x-100. Este resultado pode ser consequência do volume micelar deste surfactante ($V_m \approx 350 \text{ nm}^3$) ser muito superior ao volume micelare do SDS ($V_m \approx 20 \text{ nm}^3$) e CTAB ($V_m \approx 30 \text{ nm}^3$).^[63-65] Deste modo, o efeito de microambiente poderá ser menos marcado no interior das micelas de Triton X-100. Por outro lado, é ainda possível que a presença de grupos aromáticos no interior das micelas introduza um novo caminho de decaimento não radiativo.

II.4.2.2.4 Pluronic F-127

Poloxameros são copolímeros constituídos por unidades de polioxietileno (PEO) e polioxipropileno (PPO) ligadas em cadeias do tipo $(\text{PEO})_n-(\text{PPO})_m-(\text{PEO})_n$. Devido à presença de unidades hidrofílicas (PEO) e hidrofóbicas (PPO) possuem uma natureza anfifílica e, à semelhança de surfactantes de baixo peso molecular, podem autoagregar-

se em microestruturas semelhantes a micelas em solução aquosa. As cadeias poliméricas estabelecem interações não covalentes do tipo ponte de hidrogénio com as moléculas de água, e desse modo a sua solubilidade, e consequentemente o seu estado de agregação, são fortemente dependentes da temperatura.^[66-68]

O copolímero utilizado neste trabalho, Pluronic F-127 [(PEO)₉₈-(PPO)₆₇-(PEO)₉₈], possui elevado interesse em aplicações farmacológicas e, por esse motivo, as suas propriedades de autoagregação encontram-se bem caracterizadas. Para além disso, as soluções deste poloxamero exibem uma excelente transparência na região de luz visível, sendo aplicáveis em estudos espectroscópicos de absorção e emissão de UV-Vis. Com efeito, foram desenvolvidos sistemas fotocromicos baseados em sais de flavílio utilizando este copolímero.^[56]

Neste trabalho pretendeu-se detectar os estados de agregação exibidos pelo Pluronic F-127 por espectroscopia de fluorescência, à semelhança do método utilizado com os surfactantes de baixo peso molecular. No entanto, ao invés de utilizar soluções a diferentes concentrações de poloxamero, tirou-se partido do seu comportamento térmico reversível para atingir os diferentes estados de agregação. No caso dos copolímeros de PEO e PPO, a concentração crítica micelar é fortemente dependente da temperatura, podendo passar de cadeias solvatadas, para micelas esféricas, e posteriormente géis semisólidos por aquecimento da solução.^[68]

Por espectroscopia de absorção verificou-se que o Pluronic F-127, à concentração utilizada de 20% (p/v), influenciava o equilíbrio ácido-base entre **11** e **12**, pelo que foi necessário definir o intervalo de pH operacional. Para isso, procedeu-se a uma titulação espectrofluorimétrica de **11** em soluções aquosas de copolímero com pH definido. Os espectros de absorção e respectiva curva de titulação estão representados na figura 38. A ausência de ponto isobéstico revela que a acidez da solução afecta a autoagregação das cadeias de copolímero, resultando em ambientes de diferentes polaridades para cada valor de pH.^[69]

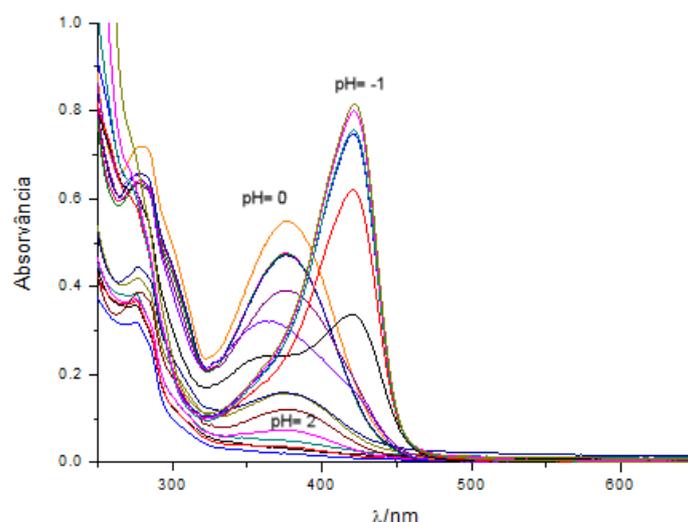
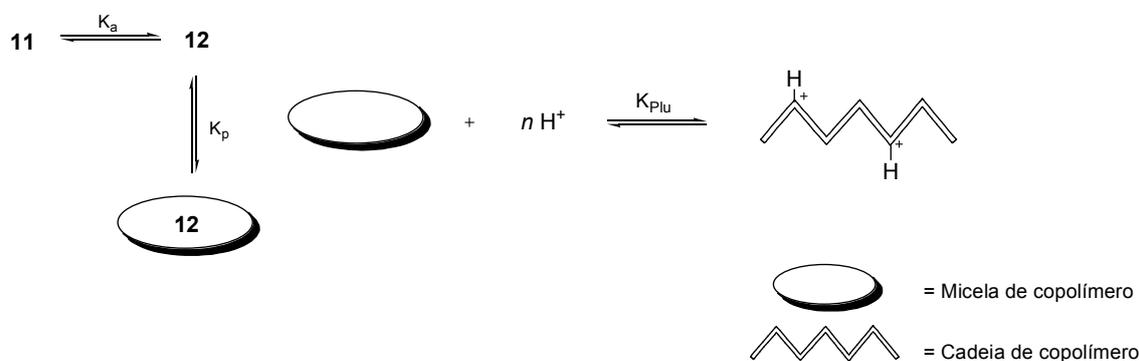


Figura 38 – espectros de absorção obtidos para soluções de **11** na presença de 20% de Pluronic entre pH -1 e 2

Pela análise da curva de titulação verifica-se que o valor de pKa aparente de **11** (-0,4) é bastante inferior ao valor exibido em misturas de água e etanol, demonstrando que a forma neutra é muito estabilizada pela presença de poloxamero. O ajuste aos valores experimentais foi conseguido utilizando um modelo diferente do apresentado na equação (2), tendo sido necessário contabilizar este parâmetro. Uma vez que todo o flavílio presente no interior das micelas se encontra sobre a forma desprotonada, e assumindo que a constante de partição K_p é muito elevada, desenhou-se o modelo apresentado no esquema 17. Dado que a acidez do meio afecta a agregação das cadeias de copolímero em micelas, assumiu-se que a protonação das cadeias de Pluronic F-127 provoca uma destruição dos agregados micelares em concentrações de H^+ perto de K_{Plu} .



Esquema 17 – modelo de equilíbrios numa solução aquosa de **11** na presença de pluronic

Desta forma, admitindo que na mesma micela são necessárias 6 protonações das cadeias de Pluronic F-127 para a sua desagregação, foi possível fazer o ajuste teórico aos valores experimentais, obtendo-se um pK combinado de -2.1 ($pK_a + pK_{Plu}$). A curva de titulação obtida está representada na figura 39.

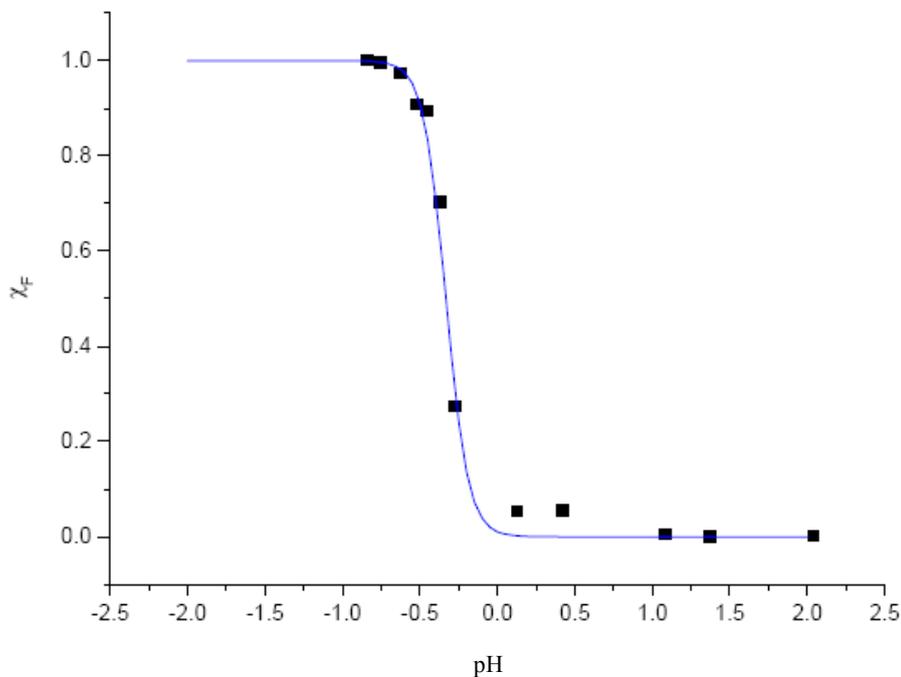


Figura 39 – curva de titulação e ajuste experimental obtidos para uma solução de **11 na presença de 20% de Pluronic F-127**

Os estudos espectrofluorimétricos foram conduzidos a um valor de $pH = 2,5$, ao qual apenas a espécie neutra se encontra presente em solução. Na gama de temperaturas utilizada (0-35 °C), uma solução aquosa de Pluronic a 20% apresenta três estados de agregação possíveis, dependendo temperatura do sistema (cadeias solvatadas, micelas esféricas e gel).^[68]

Na figura 40 estão representados os espectros de emissão obtidos para a solução aquosa de **12** na presença de Pluronic F-127 a várias temperaturas. Verifica-se que os espectros são idênticos aos obtidos nas titulações com surfactantes iônicos, ocorrendo um aumento da intensidade com a subida da temperatura. Pela análise do gráfico do máximo de intensidade, I_{max} , em função da temperatura, apresentado na figura 41, é possível constatar que a emissão de **11** é residual a temperaturas baixas, às quais a solução se encontra no estado líquido e o copolímero solvatado. A partir dos 12,5 °C verifica-se um aumento da intensidade de fluorescência, que se deve à agregação das

cadeias do copolímero em micelas esféricas. O máximo da intensidade de fluorescência é atingido a ca. 17°C, permanecendo constante até aos 35°C, admitindo-se que a fluorescência de **12** se deve apenas à formação de micelas, não sendo afectada pela posterior gelação do copolímero, que ocorre a aproximadamente 30°C. O arrefecimento da mistura permitiu ainda comprovar a reversibilidade do sistema.

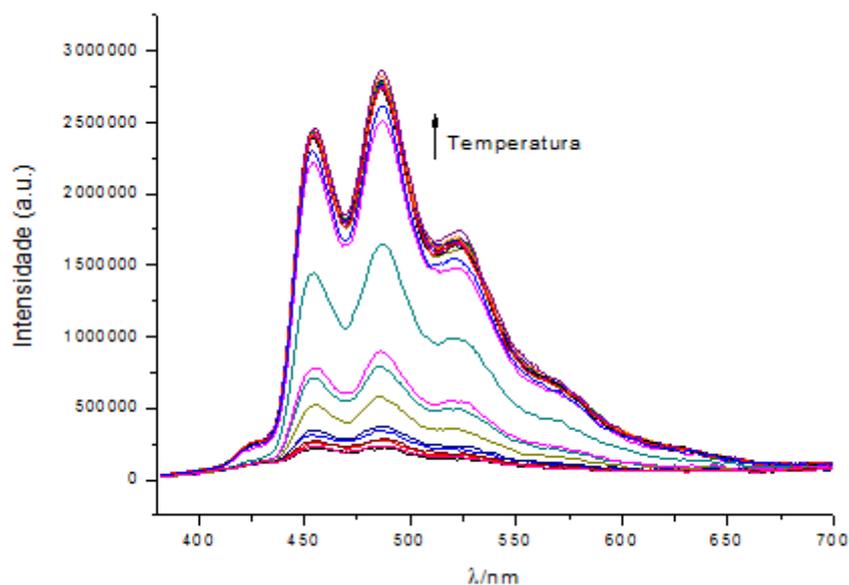


Figura 40 – espectros de emissão obtidos para uma solução de **12** na presença de Pluronic F-127 entre 5 e 35 °C

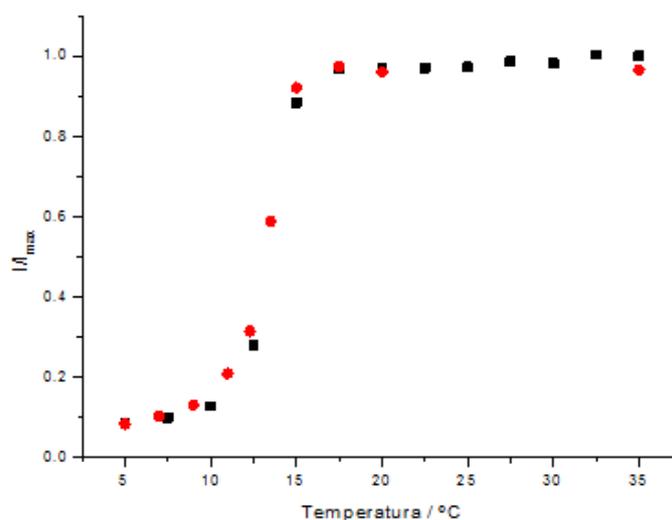


Figura 41 – Variação dos valor máximo de intensidade com a temperatura; (■) aquecimento; (●) arrefecimento

II.4.2.2.5 Mecanismo de reconhecimento de micelas

Os resultados obtidos demonstram que **12** é aplicável na detecção da formação de micelas por técnicas espectrofluorimétricas. Contudo, de modo a alargar a sua aplicabilidade, torna-se necessário conhecer os mecanismos envolvidos no aumento da intensidade de fluorescência provocado pela inclusão em micelas.

Os espectros de excitação obtidos para as soluções de surfactante com concentração superior à CMC_1 revelaram que a espécie emissiva não é o composto **12**, como se pode verificar pela análise da figura 42.

Verificou-se que o aumento da fluorescência se deve a um processo fotoquímico de **12**, uma vez que o espectro de excitação aumenta após a irradiação a 375 nm. Desta forma, admite-se que **12** reage para dar origem a um novo composto (**X**), cujo rendimento quântico aumenta na presença de micelas.

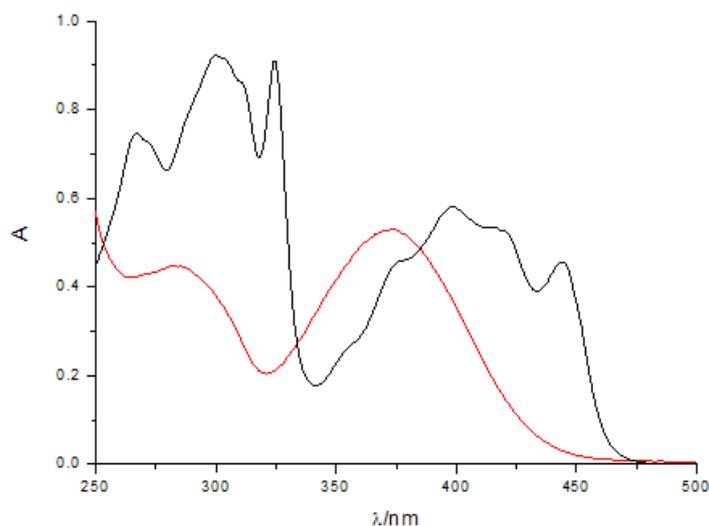


Figura 42 – espectros de absorção (—) e excitação(—) de uma solução de **12** com [SDS] = 12 mM, depois de 2h de irradiação a 366 nm

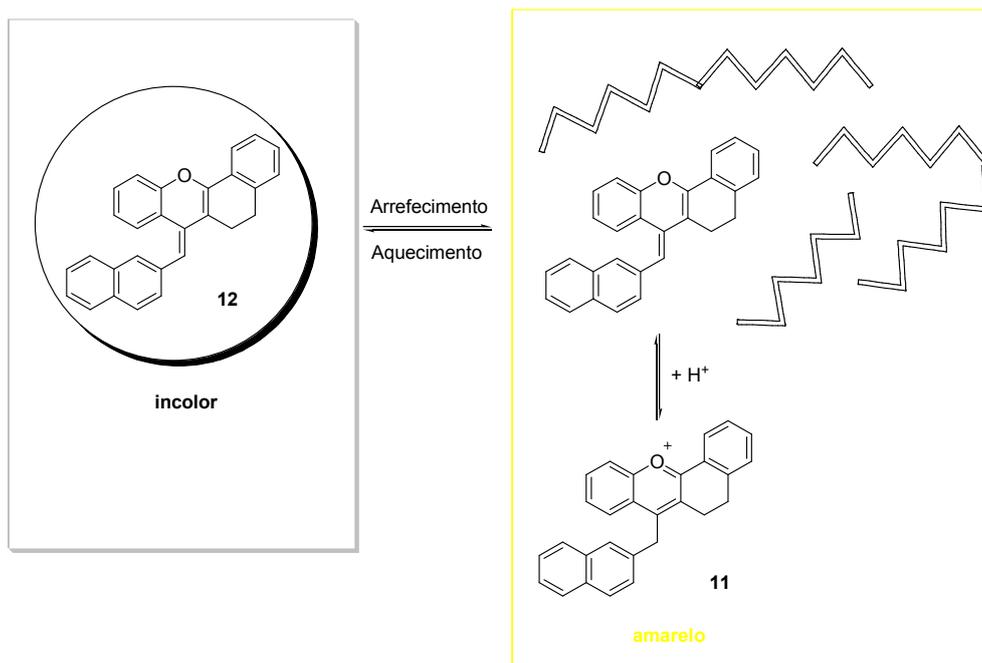
A irradiação contínua de soluções de **12** em solventes orgânicos por períodos de 5 horas não provoca alterações relevantes nos espectros de absorção, permitindo afirmar que a reacção fotoquímica é pouco extensa. Para além disso, por a análise por 1H RMN de uma solução irradiada obteve-se um espectro semelhante ao de **12**, com o aparecimento de sinais de muito baixa intensidade. Para determinar a estrutura do composto **X**, será necessário proceder-se a uma purificação de uma solução irradiada

por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Contudo, não possível executar este procedimento dentro do período de tempo de execução deste trabalho.

II.5 Termocromismo

A influência do Pluronic F-127 e outros surfactantes nos valores de pKa de indicadores ácido base foi previamente estudada por outros autores, concluindo-se que micelas não iónicas estabilizam as formas neutras, provocando desvios significativos nas constantes de acidez, tal como se verificou no caso de **11**.^[55] Por outro lado, a elevada dependência entre a concentração micelar crítica e a temperatura deste copolímero permite a variação do seu estado de agregação por estímulos térmicos. Deste modo, procurou-se desenvolver um sistema termocrómico que combinasse o comportamento térmico do Pluronic F-127 com o acidocromismo de **11**.^[70]

Assim, tornou-se necessário definir um valor pH ao qual ambas as espécies se encontrassem presentes na presença de copolímero à temperatura ambiente. Pela análise da curva de titulação ácido base em soluções com Pluronic F-127, representada na figura 37, verifica-se que a $\text{pH} = 0$ existe uma pequena fracção molar do flavílio, com predominância da forma neutra estabilizada pela presença de micelas. Desta forma, o arrefecimento da solução deveria provocar a desagregação das cadeias de polímero, que resultaria na destruição das micelas e na conseqüente protonação de **12** (esquema 19). Com efeito, verifica-se uma redução da viscosidade da solução e a formação de cor amarela. Por reaquecimento à temperatura ambiente a solução torna-se novamente incolor.



Esquema 18 – mecanismo proposto para o comportamento termocrómico do sistema 11-Pluronic F-127

Na figura 43 estão representados os espectros de absorção obtidos para uma solução aquosa equilibrada termicamente de **11** a 20% de Pluronic F-127 entre 0 e 45 °C. O termocromismo é evidente, observando-se, por aquecimento, uma redução da absorvância a ca. 420 nm correspondente à espécie protonada, e um aumento da absorvância a ca. 375 nm correspondente à espécie neutra.

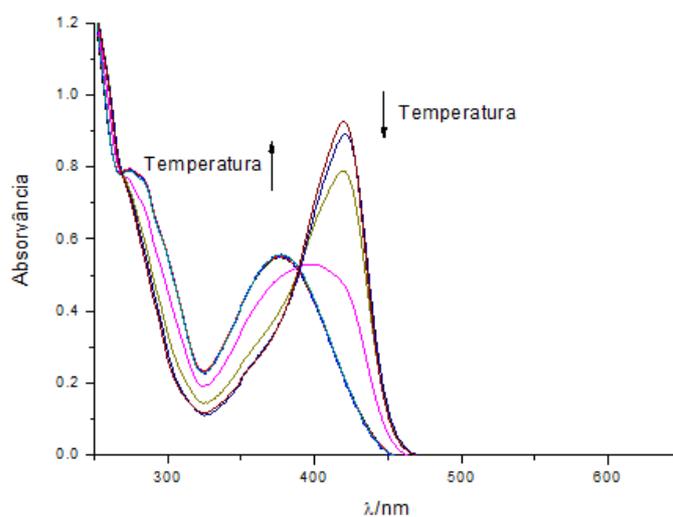


Figura 43 – espectros de absorção obtidos para uma solução aquosa de **11** com Pluronic F-127 a 20% a pH = 0

De modo a avaliar a reversibilidade do sistema termocrómico, realizaram-se vinte ciclos de 0 a 35 °C durante um período de 10 horas, verificando-se que a densidade óptica não diminuiu com o tempo. Os valores de absorvância a 420 e 375 nm, correspondentes à absorção da espécie carregada e neutra respectivamente, estão representados graficamente na figura 44.

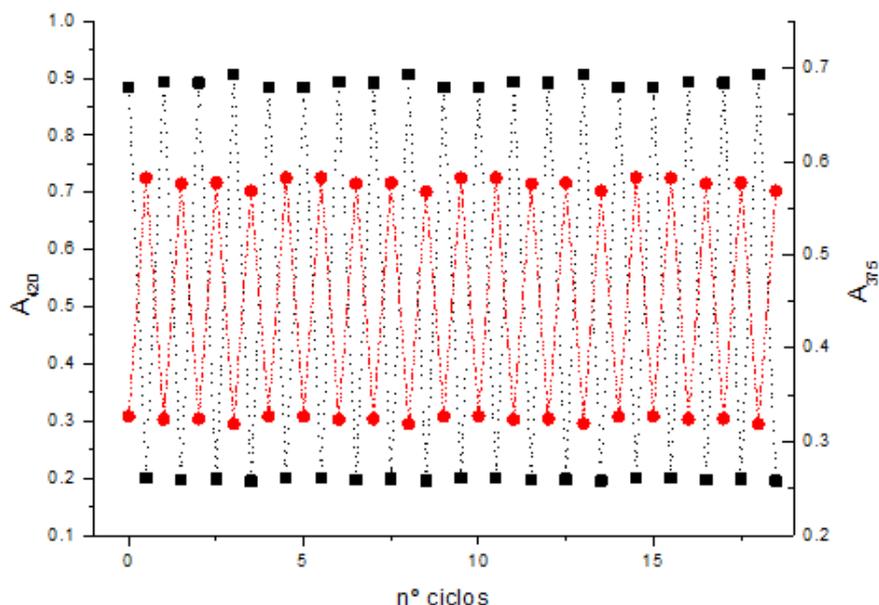


Figura 44 - valores de A_{420} (■) e A_{375} (●) de uma solução de 11 a 5 e 35 °C

Posteriormente este sistema foi aplicado aos flavílios **9** e **10**, que exibiram o mesmo comportamento, demonstrando que é possível utilizar o Pluronic F-127 no desenvolvimento de sistemas termocrómicos baseados em derivados do 4-metil-2-fenil-benzopirílio. Na figura 45a estão representados os espectros de absorção obtidos para uma solução aquosa de **9** na presença de 20% de Pluronic F-127 a pH = 2,5 entre 5 e 30 °C. Foram realizados oito ciclos de temperatura entre 5 e 30 °C durante oito horas de modo a avaliar a reversibilidade do sistema. Os valores de A_{410} e A_{340} , correspondentes a **9** e **9B** respectivamente, estão representados na figura 45b. Verifica-se, assim, que este sistema é igualmente reversível na escala de tempo utilizada.

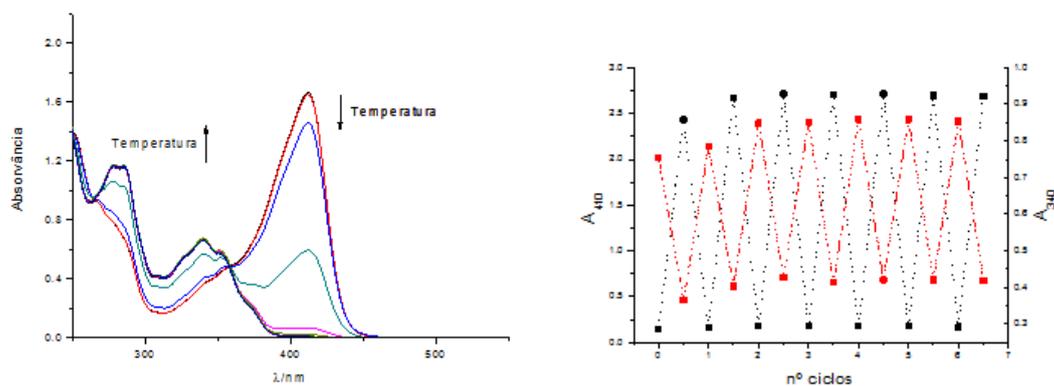


Figura 45 – comportamento termocrômico de uma solução de 9 a pH = 2,5 com 20% de Pluronic F-127: a) espectros de absorção entre 5 e 35°; b) valores de A410 e A340 a 5 e 35 °C

Através da funcionalização de outras posições do núcleo flavílio, será, provavelmente, possível obter uma gama de cores variada para este tipo de sistema.^[2]

Por outro lado, foram igualmente testados sistemas com base em surfactantes de baixo peso molecular na presença de **11**, a diferentes valores de pH e concentrações variadas de surfactante. Contudo, não foi possível obter um termocromismo relevante. Este resultado pode ser explicado pela baixa variação da concentração micelar crítica destes surfactantes com a temperatura, que ao contrário do caso do Pluronic F-127, ocorre dentro da mesma ordem de grandeza.^[68,71]

III. Conclusões

Em relação às sínteses efectuadas, apenas a preparação dos derivados de 4-hidroximetil-flavílio apresentou dificuldades, não sendo possível efectuar a caracterização dos seus produtos, que se revelaram instáveis. A presença de protões acídicos nos derivados de 4-alquil-flavílio aumenta a rede de equilíbrios em solução, reduzindo a fracção de flavílio a um dado pH. Este facto demonstrou impedir a aplicabilidade dos hidrogenossulfatos de 4-fenoximetil-flavílio como grupos protectores fotocliváveis.

Por outro lado, o acidocromismo resultante da funcionalização da posição 4 com grupos alquilo permite a aplicação dos sais de flavílio resultantes em sistemas termocrómicos na presença de copolímeros.

O 2-fenil-(3,2'-etnil)-4-(naftalen-2-il-metileno)-benzopirano demonstrou alterar o seu comportamento na presença de micelas, permitindo a determinação de concentrações micelares críticas de surfactantes por medidas de fluorescência. A investigação do mecanismo envolvido no processo poderá permitir a extensão da aplicabilidade deste composto e seus análogos.

IV. Parte Experimental

IV.1. Aparelhagem

IV.1.1 Espectrofotómetro

Os espectros de absorção foram obtidos num espectrofotómetro Varian-Cary 100 Bio ou num Shimadzu VC2501-PC. A temperatura no porta-células é usualmente cerca de 2°C superior à temperatura exterior que foi mantida a 20±2°C. Foram utilizadas células de quartzo.

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos num espectrofluorímetro SPEX Fluorolog F111. O aparelho possui no seu software unidades de correcção para a intensidade da lâmpada (Xénon, 450 W) e para a resposta do fotomultiplicador. A geometria adoptada foi sempre de ângulo recto. A temperatura exterior foi mantida a 20±2°C. Foram utilizadas células de quartzo, com 1 cm de percurso óptico.

IV.1.2 Lâmpadas de irradiação e filtros

Foram utilizados dois tipos de lâmpada de irradiação: 1) lâmpada de mercúrio de média pressão de 50 ou de 100 W, controlada por uma unidade LPS-220 da Photon Technology International Inc. (Inglaterra), arrefecida a água, com uma intensidade de feixe luminoso de cerca de $1,5 \times 10^{-6}$ Einstein/min a 366 nm; 2) lâmpada de mercúrio de média pressão de feixe luminoso de cerca de $2,8 \times 10^{-7}$ Einstein/min a 436 nm.

Utilizou-se um filtro de interferência Oriel P/N 56430 para isolar o comprimento de onda de 366 nm e um filtro de interferência Oriel P/N 56450 para os 436 nm.

IV.1.3 Potenciómetro

As leituras de pH foram efectuadas num potenciómetro Radiometer Copenhagen PHM240 Metrohm 713 com eléctrodos de vidro combinado.

IV.1.4 Cromatografia em camada fina

Nas reacções que foram acompanhadas por cromatografia em camada fina (TLC), foram utilizadas placas de sílica 60 F254 com suporte de alumínio Merck. Após a eluição, a revelação das placas é feita com luz ultravioleta (UV-254 e 366 nm) e, quando necessário, recorrendo a soluções específicas para cada composto e indicadas em cada caso.

Nas colunas de purificação dos produtos por cromatografia flash foi utilizada sílica gel Scharlau 60 0,04-0,06 mm.

IV.1.5 Balança

A balança utilizada foi uma Sartorius Research R200D de 5 casas decimais e com $\pm 0,01$ mg de precisão.

IV.1.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

O espectrómetro utilizado na ressonância magnética nuclear para a obtenção dos espectros de protão e carbono foi um Bruker AMX400 operando a 400,13 MHz (^1H) e a 100 MHz (^{13}C). Os dados obtidos são indicados pela seguinte ordem: **solvente, desvio químico, intensidade relativa, multiplicidade de spin:** s (singlete), d (duplete), t (triplete), q (quarteto), dd (duplo dublete) ou m (multiplete), **constante de acoplamento** (J em Hz) e **atribuição na molécula** (sempre que possível).

IV.1.7 Análise Elementar

A determinação das percentagens de C, H e N, foi feita num analisador Thermofinnigan Flash EA serie 1112

IV.2 Grau de pureza dos solventes e compostos

Os reagentes e solventes utilizados foram fornecidos pela Aldrich, Fluka, Merck ou Vaz Pereira, não tendo sido sujeitos a purificação antes da sua utilização. A água normalmente utilizada para preparar as soluções era bi-destilada e desionizada numa aparelhagem Millipore Simplicity.

Em alguns casos foi necessária a secagem prévia de solventes:

- Tetrahidrofurano e éter etílico

Os solventes foram aquecidos ao refluxo na presença de sódio metálico e benzofenona. Após mudança de cor da mistura de amarelo para azul, o solvente foi destilado e recolhido numa ampola de carga e transferido para o balão reaccional com uma seringa.

- Acetonitrilo

O solvente foi aquecido ao refluxo na presença de hidreto de cálcio durante 5 horas, antes de cada utilização, garantindo-se que o agente excicante permanecia escuro. Depois de seco o solvente foi destilado e recolhido numa ampola de carga e transferido para o balão reaccional com uma seringa.

- Dimetilformamida

O solvente foi destilado a pressão reduzida e armazenado num balão de fundo redondo, em atmosfera inerte, na presença de peneiros moleculares de 3 Å, previamente activados a 300 °C.

IV.3 Soluções stock de derivados de 2-fenil-benzopirílio

De um modo geral as soluções concentradas de derivados de 2-fenil-benzopirílio foram preparadas por dissolução de 1 a 2 mg de composto em acetonitrilo (HPLC grade) de modo a obter uma concentração constante de 1 g/L e armazenadas no escuro.

IV.4 Titulações espectrofotométricas

Foram preparadas soluções de derivados de 2-fenil-benzopirílio por adição de 30 µL de solução stock a 2970 µL de uma mistura de água e etanol na proporção de 1:1 (v/v) a diferentes valores de pH.

O pH foi previamente ajustado na porção aquosa das soluções, por adição de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1 M ou 1M a uma solução aquosa de ácido clorídrico com a mesma concentração.

As soluções foram armazenadas no escuro durante 30 minutos antes da obtenção dos espectros de absorção.

Antes de cada titulação o potenciómetro foi sempre calibrado com duas soluções tampão da Metrohm (pH=4 e pH=7).

IV.5 Estudos cinéticos de ácido base

Utilizou-se uma mistura de água e etanol na proporção de 1:1 (v/v) como solvente para todos os estudos cinéticos de reacções ácido-base dos derivados de 4-alkil-benzopirílio.

O pH foi ajustado na porção aquosa do solvente, por adição de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1 M a uma solução aquosa de ácido clorídrico 0,1 M.

A evolução da reacção ácido-base foi seguida por absorção de UV-Vis, misturando 30 µL da solução stock em 2970 µL do solvente preparado, obtendo-se uma concentração final de 10 mg/L.

Antes de cada ensaio o potenciómetro foi sempre calibrado com duas soluções tampão da Metrohm (pH=4 e pH=7).

IV.6 Estudos espectroscópicos com tensioactivos

IV.6.1 Soluções de surfactantes iónicos

Foram utilizados dodecilsulfato de sódio (SDS), brometo de hexadeciltrimetilamónio (CTAB) e dioctilsulfosuccinato de sódio (AOT) como surfactantes iónicos nos estudos espectroscópicos de absorção e emissão efectuados. As soluções utilizadas com diferentes concentrações de surfactante foram preparadas a partir de soluções aquosas com concentração vinte vezes superior à concentração micelar crítica à temperatura ambiente. O pH das soluções stock e finais foi ajustado anteriormente à dissolução de surfactante, por adição de soluções de ácido clorídrico ou

hidróxido de sódio a 1 M. Os derivados de 4-alkil-benzopirílio foram adicionados a partir de soluções stock em acetonitrilo.

IV.6.2 Triton X-100

As soluções utilizadas com diferentes concentrações de surfactante foram preparadas a partir de soluções aquosas com concentração vinte vezes superior à concentração micelar crítica à temperatura ambiente. O pH das soluções stock e finais foi ajustado anteriormente à dissolução de surfactante, por adição de soluções de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio a 1 M. Os derivados de 4-alkil-benzopirílio foram adicionados a partir de soluções stock em acetonitrilo.

IV.6.3 Pluronic F-127

As soluções finais utilizadas para os estudos espectroscópicos de emissão e absorção foram preparadas a partir de soluções aquosas do copolímero Pluronic F-127 com concentração fixa de 20% (p/v) a pH definido, garantindo a transição entre as três formas de agregação do copolímero (solvatado, em micelas e em gel) entre os 0 e os 50°C. O valor de pH foi ajustado por diluição de soluções de ácido clorídrico a 1 ou 10 M.

IV.7 Cálculos computacionais

A previsão dos espectros de absorção foi efectuada utilizando o software *Hyperchem Professional 8.0*. A optimização estrutural foi efectuada utilizando um método semi-empírico (base AM1) e o cálculos dos estados electrónicos foi feito com a base ZINDO/S.

IV.8 Síntese de sais de 2-fenil-benzopirílio

IV.8.1 Método geral para a preparação de tetrafluoroboratos de benzopirílio (I)

Num balão de fundo redondo equipado com agitador magnético dissolveu-se 1 equivalente de salicilaldeído e 1 equivalente de acetofenona numa mistura de ácido acético glacial e uma solução de aquosa de ácido tetrafluorobórico a 50% na proporção de 1:5. Posteriormente adicionou-se anidrido acético à mistura reaccional gota-a-gota mantendo a temperatura a 60°C, até não se observar reacção exotérmica. Manteve-se a agitação durante a noite e adicionou-se éter etílico ate precipitação do produto, que foi separado por filtração, lavado e seco sob vácuo. A evolução da reacção foi seguida por TLC, utilizando uma mistura de acetato de etilo e hexano na proporção de 1:4 como eluente, monitorizando-se a extinção dos reagentes.

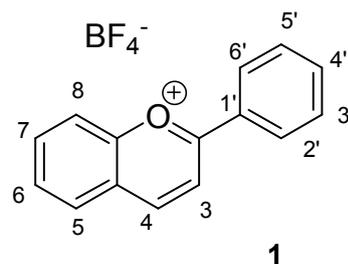
IV.8.1.2 Tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (1)

Preparado de acordo com o método geral I.

Dissolveram-se 1,22 g (10 mmole) de salicilaldeído, e 1,2 g (10 mmole) de acetofenona em 15 mL de ácido acético e 3 mL de ácido tetrafluorobórico. Adicionaram-se 15 ml de anidrido acético gota a gota. O composto foi precipitado por adição de éter obtendo-se 1,76 g (5,95 mmol, **59,5%**) de um precipitado cor de

laranja. $^1\text{H RMN}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$) δ (ppm): 7,50 (2H, t, H^6+H^7 , $J = 7,76$ Hz); 7,67 (1H, t, H^6 , $J = 7,22$ Hz); 7,79 (1H, t, $\text{H}^{2'}$, $J = 7,12$ Hz); 8,12-8,16 (3H, m, $\text{H}^{3'} + \text{H}^{4'} + \text{H}^{5'}$); 8,28 (2H, d, $\text{H}^5 + \text{H}^8$, $J = 7,8$ Hz); 8,52 (1H, d, H^3 , $J = 8,88$ Hz); 9,27 (1H, d, H^4 , $J = 8,88$ Hz)

AE: calculou-se para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{BF}_4\text{O} \cdot (3/2)\text{H}_2\text{O}$: C 56,11; H 4,39; determinou-se C 56,81; H 4,69

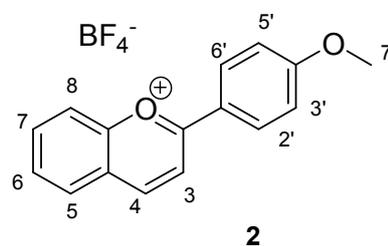


IV.8.1.3 Tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (2)

Preparado de acordo com o método geral I.

Dissolveram-se 1,22 g (10 mmole) de salicilaldeído, e 1,5 g (10 mmole) de 4'-metoxiacetofenona em 15 mL de ácido acético e 3 mL de ácido tetrafluorobórico. Adicionaram-se 15 ml de anidrido acético gota a gota. O composto foi precipitado por adição de éter obtendo-se 1,56 g (4,80 mmol, **48,0%**) de um precipitado cor de laranja.

$^1\text{H RMN}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$) δ (ppm): 3,67 (3H, s, $\text{H}_3^{7'}$), 6,89 (2H, d, $\text{H}^{3'} + \text{H}^{5'}$, $J = 8,92$ Hz); 7,61 (1H, t, H^6 , $J = 7,22$ Hz); 7,91 (3H, m, $\text{H}^7 + \text{H}^{2'} + \text{H}^{6'}$); 8,17 (3H, m, $\text{H}^3 + \text{H}^5 + \text{H}^8$); 8,89 (1H, d, H^4 , $J = 8,88$ Hz); **AE**: calculou-se para $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BF}_4\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C 56,18; H 4,42; determinou-se C 56,27; H 4,79

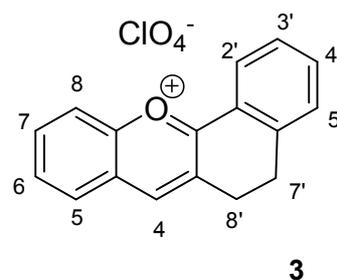


IV.8.1.4 Tetrafluoroborato de 2-fenil-benzopirílio (3)

Preparado de acordo com o método geral I.

Dissolveram-se 610 mg (5 mmole) de salicilaldeído, e 1,5 g (10 mmole) de α -tetralona em 12 mL de ácido acético e 3 mL de ácido tetrafluorobórico. Adicionaram-se 10 ml de anidrido acético gota a gota. O composto foi precipitado por adição de éter obtendo-se 1,07 g (3,34 mmol, **66,9%**) de um precipitado amarelo.

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,04 (2H, t, $2\text{H}^{7'}$, $J = 6,72$ Hz), 3,17 (2H, t, $2\text{H}^{8'}$, $J = 7,00$ Hz), 7,34 (1H, d, $\text{H}^{5'}$, $J = 7,56$ Hz), 7,40 (1H, t, $\text{H}^{4'}$, $J = 7,60$ Hz), 7,59 (1H, t, $\text{H}^{3'}$, $J = 7,36$ Hz), 7,72 (1H, t, H^6 , $J = 7,66$ Hz), 8,03 (3H, m, $\text{H}^{2'} + \text{H}^5 + \text{H}^8$), 8,26 (1H, t, H^7 , $J = 7,76$ Hz), 8,97 (1H, s, H^4); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 26,2 ($\text{C}^{7'}$); 26,6 ($\text{C}^{8'}$); 118,4; 123,9; 125,0; 128,4; 129,1; 131,2; 131,4; 131,5; 131,8; 138,1; 138,7; 146,7 (C^3); 154,1 (C^{10}); 155,2 (C^9); 172,9 (C^2); **AE**: calculou-se para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BF}_4\text{O}$: C 63,79; H 4,09; determinou-se C 63,51; H 4,50



IV.8.2 Método geral para a preparação de 4-benzotriazolil-benzopiranos (II)

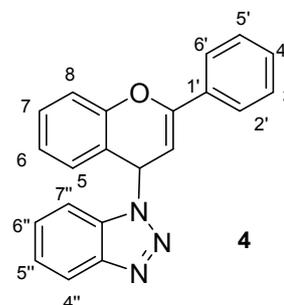
Num balão de fundo redondo de duas tubuladuras com agitador magnético e atmosfera inerte, dissolveram-se 1.1 mmole de 1H-benzotriazole em 8 mL de THF seco. Adicionou-se à mistura 1 mmole de hidreto de sódio (60 % suspensão em óleo) em pequenas porções e manteve-se a agitação durante 30 min, cessando a libertação de hidrogénio. 1 mmole de tetrafluoroborato de benzopirílio foi adicionada à mistura reaccional e manteve-se a agitação durante a noite. O precipitado inorgânico formado foi removido por centrifugação e o solvente foi removido por evaporação a pressão reduzida, obtendo-se um óleo viscoso. A análise por NMR revelou não ser necessária purificação adicional para a reacção seguinte. A evolução da reacção foi seguida por TLC, utilizando uma mistura de acetato de etilo e hexano na proporção de 1:4 como eluente.

IV.8.2.1 2-fenil-4-benzotriazol-1-il-benzopirano (4)

Preparado de acordo com o método geral II.

Dissolveram-se 250 mg (2.1 mmole) de 1H-benzotriazole em 15 mL de THF seco. Adicionou-se à mistura 80 mg (2 mmole) de hidreto de sódio (60 % suspensão em óleo) e após agitação durante 30 minutos, adicionaram-se 588 mg de **1** (2 mmole). O rendimento da reacção foi quantitativo. ¹H RMN

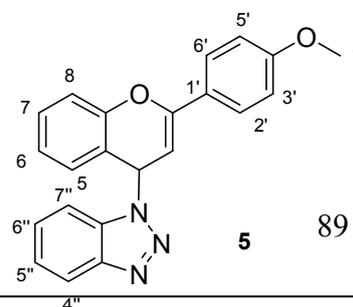
(CDCl₃) δ (ppm): 5,80 (1H, d, H⁴, *J* = 4,24 Hz), 7,02, (1H, t, H⁷, *J* = 7,24 Hz) 7,15-7,43 (9H, m), 7,77 (3H, m, H^{3'}+H^{4'}+H^{5'}), 8,01 (1H, d, H^{4''}).



IV.8.2.2 2-fenil-4-benzotriazol-1-il-7'-metoxi-benzopiranos (5)

Preparado de acordo com o método geral II.

Dissolveram-se 250 mg (2.1 mmole) de 1H-benzotriazole em 15 mL de THF seco. Adicionou-se à mistura 80 mg (2 mmole) de hidreto de sódio (60 % suspensão em

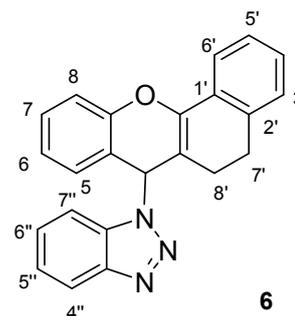


óleo) e após agitação durante 30 minutos, adicionaram-se 617 mg de **2** (2 mmole). O rendimento da reacção foi quantitativo. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,83 (3H, s, $\text{H}_3^{7'}$), 5,70 (1H, d, H^4 , $J = 4,24$ Hz), 6,95-7,07, (3H, m, $\text{H}^3 + \text{H}^{3'} + \text{H}^{5'}$) 7,15-7,43 (7H, m), 7,70 (3H, m, $\text{H}^{3'} + \text{H}^{4'} + \text{H}^{5'}$), 8,01 (1H, d, $\text{H}^{4''}$).

IV.8.2.3 2-fenil-4-benzotriazol-1-il-7'-metoxi-benzopiranos (**6**)

Preparado de acordo com o método geral **II**.

Dissolveram-se 131 mg (1.1 mmole) de 1H-benzotriazole em 5 mL de THF seco. Adicionou-se à mistura 40 mg (1 mmole) de hidreto de sódio (60 % suspensão em óleo) e após agitação durante 30 minutos, adicionaram-se 320 mg de **3** (1 mmole). O rendimento da reacção foi quantitativo. $^1\text{H RMN}$



(CDCl_3) δ (ppm): 1,89 (1H, m, $\text{H}_a^{7'}$), 2,36 (1H, m, $\text{H}_a^{8'}$), 2,65 (1H, m, $\text{H}_b^{7'}$), 2,89 (1H, m, $\text{H}_b^{8'}$), 6,99-7,40 (8H, m), 7,63 (1H, t, $J = 7,76$ Hz), 7,79 (1H, t, $J = 7,72$ Hz), 7,90-8,01 (2H, m, $\text{H}^{4'} + \text{H}^{5'}$), 8,25 (1H, t, $\text{H}^{4''}$, $J = 9,08$ Hz).

IV.8.3 Método geral para a preparação de percloratos de 4-alkil-benzopirílio (**III**)

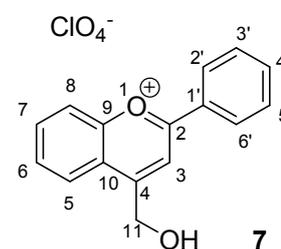
Num balão de 2 tubuladuras com agitador magnético e atmosfera inerte dissolveu-se 1 mmole de 4-benzotriazolil-benzopirano em 20 mL de THF seco. A solução foi arrefecida a -78°C num banho de acetona e adicionou-se 1 mmole de *n*-butil-lítio (1.6 M em hexano) gota a gota. Manteve-se a agitação durante 30 minutos e adicionou-se uma solução de 1 mmole de electrófilo (haletos) em 5 mL de THF seco, gota a gota. A mistura reaccional foi aquecida à temperatura ambiente e agitada durante a noite, sendo terminada pela adição de 30 mL de uma solução saturada de cloreto de amónio. Extraíu-se a mistura com éter etílico (2 x 50mL) e lavaram-se os extractos orgânicos combinados com 20 mL de uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio e 20 mL de

água. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e o solvente foi recolhido por evaporação a pressão reduzida. O óleo obtido foi dissolvido em 15 mL de ácido acético e 0.5 mL de uma solução aquosa de ácido perclórico a 70%, agitando-se a solução durante 30 min. Por adição de 50 mL de água obteve-se um precipitado que foi filtrado e lavado várias vezes com água. O pó foi recristalizado de metanol com éter etílico, obtendo-se um sólido cristalino.

IV.8.3.1 2-fenil-(4-hidroximetil)-benzopirílio (7)

Preparado de acordo com o método geral **III**, utilizando-se acetato de bromometilo como electrófilo

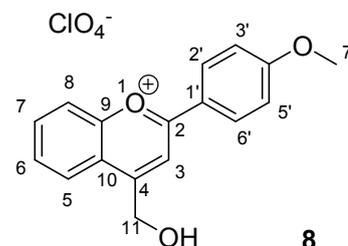
AE: calculou-se para $C_{16}H_{13}ClO_6 \cdot (3/2)H_2O$: C 52,83; H 4,43; determinou-se C 53,13; H 4,09.



IV.8.3.2 2-(4'-metoxifenil)-(4-hidroximetil)-benzopirílio (8)

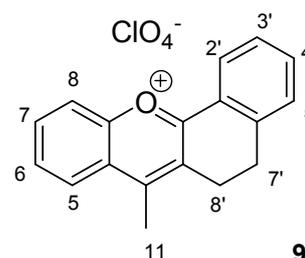
Preparado de acordo com o método geral **III**, utilizando-se acetato de bromometilo como electrófilo

AE: calculou-se para $C_{17}H_{15}ClO_7 \cdot H_2O$: C 53,07; H 4,42; determinou-se C 53,23; H 4,03



IV.8.3.3 2-fenil-(3,2'-etinil)-4 metil-benzopirílio (9)

Dissolveram-se 272 mg (2 mmol) de 2'-hidroxiacetofenona e 292 mg (2 mmol) de α -tetralona em 5 mL de ácido acético e 1 mL de uma solução aquosa de ácido perclórico a 70%. A mistura reaccional foi aquecida ao refluxo e agitada durante 1 hora e adicionaram-se 20 mL de éter

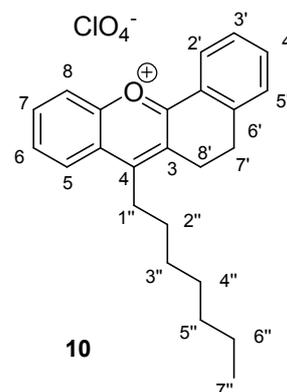


etílico. O precipitado obtido foi filtrado e lavado com éter etílico e seco sob vácuo, obtendo-se 352 mg (1,02 mmol, **50,9%**). $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,06 (2H, t, $\text{H}^{7'}$, $J = 6,60$ Hz), 3,20 (2H, t, $\text{H}^{8'}$, $J = 6,84$ Hz), 4,70 (3H, s, H_3^{11}), 7,37 (1H, d, $\text{H}^{5'}$, $J = 7,64$ Hz), 7,43 (1H, t, $\text{H}^{4'}$, $J = 7,88$ Hz), 7,61 (1H, t, $\text{H}^{3'}$, $J = 7,16$ Hz), 7,76 (1H, t, $\text{H}^{6'}$, $J = 8,16$ Hz), 8,02 (2H, m, $\text{H}^{5'} + \text{H}^{8'}$), 8,23 (2H, m, $\text{H}^{7'} + \text{H}^{2'}$); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 29,4 ($\text{C}^{8'}$); 29,7 ($\text{C}^{7'}$); 34,5 (C^{11}); 127,1; 127,9; 128,4; 128,8; 129,7; 131,2; 131,4; 131,5; 131,8; 138,1; 141,3; 145,9; 158,7 (C^4); 159,2 (C^2); 172,9 (C^9); **AE** calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClO}_5$: C 62,35; H 4,36; determinou-se: C 61,64 ; H 4,21

IV.8.3.4 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-heptil-benzopirílio (10)

Preparado de acordo com o método geral **III**, utilizando-se brometo de 1-heptilo como electrófilo

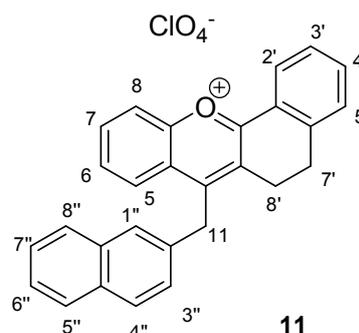
Dissolveram-se 351 mg (1 mmol) de **6** em 25 mL de THF seco. Após arrefecimento da mistura, adicionou-se 1,0 mmol de *n*-butil-lítio gota-a-gota. Depois de agitar a mistura reaccional por 30 minutos, adicionaram-se 179,0 mg (1 mmol) de 1-bromo-heptilo. A mistura foi aquecida à temperatura ambiente a reagiu durante 12 horas, tendo sido extraída e lavada, obtendo-se um óleo escuro. A adição de ácido acético e ácido perclórico deu origem, depois de adicionar éter etílico à solução, a 230 mg (0,53 mmol, **53%**) de um precipitado vermelho. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 0,80 (3H, s, $\text{H}^{7''}$), 1,12-1,34 (6H, m, $\text{H}^{4''} + \text{H}^{5''} + \text{H}^{6''}$), 1,51 (2H, m, $\text{H}^{3''}$), 1,83 (2H, m, $\text{H}^{2''}$), 3,07 (2H, t, $\text{H}^{7'}$, $J = 6,62$ Hz), 3,17 (2H, t, $\text{H}^{8'}$, $J = 6,80$ Hz), 3,41 (2H, t, $\text{H}^{1''}$, $J = 3,52$ Hz), 7,33 (1H, d, $\text{H}^{5'}$, $J = 7,54$ Hz), 7,43 (1H, t, $\text{H}^{4'}$, $J = 7,82$ Hz), 7,64 (1H, t, $\text{H}^{3'}$, $J = 7,24$ Hz), 7,76 (1H, t, $\text{H}^{6'}$, $J = 8,16$ Hz), 8,00 (2H, m, $\text{H}^{5'} + \text{H}^{8'}$), 8,23 (2H, m, $\text{H}^{7'} + \text{H}^{2'}$); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 11,3 ($\text{C}^{7''}$); 22,6; 26,7; 26,9; 27,4; 27,5; 29,4; 29,7; 36,6 ($\text{C}^{1''}$); 127,0; 127,7; 128,1; 128,5; 129,6; 131,1; 131,3; 131,5; 132,0; 139,1; 141,8; 146,2; 158,7 (C^4); 159,2 (C^2); 172,9 (C^9); **AE** calculada para $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{ClO}_5$: C 66,89; H 6,32; determinou-se: C 66,54; H 6,21



IV.8.3.5 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(2-naftilmetil)-benzopirílio (11)

Preparado de acordo com o método geral **III**, utilizando-se brometo de 2-naftaleno como electrófilo.

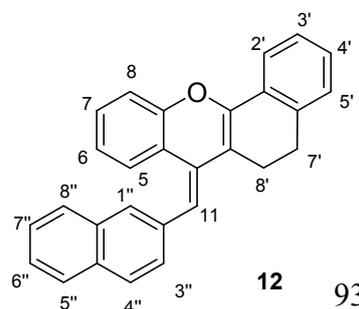
Dissolveram-se 261 mg (0,74 mmol) de **6** em 18 mL de THF seco. Após arrefecimento da mistura, adicionou-se 0,74 mmol de *n*-butil-lítio gota-a-gota. Depois de agitar a mistura reaccional por 30 minutos, adicionaram-se 163,8 mg (0,74 mmol) de 1-bromo-metil-2-naftaleno. A mistura foi aquecida à temperatura ambiente e reagiu durante 12 horas, tendo sido extraída e lavada, obtendo-se um óleo escuro. A adição de ácido acético e ácido perclórico deu origem, depois de adicionar éter etílico à solução, a 213 mg (0,45 mmol, **60,9%**) de um precipitado cor de laranja. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,27 (2H, t, 2H^a , $J = 6,88$ Hz), 3,40 (2H, t, 2H^b , $J = 7,12$ Hz), 5,05 (2H, s, H^{11}), 7,33 (1H, d, $\text{H}^{3''}$, $J = 8,48$ Hz), 7,40-7,47 (2H, m, $\text{H}^{6''} + \text{H}^{7''}$), 7,58 (1H, t, H^7 , $J = 7,4$ Hz), 7,70-7,76 (3H, m, $\text{H}^6 + \text{H}^{2'} + \text{H}^{1''}$), 7,78-7,88 (4H, m, $\text{H}^{4'} + \text{H}^{4''} + \text{H}^{5''} + \text{H}^{8''}$), 8,15 (1H, t, $\text{H}^{3'}$, $J = 7,45$ Hz), 8,24 (1H, d, H^5 , $J = 8,28$ Hz), 8,39 (1H, d, $\text{H}^{5'}$, $J = 8,16$ Hz), 8,48 (1H, d, H^8 , $J = 7,6$ Hz); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): 24,3; 26,7; 33,0; 114,1; 116,7; 118,1; 119,3; 123,7; 126,1; 127,4; 128,6; 128,9; 129,3; 129,4; 130,1; 130,5; 131,2; 132,2; 132,9; 135,5; 136,8; 149,3; 153,3; 163,6; 169,1; 169,4. **AE**: calculou-se para $\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{ClO}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C 69,79, H 4,60; determinou-se C 69,89; H 4,49



IV.8.3.6 2-fenil-(3,2'-etinil)-4-(2''-naftilmetileno)-benzopirano (12)

Preparado de acordo com o método geral **III**.

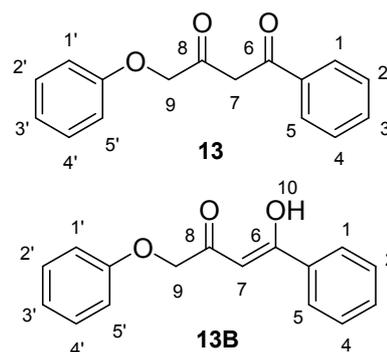
Dissolveram-se 261 mg (0,74 mmol) de **6** em 18 mL de THF seco. Após arrefecimento da mistura, adicionou-se 0,74 mmol de *n*-butil-lítio gota-a-gota. Depois de agitar



a mistura reaccional por 30 minutos, adicionaram-se 163,8 mg (0,74 mmol) de 1-bromo-metil-2-naftaleno. A mistura foi aquecida à temperatura ambiente a reagiu durante 12 horas, tendo sido extraída e lavada, obtendo-se um óleo escuro. A dissolução do óleo em seguida da adição de água deu origem a um precipitado amarelo muito fino. A suspensão foi extraída com éter etílico (2x30 mL) e os extractos orgânicos foram lavados com uma solução saturada de bicarbonato de sódio até neutralização do pH. Secou-se a fracção orgânica sobre sulfato de magnésio anidro e evaporou-se o solvente à secura, obtendo-se 54 mg(0,145 mmol, **32,4%**) de um sólido ligeiramente amarelo no final. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,27 (2H, t, 2H^{a} , $J = 6,88$ Hz), 3,40 (2H, t, 2H^{b} , $J = 7,12$ Hz), 5,05 (2H, s, H^{11}), 7,33 (1H, d, $\text{H}^{3''}$, $J = 8,48$ Hz), 7,40-7,47 (2H, m, $\text{H}^{6''} + \text{H}^{7''}$), 7,58 (1H, t, H^7 , $J = 7,4$ Hz), 7,70-7,76 (3H, m, $\text{H}^6 + \text{H}^{2'} + \text{H}^{1''}$), 7,78-7,88 (4H, m, $\text{H}^{4'} + \text{H}^{4''} + \text{H}^{5''} + \text{H}^{8''}$), 8,15 (1H, t, $\text{H}^{3'}$, $J = 7,45$ Hz), 8,24 (1H, d, H^5 , $J = 8,28$ Hz), 8,39 (1H, d, H^5 , $J = 8,16$ Hz), 8,48 (1H, d, H^8 , $J = 7,6$ Hz); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): 24,3; 26,7; 33,0; 114,1; 116,7; 118,1; 119,3; 123,7; 126,1; 127,4; 128,6; 128,9; 129,3; 129,4; 130,1; 130,5; 131,2; 132,2; 132,9; 135,5; 136,8; 149,3; 153,3; 163,6; 169,1; 169,4. **AE**: calculou-se para $\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{ClO}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C 69,79, H 4,60; determinou-se C 69,89; H 4,49

IV.8.4 Síntese da 4-fenoxi-benzoilacetona (**13**)

Num balão de fundo redondo de duas tubuladuras equipado com agitador magnético e atmosfera inerte dissolveram-se 414 mg (3,70 mmol) de terbutóxido de potássio em 3 mL de dimetilformamida seca. Aqueceu-se a mistura a 50°C e adicionou-se uma solução de 222 mg (1,85 mmol) de acetofenona em 1 mL de dimetilformamida seca, gota a gota. Após 30 minutos

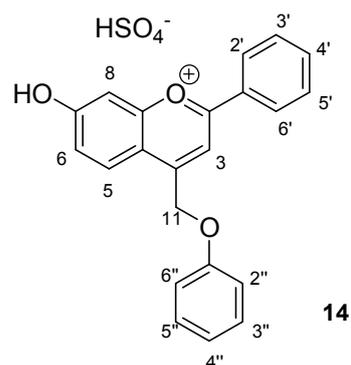


adicionou-se uma solução de 333 mg (1,85 mmol) de fenoxiacetato de etilo em 1 mL de DMF à mistura reaccional e manteve-se a agitação durante a noite. A evolução da reacção foi monitorizada por TLC utilizando uma mistura de hexano e acetato de etilo da proporção de 9:1 como eluente. Depois de esgotados os reagentes, a mistura reaccional foi neutralizada por adição de uma solução aquosa de ácido sulfúrico a 10%, e extraída com 3 porções de 20 mL de acetato de etilo. As fracções orgânicas foram

lavadas com 10 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio, secas com sulfato de magnésio anidro e o solvente foi removido por evaporação a pressão reduzida. O óleo castanho obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica utilizando uma mistura de hexano e éter etílico na proporção de 19:1 como eluente. No final obtiveram-se 220 mg de um sólido branco cristalino ($\eta=40\%$). A análise por espectroscopia de ressonância nuclear de protão revelou que o composto se encontrava totalmente na forma enólica. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 5,18 (2H, s, H_2^9), 6,58 (1H, s, H^7), 7,00 (m, 3H, $\text{H}^1+\text{H}^3+\text{H}^5$), 7,32 (2 H, t, $\text{H}^2'+\text{H}^4'$, $J = 7,76$ Hz), 7,46 (2H, t, H^2+H^4 , $J = 7,68$), 7,56 (1H, t, H^3 , $J = 7,32$ Hz), 7,99 (2H, d, H^1+H^5 , $J = 7,48$), 15,92 (1H, s, H^{10}); **AE**: calculou-se para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$: C 75,57; H 5,55; determinou-se C 76,11; H 5,05.

IV.8.5 Síntese do 2-fenil-4-fenoximetil-7-hidroxi-benzopirílio (14)

Num balão de fundo redondo equipado com agitador magnético dissolveram-se 27,5 mg (0,25 mmol) de resorcinol e 63,5 mg (0,25 mmol) de **13** em 1 ml de ácido acético, e adicionaram-se 100 μL de ácido sulfúrico a 98% à mistura reaccional. Manteve-se a agitação durante 4 horas e adicionaram-se 5 mL de éter etílico. O precipitado obtido foi filtrado e lavado com éter etílico e seco sob vácuo, rendendo

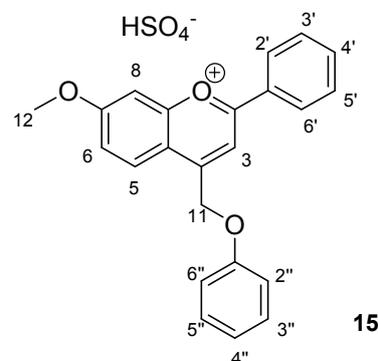


56 mg (0,13 mmol, **53%**) de um sólido cor de laranja. A evolução da reacção foi monitorizada por TLC utilizando uma mistura de acetato de etilo e hexano na proporção de 1:4 como eluente. $^1\text{H RMN}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$) δ (ppm): 7,12 (1H, t, $\text{H}^{4''}$, $J = 7,42$ Hz), 7,26 (2H, d, $\text{H}^{2''}+\text{H}^{6''}$, $J = 7,78$ Hz), 7,45 (2H, t, $\text{H}^{3''}+\text{H}^{5''}$, $J = 7,68$ Hz), 7,67 (1H, dd, H^6 , $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 8,44$ Hz), 7,79 (2H, t, $\text{H}^{3'}+\text{H}^{5'}$, $J = 7,64$ Hz), 7,80 (1H, d, H^8 , $J = 2,0$ Hz), 7,9 (1H, t, H^4 , $J = 7,56$ Hz), 8,40 (1H, d, H^5 , $J = 8,22$ Hz), 8,47 (2H, d, $\text{H}^2'+\text{H}^{6'}$, $J = 7,42$ Hz) 8,60 (1H, s, H^3) $^{13}\text{C RMN}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$) δ (ppm): 103,19; 110,84; 115,10; 115,21; 122,30; 122,53; 128,47; 129,18; 129,47; 129,90; 130,11; 136,25; 157,53; 159,15; 166,64; 169,37; 171,69; 180,50. **AE**: calculou-se para $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$: C 59,45; H 4,54; determinou-se C 59,27; H 4,79

IV.8.6 Síntese do 2-fenil-4-fenoximetil-7-metoxi-benzopirílio (15)

Preparado do mesmo modo que **14**, utilizando *m*-metoxi-fenol ao invés de resorcinol.

Obtiveram-se 58 mg (0,125 mmol, **51%**) de um sólido vermelho. **RMN** (D_2O/DCI) δ (ppm): 3,76 (1H,s, H_3^{12}), 7,07 (1H, t, $H^{4''}$, $J = 7,42$ Hz), 7,21 (2H, d, $H^{2''}+H^{6''}$, $J = 7,62$ Hz), 7,37 (1H, dd, H^6 , $J_1 = 2,0$ Hz, $J_2 = 8,24$ Hz), 7,45 (2H, t, $H^{3''}+H^{5''}$, $J = 7,68$ Hz), 7,52 (1H, d, H^8 , $J = 2,04$ Hz), 7,81 (2H, t, $H^{3'}+H^{5'}$, $J = 7,64$ Hz), 7,84 (1H, t, $H^{4'}$, $J = 7,44$ Hz), 8,32 (1H, d, H^5 , $J = 8,28$ Hz), 8,39 (2H, d, $H^{2'}+H^{6'}$, $J = 7,44$ Hz) 8,55 (1H, s, H^3); **^{13}C RMN**



15

(D_2O/DCI) δ (ppm): 58,9, 102,29; 111,78; 113,60; 115,41; 121,66; 123,73; 126,56; 129,87; 130,23; 130,45; 131,14; 131,78; 132,51; 136,73; 156,49; 159,78; 166,62; 169,07; 171,54; 180,99. **AE**: calculou-se para $C_{23}H_{29}O_7S$: C 62,72; H 4,58; determinou-se C 63,51; H 4,50

IV. Bibliografia

- [1] F. Pina, M. Maestri, V. Balzani, in *Handbook of Photochemistry and Photobiology, Vol. 3, chapter 9* (Ed.: A. S. Publishers), **2003**, pp. 411
- [2] R. Brouillard, in *Anthocyanins as Food Colors - A Series of Monographs Vol. chapter 1*, P. Markakis ed., Academic Press, New York, **1982**
- [3] C. Timberlake, F., P. Bridle, *Food Chemistry* **1997**, 58, 103
- [4] C. Bullock, H. Wagner, *Ber. Dtsh. Chem. Ges.*, **1901**, 34, 1782
- [5] R. Willstätter, A.E. Everest, *Justus Liebigs Ann. Chem*, **1915**, 408, 1
- [6] R. Willstätter, A.E. Everest, *Justus Liebigs Ann. Chem*, **1913**, 401, 189
- [7] Y. Hirsberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 2304
- [8] F. Galindo, J.C. Lima, S.V. Luis, M.J. Melo, A.J. Parola, F. Pina, *J. Mater. Chem.*, **2005**, 15, 2840
- [9] A. Roque, C. Lodeiro, F. Pina, M. Maestri, R. Ballardini, V. Balzani, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2699
- [10] M.C. Moncada, F. Pina, A. Roque, A. J. Parola, M. Maestri, V. Balzani, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 304
- [11] R. Matsushima, A. Ogiue, S. Fujimoto, *Chem. Lett.*, **2000**, 590
- [12] A. M. Diniz, Dissertação thesis “Síntese e estudo de flavílios com novas funcionalidades”, FCT-UNL (Lisboa), **2008**
- [13] R. Robinson, D.D. Pratt, *J. Chem. Soc.*, **1926**, 1713
- [14] G.F. Dorofeyenko, V.V Tachenko, *Ibid.*, **1976**, 12, 432
- [15] A.W. Johnson, R.R. Melhuish, *J. Chem. Soc.*, **1947**, 346
- [16] R. Robinson, J. Walker, *J. Chem. Soc.*, **1934**, 1435
- [17] G.A. Iacobucci, J.G. Sweeny, *Tetrahedron*, **1983**, 39, 3005
- [18] D.W. Hill, *Chem. Rev.* **1936**, 19, 27
- [19] C. Roehri-Stoeckel, E. Gonzalez, A. Fougerousse, R. Brouillard, *Can. J. Chem.*, **2001**, 79, 1173

- [20] H. Wünscher, G. Haucke, P. Czerney, U. Kurzer, *J. Photochem. Photobiol. A*, **2002**, *151*, 75
- [21] A.R. Katritzky, P. Czerney, J.R. Levell, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8198
- [22] Alan A.R. Katritzky, P. Czerney, J.R. Levell, W. Du, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 2623
- [23] R.A. McClelland, S. Gedge, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 5838
- [24] F. Pina, M.J. Melo, M. Maestri, P. Passaniti, N. Camaioni, V. Balzani, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 3199
- [25] F. Pina, A. Roque, M.J. Melo, M. Maestri, L. Belladelli, V. Balzani, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1184
- [26] U.-W. Grummt, P. Czerney, *J. Phys. Org. Chem.* **2002**; *15*, 385
- [27] A. Roque, C. Lodeiro, F. Pina, M. Maestri, S. Dumas, P. Passaniti, V. Balzani, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 987
- [28] F. Pina, J. C. Lima., A. J. Parola, C. A. M. Afonso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1525
- [29] M. C. Moncada, D. Fernández, J. C. Lima, A. J. Parola, C. Lodeiro, F. Folgosa, M. J. Melo, F. Pina, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *4*, 2802
- [30] L. Giestas, F. Folgosa, J. C. Lima, A. J. Parola, F. Pina, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *43*, 4187
- [31] F. Pina, J. C. Lima, A. J. Parola, A. Roque, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2007**, *6*, 381
- [32] D. Amić, D. Davidović-Amić, D. Bešlo, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1998**, *38*, 815
- [33] A. Isidro-Llobet, M. Álvarez, F. Albericio, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 2455
- [34] T.W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis* (John Wiley & Sons, Inc.), **1999**
- [35] J.A. Barltrop, P.J. Plant, P. Schofield, *Chem. Commun.*, **1966**, *22*, 822
- [36] Corrie, J.E.T., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1993**, *18*, 2161
- [37] G. Mayer, A. Heckel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4900 – 4921 -caged biomolecules
- [38] J.H. Kaplan, B. Forbush III, J.F. Hoffman, *Biochem.*, **1978**, *17*, 1929 – caged atp

- [39] R.S. Givens, J.F.W. Weber, P.G. Conrad II, G. Orosz, S.L. Donahue, S.A. Thayer, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 2687
- [40] T. Furuta, M. Iwamura, *Methods Enzymol.* **1998**, *291*, 50
- [41] A.V. Pinheiro, P. Baptista, J.C. Lima, *Nucl. Acids Res.*, **2008**, *36*, e90
- [42] A. L. Roque, Dissertação thesis, FCT-UNL (Lisboa), **2001**
- [43] A.R. Katritzky, X. Lan, J.Z. Yang, O.V. Denisko, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 409
- [44] J.T. Adams, C.R. Hauser, *J. Am. Chem. Soc.*, **1944**, *66*, 1220
- [45] N.S. Nandurkar, M.J. Bhanushali, D.S. Patil, B.M. Bhanage, *Synth Commun*, **2007**, *37*, 4111
- [46] P. Atkins, J. de Paula, in *Physical Chemistry, Chapter 25*, (Oxford University Press), **2008**
- [47] J. Crugeiras, A. Rios, T.L. Amyes, J.P. Richard, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 2145
- [48] A. Streitwieser Jr., D. Holtz, G.R. Ziegler, J.O. Stoffer, M.L. Brokaw, F. Guibé, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 5229
- [49] R.N. Perutz, *Pure & Appl. Chem.*, **1998**, *70*, 2211
- [50] A. Jarczewski, K.T. Leffek, *Can. J. Chem.*, **1972**, *50*, 24
- [51] S. Draxler, M. E. Lippitsch, *J. Phys. Chem.*, **1993**, *97*, 11493
- [52] B. Valeur, in *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, (Wiley-VCH Verlag GmbH), **2001**
- [53] M.A. Haidekkera, E.A. Theodorakisb, *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, *5*, 1669
- [54] M.K. Kuimova, G. Yahiolglu, J.A. Levitt, K. Suhling, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6672
- [55] B.A.F. Previdello, F.R. de Carvalho, A.L. Tessaro, V.R. de Souza, N. Hioka, *Quim. Nova*, **2006**, *29*, 600
- [56] F. Pina, T.A. Hatton, *Langmuir*, **2008**, *24*, 2356
- [57] R. Gomes, A. J. Parola, C. A. Laia, F. Pina, *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 12059
- [58] R. Chaudhuri, J. Guharay, P.K. Sengupta, *J. Photochem. Photobiol. A*, **1996**, *101*, 241
- [59] P.C. Shanks, E.I. Franses, *J. Phys. Chem*, **1992**, *96*, 1794

- [60] A.P. Romani, A.E.H. Machado, N. Hioka, D. Severino, M.S. Baptista, L. Codognoto, M.R. Rodrigues, H.P.M. Oliveira, *J. Fluores.* **2009**, *19*, 327
- [61] J. Xi, R. Guo, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*, 111
- [62] R. Guo, P. Wei, W. Liu, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*, 1580
- [63] I.V. Soboleva, J. van Stam, G.B. Dutt, M.G. Kuzmin, F.C. De Schryver, *Langmuir* **1999**, *15*, 6201
- [64] L.R. Menegussi, G.L. Sena, in 48º Congresso Brasileiro de Química
- [65] L.M. Kushner, W.D. Hubbard, *J. Phys. Chem.*, **1954**, *58*, 1163
- [66] M. Malmsten, B. Lindman, *Macromolecules*, **1992**, *25*, 5440
- [67] P. Chandaroy, A. Sen, S.W. Hui, *J. Control. Rel.* **2001**, *76*, 27
- [68] P. Alexandridis, T.A. Hatton, *Coll. Surf. A*, **1995**, *96*, 1
- [69] O.V. Eliseeva, N.A.M. Besseling, L.K. Koopal, M.A.C. Stuart, *Croat. Chem. Acta*, **2007**, *80*, 429
- [70] T. Karlessi, M. Santamouris, K. Apostolakis, A. Synnefa, I. Livada, *Solar Energy*, **2009**, *83*, 538
- [71] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg and B. Lindman, in *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution* (John Wiley & Sons, Ltd.) **2002**