

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MON  
547.587.51  
146790  
TES/MEM

CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA DE  
DERIVADOS DE CUMARINAS

Jacques Antonio de Miranda•

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Química como  
parte dos requisitos para obtenção do  
título de MESTRE EM QUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado  
•Bolsista Capes

Uberlândia – MG  
2001

SISBI/UFU



1000204135



Programa de Pós Graduação em Química- MESTRADO  
Instituto de Química – UFU  
Uberlândia/MG - Fone: (34) 3239-4385  
e-mail: [cpgquimica@ufu.br](mailto:cpgquimica@ufu.br)  
[www.cpgquimica.iq.ufu.ufu.br](http://www.cpgquimica.iq.ufu.ufu.br)

---

**ALUNO: JACQUES ANTÔNIO DE MIRANDA**

**NÚMERO DE MATRÍCULA: 5001403-7**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÍSICO-QUÍMICA**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:**

**"CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA DE DERIVADOS DE CUMARINAS".**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Antônio Eduardo da Hora Machado**

A Dissertação foi **APROVADA** em reunião pública, realizada no Anfiteatro do Bloco "X" do Campus Santa Mônica, em 27 de novembro de 2001, às 09:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

**NOME:**

**ASSINATURA**

Prof. Dr. Antônio Eduardo H. Machado (Orientador-UFU)

Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero

(IQ/UFU)

Prof. Dr. Ira Mark Brinn

(IQ/UFRJ)

Uberlândia, 27 de novembro de 2001.

— Por que eles falam tão difícil? — perguntou certa noite ao Inglês. Notou também que o Inglês andava meio aborrecido e sentindo falta de seus livros.

— Para que só os que têm responsabilidade de entender que entendam — disse ele. — Imagine se todo mundo saísse transformando chumbo em ouro. Daqui a pouco o ouro não ia valer nada.

“Só os persistentes, só aqueles que pesquisam muito, é que conseguem a Grande Obra. Por isso estou no meio deste deserto. Para encontrar um verdadeiro Alquimista, que me ajude a decifrar os códigos.”

*O Alquimista*

*Dedico este trabalho à minha família*

## *Agradecimentos*

A Deus, pela oportunidade de concluir mais uma etapa dessa breve passagem.

Ao Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado pela orientação, apoio e atenção dedicados durante a realização desse trabalho.

À Prof. Dra. Ana Maria Ferreira de Oliveira Campos, da Universidade do Minho, Portugal, pela gentil cessão dos derivados de cumarinas estudados neste trabalho.

Aos colegas do Grupo de Fotoquímica e Química de Lignocelulósicos pelo convívio e longa amizade.

Aos Profs. Dr. David E. Nicodem e Dr. Ira Mark Brinn do Laboratório de Espectroscopia Resolvida no Tempo - IQ/UFRJ.

Aos Profs. Dr. Miguel Guillermo Neumann e Dr. Marcelo Gehlen do Laboratório de Fotoquímica - IQSC/SP.

Aos colegas Divinomar Severino, Valdemir Velani e Hosana M. Maciel Velani pelas contribuições durante algumas discussões.

Aos colegas Alex F. de Paulo, Anderson A. Tossani, Cássio C. de Oliveira, Daniel R. Borges, Paulo R. Ramos Costa, Wilson J. Rosa Jr., pela amizade e companherismo.

À UFU e à CAPES, pelo apoio financeiro.

Todos os colegas, amigos, técnicos e professores do IQ-UFU, em especial Prof. Dr. Evandro A. Nascimento, Prof. Dr. Maurício Santos Matos, Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero, Profa. Dra. Silvana Guilardi e Prof. Dr. Wellington de Oliveira Cruz.

## *Agradecimentos*

A Deus, pela oportunidade de concluir mais uma etapa dessa breve passagem.

Ao Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado pela orientação, apoio e atenção dedicados durante a realização desse trabalho.

À Prof. Dra. Ana Maria Ferreira de Oliveira Campos, da Universidade do Minho, Portugal, pela gentil cessão dos derivados de cumarinas estudados neste trabalho.

Aos colegas do Grupo de Fotoquímica e Química de Lignocelulósicos pelo convívio e longa amizade.

Aos Profs. Dr. David E. Nicodem e Dr. Ira Mark Brinn do Laboratório de Espectroscopia Resolvida no Tempo - IQ/UFRJ.

Aos Profs. Dr. Miguel Guillermo Neumann e Dr. Marcelo Gehlen do Laboratório de Fotoquímica - IQSC/SP.

Aos colegas Divinomar Severino, Valdemir Velani e Hosana M. Maciel Velani pelas contribuições durante algumas discussões.

Aos colegas Alex F. de Paulo, Anderson A. Tossani, Cássio C. de Oliveira, Daniel R. Borges, Paulo R. Ramos Costa, Wilson J. Rosa Jr., pela amizade e companherismo.

À UFU e à CAPES, pelo apoio financeiro.

Todos os colegas, amigos, técnicos e professores do IQ-UFU, em especial Prof. Dr. Evandro A. Nascimento, Prof. Dr. Maurício Santos Matos, Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero, Profª. Dra. Silvana Guilardi e Prof. Dr. Wellington de Oliveira Cruz.

# Índice

<i>Resumo</i> .....	I
<i>Abstract</i> .....	III
<i>I</i> <i>Introdução</i> .....	I
1.1 <i>As cumarinas</i> .....	I
1.1.1 <i>Cumarinas como agentes anticâncer</i> .....	4
1.1.2 <i>Atividade mutagênica de cumarinas</i> .....	6
1.1.3 <i>Atividade anti-HIV de cumarinas</i> .....	7
1.1.4 <i>Atividade das cumarinas sobre o sangue e seus componentes</i> .....	8
1.1.5 <i>Interações de cumarinas com espécies ativas de oxigênio</i> .....	9
1.1.6 <i>Cumarinas em sistemas de laser de corante</i> .....	11
1.1.7 <i>Cumarinas como sondas de fluorescência</i> .....	12
1.1.8 <i>Furano-derivados de cumarina</i> .....	14
1.2 <i>Aspectos Teóricos Para Um Estudo Fotofísico e Fotoquímico</i> .....	16
1.2.1 <i>Especroscopia no Visível e UV-próximo</i> .....	16
1.2.1.1 <i>A Lei da Absorção</i> .....	16
1.2.2 <i>Fotofísica Molecular: Diagrama de Jablonski e Princípio de Franck-Condon</i> .....	18
1.2.3 <i>Deslocamento de Stokes e o efeito dos solventes</i> .....	22
1.2.3.1 <i>Efeitos do solvente no espectro de absorção</i> .....	23
1.2.3.1.1 <i>Compostos solvatoocrônicos</i> .....	25
1.2.3.1.2 <i>Teoria do efeito do solvente sobre o espectro de absorção no UV-Visível</i> .....	25
1.2.3.2 <i>Efeitos do Solvente no Espectro de Emissão</i> .....	27
1.2.3.3 <i>Mecanismos para o Deslocamento Espectral e a Equação de Lippert</i> ..	29
1.2.3.4 <i>Outras Escalas de Polaridade</i> .....	32
1.2.4 <i>Cinética dos processos fotofísicos</i> .....	36
1.2.4.1 <i>Tempos de vida radiativos</i> .....	36
1.2.4.2 <i>Medidas de tempo de vida</i> .....	38
1.2.4.3 <i>Rendimentos Quânticos</i> .....	41
1.2.4.3.1 <i>Medidas experimentais de rendimento quântico de fluorescência</i> ...	44
1.3 <i>A fotofísica de cumarinas</i> .....	46
1.4 <i>Objetivos</i> .....	50
<i>2     Experimental</i> .....	51

2.1	<i>Materiais e reagentes.....</i>	51
2.2	<i>Experimental .....</i>	54
2.2.1	<i>Medidas à temperatura ambiente.....</i>	54
2.2.1.1	<i>Efeito do solvente sobre a fotofísica das cumarinas .....</i>	54
2.2.1.2	<i>Comportamento fotofísico das cumarinas 2 e 3 frente a variações no pH do meio.....</i>	55
2.2.1.3	<i>Comportamento fotofísico da cumarina 2 em diferentes misturas dioxano/água.....</i>	55
2.2.1.4	<i>Comportamento fotofísico da cumarina 3 em diferentes misturas metanol/DMF: Efeito do caráter nucleofílico dos solventes orgânicos.....</i>	56
2.2.2	<i>Medidas fotofísicas a baixa temperatura.....</i>	56
2.2.3	<i>Eficiência quântica de geração de oxigênio singlete .....</i>	56
3	<i>Resultados e Discussão.....</i>	58
3.1	<i>Absortividade molar das cumarinas estudadas.....</i>	58
3.2	<i>A Natureza do Estado <math>S_1</math> .....</i>	63
3.3	<i>Efeito do Solvente Sobre a Transição <math>S_1 \rightarrow S_0</math>.....</i>	78
3.4	<i>Energias de singlete e a capacidade de geração de oxigênio singlete para as cumarinas estudadas.....</i>	112
4	<i>Conclusão.....</i>	117
5	<i>Sugestões para trabalhos futuros.....</i>	120
6	<i>Apêndice .....</i>	121
7	<i>Referências Bibliográficas .....</i>	129
8	<i>Produção Bibliográfica (2000-2001).....</i>	141
8.1	<i>Trabalhos em Eventos.....</i>	141
8.2	<i>Artigos Publicados em Periódicos.....</i>	143
8.3	<i>Artigos em Redação .....</i>	144

## Índice de Figuras

<i>Figura 1 - Cumarina e cromona.</i> .....	1
<i>Figura 2 - Rota biosintética da cumarina.</i> .....	1
<i>Figura 3 - Formas cis e trans do ácido cinâmico.</i> .....	2
<i>Figura 4 - Estruturas cis e trans glicosiladas.</i> .....	2
<i>Figura 5 - Umbeliferona, a 7-hidroxicumarina.</i> .....	2
<i>Figura 6 - Cumarinas comumente encontradas na natureza.</i> .....	3
<i>Figura 7 - Cumarina e compostos similares.</i> .....	4
<i>Figura 8 - Cumarinas isoladas da <i>Calophyllum Linn.</i> <i>Inophyllum</i>.</i> .....	7
<i>Figura 9 - Cumarinas isoladas da <i>Calophyllum lanigerum</i>.</i> .....	8
<i>Figura 10 - Cumarinas extraídas da <i>Zanthoxylum schinifolium</i> com atividade antiagregante de plaquetas.</i> .....	9
<i>Figura 11 - Cumarina isolada da <i>Peucedanum japonicum</i>.</i> .....	9
<i>Figura 12 - Algumas cumarinas comumente utilizadas em lasers de corante.</i> .....	12
<i>Figura 13 - Cumarinas utilizadas na síntese do dendrimero. (a) utilizada na periferia e (b) utilizada no núcleo.</i> .....	13
<i>Figura 14 - Dendrimero contendo vários substituintes constituidos de cumarinas.</i> .....	14
<i>Figura 15 - Estrutura básica dos psoralenos.</i> .....	14
<i>Figura 16 - Exemplos de psoralenos utilizados em fotoquimioterapia.</i> .....	15
<i>Figura 17 - Esquema dos processos radiativos em um sistema de dois níveis. Probabilidade de transição para a absorção (<math>B_{hv}</math>), para a emissão espontânea (<math>A_{uv}</math>) e para a emissão estimulada (<math>B_{uv}</math>).</i> .....	18
<i>Figura 18 - Diagrama de Jablonski.</i> .....	21
<i>Figura 19 - Curvas de energia potencial mostrando os níveis vibracionais em relação ao processo de absorção relacionado ao princípio de Franck-Condon.</i> .....	22
<i>Figura 20 - Diagrama de Jablonski para fluorescência com relaxação pelo solvente.</i> ...	28
<i>Figura 21 - Dipolo em meio dielétrico.</i> .....	29
<i>Figura 22 - Estrutura do iodeto de 1-etil-4-metoxicarbonilpiridínio.</i> .....	32
<i>Figura 23 - Estrutura do corante de Reichardt, utilizado como padrão de polaridade.</i> ..	33
<i>Figura 24 - Derivado do corante de Reichardt utilizado para estudos em solventes de baixa polaridade.</i> .....	34
<i>Figura 25 - Perfil básico de uma curva de absorção Lorentziana.</i> .....	37
<i>Figura 26 - Diagrama de Jablonski modificado, mostrando a competição entre fluorescência, conversão interna e cruzamento entre sistemas.</i> .....	38
<i>Figura 27 - Estrutura básica das cumarinas.</i> .....	47
<i>Figura 28 - Derivados de cumarina estudados.</i> .....	50

<i>Figura 29 - Espectros de absorção em metanol das cumarinas estudadas. R = H (cumarina 1); R = NEt<sub>2</sub> (cumarina 2); R = OH (cumarina 3).....</i>	58
<i>Figura 30 - Esquema do equilíbrio ácido-base proposto para a cumarina 2.....</i>	61
<i>Figura 31 - Esquema do equilíbrio ácido-base proposto para a cumarina 3.....</i>	62
<i>Figura 32 - Espectros típicos de absorção e emissão de fluorescência para as cumarinas estudadas: (a) cumarina 1 em metanol (<math>\lambda_{exc} = 352</math> nm); (b) cumarina 2 em metanol (<math>\lambda_{exc} = 442</math> nm); (c) cumarina 3 em metanol (<math>\lambda_{exc} = 381</math> nm); (d) cumarina 3 em DMF, onde é favorecida a desprotonação do substituinte OH da posição 7 do anel cumarínico (<math>\lambda_{exc} = 468</math> nm).....</i>	63
<i>Figura 33 - Espectros de absorção da cumarina 3 em acetona, (a) — em acetona "pura" (<math>\lambda_{abs} = 374</math> nm e 460 nm); (b) ---- em acetona e ácido clorídrico (<math>\lambda_{abs} = 372</math> nm); (c) •••• em acetona e NaOH (<math>\lambda_{abs} = 456</math> nm).....</i>	65
<i>Figura 34 - Espectros de emissão de fluorescência da cumarina 3 em acetona, (a') em acetona "pura", excitação a 374 nm; (a'') em acetona "pura", excitação a 460 nm; (b) em acetona e ácido clorídrico, excitação a 372 nm; (c) em acetona e NaOH, excitação a 456 nm.....</i>	66
<i>Figura 35 - Bandas de absorção e curvas de monitoramento da absorbância do máximo de absorção da espécie desprotonada da cumarina 3 a diferentes valores de pH em mistura metanol/água: (a) mistura (1:4 v/v); (b) mistura (1:99 v/v).....</i>	67
<i>Figura 36 - Comportamento das bandas de emissão de fluorescência da cumarina 3 a diferentes valores de pH em mistura metanol/água: (a)mistura (1:4 v/v); (b) mistura (1:99 v/v).....</i>	69
<i>Figura 37 - Espécies geradas pela protonação e desprotonação do substituinte OH.....</i>	70
<i>Figura 38 - Espectros de absorção (a) e emissão de fluorescência (b) para a cumarina 3 a diferentes proporções na mistura metanol/DMF.....</i>	71
<i>Figura 39 - Espectros de emissão de fluorescência (a) e monitoramento da variação da absorbância a 382 nm, ocorrida para a cumarina 3 (b) em diferentes misturas de metanol/DMF.....</i>	72
<i>Figura 40 - Espectros de absorção e emissão de fluorescência da cumarina 3 em diisopropilamina (<math>\lambda_{exc} = 384</math> nm).....</i>	73
<i>Figura 41 - Bandas de absorção (a) e curvas de monitoramento da absorbância do máximo de absorção (<math>\lambda = 452</math> nm) da espécie protonada da cumarina 2 (b) a diferentes valores de pH em mistura metanol/água (1:99 v/v) .....</i>	74
<i>Figura 42 - Comportamento das bandas de emissão de fluorescência (a) e monitoramento da intensidade de fluorescência a 497 nm (b) da cumarina 2 a diferentes valores de pH em mistura metanol/água (1:99).....</i>	75

<i>Figura 43 - Cumarinas estudadas por Jones e colaboradores [129].....</i>	76
<i>Figura 44 - Espectros de absorção e emissão de fluorescência para a cumarina 2 a diferentes pH em mistura metanol água (1:99): (a) cumarina 2 a pH = 1,67 (<math>\lambda_{exc} = 495</math> nm); (b) cumarina 2 a pH = 5,65 (<math>\lambda_{exc} = 452</math> nm); (c) cumarina 2 a pH = 9,31 (<math>\lambda_{exc} = 452</math> nm).....</i>	77
<i>Figura 45 – Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação (<math>\Delta f</math>) para a cumarina 1 em solventes apróticos. (a) metilciclohexano; (b) tetracloreto de carbono; (c) tolueno; (d) dioxano; (e) clorofórmio; (f) acetato de etila; (g) THF; (h) DMSO; (i) DMF; (j) acetona; (k) acetonitrila.....</i>	80
<i>Figura 46 – Deslocamento de Stokes em função do parâmetro de polaridade ETN para a cumarina 1 em solventes apróticos. (a) tetracloreto de carbono; (b) tolueno; (c) dioxano; (d) THF; (e) acetato de etila; (f) clorofórmio; (g) acetona; (h) DMF; (i) DMSO.....</i>	81
<i>Figura 47 – Deslocamento de Stokes em função do parâmetro <math>\alpha</math> do solvente prótico para a cumarina 1. (a) 2-butanol; (b) 2-propanol; (c) etanol; (d) metanol; (e) etilenoglicol..</i>	82
<i>Figura 48 – Relação entre o rendimento quântico de fluorescência da cumarina 1 e a polarizabilidade de orientação (<math>\Delta f</math>) do solvente utilizado. Pontos fechados (●): (a) metilciclohexano; (b) tetracloreto de carbono; (c) tolueno; (d) dioxano; (e) clorofórmio; (f) acetato de etila; (g) THF; (h) DMSO; (i) DMF; (j) acetona; (k) acetonitrila. Pontos abertos (○): solventes próticos.....</i>	83
<i>Figura 49 – Relação entre o rendimento quântico de fluorescência da cumarina 1 e o parâmetro <math>\alpha</math> para solventes próticos. (a) 2-butanol; (b) 2-propanol; (c) etanol; (d) etilenoglicol; (e) metanol.....</i>	84
<i>Figura 50 – Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação para a cumarina 2 em solventes apróticos. (a) tetracloreto de carbono, (b) tolueno, (c) dioxano, (d) acetato de etila, (e) DMSO, (f) DMF, (g) propanona, (h) acetonitrila.....</i>	88
<i>Figura 51 - Espectros de emissão de fluorescência da cumarina 2 em (a) diisopropilamina, (b) clorofórmio e (c) metanol. Dois máximos de emissão de fluorescência podem ser visualizados: o primeiro, a 473 nm relativo ao estado LE, e a 490 nm relativo ao ICT.....</i>	90
<i>Figura 52 - Comportamento do rendimento quântico de fluorescência da cumarina 2 em solventes apróticos de polaridade intermediária a alta: (a) clorofórmio, (b) acetato de etila, (c) THF, (d) acetona, (e) acetonitrila, (f) DMF, (g) DMSO.....</i>	91
<i>Figura 53 - Comportamento do rendimento quântico de fluorescência da cumarina 2 em função do parâmetro <math>\alpha</math> do solvente: (a) 2-butanol, (b) 2-propanol, (c) etanol, (d) etilenoglicol, (e) metanol, (f) água.....</i>	92

<i>Figura 54 - Relação entre a constante de desativação não-radiativa para a cumarina 2 em função do parâmetro <math>\alpha</math> do solvente: (a) 2-butanol, (b) 2-propanol, (c) etanol, (d) etilenoglicol, (e) metanol, (f) água.....</i>	93
<i>Figura 55 - Espectros de absorção da cumarina 2 a diferentes proporções de água em dioxano. (—) 0 % água; (•••) 5 % água; (○○○○) 25 % água; (- - -) 50 % água; (ssss) 75 % água; (*****) 100 % água.....</i>	94
<i>Figura 56 - Espectros de emissão de fluorescência da cumarina 2 em diferentes concentrações de água, para misturas água/dioxano.....</i>	95
<i>Figura 57 - Deslocamento de Stokes da cumarina 2 para diferentes misturas de dioxano/água.....</i>	97
<i>Figura 58 - Rendimento quântico de fluorescência para diferentes misturas dioxano/água.....</i>	97
<i>Figura 59 - Relação de Stern-Volmer para a supressão da fluorescência da cumarina 2 em misturas dioxano/água. (a) variação entre 0 e 55,56 mol.dm<sup>-3</sup> de água; (b) variação entre 0 e 25 mol.dm<sup>-3</sup> de água.....</i>	98
<i>Figura 60 - Valores relativos de absorvância no máximo de absorção (a), deslocamento de Stokes(b) e rendimento quântico de fluorescência (c) para a cumarina 2 em função do pH do meio.....</i>	100
<i>Figura 61 - Relação de Stern-Volmer para a cumarina 2 utilizando-se H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> como supressor. (a) pH variando entre 1,67 e 9,31; (b) pH variando entre 1,67 e 2,15 (abaixo do pKa).....</i>	100
<i>Figura 62 - Espectros de absorção e emissão de fluorescência para a cumarina 3 em água a pH 5,45.....</i>	104
<i>Figura 63 - Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação para a cumarina 3 desprotonada em solventes apróticos. (a) clorofórmio, (b) acetato de etila, (c) THF, (d) DMSO, (e) DMF.....</i>	106
<i>Figura 64 - Espectros de emissão de fluorescência a 77 K em metilciclohexano para as cumarinas estudadas: (a) cumarina 1; (b) cumarina 2; (c) cumarina 3; (d) cumarina 3 desprotonada (solução contendo 20 % de piridina).....</i>	112
<i>Figura 65 - Espectros de emissão de fluorescência a 77 K para a cumarina 2 em: (a) acetato de etila; (b) etanol 99,8 %.....</i>	113
<i>Figura 66 - Decaimento do <math>^1\text{O}_2</math>, com emissão a 1270 nm, gerado por fotosensitização pela: (a) cumarina 1; (b) cumarina 3.....</i>	115
<i>Figura 67 - Curvas para a determinação da eficiência de geração de oxigênio singlete para as cumarinas. (P) fenalenona; (1) cumarina 1; (2) cumarina 2; (3) cumarina 3..</i>	115

## Índice das Tabelas

<i>Tabela 1 - Efeito inibitório de cumarinas na geração de superóxido por leucócitos humanos PMN PMA-estimulada .....</i>	10
<i>Tabela 2 -Características típicas de alguns cromóforos.....</i>	24
<i>Tabela 3 - Características dos principais padrões utilizados na determinação de rendimentos quânticos de fluorescência .....</i>	45
<i>Tabela 4 - Valores estimados para os coeficientes de extinção molar em diferentes solventes, obtidos para as cumarinas estudadas.....</i>	60
<i>Tabela 5 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos da cumarina 1 .....</i>	79
<i>Tabela 6 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 2 .....</i>	87
<i>Tabela 7 - Comprimentos de onda nos máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes e rendimentos quânticos de fluorescência para a cumarina 2 em diferentes composições dioxano água.....</i>	96
<i>Tabela 8 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes e rendimentos quânticos de fluorescência da cumarina 2 para diferentes <math>[H_3O^+]</math>, em misturas metanol água (1:99 v/v).....</i>	99
<i>Tabela 9 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 3.....</i>	102
<i>Tabela 10 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural e tempo de vida natural para a cumarina 3 desprotonada.....</i>	105

<i>Tabela 11 - Efeito da composição da mistura metanol/DMF sobre a fotofísica da cumarina 3.....</i>	108
<i>Tabela 12 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 3 em mistura metanol/água (1:4 v/v) a diferentes pH.....</i>	109
<i>Tabela 13 - Máximos de absorção e emissão, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 3 em mistura metanol/água (1:99 v/v) a diferentes pH.....</i>	110
<i>Tabela 14 - Energias de singlete e rendimentos quânticos de fluorescência para as três cumarinas estudadas.....</i>	113
<i>Tabela 15 - Propriedades físicas dos solventes utilizados.....</i>	121
<i>Tabela 16 - Dados solvato-crônicos dos solventes utilizados .....</i>	122

## Índice de Termos Adotados

- $\epsilon_s$ , constante dielétrica;
- $n$ , índice de refração;
- $\epsilon$ , absorvividade molar (coeficiente de extinção molar);
- IC**, conversão interna;
- ISC**, cruzamento entre sistemas;
- RV**, relaxação vibracional;
- $\tau_{exp}$ , tempo de vida experimental;
- $\tau_f$ , tempo de vida de fluorescência;
- $k_r^0$ , constante natural radiativa;
- $\tau_r^0$ , tempo de vida natural radiativo;
- $k_f$ , constante de fluorescência;
- $k_{nr}$ , constante para os demais processos;
- $\Delta\tilde{v}$ , deslocamento de Stokes;
- $\Phi_f$ , rendimento quântico de fluorescência;
- DMF**, N,N-dimetilformamida;
- DMSO**, dimetilsulfóxido;
- THF**, tetrahidrofurano;
- $\Delta f$ , polarizabilidade de orientação;
- $E_T(30)$ , energia de transição da banda de transferência de carga da Betaína 30, corante de Reichardt;
- $E_T^N$ , valor normalizado do  $E_T(30)$ ;
- $\lambda_{abs}$ , comprimento de onda de absorção;
- $\lambda_{em}$ , comprimento de onda de emissão;
- $\Delta\mu$ , diferença entre o momento de dipolo do estado excitado e o momento de dipolo do estado fundamental;
- $a$ , raio de Onsager;
- $\alpha$ , parâmetro solvatocrômico que relaciona o caráter doador de próton de um solvente em uma ligação de hidrogênio;
- $\beta$ , parâmetro solvatocrômico que relaciona o caráter aceptor de próton de um solvente em uma ligação de hidrogênio;
- solvente prótico**, que possui um átomo de hidrogênio hábil a formar uma ligação de hidrogênio;
- solvente aprótico**, que não possui um átomo de hidrogênio para formar ligação de hidrogênio.

## Resumo

A fotofísica de três derivados de cumarina foi estudada para uma série de solventes orgânicos, mediante medidas de fluorescência no estado estacionário e resolvida no tempo. As medidas foram feitas tanto à temperatura ambiente como a 77 K. As elevadas absorbividades molares, em torno de  $10^4 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$ , associadas à transição  $S_0 \rightarrow S_1$ , sugerem para essa um caráter  $\pi,\pi^*$ . Esse caráter  $\pi,\pi^*$  decorre principalmente do efeito aceptor de elétrons do grupo benzoxazol localizado na posição 3 do anel cumarínico. A transição sofre ainda uma contribuição  $n,\pi^*$ , resultado da interação de substituintes doadores de elétrons da posição 7 do anel cumarínico.

Os resultados mostram que as cumarinas são fortemente fluorescentes, havendo, no entanto, certas particularidades relacionadas ao tipo de substituinte na posição 7 do anel cumarínico. No caso do derivado 3-benzoxazol-2-il-7-dietilamino-cromen-2-ona, a combinação dos dois substituintes nas posições 3 e 7, faz com que ocorra uma transferência intramolecular de carga (ICT), já no estado fundamental, sendo essa intensificada no estado excitado. O estado excitado observado a partir da emissão fluorescente é provavelmente um estado TICT (Estado de Transferência Intramolecular de Carga Torcido). O comportamento desse composto é afetado pela polaridade do solvente, sobretudo solventes próticos, onde a formação de ligações de hidrogênio favorece a desativação não-radiativa do estado  $S_1$ . Tanto para esse composto como para o derivado hidroxilado desprotonado, observa-se uma dependência entre  $\Phi_f$  e a temperatura.

O efeito do pH sobre as características espectroscópicas foi investigado para a aminocumarina e para a hidroxicumarina. Nessa última, uma espécie aniônica formada mostra propriedades fotofísicas distintas da forma neutra. Foi estimado um  $pK_a$  de 6,20 para o equilíbrio ácido-base das duas espécies. A participação de processos não-radiativos de desativação é favorecida quando a forma aniônica predomina, decorrente, sobretudo do aumento das interações entre pares iônicos (espécie desprotonada e seu contra-íon). Um comportamento similar é observado em solventes nucleofílicos, como DMF e DMSO. A espécie desprotonada exibe um estado de transferência intramolecular de carga, formado a partir da nova carbonila gerada na posição 7 do anel cumarínico. No estado

excitado é possível ainda observar um terceira espécie a pH inferior a 2, atribuída à forma catiônica, obtida pela protonação do grupo hidroxila.

Para a aminocumarina, foi estimado um pKa de 2,36. O estado de transferência de carga é inviabilizado pela protonação do grupo amino, uma vez que nessas condições é desfavorecida a indução eletrônica para o anel cumarínico. A espécie catiônica no estado excitado é fortemente desativada por conversão interna.

O derivado 3-benzoxazol-2-il-cromen-2-ona apresentou uma eficiência quântica de geração de oxigênio singlete de aproximadamente 15 %, enquanto que os demais derivados indicaram uma eficiência em torno de 6 %.

## Abstract

The photophysics of three coumarins derivatives has been studied in different organic solvents, by steady-state and time-resolved fluorescence measurements. These measurements were performed both at room temperature and at 77 K. The high molar absorptivities, approximately  $10^4 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$ , associated to  $S_0 \rightarrow S_1$  transition, suggest a  $\pi, \pi^*$  character. This  $\pi, \pi^*$  character is principally due to the electron-withdrawing effect of the benzoxazole group located at 3-position of the coumarin ring. An  $n, \pi^*$  perturbational contribution can also occur due to the interaction of electron donor substituents at 7-position.

The results show that the coumarins studied here are very strongly fluorescent. However, the kind of substituent at 7-position of coumarin ring has an important effect on the properties. For the 3-benzoxazol-2-il-7-diethylamino-cromen-2-one derivative, the combination of the two substituents at positions 3 and 7 can viabilize an intramolecular charge transfer (ICT) at the ground state; effect which increases in the first excited singlet state. The excited state observed from fluorescent emission has a TICT character. The behaviour of this compound is affected by solvent polarity, principally protic solvents, where the formation of hydrogen bonds favors the non-radiative deactivation of  $S_1$  state. This compound and the deprotonated hydroxylated derivative show a temperature dependence for  $\Phi_f$ .

The pH effect on spectroscopic properties was investigated for aminocoumarin and hidroxycoumarin. In the latter an anionic specie is formed. It shows distinct photophysical properties from the neutral species. A pKa of 6.20 was estimated for the acid-base equilibrium. Non-radiative deactivation processes increase when the anionic form predominates, due to the interactions between the anionic specie and its counter ion. A similar behaviour is observed in nucleophilic solvents, like DMF and DMSO. The anionic species present an intramolecular charge transfer originating from the ketonic group at 7 position, formed due to the deprotonation. In the excited state is still possible to observe a third species at below pH 2, that is attributed to the cationic form, formed by the protonation of hidroxyl group.

A pKa of 2.36 was estimated for aminocoumarin. The intramolecular charge transfer state is inviabilized after protonation of the amino group, where there is no eletronic coupling with the coumarin ring. The cationic specie at the excited state is strongly deactivated by internal conversion.

The 3-benzoxazol-2-il-cromen-2-one derivative showed a singlete oxygen generation quantum efficiency of 15 %, whereas the others an efficiency of approximately 6 % was found.

## 1 Introdução

### 1.1 As cumarinas [1]

Cumarinas são benzo-derivados da pirona, de ocorrência natural ou sintética, classificadas como benzo- $\alpha$ -pironas. As benzo- $\gamma$ -pironas são comumente conhecidas por cromonas.

Cumarinas foram primeiramente isoladas de uma espécie de feijão em 1820, combinadas com glicose, sendo que a primeira síntese foi realizada em 1868 pelo químico inglês Sir William Henry Perkin.

Quando o aldeído salicílico é aquecido com anidrido acético e acetato de sódio, o ácido formado é instável e se cicliza espontaneamente, dando origem a lactona conhecida como cumarina.

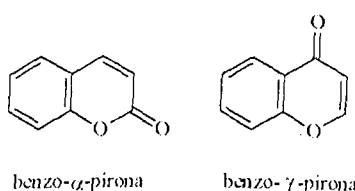


Figura 1 - Cumarina e cromona.

Na sua biosíntese, os núcleos benzo-2-pirona de cumarinas simples, derivam do esqueleto fenilacrílico do ácido cinâmico.

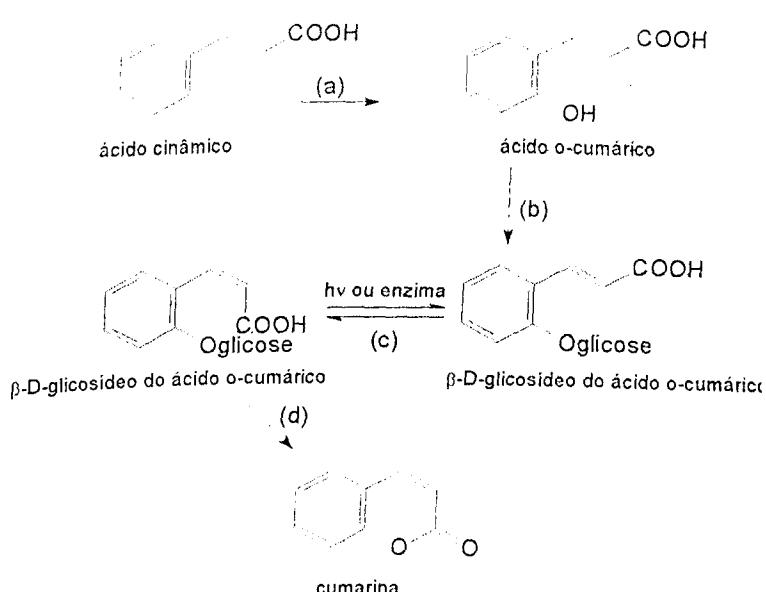


Figura 2 - Rota biosintética da cumarina.

A estrutura da cumarina é derivada do ácido cinâmico via orto-hidroxilação (a), trans-cis isomerização da dupla ligação da cadeia lateral (b) e (c), e lactonização (d). A forma trans é estável e não se cicliza. Portanto, deverá existir algum tipo de isomerização, e a enzima isomerase estará envolvida.

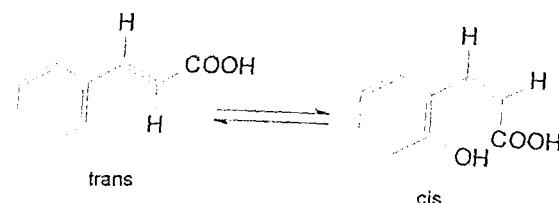


Figura 3 - Formas cis e trans do ácido cinâmico.

A forma cis é muito instável; portanto, tenderá para a configuração trans. Glicose é um bom grupo de saída, o qual ajuda na conversão cis-trans. Uma enzima específica, encontrada na *Melilotus alba* (leguminosae), hidrolisa especificamente o cis-glicosídio (beta-glicosidase).

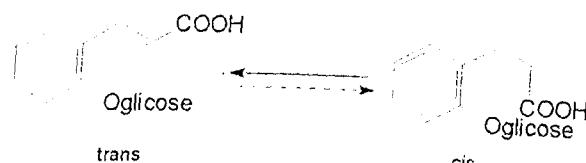


Figura 4 - Estruturas cis e trans glicosiladas.

Este caminho biosintético deverá ser seguido por todas as cumarinas, especialmente aquelas oxigenadas na posição 7.

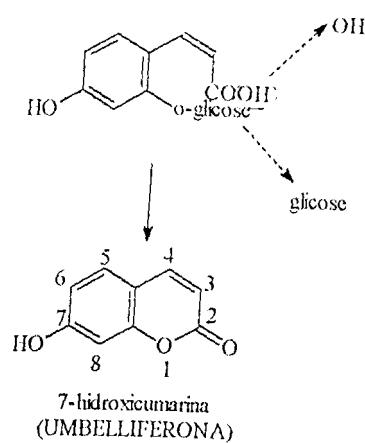


Figura 5 - Umbelliferona, a 7-hidroxicumarina.

Umbeliferona, esculetina e scopoletina são as cumarinas mais comuns na natureza.

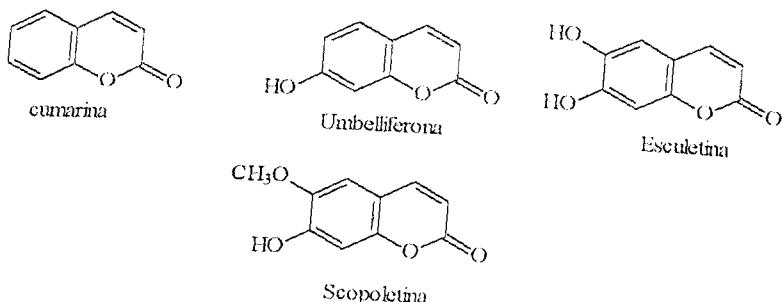


Figura 6 - Cumarinas comumente encontradas na natureza.

As cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários derivados do ácido cinâmico, amplamente distribuídos no reino vegetal (em gramíneas, cascas de citros e em folhas de alguns vegetais), podendo também ser encontradas em fungos e bactérias, sendo, hoje, identificadas mais de 1300 estruturas [1,2]. Podem ser encontradas sozinhas ou combinadas com açúcares ou ácidos. Suas características odoríferas permitem o uso na fabricação de perfumes e agentes flavorizantes, bem como repelente de insetos. Outra propriedade interessante é a de inibir a germinação de alguns tipos de sementes [1]. A cumarina foi o primeiro perfume natural sintetizado a partir de produtos químicos derivados do alcatrão da hulha [1]. Em 1940, a FDA (Food and Drug Administration, USA) proibiu seu uso como aditivo alimentício, devido à sua potencial hepatotoxicidade [3,4]. Há evidências de que algumas cumarinas possam ser carcinogênicas [1]. No entanto, as aplicações desses compostos estão superando os aspectos negativos. A elas é atribuída uma grande variedade de atividades biológicas, como a ação antimicrobiana, antiviral, antiinflamatória, antiespasmódica, antitumoral e antioxidante, dentre outras, as quais podem estar relacionadas com a inibição de enzimas e com a sua capacidade de suprimir espécies ativas de oxigênio (AO) [2], além também de, em alguns casos, gerá-las [5,6].

No que diz respeito às aplicações tecnológicas, sua utilização na indústria têxtil vale-se da propriedade, como é caso da 4-metil-7-dimetilaminocumarina, em aumentar a aparência branca de tecidos, especialmente algodão, após várias lavagens [1]. O uso em sistemas de laser de corante tem também alcançado merecido destaque, uma vez que os rendimentos quânticos de fluorescência de várias cumarinas são bastante elevados [7].

Modificações na estrutura básica das cumarinas podem fornecer outras classes de compostos (figura 7). A importância de se explorar as propriedades

desses compostos pode ser explicada pelo 6-metóxi-8-hidróxi-3-metil-3,4-dihidroisocumarina, que possui atividade antibiótica e é produzida pela cenoura após infestação por fungos [2].

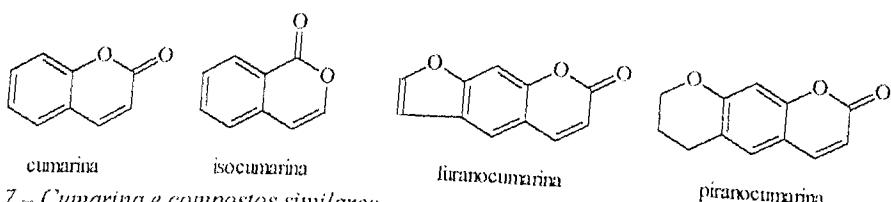


Figura 7 – Cumarina e compostos similares.

### 1.1.1 Cumarinas como agentes anticâncer

Vários agentes terapêuticos, contendo cumarinas como princípio ativo, têm sido testados como agentes anticâncer [8-16]. Tanto compostos sintéticos quanto extratos naturais estão sendo testados em diferentes tipos de células por diferentes métodos terapêuticos.

Okuyama [8,9], estudando o extrato da “ashitaba”, uma espécie consumida como legume no Japão, observou um potente efeito inibitório sobre o tumor induzido *in vitro* pelo 12-o-tetradecanoilforbol-13-acetato (TFA). Dentre os compostos ativos, destacam-se seis furanocumarinas do tipo linear e três cumárias de mesma estrutura, psoraleno, bergapteno e xantotoxina.

Nishino [10] estudou o efeito da Pd-II [(+)-anomalina, (+)-praeuruptorina B)], um tipo de cumarina, sobre o tumor de pele em ratos, induzido pelo TFA, iniciado por 7,12-dimetilbenzoantraceno. Pd-II, aplicado 40 minutos após a indução do tumor, supriu completamente sua formação sem apresentar qualquer toxicidade. Além do Pd-II, foram identificadas várias cumarinas de ação antitumor, todas isoladas do medicamento chinês Qian-Hu, do qual o Pd-II foi obtido. Outro grupo de drogas que se mostraram ativas na inibição do crescimento de tumores induzidos pelo TFA foram as piranocumarinas de tipo angular, isoladas da *Bai-Hua Qian-Hu* [11]. Uma fração inibiu duas fases na formação de tumor pulmonar gerado por glicerol em ratos, utilizando 1-óxido-4-nitroquinolina (4NQO) como iniciador [11].

Cumarinas obtidas de frutas da angélica (*Archangelica officinalis*) e parsnip frutífera (*sativa de Pastinaca*) inibiram o crescimento de células cancerígenas HeLa-S3 *in vitro*, em concentrações de 5 mg/mL [12].

Warfarina, uma cumarina anticoagulante, mostrou-se citotóxica sobre a metástase de células Mtln3, um carcinoma mamário de ratos. A metástase espontânea de tais tumores nos pulmões de fêmeas de ratos F344 tratadas com Warfarina foi inibida [13].

Cumarina é uma substância natural que apresenta atividade antitumor *in vivo* [15]. Apesar de não se conhecer o mecanismo exato de atuação da droga, Marshall e colaboradores, observaram a atividade inibitória, bem como a atividade imunomodulatória *in vitro* e *in vivo*, da cumarina e da 7-hidroxicumarina (7-HC). As duas espécies mostraram-se citotóxicas sobre as seguintes células malignas humanas: A549, ACHN, Caki-2, Dakiki, HS-sultão, H727, HCT-15, HL-60, K562, LNCaP, PC-3, DU145 COLO-232, MCF-7 e RP-1788. A inibição do crescimento mostrou-se dependente do tempo e da dose, sendo reversível quando as células eram retiradas do meio que continha a droga. De modo semelhante, tanto a cumarina quanto a 7-HC, inibiram a produção intracelular de antígeno próstata-específico de células LNCaP [14]. Um estudo envolvendo essas duas cumarinas foi realizado também por Prosser, onde foi testada a toxicidade dessas espécies na presença e na ausência de radiação sobre células LAT, um tumor ascítico [15]. As duas cumarinas não mostraram nenhum efeito até o período de 18 horas. No entanto, a cumarina apresentou um significativo efeito sobre a viabilidade celular da LAT em um período superior a nove dias, verificado com estudos de transplantabilidade [15].

O efeito antitumor da cumarina (1,2 - benzopirona) foi também evidenciado por Myers sobre quatro linhagens de células tumorais: 786-O e A-498, células de carcinoma renal e, DU145 e LNCaP, células malignas prostáticas. Após cinco dias de tratamento, a cumarina inibiu o crescimento das quatro linhagens de células [16].

Gu observou que a administração de 1,2 - benzopirona (25 a 50 mg/kg) leva a uma citotoxicidade seletiva em mucosa olfativa de ratos Wistar e camundongos C57BL/6 [17]. Em comparação, grandes doses mostraram-se hepatotóxicas em ratos [18]. A análise dose-resposta da toxicidade da cumarina indica que ratos Wistar são mais sensíveis do que camundongos C57BL/6 [17]. Outras espécies similares mostraram-se sensíveis à hepatotoxicidade cumarina-induzida em estudos iniciais no fígado. Contudo, são diferentes no que diz respeito à biotransformação da cumarina no fígado [19,20]. Em humanos, 7-

hidroxicumarina é o metabólito predominante *in vivo* e *in vitro* nos microssomos do fígado [21,22].

Com relação às cumarinas sintéticas, têm-se obtido resultados interessantes. Dentre esses, pode-se destacar a síntese de derivados cumarínicos buscando a obtenção de drogas onde, principalmente, seja eliminado o efeito carcinogênico da espécie. Harvey e colaboradores sintetizaram derivados de cumarina, onde se destacam os análogos de cumarinas policíclicos de fenantreno, benzoantraceno e benzopireno. Os ensaios preliminares de atividade biológica indicam que o análogo do benzopireno é um inibidor potente do tumor induzido por 7,12-dimetilbenzoantraceno, além de não apresentar efeito carcinogênico [23].

### 1.1.2 Atividade mutagênica de cumarinas

Dentre os problemas relacionados às cumarinas, está a sua ação mutagênica. Essa propriedade tem sido bastante estudada, numa tentativa de elucidar seus mecanismos e causas [24-28]. Grande ênfase tem sido dada aos efeitos provocados por esses compostos sobre a estrutura do DNA, uma vez que várias cumarinas antibióticas são conhecidas inibidoras de Girase de DNA bacteriano *in vivo* e *in vitro*. Kranz, por exemplo, observou a inibição das características capsulantes da Girase de DNA e a atividade ATP-dependente, ambas relacionadas à cumarina [24].

Contreras, estudando a hidrólise do ATP e o enovelamento do DNA, através da Girase de DNA de *Escherichia Coli*, observou a inibição desses dois processos pela cumarina [25].

A genotoxicidade desses compostos ainda vem sendo testada [26-28]. O estudo mais detalhado para determinar a existência ou não da ação mutagênica foi realizado por Goeger e colaboradores [28], estudando a co-mutagenicidade da cumarina com aflatoxina B1 em células S9 de fígado humano. Os resultados não mostraram nenhum sinal de mutagenicidade na ausência de aflatoxina. Quando incubadas com 1 ou 10 µM de aflatoxina, a cumarina produz um aumento da dose-dependência na freqüência mutante e na citotoxicidade [28].

### 1.1.3 Atividade anti-HIV de cumarinas

A AIDS é hoje uma das doenças para onde mais convergem os esforços científicos na tentativa de alcançar uma cura. Dentre os diferentes métodos existentes, baseados de drogas específicas, como o AZT, ou até mesmo nos modernos coquetéis, misturas de inúmeros agentes terapêuticos, uma modalidade terapêutica baseada no uso de cumarinas, tem sido desenvolvida. Os principais relatos de atividade anti-HIV são observados em extratos naturais [29-34]. Patil isolou alguns compostos, predominando duas cumarinas, da *Calophyllum Linn. inophyllum*, uma árvore tropical, que possuem atividade inibitória sobre o HIV (figura 8). As espécies inibiram a HIV transcriptase, com valores de IC<sub>50</sub> de 38 e 130 NM e ambas eram ativas sobre culturas de células HIV-1 (IC<sub>50</sub> de 1,4 e 1,6 mM) [35].

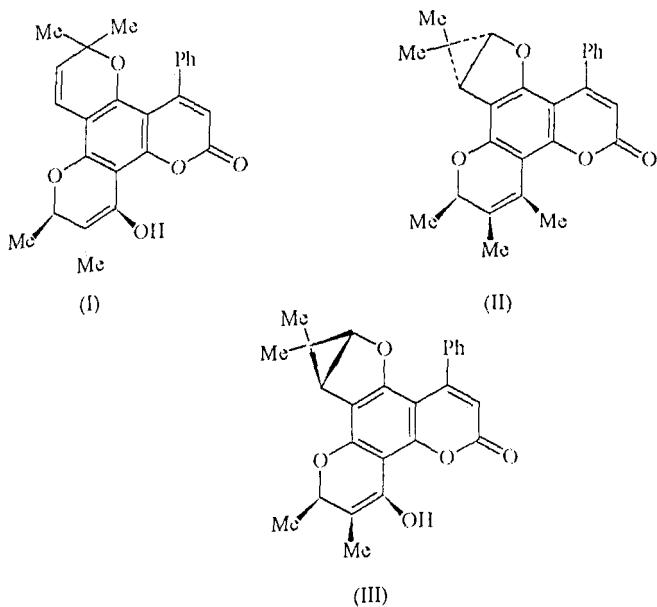


Figura 8 - Cumárias isoladas da *Calophyllum Linn. Inophyllum*.

Kashman e colaboradores, também estudando uma árvore tropical, a *Calophyllum lanigerum*, isolaram oito cumarinas. As espécies I e II, mostradas na figura 9, agiram inibindo a replicação de HIV-1 com considerável citopaticidade (EC<sub>50</sub> de 0,1 e 0,4 mM, respectivamente), mas mostraram-se inativas contra o HIV-2. Estudos com transcriptase reversa (TI) bacteriano recombinado revelaram que os calonelídeos são inibidores de HIV-1 RT específicos, o que é promissor para a síntese de uma nova droga [36].

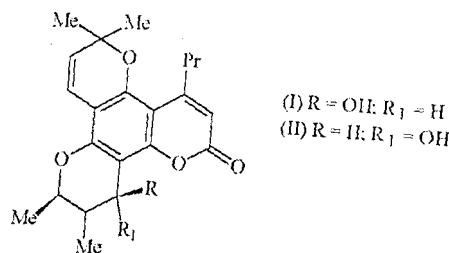


Figura 9 - Cumarinas isoladas da *Calophyllum lanigerum*.

A baixa bioviabilidade oral e excreção biliar de inibidores peptídeo-derivados HIV protease, limitam sua utilização como potenciais agentes terapêuticos. Isso levou Thaisrivongs e colaboradores a desenvolver modelos que contivessem inibidores peptídeo-derivados e inibidores não-peptídeo, carboxiamida contendo 4-hidroxicumarinas e modelos 4-hidroxil-2-pirona. Os estudos resultaram em uma série promissora de novos inibidores não-peptídicos HIV protease, com afinidade com a enzima ligante [33].

#### 1.1.4 Atividade das cumarinas sobre o sangue e seus componentes

Sem dúvida alguma, dentre todas as propriedades terapêuticas das cumarinas, a mais explorada é sua aplicação como agente anticoagulante [37-43]. Anticoagulantes orais são derivados da 4-hidroxicumarina ou da indan-1,3-diona. Estruturalmente, os derivados de cumarina com ação anticoagulante assemelham-se à vitamina K, um importante elemento na síntese de inúmeros agentes coagulantes [37]. No entanto, interferências no metabolismo da vitamina K no fígado, causadas por derivados de cumarina, levam a um aumento no conteúdo de agentes coagulantes defeituosos e incapazes de se ligar a íons cálcio (outro importante elemento na ativação de agentes coagulantes nas várias etapas da coagulação) [37].

Os estudos nessa área concentram-se fortemente na descoberta de novas drogas com atividade antiagregante de plaquetas. Dentre os produtos naturais isolados e que apresentaram tais propriedades, pode-se destacar o Schiifolina (I) e acetoxischilnifolina (II) (figura 10), identificados juntamente com mais cinco compostos já conhecidos (auraptena, dictamina, scoparona, skimmianina e *b*-sitosterol) no extrato das raízes da *Zanthoxylum schinifolium* [38].

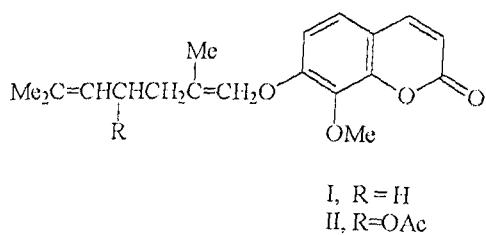


Figura 10 – Cumarinas extraídas da *Zanthoxylum schinifolium* com atividade antiagregante de plaquetas [38].

Uma nova cumarina isolada da *Peucedanum japonicum* (*Umbelliferae*) mostrou boa atividade em doses de 50 mg/mL. A figura 11 traz a estrutura da droga, onde R<sub>1</sub> = senecioil e R<sub>2</sub> = isovaleril [39].

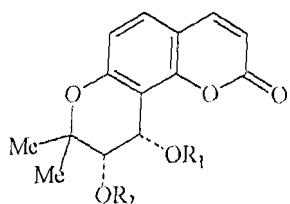


Figura 11 – Cumarina isolada da *Peucedanum japonicum*.

Outro composto que vem sendo bastante estudado é o AD6 (8-monocloro-3-beta-dietilaminoetil-4-metil-7-etoxicarbonilmeticumaria). Este é um derivado de cumarina capaz de inibir a agregação de plaquetas e liberação de ácido araquidônio causado por vários agentes como adrenalina, íon Ca<sup>2+</sup> e outros. Esse composto diminui a produção de araquidonato livre e diglicerídeo em plaquetas humanas, sugerindo ainda ser capaz de inibir fosfolipase A2 [44,45].

### 1.1.5 Interações de cumarinas com espécies ativas de oxigênio

Uma série de dezesseis cumarinas simples foi testada por Payá e colaboradores em vários sistemas envolvendo espécies ativas de oxigênio para caracterização de seus perfis antioxidantes [2]. Foram testadas suas habilidades de remover ânions-radicais superóxido gerados por leucócito polimorfonuclear humano quando estimulado por PMA (meristato acetato forbol). O método de monitoramento foi baseado na redução de ferricitocromo c e “nitroblue tetrazolium” (NBT). Outra característica observada foi que tais compostos não

inibem a NADPH oxidase, responsável por sua geração [46]. Os resultados obtidos por Payá estão dispostos na tabela 1.

*Tabela 1- Efeito inibitório de cumarinas na geração de superóxido por leucócitos humanos PMN PMA-estimulada [46].*

Nº	Composto	Método do cit. c		Método do NBT	
		%Inibição em 100 µM	IC <sub>50</sub> µM	%Inibição em 100 µM	IC <sub>50</sub> µM
1	4-hidroxicumarina	1,1 ± 0,6	-	2,7 ± 0,7	-
2	7-hidroxicumarina	26,7 ± 3,3	-	-	-
3	7-metilcumarina	8,3 ± 3,4	-	-	-
4	7-metoxicumarina	4,4 ± 0,6	-	-	-
5	7-hidroxi-4-metilcumarina	21,7 ± 2,2	-	-	-
6	7-metoxi-4-metilcumarina	8,7 ± 2,7	-	-	-
7	7,8-dihidroxi-6-metoxicumarina	99,1 ± 0,5	2,3	-	5,8
8	6,7-dihidroxicumarina	-	-	77,4 ± 5,2	33,9
9	6,7-dihidroxi-4-metilcumarina	-	-	58,1 ± 2,9	82,0
10	7-hidroxi-6-metoxicumarina	9,0 ± 1,8	-	-	-
11	7-hidroxi-6-O-glicosilcumarina	6,7 ± 0,9	-	-	-
12	7-hidroxi-6-metoxi-8-O-glicosilcumarina	44,2 ± 6,4	-	-	-
13	5,7-dihidroxi-4-metilcumarina	2,0 ± 0,5	-	-	-
14	3,4-dihidrocumarina	0,6 ± 0,4	-	-	-
15	7,8-dihidroxicumarina	-	-	95,4 ± 1,9	10,6
16	7,8-dihidroxi-4-metilcumarina	-	-	97,0 ± 2,4	8,5
*	Superóxido dismutase (70 U/mL)	99,3 ± 1,0	3,1 U/mL	93,3 ± 2,3	11,1 U/mL

(-) não testados; \* Referência

De especial interesse foram os resultados obtidos com o composto 13, pois em experimentos mais específicos, Payá observou uma variedade de

características potencialmente benéficas. O composto é um ativo inibidor da peroxidação lipídica e removedor de radicais alquilperóxido, inativa radicais superóxido e foi o mais ativo na remoção de ácido hipocloroso, além de ser não pro-oxidante [2].

#### 1.1.6 Cumarinas em sistemas de laser de corante

A utilização de cumarinas em sistemas de laser de corante tem sido bastante explorada [7,47-50], uma vez que os rendimentos quânticos de fluorescência de inúmeros compostos dessa classe são elevados.

Quando uma solução concentrada de um corante, com considerável rendimento quântico de fluorescência, é irradiada na banda do máximo de absorção, por um laser ou por uma lâmpada pulsada, ocorre uma elevada população eletrônica nos níveis vibracionais do estado  $S_1$  [75]. As populações são rapidamente relaxadas através de colisões para o mais baixo nível vibracional de  $S_1$ , de onde a emissão estimulada deve ocorrer [75]. Essa energia pode ser conduzida por um sistema de espelhos e então reutilizada, possibilitando então deslocar o comprimento de onda de irradiação do laser [7]. Inúmeras cumarinas já foram estudadas e estão sendo utilizadas nesse tipo de sistema. Algumas delas foram dispostas na figura 12 [47].

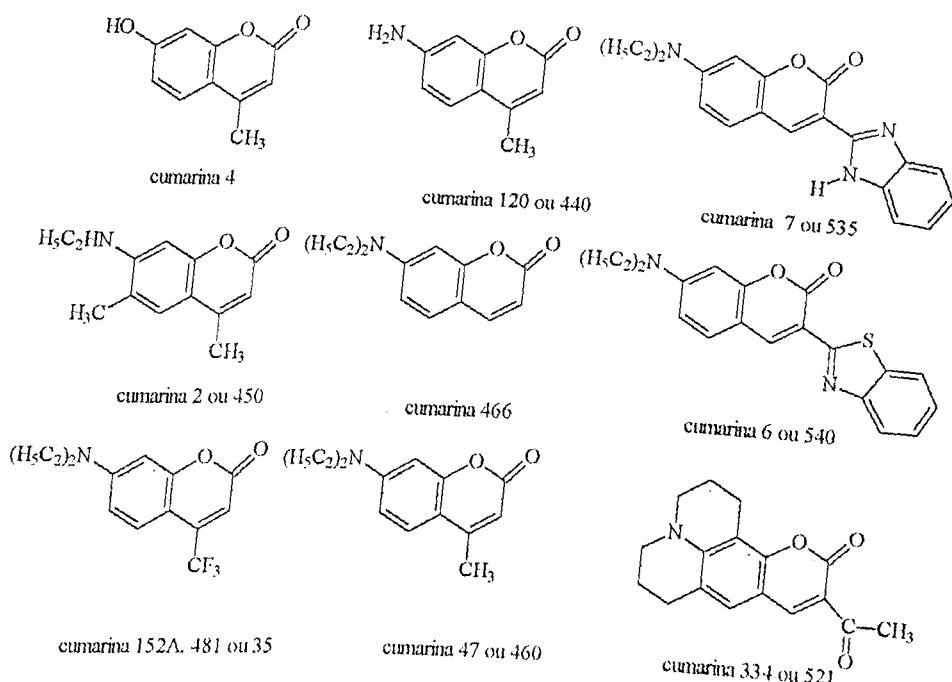


Figura 12 – Algumas cumarinas comumente utilizadas em lasers de corante [47].

### 1.1.7 Cumarinas como sondas de fluorescência

Além da aplicação nos sistemas de laser de corante, as cumarinas podem ser utilizadas como sondas de fluorescência. Uma vez que a fluorescência desses compostos pode, em muitos casos, sofrer fortes interferências do meio, é possível realizar experimentos de sondagem sobre certos ambientes, de modo a caracterizá-los. Em geral a sondagem é realizada estudando-se as alterações nas propriedades fotofísicas da sonda, de acordo com o microambiente, seja pelo efeito da polaridade ou até mesmo de interações específicas, tais como ligações de hidrogênio. Além da sondagem convencional, é possível ainda, caracterizar microambientes, construindo-os a partir dessas sondas. Um exemplo é o estudo das macromoléculas, conhecidas como dendrimeros [50]. Fréchet e colaboradores, por exemplo, sintetizaram um dendrimero contendo diferentes cumarinas comumente utilizadas em sistemas de laser de corantes nas regiões periféricas e central. As cumarinas escolhidas foram as cumarinas dispostas na figura 13.

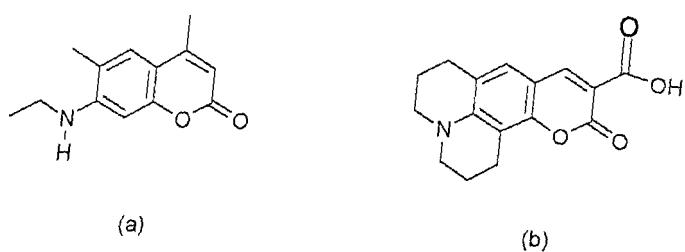


Figura 13 – Cumárias utilizadas na síntese do dendrimero, (a) utilizada na periferia e (b) utilizada no núcleo [50].

Do ponto de vista sintético, as duas cumarinas apresentam características específicas. A cumarina (a) contém um grupo amino nucleofílico e a (b) um grupo eletrofílico. Essa característica permitiu a síntese de uma macromolécula contendo um grupo nucleofílico como grupo terminal, o que não ocorre na estratégia clássica (onde o grupo terminal é sempre eletrofílico). As cumarinas utilizadas possuem elevados rendimentos quânticos de fluorescência e permitem ainda a transferência de energia da cumarina (a) da periferia para a cumarina (b) do núcleo, permitindo obter informações sobre as diferentes regiões da macromolécula.

Para que fosse possível explorar as características óticas das duas cumarinas, a rota sintética utilizada teve de considerar alguns aspectos importantes. Por exemplo, a amidação da cumarina b reduziria significativamente a magnitude da transferência intramolecular de carga, que é a origem das propriedades óticas desse composto. Caso fosse utilizada uma outra molécula espaçadora para unir as cumarinas à estrutura do dendrímero, o mecanismo de Förster seria desfavorecido (é necessário que haja uma distância mínima entre os cromóforos envolvidos na transferência de energia). A saída foi a síntese “reversa”, o que levou à alteração das posições dos grupos com relação à síntese clássica, mencionada anteriormente. Isso pode servir como um parâmetro bastante favorável para a “construção” de novos dendrimeros [50]. A macromolécula sintetizada por Fréchet e colaboradores [50], está apresentada na figura 14

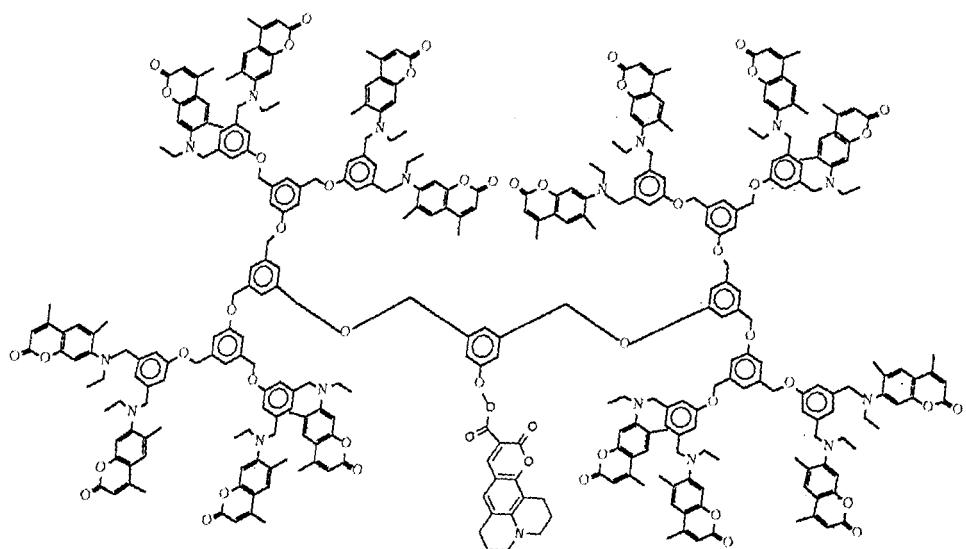


Figura 14 – Dendrimero contendo vários substituintes constituídos de cumarinas [50].

#### 1.1.8 Furano-derivados de cumarina

Psoralenos são furano-derivados da cumarina (figura 15) com potencial aplicação em fototerapia ou fotoquimioterapia [51-68]. O princípio dessa modalidade terapêutica é a combinação de uma droga específica com luz UVA (em alguns casos pode ser utilizada radiação UVB), permitindo atuar no tratamento de pele e doenças do sangue, bem como na descontaminação de componentes do sangue, além de ser utilizada também como modalidade terapêutica no tratamento de alguns tipos de câncer [51-53]. Após a irradiação os psoralenos induzem lesões em vários componentes da célula: proteínas, lipídios e ácidos nucleicos [54,55].

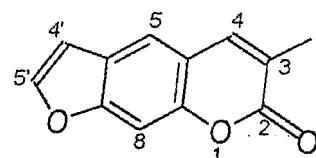


Figura 15 – Estrutura básica dos psoralenos.

O mecanismo da fototerapia baseada no psoraleno tem sido relacionado com a formação de mono e bis-fotoadutos DNA-psoraleno no núcleo celular [56]. Os monoaddutos são responsabilizados pela inibição da mitose celular [57]. Várias tentativas têm sido feitas para a elucidação do mecanismo da terapia em sistemas

imunológicos, como por exemplo, o monitoramento através de estudos da função e estrutura de ácidos nucleicos antes e após o tratamento [58]. Este tipo de estudo tem mostrado que os psoralenos se intercalam a ácidos nucleicos e promovem processos de fotocicloadição nas bases pirimidinas adjacentes [59], através de mecanismos tipo III. Além disso, os psoralenos podem ser utilizados em reações do tipo I e II, decorrentes dos processos de transferência de elétrons e energia, respectivamente. Nas reações do tipo I, radicais superóxido são gerados como intermediários reativos e nas do tipo II, oxigênio singlete é produzido [60]. Isso permite utilizá-los em propósitos práticos, como no tratamento de psoríases [61], fotoquimioterapia de câncer [62], inativação de vírus [63,64], estudo da estrutura do ácido nucleico [65] e investigação dos mecanismos de reparo do DNA [66].

Em geral as ligações duplas C<sub>3</sub>C<sub>4</sub> e C<sub>4</sub>C<sub>5</sub> são fotoreativas, mas em solução apenas a C<sub>3</sub>C<sub>4</sub> está envolvida, mostrando que essa ligação é particularmente reativa no estado triplete [52]. A substituição nas posições 3, 4, 4' e 5' por grupos volumosos ou com propriedades doadoras de elétrons pode reduzir a fotoreatividade das ligações duplas, e impõem limites para a capacidade de intercalação desses compostos [52].

Compostos hábeis para atuar em fototerapia, mas que, no entanto, evitem a formação de ligações cruzadas com as bases do DNA têm sido sintetizados. Um exemplo desse tipo de composto é o análogo benzodioxínico (a) do 8-metoxipsoraleno (b), sintetizado por Besson e colaboradores [68].

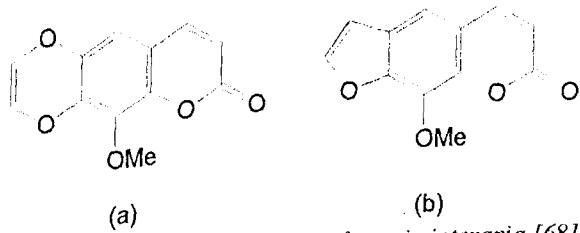


Figura 16 – Exemplos de psoralenos utilizados em fotoquimioterapia [68].

## *1.2 Aspectos Teóricos Para Um Estudo Fotofísico e Fotoquímico.*

O entendimento da fotofísica e da fotoquímica de um dado composto ou classe de compostos nos permite compreender e explorar várias de suas propriedades.

Se por um lado o mapeamento das possíveis rotas de desativação de um certo estado excitado, através da compreensão da sua fotofísica, permite explorar melhor uma dada característica de interesse, a fotoquímica permite expandir os limites dos conceitos das reações químicas, tratando os fôtons como reagentes fundamentais, permitindo promover reações que não ocorreriam com a espécie em seu estado fundamental.

### *1.2.1 Espectroscopia no Visível e UV-próximo.*

A medida experimental do espectro eletrônico de absorção requer um instrumento que contenha uma fonte de radiação estável variando continuamente dentro da região do visível e ultravioleta-próximo, e um detetor capaz de responder linearmente à intensidade da radiação transmitida pela amostra. A amostra pode estar na fase gasosa, líquida ou sólida, estando, contudo diluída em um recipiente confeccionado em material que exiba transparência na região de trabalho. O quartzo é preferível quando se deseja trabalhar no visível e em regiões inferiores a 300 nm [70].

#### *1.2.1.1 A Lei da Absorção.*

O espectro de absorção obtido experimentalmente consiste de sinais característicos exibidos em diferentes comprimentos de onda com diferentes intensidades, característicos da estrutura eletrônica de cada espécie [70]. Uma medida experimental da intensidade de absorção é fornecida pela lei de Lambert-

Beer:

$$I = I_0 e^{-k\ell c} \quad (\text{Eq. 01})$$

onde:  $I$  é a intensidade transmitida pela amostra  
 $I_0$  é a intensidade de radiação incidente  
 $l$  é o caminho ótico a ser percorrido pela luz  
 $c$  é a concentração da amostra  
 $k$  é o coeficiente molar neperiano de absorção dependente do comprimento de onda.

Esta equação pode ainda ser escrita como:

$$-\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = kcl \quad (\text{Eq. 02})$$

o termo absorvância neperiana é definido como,

$$B = kcl \quad (\text{Eq. 03})$$

onde  $B = -\ln(I/I_0)$ .

A IUPAC recomenda que as unidades de  $k$  sejam dadas em  $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ . No entanto, desde que  $c$  e  $l$  são usualmente reportados em unidades de  $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  e  $\text{cm}$ , respectivamente, a unidade típica de  $k$  é  $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Contudo, os livros, texto e artigos científicos fazem referência ao coeficiente de extinção molar,  $\epsilon$ :

$$-\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \epsilon cl \quad (\text{Eq. 04})$$

Onde:  $\epsilon = k/\ln(10) = k/2,3026$ .

Assim, a equação 03, então, pode ser escrita como:

$$A = \epsilon cl \quad (\text{Eq. 05})$$

O cálculo das intensidades de absorção (ou emissão) é feito considerando-se as probabilidades de absorção ( $B_{lu}$ ) e emissão ( $A_{ul}$ ) entre os estados energéticos envolvidos na transição [71], como ilustrado na figura 17.

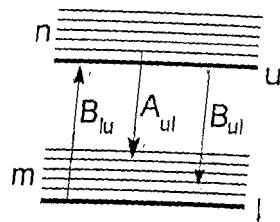


Figura 17 – Esquema dos processos radiativos em um sistema de dois níveis. Probabilidade de transição para a absorção ( $B_{lu}$ ), para a emissão espontânea ( $A_{ul}$ ) e para a emissão estimulada ( $B_{ul}$ ) [71].

Mulliken [71] relacionou a quantidade ( $B_{lu}$ ) com uma medida de intensidade, à qual denominou força de oscilador,

$$f = \frac{4,315 \times 10^{-9}}{n} \int \varepsilon d\tilde{\nu} \quad (\text{Eq. 06})$$

onde  $n$  é o índice de refração do solvente e  $d\tilde{\nu}$  é a diferencial do número de onda.

### 1.2.2 Fotofísica Molecular: Diagrama de Jablonski e Princípio de Franck-Condon.

A absorção de radiação eletromagnética resulta na excitação de um elétron a estados eletronicamente excitados. Cada estado eletrônico ( $E_{el}$ ), envolve um conjunto de estados vibracionais ( $E_{vib}$ ), cada um dos quais, por sua vez compreende estados rotacionais ( $E_{rot}$ ), de tal forma que a energia total ( $E_T$ ) de cada nível, é dada por [72]:

$$E_T = E_{el} + E_{vib} + E_{rot} \quad (\text{Eq. 07})$$

A cada um desses estados está associada uma função molecular  $\Psi(e, v, r)$ , de modo que,

$$\Psi(e, v, r) = E(e)V(v)R(r) \quad (\text{Eq. 08})$$

Ou seja,  $\Psi(e, v, r)$  é o produto das funções eletrônica, vibracional e rotacional. As coordenadas nucleares tendem a se alterar nas transições eletrônicas. No entanto, em função do princípio de Born-Oppenheimer [73], temos que admitir que as transições eletrônicas ocorrem muito mais rápido que as nucleares. Assim, é possível o tratamento matemático em separado das transições eletrônicas. Dessa forma, a eq 08 pode ser rescrita como,

$$\Psi(e, v, r) = E(e)N(v, r) \quad (\text{Eq. 09})$$

onde:  $E(e)$  se relaciona aos termos eletrônicos e  $N(v, r)$  aos termos nucleares.

A partir do esquema disposto na figura 17, podemos expressar os estados energéticos em termos de funções de onda. A função a seguir

$$\Psi_{lm}(e, v, r) = E_l(e)N_{lm}(v, r) \quad (\text{Eq. 10})$$

refere-se ao emésimo estado vibracional do estado eletrônico l, enquanto a equação

$$\Psi_{un}(e, v, r) = E_u(e)N_{un}(v, r) \quad (\text{Eq. 11})$$

corresponde ao enésimo estado vibracional do estado eletrônico u.

Uma molécula excitada é energeticamente instável com relação ao estado fundamental [75]. Se a molécula não se rearranjar ou fragmentar (processo químico), ela buscará perder energia para retornar ao estado fundamental dependendo do tipo de molécula e da natureza dos estados excitados envolvidos. Esses caminhos são caracterizados por velocidades muito rápidas, e são comumente classificados em três categorias principais [75]:

- ✓ Processos radiativos, envolvendo a desexcitação por emissão do excedente de energia sob a forma de radiação eletromagnética pela molécula excitada;

- ✓ Processos não-radiativos, onde os elétrons inicialmente em estados excitados são transferidos a outros de menor energia, sem que haja emissão de radiação eletromagnética;
- ✓ Processos de supressão, onde a energia é transferida a outra espécie (aceptor).

Os processos radiativos são geralmente classificados como fenômenos de luminescência, que ocorrem a partir de estados eletronicamente excitados [69,76]. A luminescência é formalmente dividida em duas categorias, fluorescência e fosforescência, dependendo da natureza do estado excitado. Em estados excitados singlete, o elétron que foi excitado, preserva a multiplicidade que tinha quando no estado fundamental. Assim, seu retorno ao estado fundamental tende a ocorrer rapidamente pela emissão de um fóton [69,76]. Esse processo é chamado de fluorescência. A velocidade de fluorescência é tipicamente da ordem de  $10^8 \text{ s}^{-1}$ , com tempo de vida da ordem de  $1\text{-}10^2 \text{ ns}$  [76].

Já a fosforescência é a emissão da luz a partir de estados triplete excitados, onde o elétron no estado excitado tem o mesmo spin do elétron remanescente no estado fundamental. Isto leva a transições com velocidades lentas ( $10^3$  a  $10^6 \text{ s}^{-1}$ ), com tempos de vida que podem variar de milisegundos a segundos [76].

É importante ressaltar que tanto a fluorescência quanto a fosforescência (levando-se em conta que o povoamento dos estados triplete ocorre pelo ISC a partir do estado  $S_1$ ) ocorrem usualmente a partir do estado  $S_1$ . Isso porque a desativação de estados singlete superiores ( $S_2$ ,  $S_3$ , etc), até  $S_1$  ocorre usualmente por via não-radiativa (conversão interna) e é extremamente rápida [69,76].

As transições não-radiativas envolvem a conversão de um estado eletrônico para outro, sem emissão de radiação eletromagnética [75]. Apesar de todas as transições que não geram emissão de luz serem não-radiativas, incluindo a perda de energia por interações particulares com o solvente, o termo não-radiativo é usado preferencialmente para indicar processos intramoleculares.

Identificam-se dois processos para transições não-radiativas, de acordo com a multiplicidade do spin dos estados participantes:

- Conversão interna (CI), envolve a transferência de elétrons entre estados eletrônicos de mesma multiplicidade de spin;

- Cruzamento entre sistemas (ISC), envolve a transferência de elétrons entre estados de diferentes multiplicidades de spin [75].

Todos os processos acima citados são usualmente ilustrados pelo diagrama de Jablonski. O diagrama de Jablonski é o ponto-de-partida para a discussão da absorção e emissão de luz [69,75].

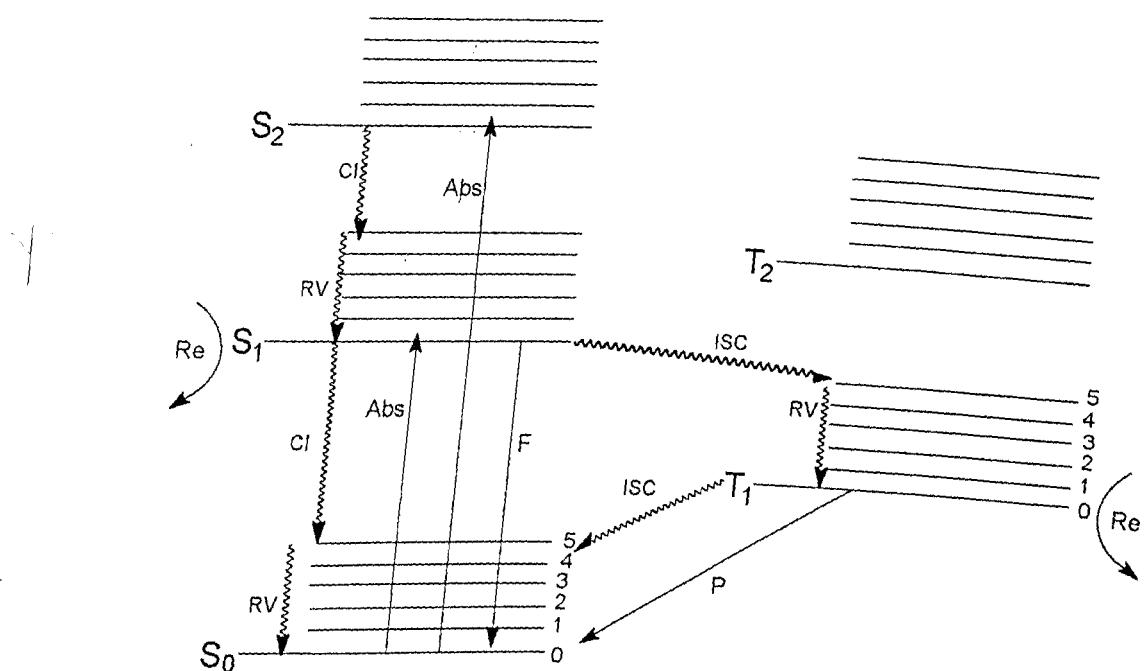


Figura 18 - Diagrama de Jablonski.

Num diagrama de Jablonski típico, os estados eletrônicos singlete fundamental, primeiro e segundo são descritos por  $S_0$ ,  $S_1$  e  $S_2$ , respectivamente. Os subníveis denotados pelos números quânticos 0, 1, 2, etc. representam os estados vibracionais (os quais são desativados por processos de relaxação vibracional, RV).

As transições eletrônicas entre estados são indicadas por linhas verticais, ilustrando a natureza quase instantânea da absorção e emissão de luz. A absorção de radiação eletromagnética ocorre em aproximadamente  $10^{-18}$  s, um tempo muito curto comparado ao movimento nuclear [76]. Assim, a transição vibrônica mais provável será aquela em que não estão envolvidas mudanças nas coordenadas nucleares. Essa transição é chamada de máximo de Franck-Condon (FC), e representa uma transição vertical no diagrama de energia potencial [69,75]. O

máximo de FC corresponde à superposição máxima entre a função de onda vibracional do estado fundamental e a função de onda vibracional do estado excitado. O envelope de bandas vibracionais do sistema de bandas de absorção é chamado de envelope de FC e seus máximos correspondem ao máximo de FC. Esse máximo se aproxima da posição da absorção vibrônica mais intensa. Se a última for a transição 0-0, como é o caso da absorção  $S_0 \rightarrow S_1$  de muitos hidrocarbonetos aromáticos, isto significa que a configuração nuclear média do estado eletrônico excitado é similar àquela do estado fundamental, visualizada na figura 19 [77].

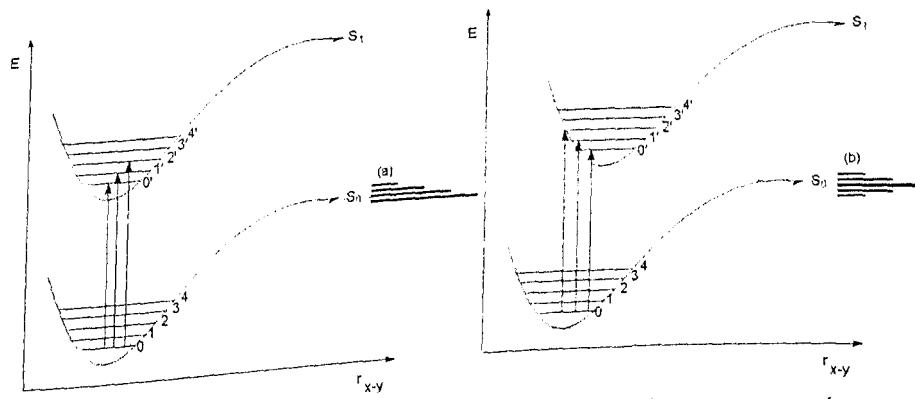


Figura 19 – Curvas de energia potencial mostrando os níveis vibracionais em relação ao processo de absorção relacionado ao princípio de Franck-Condon.

Todas estas observações fazem parte do princípio de Franck-Condon.

### 1.2.3 Deslocamento de Stokes e o efeito dos solventes

A natureza do solvente (principalmente em termos da polaridade) e o ambiente local produzem profundos efeitos sobre o espectro eletrônico das espécies. Esses efeitos são a origem do deslocamento de Stokes ( $\Delta\nu$ ), que foi descrito por G. G. Stokes, em 1852 [76]. Uma causa comum para o deslocamento de Stokes é a rápida relaxação da estrutura para níveis vibracionais mais baixos a partir de  $S_1$ . A esse efeito são somados ainda os efeitos de acomodação do solvente frente à espécie excitada, interações específicas entre o solvente e o estado excitado da molécula, possíveis reações químicas a partir do estado

excitado, formação de complexos, além da transferência de energia [76]. Todas essas perdas de energia fazem com que a quantidade de energia absorvida seja maior que a emitida. Desse modo, Stokes estabeleceu um parâmetro que permite relacionar a solvatação dos estados fundamental e excitado através do número de onda dos máximos de absorção e emissão, ou seja,  $\Delta\nu = \tilde{\nu}_a - \tilde{\nu}_f$  [76].

### 1.2.3.1 Efeitos do solvente no espectro de absorção

Quando o espectro de absorção de uma molécula é obtido em solventes com diferentes polaridades, a posição, a intensidade e a largura da banda podem ser modificadas [76,78,79]. Essas mudanças são resultado de interações físicas intermoleculares soluto-solvente (tais como ion-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, ligação de hidrogênio, dentre outras), que tendem a alterar a diferença de energia entre os estados fundamental e excitado [78]. Esse fenômeno está intimamente associado à natureza dos cromóforos presentes na molécula. Cromóforos são átomos ou grupos de átomos associados a uma molécula que possuem características bem definidas de absorção da radiação eletromagnética. A tabela a seguir lista os principais cromóforos e algumas de suas características [69].

Tabela 2 - Características típicas de alguns cromóforos.

Cromóforo	$\lambda_{\text{máx}} (\text{nm})$	$\epsilon_{\text{máx}}$	Tipo de transição
C-C	<180	1000	$\sigma, \sigma^*$
C-H	<180	1000	$\sigma, \sigma^*$
C=C	180	10000	$\pi, \pi^*$
C=C-C=C	220	20000	$\pi, \pi^*$
Benzeno	260	200	$\pi, \pi^*$
Naftaleno	310	200	$\pi, \pi^*$
Antraceno	380	10000	$\pi, \pi^*$
C=O	280	20	$n, \pi^*$
N=N	350	100	$n, \pi^*$
N=O	660	200	$n, \pi^*$
C=C-C=O	350	30	$n, \pi^*$
C=C-C=O	220	20000	$\pi, \pi^*$

As características das transições envolvidas dependem dos diferentes tipos de orbitais moleculares envolvidos [75]. Para a fotoquímica orgânica esses orbitais moleculares originam-se principalmente da sobreposição dos orbitais atômicos s e p, subdividindo-se em três classes principais, os orbitais  $\sigma$  e  $\pi$  ligantes, os orbitais  $\sigma^*$  e  $\pi^*$  antiligantes e os orbitais não-ligantes, n [69]. As transições eletrônicas descritas então na tabela anterior são aquelas que envolvem a promoção de um elétron (que ocupa um orbital  $\sigma$ ,  $\pi$  ou n) do HOMO ("Highest Occupied Molecular Orbital") para o LUMO ("Lowest Unoccupied Molecular Orbital") ( $\sigma^*$  ou  $\pi^*$ ) [75].

A influência do meio sobre o espectro de absorção pode ser percebida na comparação entre as mudanças espectrais observadas (a) na passagem da fase gasosa para a solução, ou (b) simplesmente pela mudança da natureza do solvente. Como em muitos casos não é possível medir o espectro de absorção em fase gasosa, seu tratamento é realizado em termos de aproximações. Isto é possível, porque existe uma crescente evidência de que não há uma grande diferença entre a magnitude das mudanças espectrais, na passagem da molécula isolada na fase gasosa para um meio líquido, exceto quando se observa a participação de interações por meio de ligação de hidrogênio ou complexações (doador/aceptor) [78].

Todas as mudanças espectrais que surgem da alteração da natureza química das moléculas que contém o cromóforo, provocada pelo meio, podem ser analisadas por diferentes teorias. Algumas dessas teorias sobre o efeito do solvente na absorção assumem, principalmente, que os estados químicos de moléculas contendo cromóforos isolados ou solvatados são os mesmos e então os efeitos observados podem ser tratados apenas como perturbações físicas dos estados moleculares relevantes dos cromóforos [78].

#### 1.2.3.1.1 Compostos solvatocrônicos

O termo solvatocromismo é usado para descrever a mudança pronunciada na posição (e algumas vezes na intensidade) de uma banda de absorção UV-visível, em função de mudanças na polaridade do meio. Um deslocamento hipoocrômico (para a região do azul), observado com o aumento da polaridade do solvente, é usualmente chamado de solvatocromismo negativo. O deslocamento batocrômico (para a região do vermelho) é chamado de solvatocromismo positivo [78].

Entretanto, os deslocamentos podem fornecer informações adicionais quando interpretados em termos do cromóforo e da natureza de sua transição [76,78]. Como consequência disso, os deslocamentos, quando interpretados considerando-se a polaridade do meio, poderão fornecer informações importantes sobre o soluto. Por exemplo, um deslocamento batocrômico com o aumento da polaridade do meio indica que o estado excitado da molécula é mais polar que o estado fundamental. No caso de um deslocamento hipoocrômico, o momento dipolar do estado excitado é menor que o do estado fundamental.

#### 1.2.3.1.2 Teoria do efeito do solvente sobre o espectro de absorção no UV-Visível.

Uma interpretação qualitativa dos deslocamentos em termos dos solventes deve levar em consideração (a) o momento de dipolo momentâneo durante a absorção óptica, (b) a diferença no momento de dipolo permanente entre o estado fundamental e o estado excitado, (c) a mudança no momento de dipolo do estado

fundamental do soluto, induzida pelo solvente, e (d) o princípio de Franck-Condon [78]. De acordo com Bayliss e McRae [90], quatro casos limitantes podem ser distinguidos para as transições eletrônicas intermoleculares em solução:

- Soluto apolar em solvente apolar: nesse caso, somente forças de dispersão contribuem para a solvatação do soluto. Essas forças são função do índice de refração, da intensidade da transição, e do tamanho da molécula do soluto.
- Soluto apolar em solvente polar: na ausência de um momento de dipolo do soluto, não há uma orientação significativa das moléculas do solvente ao redor das moléculas do soluto, sendo desse modo, novamente dependente do índice de refração do solvente.
- Soluto polar em solvente apolar: as forças que contribuem para a solvatação são forças dipolo-dipolo induzido e forças de dispersão. Se o momento de dipolo do soluto aumenta durante a transição eletrônica, o estado excitado de Franck-Condon é mais solvatado pela polarização dipolo-solvente, favorecendo um deslocamento batocromônico. No caso do deslocamento hipsocromônico, o estado excitado de Franck-Condon é menos solvatado.
- Soluto polar em solvente polar: uma vez que a solvatação do estado fundamental resulta das forças dipolo-dipolo, nesse caso existe uma gaiola orientada pelo solvente ao redor do soluto, resultando em uma rede de estabilização do estado fundamental das moléculas do soluto. Se o momento de dipolo do soluto aumenta durante a transição eletrônica, o estado excitado de Franck-Condon é formado em uma gaiola de solvente orientado pelos dipolos do solvente. A melhor estabilização do estado excitado com relação ao estado fundamental, com o aumento da polaridade do solvente, resultará em um deslocamento batocromônico. Se o momento dipolar diminui durante a transição eletrônica, o estado excitado de Franck-Condon está em uma gaiola de solvente onde os dipolos orientados estão incorretamente dispostos para estabilizar de maneira eficiente o estado excitado.

Para compostos fortemente solvatocrônicos, os deslocamentos de comprimento de onda induzidos pelo solvente não podem ser explicados apenas em termos de uma mudança no momento de dipolo permanente na transição eletrônica. Nesse ponto, deve-se levar em conta o chamado campo de reação, ou seja, o campo elétrico que surge entre um dipolo ideal não-polarizável e o *continuum* dielétrico homogêneo, polarizável, no qual o dipolo está imerso, o que vem afetar o momento dipolar do estado fundamental do soluto. Isto é, a interação das moléculas do soluto polar com o campo de reação induzido, devido ao momento de dipolo total das moléculas de solvente, causa uma alteração na estrutura eletrônica do cromóforo.

### 1.2.3.2 Efeitos do Solvente no Espectro de Emissão.

A polaridade do solvente é um dos fatores que provoca grandes efeitos na emissão de fluoróforos (átomo ou grupo de átomos que atuam na emissão de fluorescência) polares [76, 80-85]. Esses efeitos são melhor compreendidos partindo-se dos princípios básicos envolvidos nas interações soluto/solvente.

Por exemplo, na fase vapor, as transições 0-0 de absorção e fluorescência coincidem e se as relações de simetria espacial são aplicáveis, tem-se então  $(\tilde{\nu}_f)_v = (\tilde{\nu}_a)_v = (\tilde{\nu}_0)_v$ . Em solução, cada um dos parâmetros espectrais é deslocado para energias mais baixas, e as transições 0-0 não mais coincidem, de tal forma que  $\Delta\nu = \tilde{\nu}_a - \tilde{\nu}_f > 0$ . Há também um aumento na intensidade de absorção, e o espectro em solução é geralmente mais difuso que o correspondente espectro na fase vapor.

O fluoróforo excitado ao primeiro estado singlete ( $S_1$ ), geralmente para um nível vibracional excitado dentro do estado  $S_1$ , libera o excesso de energia rapidamente ( $10^{-10}$  s) para o solvente. Se o fluoróforo é excitado ao segundo estado singlete ( $S_2$ ), ele rapidamente decai ao estado  $S_1$  em  $10^{-12}$  s através de conversão interna [76]. O solvente então desloca a emissão para um estado de menor energia, estabilizando a espécie excitada. Usualmente, o fluoróforo tem um momento de dipolo maior no estado excitado ( $\mu_E$ ) que no estado

fundamental ( $\mu_F$ ) [76]. Acompanhando a excitação, os dipolos do solvente podem se reorientar ou relaxar em torno da molécula, minimizando a energia do estado excitado. Assim, à medida que a polaridade do solvente aumenta, o deslocamento de Stokes tende a aumentar. No entanto, para moléculas apolares, como alguns hidrocarbonetos aromáticos não substituídos, a polaridade do solvente não induz grandes deslocamentos espectrais [76].

Tempos de vida de fluorescência da ordem de 1-10 ns são usualmente muito maiores que o tempo necessário para a relaxação pelo solvente. Para solventes fluidos, à temperatura ambiente, a relaxação pelo solvente ocorre em 10-1000 ps [76]. Por essa razão, os espectros de emissão de fluoróforos são representativos do estado relaxado pelo solvente. Espectros de absorção não são afetados pelo decréscimo na energia do estado excitado, que ocorre apenas após a absorção [76].

A perda de energia observada entre a absorção e a emissão é atribuída a uma variedade de processos dinâmicos que ocorrem a partir da absorção. As interações entre solvente e fluoróforo, por exemplo, tendem a afetar a diferença de energia entre os estados fundamental e excitado. Esse tipo de comportamento ocorre uma vez que a molécula excitada se polariza, induzindo o alinhamento dipolar do solvente circundante [76]. A figura a seguir sistematiza a perda de energia observada entre a absorção e emissão,

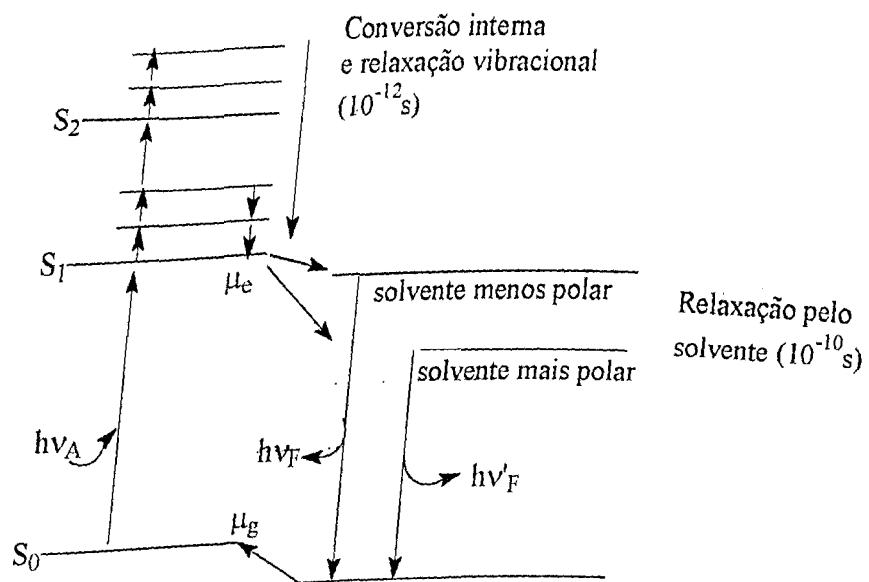


Figura 20 - Diagrama de Jablonski para fluorescência com relaxação pelo solvente.

### 1.2.3.3 Mecanismos para o Deslocamento Espectral e a Equação de Lippert.

Existem dois tipos de interações intermoleculares responsáveis pelas mudanças espectrais em meio solvatado. Existe uma interação universal que é devida à influência coletiva do solvente como meio dielétrico, e que depende da constante dielétrica  $\epsilon_s$  e do índice de refração  $n$ . Há outras interações em certos solventes, chamadas interações específicas, como a ligação de hidrogênio, complexos ou exciplexos, que são resultado das propriedades do solvente e do soluto [76,86,87].

As mudanças espectrais devidas às interações universais são descritas em termos da teoria de dielétricos [88] e do princípio de Franck-Condon.

Enquanto a teoria geral do efeito do solvente tenta explicar os detalhes do comportamento de vários fluoróforos, a teoria baseada nas relações de Lippert fornece uma valiosa base para considerações acerca dos deslocamentos espectrais solvente-dependentes [76]. Na descrição geral do efeito do solvente, o fluoróforo é considerado como um dipolo em um meio contínuo de constante dielétrica uniforme (figura 21). Dentro dessa base, interações específicas solvente-fluoróforo, ou formação de estados de transferência intramolecular de carga, podem ser detectadas como desvios da teoria. Desde que o modelo seja destituído de interações químicas, espera-se que a teoria consiga explicar os efeitos específicos das interações solvente-fluoróforo [76].

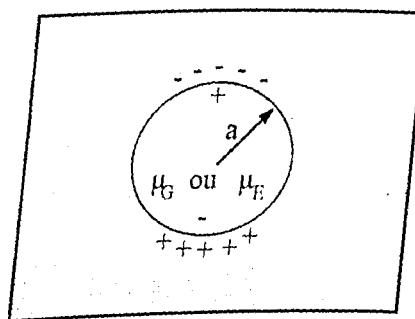


Figura 21 - Dipolo em meio dielétrico.

As interações entre o solvente e o fluoróforo afetam a energia entre o estado fundamental e o estado excitado. Para uma primeira aproximação, a

diferença de energia entre os estados fundamental e excitado, dada em  $\text{cm}^{-1}$ , é descrita pela equação de Lippert [89], equação 10.

$$\tilde{\nu}_a - \tilde{\nu}_f = \frac{2}{hc} \left( \frac{\varepsilon_s - 1}{2\varepsilon_s + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \right) \frac{(\mu_e - \mu_g)^2}{a^3} + \text{CONSTANTE} \quad (\text{Eq. 10})$$

Nesta equação,  $\tilde{\nu}_a$  e  $\tilde{\nu}_f$  são os números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) de absorção e emissão, respectivamente,  $h = 6,6256 \times 10^{-27} \text{ erg s}$  é a constante de Planck,  $c = 2,9979 \times 10^{10} \text{ cm/s}$  é velocidade da luz,  $a$  é o raio da cavidade onde se encontra o fluoróforo,  $\mu$  é o momento de dipolo ( $e$ , da molécula excitada e  $g$  da molécula no estado fundamental),  $\varepsilon_s$  é a constante dielétrica do solvente, e  $n$  é o índice de refração do solvente. Contudo, a equação 10 é apenas uma aproximação, existindo uma correlação razoável entre as perdas de energia calculada e observada em solventes apróticos [90]. Os solventes apróticos não possuem um grupo hidroxila ou outros grupos capazes de doar prótons na formação de ligações de hidrogênio [76].

As correlações lineares entre  $n$  e  $\Delta\nu$  foram propostas para diversos compostos aromáticos [90].

A equação de Lippert é obtida pela consideração das interações do fluoróforo com o solvente dentro de uma escala de tempo para estas interações [91]. Dentre outros requisitos para se entender essa relação é necessário recordar o princípio de Franck-Condon, no qual o esqueleto da molécula não se modifica durante uma transição eletrônica ( $10^{-15} \text{ s}$ ). Em contraste, os elétrons das moléculas de solvente podem redistribuir-se ao redor do novo dipolo estado-excitado durante este intervalo de tempo. Em acréscimo, porque para tempos de vida relativamente longos dos estados excitados ( $\sim 10^{-8} \text{ s}$ ), as moléculas de solvente podem orientar-se em suas posições de equilíbrio em torno do estado excitado do fluoróforo antes da emissão [76].

A energia do dipolo no meio é dada por:

$$E_{\text{dipolo}} = -\mu R \quad (\text{Eq. 11})$$

onde  $R$  é campo reativo induzido pelo dipolo. O campo reativo é paralelo e oposto a direção do dipolo e é proporcional à magnitude do momento de dipolo:

$$R = \frac{2\mu}{a^3} f \quad (\text{Eq. 12})$$

Nessa equação,  $f$  é a polarizabilidade do solvente e  $a$  é raio da cavidade. A polarizabilidade do solvente é o resultado da mobilidade dos elétrons no solvente e do momento de dipolo das moléculas de solvente. Cada um desses componentes tem uma diferente dependência no tempo. A reorientação dos elétrons no solvente é essencialmente instantânea. A polarizabilidade de alta-frequência  $f(n)$  é uma função do índice de refração:

$$f(n) = \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (\text{Eq. 13})$$

A constante dielétrica também determina a polarizabilidade do solvente e inclui o efeito da orientação molecular das moléculas do solvente. Ela é dada por:

$$f(\epsilon) = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} \quad (\text{Eq. 14})$$

A diferença entre estes dois termos é:

$$\Delta f = \frac{\epsilon - 1}{2\epsilon + 1} - \frac{n^2 - 1}{2n^2 + 1} \quad (\text{Eq. 15})$$

que é conhecida como polarizabilidade de orientação [76].

A interpretação do espectro de emissão em função da polaridade do solvente é um tópico bastante complexo. Esta complexidade decorre da variedade de interações que podem resultar em deslocamentos espectrais. Esses deslocamentos ocorrem geralmente quando o fluoróforo é dissolvido em algum solvente, e é independente das propriedades químicas do fluoróforo e do solvente [76]. Dentro de todo esse contexto, vários serão os fatores que poderão interferir no deslocamento spectral. Dentre eles, se destaca a interação soluto-solvente decorrente da formação de ligação de hidrogênio [76,86].

Em adição às interações específicas solvente-fluoróforo, alguns fluoróforos podem formar um estado de transferência intramolecular de carga (do inglês, ICT) ou um estado de transferência intramolecular de carga torcido (do inglês, TICT). Até o momento, supõe-se que o fluoróforo contém em sua estrutura, um grupo doador e um grupo aceptor de elétrons. Os mais comuns são os grupos amino e carbonílicos, respectivamente, mas outros grupos já são conhecidos [76]. Entretanto, esses modelos mostram-se muito específicos, e em muitos casos podem ser equivocadamente utilizados, visto que em alguns sistemas a natureza dos substituintes impede a participação dos estados de transferência de carga.

A definição do parâmetro  $\Delta f$  permite então relacionar os solventes em uma escala relativamente simples. Entretanto, como termos complexos, relacionados às interações específicas, são negligenciados, é necessário muitas vezes a utilização de outras escalas de polaridade.

#### 1.2.3.4 Outras Escalas de Polaridade.

As limitações inerentes ao parâmetro  $\Delta f$  levaram ao desenvolvimento de novas correlações de polaridade. Em geral, as melhores correlações a serem utilizadas na descrição dos efeitos do solvente sobre um certo cromóforo são obtidas a partir do uso de parâmetros empíricos [92]. Esses parâmetros, em geral, partem de dados obtidos de compostos altamente solvatocrônicos, geralmente corantes. A primeira escala nessa premissa foi sugerida por Kosower [93], baseada nos resultados obtidos utilizando o iodeto de 1-etil-4-metoxicarbonilpiridínio,

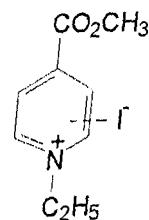


Figura 22 - Estrutura do iodeto de 1-etil-4-metoxicarbonilpiridínio.

A escala de polaridade, proposta por Kosower, comumente chamada de escala Z, foi baseada no solvatochromismo negativo desse composto, devido à ocorrência de transferência intramolecular de carga [93].

Kosower definiu seu parâmetro de polaridade de acordo com a energia de transição molar,  $E_T$ , expressa em  $\text{kcal.mol}^{-1}$ , para o máximo de absorção de transferência de carga do corante,

$$E_T / (\text{kcal.mol}^{-1}) = h.c.v.N_A = 28591/\lambda \text{ (nm)} \equiv Z \quad (\text{Eq. 16})$$

onde  $h$  é a constante de Planck,  $c$  é a velocidade da luz,  $v$  o número de onda do fóton que produz a excitação eletrônica, e  $N_A$  é o número de Avogadro [93].

No entanto, a escala Z, apresenta limitações práticas, principalmente em termos das interações específicas soluto/solvente, forçando a utilização de outros corantes como padrão [94]. Dentre as escalas sugeridas, destaca-se a escala  $E_T(30)$  de Reichardt, baseada no solvatochromismo negativo do corante 2,6-difenil-4-(2,4,6)-trifenilpiridíniofenolato [92b].

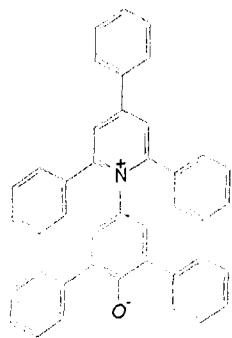


Figura 23 – Estrutura do corante de Reichardt, utilizado como padrão de polaridade.

O termo  $E_T(30)$  refere-se à energia de transição da betaina nº 30, de acordo com Dimroth e Reichardt [93].

As principais aplicações desse corante estão relacionadas com características peculiares. Por exemplo, devido ao seu elevado momento dipolar seu uso é mais adequado para o estudo de interações dipolo-dipolo e dipolo induzido [94]. Seu sistema eletrônico  $\pi$  favorece o estudo de interações dispersivas, enquanto que o átomo de oxigênio do fenóxido exibe um par de elétrons de caráter altamente básico, adequado às interações com ácidos de

Bronsted (ligação de hidrogênio) e com ácidos de Lewis (aceptor de par eletrônico) [94].

Os valores de  $E_T(30)$  são estimados a partir da equação,

$$E_T(30) = \frac{28591}{\lambda_{\text{máx}} (\text{nm})} \quad (\text{Eq. 17})$$

onde  $\lambda_{\text{máx}}$  é o valor do comprimento de onda do máximo de absorção da banda de transferência de carga do corante. Valores calculados para alguns corantes encontram-se dispostos na tabela, pagina 122.

Devido às recomendações do SI, os valores de  $E_T(30)$  têm sido reportados em uma escala adimensional, através da normalização dos resultados, usando-se água e tetrametilsilano (TMS) como solventes nos limites extremos da escala,

$$E_T^v = \frac{E_T(\text{solvante}) - E_T(\text{TMS})}{E_T(\text{água}) - E_T(\text{TMS})} = \frac{E_T(\text{solvante}) - 30,7}{32,4} \quad (\text{Eq. 18})$$

A grande limitação da escala decorre da insolubilidade do corante de Reichardt em solventes apolares, como hidrocarbonetos alifáticos. A saída obtida foi obter, a partir do corante, um derivado mais lipofílico, como aquele representado na figura 24. Este derivado permitiu obter os valores das energias de transição nos solventes onde o corante de Reichardt não era solúvel [94].

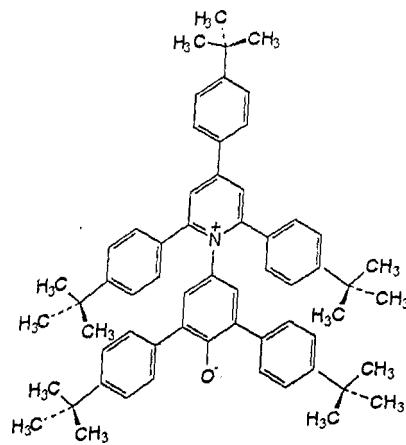


Figura 24 – Derivado do corante de Reichardt utilizado para estudos em solventes de baixa polaridade.

É importante ressaltar que, para qualquer sonda utilizada, são levados em conta parâmetros empíricos que caracterizam o comportamento da mesma no

meio. Assim, de acordo com o interesse do estudo a ser realizado, diferentes parâmetros podem ser considerados, visto que os efeitos do solvente, principalmente sobre o espectro de emissão, são resultado de várias interações que dependem não apenas da constante dielétrica e do índice de refração [89], mas, também, das interações específicas entre o solvente e o fluoróforo.

É importante mencionar que muito tem sido feito no sentido de se obter diferentes parâmetros que possibilitem relacionar propriedades físico-químicas com a natureza do solvente [94-96]. A escala  $\pi^*$ , por exemplo, relaciona a habilidade do solvente em estabilizar uma carga ou um dipolo em função do seu efeito dielétrico [94a,b,c]. Os valores de  $\pi^*$  para solventes não-clorados apróticos alifáticos com uma simples interação de dipolo dominante têm mostrado ser proporcionais aos momentos de dipolo [94c]. A escala  $\alpha$  é uma escala que relaciona o caráter doador (de hidrogênio) em ligações de hidrogênio envolvendo o solvente [94a,95a,b], enquanto que a escala  $\beta$  relaciona o caráter aceitor do solvente, em ligações de hidrogênio [94a,96a]. Esses parâmetros solvatoquímicos foram obtidos experimentalmente, utilizando-se diferentes indicadores. As escalas foram propostas através da linearização dos resultados obtidos. Por exemplo, uma relação linear para os valores de  $\pi^*$  pode ser observada para o deslocamento do máximo de absorção da N,N-dietil-4-nitroanilina, pelo aumento da polaridade do meio, considerando solventes incapazes de formar ligações de hidrogênio [96b]. O mesmo comportamento pode ser observado para o corante de Reichardt, separando os solventes em diferentes classes (alifáticos não-clorados, alifáticos policlorados, aromáticos) [96b]. Os resultados foram extendidos aos solventes capazes de formar ligações de hidrogênio, considerando-se os valores de  $\alpha$  e  $\beta$  [96b]. Quando todos esses parâmetros são considerados, juntamente com o parâmetro de solubilidade de Hildebrand ( $\delta_H$ ), é possível obter as chamadas relações lineares de energia de solvatação [96b]. Essas relações permitem avaliar o comportamento de várias propriedades físico-químicas e parâmetros de reatividade. Contudo, o tratamento dos resultados experimentais para outros indicadores deve ser realizado cuidadosamente, visto que nem sempre os modelos existentes conseguem expressar todas as possíveis formas de interações que podem ocorrer entre soluto e solvente [76, 96].

### 1.2.4 Cinética dos processos fotofísicos

#### 1.2.4.1 Tempos de vida radiativos.

Considerando-se os processos radiativos isoladamente, pode-se imaginar a situação onde a concentração de moléculas eletronicamente excitadas,  $[M^*]$ , decai a zero com o tempo devido à emissão espontânea da radiação:



onde  $h\nu'$  é uma energia menor comparada à absorvida pela molécula no estado fundamental. A emissão espontânea é um processo ao acaso, no mesmo sentido do decaimento radiativo.

Assim, a cinética do decaimento será de primeira ordem:

$$-\frac{d}{dt}[M^*] = k_r^0 [M^*] \quad (\text{Eq. 20})$$

que resulta em,

$$[M^*] = [M^*]_0 e^{-k_r^0 t} \quad (\text{Eq. 21})$$

A partir daí, pode-se aplicar mais conceitos cinéticos, dentre eles, o conceito de tempo de vida natural,  $\tau_r^0$ , que é definido como o recíproco da constante de velocidade radiativa:

$$\tau_r^0 = \frac{1}{k_r^0} \quad (\text{Eq. 22})$$

O índice  $r$  indica a natureza radiativa do processo. Esse índice será alterado para  $f$  ou  $p$  quando se referir especificamente aos processos de fluorescência ou fosforescência, respectivamente.

A constante de velocidade para os processos de emissão espontânea tem um significado especial na teoria dos processos fotofísicos. Ela é também associada ao coeficiente de Einstein para processos espontâneos de emissão, usualmente representado por  $A_{nm}$  onde os subscritos  $n$  e  $m$  representam o mais

alto e mais baixo níveis de transição, respectivamente. Isso possibilita o uso da teoria para derivar uma relação entre o coeficiente de Einstein e o coeficiente de absorção integrado,  $A$ :

$$k_r^0 = A_{nm} = 2,881 \times 10^{-9} (\tilde{\nu}_{nm})^2 n^2 A \quad (\text{Eq. 23})$$

onde  $\tilde{\nu}_{nm}$  é o número de onda para a transição em  $\text{cm}^{-1}$ ,  $n$  é o índice de refração do solvente, e  $A$  tem como unidade  $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-2}$ . A equação 24 permite uma estimativa teórica do tempo de vida radiativo,

$$\tau_r^0 = \frac{1}{A_{nm}} = \frac{3,471 \times 10^8}{\left( \tilde{\nu}_{máx} \right)^2 n^2 A} \quad (\text{Eq. 24})$$

Se assumirmos o perfil de uma absorção Lorentziana (figura 25), relacionada com a simetria de Franck-Condon, podemos aproximar  $A$  como sendo  $\pi \epsilon_{máx} \Gamma / 2$ , onde  $\epsilon_{máx}$  é o coeficiente de extinção molar no máximo de absorção e  $\Gamma$  é a largura da banda a  $1/2 \epsilon_{máx}$ .

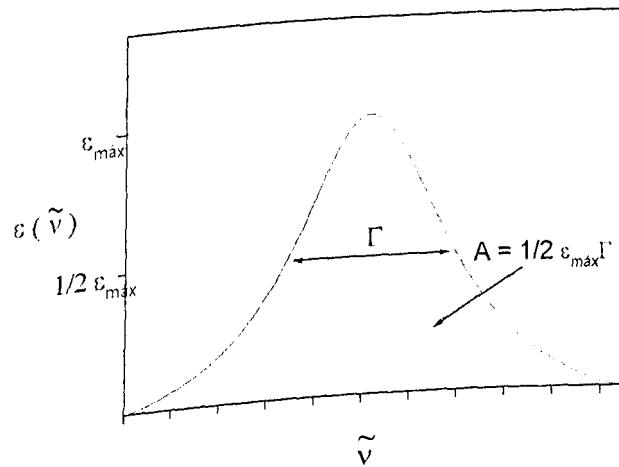


Figura 25 – Perfil básico de uma curva de absorção Lorentziana.

Assim, o tempo de vida radiativo pode ser expresso como,

$$\tau_r^0 \approx \frac{2,210 \times 10^8}{\tilde{\nu}_{máx}^2 n^2 \epsilon_{máx} \Gamma} \quad (\text{Eq. 25})$$

que sugere uma relação inversa entre o tempo de vida radiativo e  $\tilde{\nu}_{\max}$ . Assim, à medida que outros níveis de energia, tais como  $S_2$ ,  $S_3$ , etc., sejam considerados, a relação acima aumentará devido à proporcionalidade, com o fator  $\left(\frac{1}{\tilde{\nu}_{\max}^2}\right)$ . Desse modo, torna-se evidente que os processos radiativos a partir de  $S_2$ ,  $S_3$ , etc são inviáveis de ocorrer, o que justifica a predominância de desativação por meio de mecanismos não-radiativos a partir desses estados até atingirem  $S_1$  [75].

É importante ressaltar que, para muitas moléculas orgânicas, a utilização de uma absorção Lorentziana poderá vir a ser inadequada. Uma alternativa, então para a estimativa de  $A$  é a integração dos espectros experimentais de cada molécula,  $A = \int \varepsilon d\nu$ .

#### 1.2.4.2 Medidas de tempo de vida.

Consideremos a fluorescência para o estado  $S_1$  de M estando em competição direta com os mecanismos de conversão interna e cruzamento entre sistemas, como ilustrado na figura 26,

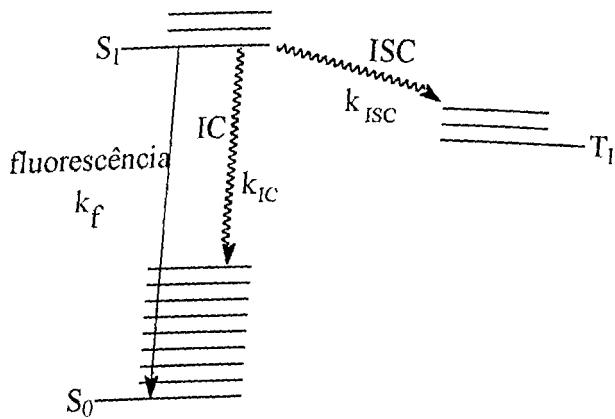


Figura 26 - Diagrama de Jablonski modificado, mostrando a competição entre fluorescência, conversão interna e cruzamento entre sistemas.

A velocidade para o decaimento de  $[M^*]$  é dada por:

$$-\frac{d}{dt}[M^*] = k_f[M^*] + k_{ISC}[M^*] + k_{IC}[M^*] \quad (\text{Eq. 26})$$

O decaimento de  $[M^*]$  obedece a uma cinética de primeira ordem. Assim,  $[M^*]$  decai exponencialmente para zero, com uma constante de velocidade  $k_{\exp}$ , dependente não apenas do decaimento fluorescente, mas de todos os processos que levem à desativação do estado  $M^*$ ,

$$[M^*] = [M^*]_0 e^{-k_{\exp} t}, \quad k_{\exp} = k_f + k_{ISC} + k_{IC} \quad (\text{Eq. 27})$$

Ou seja,  $k_{\exp} = \Sigma k_i$

Logo, a medida do tempo de vida experimental é dada por

$$\tau_{\exp} = \frac{1}{k_{\exp}} = \frac{1}{\Sigma k_i} \quad (\text{Eq. 28})$$

Sob certas circunstâncias, onde fotoprocessos adicionais competem efetivamente com a fluorescência, a medida do tempo de vida será menor quando comparada ao tempo de vida natural radiativo,  $\tau_r^0 = 1/k_r^0$  [75].

Por outro lado, é possível estimar os valores dos tempos de vida de fluorescência a partir de relações matemáticas aproximadas [69,81,98]. Se usarmos argumentos derivados da teoria de absorção de luz, veremos que a intensidade da absorção  $\varepsilon$  está associada com uma força de oscilador. Para absorções próximas a 400 nm, por exemplo, um valor limite de aproximadamente  $10^5$  é esperado para  $\varepsilon$  [69]. A correspondente constante radiativa é aproximadamente da magnitude de  $10^9 \text{ seg}^{-1}$ .

Os limites para a absorção e emissão são então dados respectivamente por:

$$\begin{aligned} \varepsilon_{max} &\cong 10^5 \text{ cm}^2 \text{ M}^{-1} \\ k_f &\cong 10^9 \text{ sec}^{-1} \end{aligned}$$

o que permite relacionar a constante radiativa com o  $\varepsilon$ :

$$k_f = 10^4 \varepsilon \quad (\text{Eq. 29})$$

Obviamente, nesses casos, a participação dos demais fotoprocessos é descartada. Para se determinar a participação desses processos é necessária a realização de experimentos específicos para cada processo.

Experimentalmente os processos radiativos são estudados por duas técnicas distintas: “single photon counting” para medidas de tempo de vida de fluorescência, e “flash photolysis”, que permite determinar o tempo de vida de estados triplete.

Muitas vezes a diferença entre o tempo de vida natural e tempo de vida de fluorescência são distintos. Nesse caso, a investigação dos processos não-radiativos deve ser avaliada. Muitas das informações experimentais sobre os processos não-radiativos são obtidas através da comparação dos resultados de estudos dos processos radiativos com dados de rendimento quântico. Como já foi mencionada, uma consideração da cinética dos processos primários passa por uma molécula  $M^*$ , o que nos leva a deduzir que certas relações entre quantidades mensuráveis permitem estimar a magnitude das quantidades não-mensuráveis [75]. Ou seja, informações acerca de processos de desativação não-radiativos podem muitas vezes ser obtidas por meio da estimativa dos processos radiativos, variando simplesmente as condições experimentais, como ocorre, por exemplo, em estudos de supressão de fluorescência.

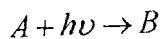
Em casos mais específicos, como reações químicas a partir dos estados excitados, há uma significativa competição com os processos radiativos. A determinação da constante relativa a esse tipo de desativação pode ser determinada pelos métodos cinéticos envolvidos no estudo das reações químicas, monitorados nesse caso, por medidas fluorimétricas, por exemplo [69,75].

Em outros casos, a ocorrência de processos intra e intermolecular de transferência de energia também contribuem na desativação do estado excitado. Os mais comuns são os processos intermoleculares, e o mecanismo envolve um processo bimolecular, podendo ocorrer por duas diferentes rotas:

- Radiativa: processo trivial, onde a emissão da espécie é reabsorvida pelo supressor;
- Não-radiativa: onde há interação entre a espécie e o supressor, sendo a transferência eletrônica promovida por interações coulômbicas (dipolo-dipolo) ou por contato entre as moléculas envolvidas.

### 1.2.4.3 Rendimentos Quânticos.

Para uma conversão fotoquímica geral,



podemos definir o rendimento quântico para a produção de B como,

$$\Phi_B = \frac{n^o \text{ de moléculas de } B \text{ formadas por unidade de tempo por unidade de volume}}{n^o \text{ de quanta absorvidos por unidade de tempo por unidade de volume}}$$

A conversão A → B requer que a molécula A absorva um quantum de radiação [75]. Se a cada fóton absorvido houver a conversão A → B, então,  $\Phi_B$  será igual à unidade, e a eficiência de conversão será de 100%.

Para os processos fotofísicos, os rendimentos quânticos seguem o mesmo padrão. Para o rendimento quântico de fluorescência, por exemplo,

$$\Phi_f = \frac{n^o \text{ de moléculas fluorescentes por unidade de tempo por unidade de volume}}{n^o \text{ de quanta absorvidos por unidade de tempo por unidade de volume}}$$

Se os números de fôtons absorvidos ou emitidos são relacionados com suas intensidade, escrevemos:

$$\Phi_f = \frac{I_f}{I_{abs}} \quad (\text{Eq. 30})$$

A definição de rendimento quântico de fluorescência específica o número de moléculas que emitem como função do tempo e volume, com relação ao número de quanta absorvida no mesmo tempo e volume. Assim,  $\Phi_f$  pode também ser definido como sendo:

$$\Phi_f = \frac{\frac{d}{dt} [n_e]}{\frac{-d}{dt} [n_a]} \quad (\text{Eq. 31})$$

onde  $n_e$  representa os fôtons emitidos por fluorescência e  $n_a$  representa os fôtons absorvidos.

As velocidades de absorção e emissão são respectivamente:

$$-\frac{d}{dt}[n_a] = k_{abs}[M][n_a] \quad (\text{Eq. 32})$$

$$-\frac{d}{dt}[n_a] = k_f[M^*] \quad (\text{Eq. 33})$$

Levando a:

$$\Phi_f = \frac{k_f[M^*]}{k_{abs}[M][n_a]} \quad (\text{Eq. 34})$$

Essa expressão não é muito usual, uma vez que não é fácil determinar a concentração de moléculas excitadas ou fôtons. Em função disso, o rendimento quântico de fluorescência é estimado por medidas em estado estacionário para as intensidades de radiação absorvida e emitida [75].

Assim:

$$-\frac{d}{dt}[M^*] = k_f[M^*] + \sum' k_i[M^*] - k_{abs}[M][h\nu] \quad (\text{Eq. 35})$$

Que ao aplicar o princípio do estado estacionário,  $-d[M^*]/dt = 0$ :

$$[M^*] = \frac{k_{abs}[M][h\nu]}{k_f + \sum' k_i} \quad (\text{Eq. 36})$$

Substituindo  $[M^*]$  na equação 35, teremos:

$$\Phi_f = \frac{k_f}{k_f + \sum' k_i} \quad (\text{Eq. 37})$$

O denominador na equação 37 é a soma das constantes de velocidade referentes a todos os possíveis caminhos de desexcitação avaliados para  $M^*$ .

Desse modo,

$$\Phi_f = \frac{\tau_{exp}}{\tau_f} \quad (\text{Eq. 38})$$

O rendimento quântico de fosforescência pode ser equacionado nas mesmas bases matemáticas utilizadas na descrição acima. No entanto, deve-se lembrar que estados triplete geralmente estão sendo envolvidos nos processos, o

que leva a equação de velocidade a depender também da constante de cruzamento entre sistemas,  $k_{ISC}$  [75].

Contudo, esse tratamento matemático não é suficiente para descrever todos os mecanismos envolvidos na desativação do estado excitado  $S_1$ . Até mesmo quando os espectros de fluorescência e fosforescência são medidos a 77 K, os rendimentos totais para emissão ( $\Phi_f + \Phi_p$ ) são geralmente menores que 1,00 [69,75]. Evidentemente, processos não-radiativos ocorrem, mesmo a 77 K:

$$\Phi_f + \Phi_p + \Sigma\Phi_{nr} \equiv 1 \quad (\text{Eq. 39})$$

onde  $\Sigma\Phi_{nr}$  é a soma dos rendimentos quânticos para os processos não-radiativos a partir de  $S_1$  e  $T_1$ .

De maneira geral, os rendimentos quânticos de emissão são dados por

$$\Phi_r = \Phi_* k_r^0 (k_r^0 + \Sigma k_i)^{-1} = \Phi_* k_r^0 \tau \quad (\text{Eq. 40})$$

onde  $\Phi_*$  é a eficiência de formação para os estados emitidos,  $k_r^0$  é a constante de velocidade para a emissão.

Dados obtidos a partir dos espectros de fluorescência e fosforescência são bem interpretados em termos da equação a seguir, levando-se em consideração que  $k_r = k_f$  e  $\Sigma k_i = k_{ST}$ , o que leva  $\Phi_* \equiv 1$ ,

$$\Phi_f = k_f (k_f + k_{ST})^{-1} = k_f \tau_s \quad (\text{Eq. 41})$$

onde  $\tau \equiv (k_f + k_{ST})^{-1}$ .

Tal equação tem duas situações limites: (a)  $k_f \gg k_{ST}$ , no caso em que  $\Phi_f \sim 1,00$ , e (b)  $k_{ST} \gg k_f$ , no caso de  $\Phi_f \equiv k_f/k_{ST}$ .

Em termos dos limites, nota-se que  $\Phi_f \rightarrow 1,00$  quando  $k_f$  for muito grande ou se  $k_{ST}$  for muito pequeno. Também  $\Phi_f \rightarrow 0$  quando  $k_f$  for muito pequeno ou  $k_{ST}$  for muito grande. Dos limites de  $\varepsilon_{\text{máx}}$  para  $S_0 \rightarrow S_1$  (absorção), os limites para a constante de fluorescência para moléculas orgânicas serão,

$$10^9 \text{ seg}^{-1} \geq k_f \geq 10^5 \text{ seg}^{-1}$$

e para  $k_{ST}$ :

$$10^{11} \text{ seg}^{-1} \geq k_{ST} \geq 10^5 \text{ seg}^{-1}$$

#### 1.2.4.3.1 Medidas experimentais de rendimento quântico de fluorescência.

A medida do rendimento quântico de fluorescência requer a correção prévia do espectro de emissão do material ou o uso de um padrão fluorescente cujas propriedades do espectro de emissão estejam intimamente relacionadas com a espécie desconhecida, ou seja, o espectro de emissão da espécie de interesse deve estar dentro da faixa de emissão do padrão [98]. Um número considerável de interferentes pode estar presente no meio sob estudo. Dentre eles pode-se destacar:

- ✓ Efeito de filtro interior (reabsorção);
- ✓ Possíveis efeitos de comprimentos de onda (grandes diferenças entre o comprimento de onda de absorção e o comprimento de onda de excitação);
- ✓ Índices de refração;
- ✓ Efeitos de polarização;
- ✓ Efeitos da temperatura;
- ✓ Efeitos de impurezas;
- ✓ Estabilidade fotoquímica;
- ✓ Espalhamento Raman.

Duas classes de métodos são comumente usadas: Dentre os métodos denominados primários, incluem-se o uso de superfícies espalhadoras ou soluções para calibrar absolutamente o sistema detetor/excitação. A segunda classe de métodos, inclui o do padrão secundário, que é o mais preferido por sua simplicidade de operação, pois envolve o uso de espécies cujo  $\Phi_f$  já é conhecido, e conta com a comparação das áreas integradas abaixo dos espectros de emissão

do padrão e da amostra [98]. A relação matemática entre padrão e amostra é dada pela equação,

$$\Phi = \left( \frac{A_p F n^2}{A F_p n_p^2} \right) \Phi_p \quad (\text{Eq. 42})$$

onde o subscrito  $p$  refere-se ao padrão,  $A$  e  $A_p$  são respectivamente as absorções da amostra e do padrão nos respectivos comprimentos de onda de excitação,  $F$  é a área sob a curva de emissão e  $n$  índice de refração do solvente onde se encontra a amostra ( $n_p$  é índice de refração do solvente onde se encontra o padrão) [99].

As absorbâncias das espécies são mantidas em torno de 0,100 para que se evite o problema de efeito filtro.

A escolha do padrão segue geralmente a análise da região onde a espécie em estudo emite [99]. Alguns padrões comumente usados são apresentados a seguir,

*Tabela 3 – Características dos principais padrões utilizados na determinação de rendimentos quânticos de fluorescência [99].*

Região	Composto	Solvente	$\Phi_f$
270 – 300 nm	Benzeno	Ciclohexano	$0,05 \pm 0,02$
300 – 380 nm	Triptofano	H <sub>2</sub> O (pH 7,2)	$0,14 \pm 0,02$
300 – 400 nm	Naftaleno	Ciclohexano	$0,23 \pm 0,02$
315 – 480 nm	2-aminopiridínio	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N	$0,6 \pm 0,05$
360 – 480 nm	Antraceno	Etanol	$0,27 \pm 0,03$
400 – 500 nm	9,10-difenilantraceno	Ciclohexano	$0,9 \pm 0,02$
400 – 600 nm	Bissulfato de quinino	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1N	0,546
600 – 650 nm	Rodamina 101	Etanol	$1,0 \pm 0,02$
600 – 650 nm	Violeta cresila	Metanol	$0,54 \pm 0,03$

### 1.3 A fotofísica de cumarinas

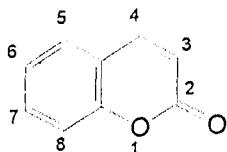
As propriedades espectroscópicas da cumarina e seus derivados têm sido bastante estudadas, principalmente, devido à sua aplicação nos campos da física, dos novos materiais, da medicina e biologia [80,83-85,113-116,121-125]. Considerável atenção tem sido dada na preparação de derivados luminescentes da cumarina e nos estudos de suas propriedades em diferentes meios [80-85,100-125].

Um dos aspectos importantes a serem explorados diz respeito à natureza do estado  $S_1$ . Em geral, cumarinas tendem a apresentar um estado com natureza  $n,\pi^*$  e um estado de mais alta energia  $\pi,\pi^*$  próximo ao estado  $S_1$ . Seixas de Melo e colaboradores evidenciaram através de cálculos teóricos, que a natureza e o grau de substituição nos derivados de cumarinas são de grande importância para definir a natureza do estado excitado. Essas características fazem com que haja uma aproximação dos níveis de energia entre os estados  $S_1(n,\pi^*)$  e  $S_2(\pi,\pi^*)$ , levando a uma mistura dos estados ou a inversão para um estado  $S_1(\pi,\pi^*)$  [100]. Essa inversão pode ainda ser favorecida pelas características do solvente [100].

É importante ressaltar que a contribuição dos níveis relacionados à transição  $n,\pi^*$  tende a favorecer a ocorrência de cruzamento entre sistemas e, consequentemente, o processo radiativo de fosforescência pode vir a participar do mecanismo de desativação de  $S_1$ , quando for favorecido ISC entre os estados  $S_1$  e  $T_1$  [101]. Tal contribuição está geralmente relacionada com a polaridade do solvente utilizado, ou seja, dependendo do solvente, os níveis de energia se tornam mais próximos, favorecendo uma mistura de seus estados vibracionais [100], aproximando o estado  $S_1$  dos estados triplete. Na maioria das vezes, resultados explorando a participação do processo de fosforescência na rota de desativação do estado  $S_1$  estão em sua grande parte relacionados aos psoralenos [102,103]. Chou e colaboradores relacionaram os resultados obtidos para três cumarinas (cumarina, 7-hidroxi-4-metilcumarina e 7-dietilamino-4-metilcumarina) com o mecanismo proposto para a incorporação do cruzamento entre sistemas  $T(n,\pi^*) \rightarrow S(\pi,\pi^*)$  [101]. Becker e colaboradores estudaram a fotofísica e a fotoquímica de cumarinas, psoralenos e outras classes de corantes, com relação às suas características fotosensitizadoras [102]. Os resultados

mostram a tendência dos psoralenos virem a atuar como bons fotosensitizadores, enquanto que as cumarinas, estudadas por eles, tendem a apresentar como principal característica os elevados rendimentos quânticos de fluorescência [102]. Specht e colaboradores estudaram várias 3-cetocumarinas com eficiente capacidade de transferir energia via sensitização triplete-triplete [103]. Em vários casos, a eficiência de cruzamento entre sistemas se aproxima da unidade, contudo, em alguns derivados, os processos de desativação não-radiativa competem com o cruzamento entre sistemas. Isso pode ser eficientemente controlado em matrizes poliméricas [103].

As características fotofísicas das cumarinas podem ser alteradas através da inclusão de centros substituintes no anel cumarínico. Por exemplo, utilização de um substituinte retirador de elétrons na posição 3 intensifica o caráter fluorescente [104-106]. O efeito pode ser intensificado quando se utiliza um substituinte doador de elétrons na posição 7. Em geral, a utilização desses substituintes na posição 7 permitem, também, deslocar batocromicamente o máximo de absorção do composto, potencializando a aplicação em sistemas de laser de corante [107].



*Figura 27 – Estrutura básica das cumarinas.*

A presença do substituinte hidroxila na posição 7 do anel cumarínico, bem como na posição 4, por exemplo, têm recebido a atenção de vários pesquisadores, devido principalmente aos elevados rendimentos quânticos de fluorescência e a sua sensibilidade a variações do pH do meio. De modo geral, têm-se buscado elucidar a fotofísica desses compostos, em termos da existência de três espécies: a neutra, a aniônica e um tautômero [108]. Machado e colaboradores têm utilizado uma combinação de cálculos teóricos e resultados experimentais, na tentativa de compreender a natureza dos estados envolvidos nas transições eletrônicas de cumarinas e psoralenos. Em um de seus trabalhos, estudando uma 7-hidroxicumarina, é atribuída à transição um caráter predominantemente  $\pi,\pi^*$  [109]. Entretanto, os cálculos teóricos mostraram que ao ser desprotonada a

hidroxila, a transição passa a apresentar uma componente perturbacional  $n,\pi^*$  proveniente da nova carbonila gerada. Essa contribuição faz com que as características da espécie desprotonada sejam distintas da espécie neutra [109].

Além dos estudos relativos ao efeito do substituinte, alguns trabalhos têm permitido a elucidação dos efeitos decorrentes das interações entre o composto e o meio [107,110,111]. Kalholek, por exemplo, estudou a influência causada pela viscosidade do meio sobre a luminescência de cumarinas em matriz polimérica [110]. Ismail e colaboradores, estudando as características da fluorescência de cumarinas substituídas na posição 2, em termos de variações na viscosidade e polaridade do solvente, observaram que a fluorescência desses compostos é dependente da viscosidade, explicados facilmente pela teoria do volume livre da viscosidade [111].

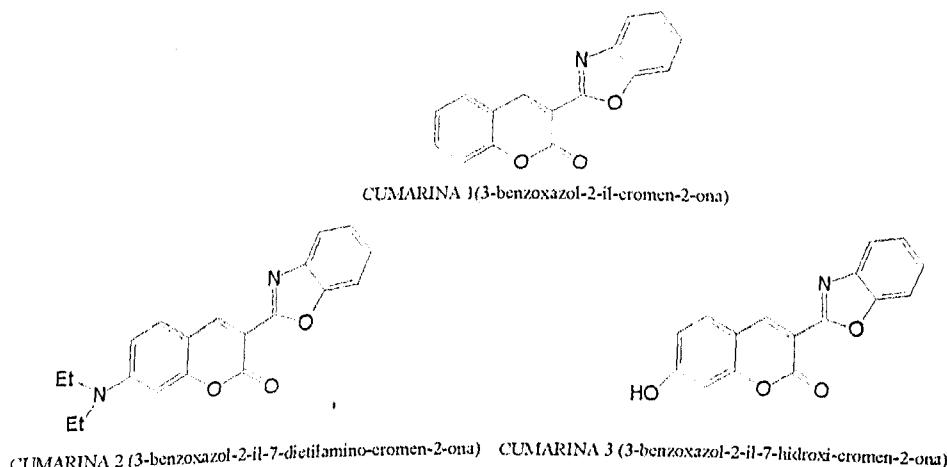
Estudos da fotofísica das cumarinas e sua dependência com a polaridade do solvente têm recebido grande atenção [112-116]. Dentre as várias relações de polaridades de solventes utilizadas nesses estudos, a relação de Lippert-Mataga e  $E_T^N$  são as mais utilizadas, visto que se tratam de métodos solvatocrônicos simples, que fornecem boas informações sobre as variações da fotofísica em termos da polaridade do meio. Essas relações permitem estimativas aproximadas do momento de dipolo do estado excitado de inúmeras cumarinas, importantes, principalmente, para o estudo dos mecanismos de transferência de carga, propostos em inúmeros trabalhos [80-85]. Apesar de existirem trabalhos propondo a existência desses mecanismos para hidroxicumarinas [117], as estruturas de transferência de carga são geralmente propostas para aminocumarinas [80,81,83,85,118-121]. Modelos tratando de estados de transferência de carga torcido (TICT), ou a simples mudança da configuração do nitrogênio em um movimento semelhante ao abre-fecha de um guarda-chuva (ULM), buscam explicar o aumento da participação dos processos de desativação não-radiativos na fotofísica das cumarinas pelo o aumento da polaridade do solvente, ou ainda, pelas interações por ligação de hidrogênio em solventes próticos [85,118-121].

A fotofísica desses compostos é também sensível a variações de temperatura [80,122,123,125] e de pressão [124]. Em geral, os estudos relativos à variação da temperatura evidenciam alterações na posição do máximo de emissão e supressão da fluorescência, com o aumento da temperatura [80,122]. Kumar e colaboradores observaram significativas variações na intensidade de fluorescência

em alguns casos, interpretados através da variação da energia cinética do sistema [123]. Para explicar tais observações é utilizada a relação com a natureza do substituinte, o efeito da polaridade do solvente e resultados que exploram as alterações na localização dos estados  $\pi,\pi^*$ (singlete) e  $n,\pi^*$  (triplete) [123,125].

#### 1.4 Objetivos

As estruturas químicas dos três derivados de cumarina estudados sugerem a possibilidade de aplicação desses compostos em sistemas de laser de corante. Desse modo, buscou-se estudar a fotofísica dos derivados de cumarina (3-benzoxazol-2-il-cromen-2-ona; 3-benzoxazol-2-il-7-dietilamino-cromen-2-ona; 3-benzoxazol-2-il-7-hidroxil-cromen-2-ona), definindo as rotas de desativação dos estados excitados, e o efeito do solvente sobre essas rotas.



*Figura 28 – Derivados de cumarina estudados.*

Investigar interações específicas soluto/solvente, principalmente ligações de hidrogênio para a aminocumarina e a desprotonação promovida pela basicidade do meio para a hidroxicumarina, permitindo avaliar a possibilidade de aplicações futuras desses compostos como sondas de fluorescência. Avaliar o efeito provocado sobre o equilíbrio das espécies geradas pela variação do pH do meio para os dois últimos derivados.

Estimar a capacidade de geração de oxigênio singlete através da medida da eficiência quântica de geração dessa espécie.

Os experimentos serão realizados em regime de estado estacionário (à temperatura ambiente e a 77K) e resolvidos no tempo.

## 2 Experimental

### 2.1 Materiais e reagentes

	Reagente	Procedência
I	Acetato de etila	ALDRICH
II	Acetonitrila	VETEC
III	Ácido clorídrico	SYNTH
IV	Argônio	WHITE MARTINS
V	Ciclohexano	VETEC
VI	Clorofórmio	J. T. BAKER
VII	9,10-difenilantraceno	ALDRICH
VIII	Diisopropilamina	ALDRICH
IX	Dimetilsulfóxido	SYNTH
X	1,4-dioxano	VETEC
XI	Etanol	VETEC
XII	Etilenoglicol	VETEC
XIII	Fenalenoña	ALDRICH
XIV	Hidróxido de sódio	MERCK
XV	2-butanol	MERCK
XVI	2-propanol	VETEC
XVII	Metanol	VETEC
XVIII	Metilciclohexano	ACROS ORGANICS
XIX	N,N-dimetilformamida	REAGEN
XX	Piridina	NUCLEAR
XXI	Propanona	SYNTH
XXII	Tetracloreto de carbono	VETEC
XXIII	Tetrahidrofurano	CARLO ERBA
XXIV	Tolueno	

As cumarinas em estudo foram gentilmente cedidas pela Prof. Dra. Ana Maria Ferreira Oliveira-Campos, da Universidade do Minho, Braga/Portugal.

Os solventes utilizados foram em sua maioria de grau espectroscópico, sem purificação prévia.

Os espectros de absorção foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro HACH DR-4000U. Os espectros de fluorescência à temperatura ambiente e baixa temperatura foram obtidos empregando-se um espectrofluorímetro HITACHI F-4500. Ambos equipamentos disponíveis no Laboratório de Fotoquímica do IQ-UFU.

As medidas de rendimento quântico de fluorescência foram realizadas, utilizando-se 9,10-difenilantraceno em ciclohexano como padrão.

As medidas com variação de pH foram monitoradas utilizando-se um pHmetro digital PG2000 da GEHAKA, disponível no Laboratório do IQ-UFU.

As medidas resolvidas no tempo foram feitas com o auxílio de um espectrômetro resolvido no tempo, modelo CD-900 da Edinburgh Analytical Instruments, operando com uma lâmpada de hidrogênio a uma freqüência de 30 MHz. Todos os tempos de vida obtidos constituem dados tomados a partir de no mínimo 1000 pulsos no canal máximo, e  $0,900 < \chi^2 < 1,300$  durante as medidas. As medidas foram feitas usando a cubeta com a amostra na configuração face frontal. Dois equipamentos, com as mesmas configurações acima, foram disponibilizados pelo Laboratório de Espectroscopia Resolvida no Tempo do Instituto de Química da UFRJ e pelo Laboratório de Fotoquímica do Instituto de Química da USP/São Carlos.

Os rendimentos quânticos de geração de oxigênio singlete foram estimados utilizando-se um sistema de Laser Flash Photolysis LP 900 da Edinburgh Analytical Instruments, equipado com um laser Nd-YAG CONTINUM SURELITE II (com sensibilidade de 200  $\mu$ s) com pulso de 5 ns a 355 nm, e um detector NORTH COAST EO-817 capaz de detectar a emissão de fosforescência do oxigênio singlete a 1270 nm. Tal equipamento foi disponibilizado pelo Laboratório de Espectroscopia Resolvida no Tempo do Instituto de Química da UFRJ.

Os valores de  $\Delta f$  foram calculados através da relação apresentada na equação 15, utilizando-se valores obtidos experimentalmente para os índices de refração. Os valores de  $E_T(30)$  foram obtidos da literatura [86]. As propriedades

físicas e os parâmetros solvatocrônicos para os solventes utilizados estão dispostos no apêndice, págs. 121 e 122.

## 2.2 Experimental

### 2.2.1 Medidas à temperatura ambiente

#### 2.2.1.1 Efeito do solvente sobre a fotofísica das cumarinas

O efeito do solvente sobre a fotofísica das cumarinas em estudo foi realizado através de medidas em estado estacionário e resolvida no tempo.

A princípio, determinaram-se os coeficientes de extinção molar nos diferentes solventes através do método gráfico relacionando a absorvância das soluções com a concentração [70]. Assim, soluções das cumarinas em diferentes concentrações foram preparadas em metanol. Soluções da cumarina 3 em metanol em meio alcalino ( $\text{NaOH}$ ,  $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) foram também preparadas em diferentes concentrações.

Com base nos resultados obtidos, foram preparadas soluções-estoque, em metanol, de modo que:

- uma alíquota de ( $100 \mu\text{L}$ ) fornecesse uma solução com absorvância inferior a 0,100 no máximo de excitação.
- o volume da alíquota não ultrapassasse 1 % do volume total da nova solução preparada.

Desse modo, foram preparadas soluções ( $\sim 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) nos diferentes solventes, diluindo-se uma alíquota da solução-estoque no solvente de interesse. Os coeficientes de extinção molar foram obtidos mediante cálculo direto, utilizando-se da equação 05 (pág. 17).

Os espectros de absorção e emissão foram obtidos para as soluções e os rendimentos quânticos de fluorescência foram estimados, utilizando-se uma solução de 9,10-difenilantraceno em ciclohexano, com absorvância a 354 nm inferior a 0,100, como padrão.

Ao final dos experimentos, as amostras foram transferidas para ampolas de quartzo, desaeradas e seladas. Com as soluções assim confinadas, foram medidos os tempos de vida experimentais, empregando a técnica de “single photon counting”.

### 2.2.1.2 Comportamento fotofísico das cumarinas 2 e 3 frente a variações no pH do meio

Para a aminocumarina (cumarina 2) e a hidroxicumarina (cumarina 3) em estudo, foram avaliadas suas propriedades fotofísicas em função da variação do pH do meio.

A partir de aliquotas das soluções-estoque, foram preparadas soluções (misturas metanol/água 1:99 v/v para a aminocumarina, e misturas 1:4 e 1:99 v/v para a hidroxicumarina) a diferentes valores de pH, ajustados através da adição de pequenas quantidades de NaOH ou HCl.

Em seguida, os espectros de absorção foram obtidos e o comportamento das bandas foi acompanhado.

Os rendimentos quânticos de fluorescência foram estimados utilizando-se a técnica descrita no item anterior e propriedades fotofísicas foram estimadas a partir dos dados obtidos.

Três soluções (pH ácido, neutro e básico) de cada uma das cumarinas foram transferidas para ampolas de quartzo. A partir daí, o decaimento do estado excitado foi monitorado por “single photon counting”.

### 2.2.1.3 Comportamento fotofísico da cumarina 2 em diferentes misturas dioxano/água

Soluções ( $\sim 10^{-6}$  mol. $\text{dm}^{-3}$ ), contendo diferentes misturas dioxano:água, foram preparadas a partir de alíquotas da solução-estoque da cumarina 2, de modo a estudar o efeito provocado pela formação das ligações de hidrogênio entre o solvente e a cumarina sobre suas características fotofísicas. As proporções variaram de 0 a 100% considerando-se o volume de água utilizado. Em seguida, os espectros de absorção foram obtidos e o comportamento das bandas foi acompanhado.

Os rendimentos quânticos de fluorescência foram estimados como descrito no item 2.2.1.1, e propriedades fotofísicas foram estimadas a partir dos dados obtidos nessas duas medidas.

#### **2.2.1.4 Comportamento fotofísico da cumarina 3 em diferentes misturas metanol/DMF: Efeito do caráter nucleofílico dos solventes orgânicos**

Soluções ( $\sim 10^{-6}$  mol. $\text{dm}^{-3}$ ) contendo diferentes misturas de metanol e DMF, variando de 0 a 100% a proporção de DMF, foram preparadas a partir de alíquotas da solução-estoque. Em seguida, os espectros de absorção foram obtidos e o comportamento das bandas foi acompanhado.

Os rendimentos quânticos de fluorescência foram estimados como no item 2.2.1.1 e propriedades fotofísicas estimadas a partir dos dados obtidos.

#### **2.2.2 Medidas fotofísicas a baixa temperatura**

Foram preparadas soluções das três cumarinas e do padrão, 9,10-difenilantraceno, utilizando-se metilciclohexano como solvente. A cumarina 3 foi previamente solubilizada em uma pequena quantidade de 2-butanol (correspondente a cerca de 1% do volume total da solução). Uma outra solução da cumarina 3 foi ainda preparada em uma mistura 8:2 (v/v) de metilciclohexano/piridina, de modo a se obter informações com respeito à espécie desprotonada.

As soluções foram transferidas para ampolas específicas para esse tipo de medida, adaptáveis ao equipamento utilizado. As mesmas foram vedadas e desaeradas com borbulhamento de argônio por cerca de cinco minutos. Em seguida, as soluções foram congeladas em nitrogênio líquido e efetuadas as medidas de interesse. O procedimento utilizado na estimativa das propriedades fotofísicas foi o mesmo descrito no item 2.2.1.1.

#### **2.2.3 Eficiência quântica de geração de oxigênio singlete**

O processo mais comum de geração de oxigênio singlete é conhecido como fotosensitização [69]. Uma das técnicas de detecção baseia-se em medidas resolvidas no tempo, que levam em consideração os seguintes princípios fundamentais:

- Oxigênio singlete emite um sinal de fosforescência, cuja banda tem um máximo em torno de 1270 nm, onde as análises são realizadas. A intensidade desse sinal, no tempo zero, é diretamente proporcional à quantidade de oxigênio singlete gerado e à potência do laser.
- Os cálculos de rendimento quântico são feitos com base no método de comparação das intensidades dos sinais de oxigênio singlete gerados pelo padrão  $I_p$  e pela amostra  $I_a$  cujo rendimento é desconhecido. Assim, conhecendo-se  $\phi_{\Delta p}$ , mede-se  $I_a$  e  $I_p$ , e calcula-se  $\phi_{\Delta a}$  através da relação de Schmidt [126].

$$\phi_{\Delta a} = \left( \frac{I_a}{I_p} \right) \phi_{\Delta p} \quad (\text{Eq. 43})$$

- As excitações do padrão e da amostra pelo laser são feitas a diferentes potências, para se certificar que há uma relação direta entre a intensidade do sinal e a potência do laser. Assim, o gráfico da intensidade do sinal em função da potência do laser fornece, através das inclinações das retas obtidas, os valores de  $I_a$  e  $I_p$ .

Quantificou-se a eficiência quântica de geração de  ${}^1\text{O}_2$  para as três cumarinas, em clorofórmio (previamente tratado com sílica ativada por 12 h a 180 °C). As soluções possuíam a mesma intensidade de absorção a 355 nm ( $\text{Abs} = 0,300$ ). Uma solução de fenalenona, com as mesmas características das soluções que continham as amostras, foi utilizada como padrão.

A emissão do  ${}^1\text{O}_2$  foi medida a 1270 nm, empregando-se o sistema resolvido no tempo (E.A.I. – LP 900, pulsado com um laser Nd:YAG, a 355 nm, descrito anteriormente). A potência do laser foi variada de 0 a 8 mJ. Em seguida, eficiências quânticas de geração de oxigênio singlete foram obtidas graficamente.

### 3 Resultados e Discussão

#### 3.1 Absortividade molar das cumarinas estudadas.

A figura 29 apresenta os espectros de absorção dos três derivados cumarínicos estudados.

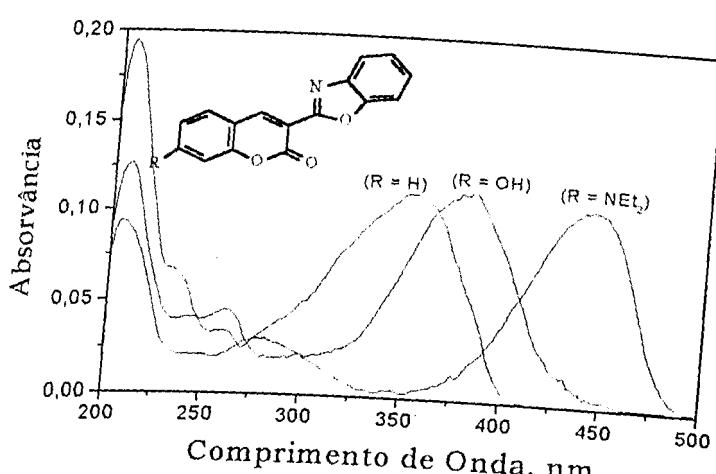


Figura 29 – Espectros de absorção em metanol das cumarinas estudadas.  $R = H$  (cumarina 1);  $R = NEt_2$  (cumarina 2);  $R = OH$  (cumarina 3).

Tomando-se como referência o espectro da cumarina 1, nota-se que os grupos substituintes da posição 7, deslocam o máximo de absorção para diferentes regiões do espectro, sem que haja alteração significativa quanto à forma da banda de absorção. Isso já era esperado, uma vez que substituintes doadores de elétrons na posição 7 do anel, alteram somente a energia do estado  $S_1$ , mantendo a natureza do estado eletrônico [101]. O máximo de absorção é deslocado de acordo com a seguinte seqüência energética:  $H > OH > NEt_2$ . Essa seqüência obedece a ordem do caráter nucleofílico dos substituintes envolvidos, ou seja, como o N possui um maior caráter doador de elétrons, a estabilização do estado  $S_1$  é mais favorecida na aminocumarina, deslocando o máximo de absorção para regiões de menor energia.

Tomando-se agora como ponto de referência, o substituinte benzoxazol-2-il na posição 3 do anel cumarínico, e comparando os resultados obtidos com os valores

existentes na literatura para a cumarina [100], conclui-se que a participação desse grupo na estrutura eletrônica do composto é extremamente importante. Seixas de Melo e colaboradores definiram um máximo de absorção a 320 nm para a cumarina, com um coeficiente de extinção molar de  $5700 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$ , característico de um estado  $S_1(n,\pi^*)$  [100]. Além disso, cálculos teóricos, a nível semi-empírico, indicaram um estado  $S_2(\pi,\pi^*)$ , próximo ao estado  $S_1$  [100].

Para os três derivados em estudo foram estimados coeficientes de extinção molar da ordem de  $10^4 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$ , característicos de transições do tipo  $\pi,\pi^*$ . Esses resultados indicam que a inclusão do grupo benzoxazol na posição 3 do anel cumarínico resultou na inversão dos estados  $S_1(n,\pi^*)$  e  $S_2(\pi,\pi^*)$ , característicos da cumarinã. Essa inversão de estados decorrente do efeito do substituinte é também proposta por Seixas de Melo e colaboradores para explicar a natureza dos estados excitados da cumarina e alguns de seus derivados [100]. Os três derivados estudados possuem como característica um estado  $S_1(\pi,\pi^*)$  e, em virtude da proximidade entre os estados  $\pi,\pi^*$  e  $n,\pi^*$  e de interações possibilitadas pelo solvente, uma mistura de estados deve ser esperada. Isso está de acordo com algumas conclusões obtidas a partir da interpretação de resultados de cálculos ab initio realizados para esses compostos [109,128].

Os coeficientes de extinção molar, estimados em diferentes solventes, são apresentados na tabela a seguir.

Tabela 4 – Valores estimados para os coeficientes de extinção molar\* em diferentes solventes, obtidos para as cumarinas estudadas.

Solvente	$\Delta f$	Cumarina			
		1	2	3	3 Ionizada
Metilciclohexano	0,0002	4,36	4,64	4,40	4,78
Tetracloreto de carbono	0,0117	4,32	4,66	4,38	-
Tolueno	0,0133	4,23	4,62	4,32	-
1,4-dioxano	0,0222	4,29	4,64	4,34	-
Diisopropilamina	0,0714	-	4,72	4,34	4,54
Clorofórmio	0,1475	4,29	4,71	4,42	4,75
Acetato de etila	0,1979	4,17	4,62	4,36	4,77
Tetrahidrofurano	0,2115	4,31	4,66	4,43	4,67
Dimetilsulfóxido	0,2633	4,27	4,66	4,74	4,74
Álcool 2-butílico	0,2642	4,29	4,65	4,42	4,48
N,N-dimetilformamida	0,2759	4,29	4,67	4,62	4,62
Etilenoglicol	0,2761	4,34	4,69	4,38	4,59
Álcool 2-propílico	0,2770	4,29	4,68	4,41	4,74
Propanona	0,2848	4,18	4,66	4,42	-
Álcool etílico	0,2985	-	4,70	-	4,55
Acetonitrila	0,3030	4,30	4,66	4,33	-
Álcool metílico	0,3066	4,33	4,70	4,41	4,56
Água	0,3190	-	4,61	-	-

\* Valores expressos como  $\log \epsilon$

A tabela apresenta os solventes dispostos em ordem de polaridade crescente, expressa em termos do parâmetro polarizabilidade de orientação ( $\Delta f$ ). Como pode ser observado, a ordem de grandeza dos valores do coeficiente de extinção molar é mantida, preservando a natureza da transição. Os valores estimados para a cumarina 1 situam-se entre 14000 e 23000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$ , para a cumarina 2 entre 41000 e 54000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  e entre 21000 e 27000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  para a cumarina 3. Algumas variações podem ser observadas, decorrentes principalmente de interações específicas entre soluto e solvente, e serão tratadas separadamente. Desse modo, pode-se

concluir que o favorecimento da transição eletrônica  $S_0 \rightarrow S_1$  está intimamente ligado ao caráter indutor de elétrons dos substituintes ( $\text{NEt}_2$  e OH) na posição 7 do anel cumarínico. Tais substituintes favorecem uma transferência intramolecular de carga para o anel aromático. O resultado é mais significativo para a aminocumarina, onde o par de elétrons não-ligante ( $n$ ) do nitrogênio possui um caráter ressonante mais acentuado. Cálculos teóricos têm permitido visualizar tal comportamento através da distribuição de cargas sobre os átomos da molécula e pela magnitude do comprimento da ligação entre o nitrogênio e o anel aromático [128]. Já para a cumarina 3, o efeito indutor de elétrons proveniente da hidroxila é inferior ao observado para o substituinte dietilamino, fazendo com que os valores estejam entre os obtidos para as cumarinhas 1 e 2.

Um outro fator a ser considerado diz respeito à protonação do grupo dietilamino, na cumarina 2, e à desprotonação da hidroxila, na cumarina 3, provocando algumas singularidades quanto à magnitude dos coeficientes de extinção molar.

O esquema do equilíbrio ácido-base, da cumarina 2 é apresentado na figura a seguir.

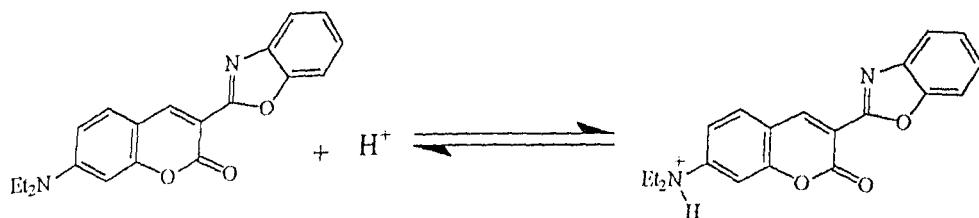


Figura 30 – Esquema do equilíbrio ácido-base proposto para a cumarina 2.

O equilíbrio acima é controlado pela variação da concentração de  $\text{H}_3\text{O}^+$  no meio. Considerando experimentos a partir de misturas água/metanol (99:1), foram estimados coeficientes de extinção molar de aproximadamente  $34300 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  para a espécie protonada em meio ácido ( $\text{pH} \approx 2$ ), de  $44500 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  para a espécie em meio básico ( $\text{pH} \approx 9$ ), mantendo a natureza  $\pi,\pi^*$  da transição  $S_0 \rightarrow S_1$ . A diminuição do valor do coeficiente de extinção molar em meio ácido está principalmente ligada ao fato de que após a protonação do nitrogênio, a transferência

intramolecular de carga é desfavorecida, fazendo com que a contribuição  $n,\pi^*$  seja enfraquecida.

Já para a cumarina 3, o equilíbrio ácido-base é esquematizado na figura a seguir.

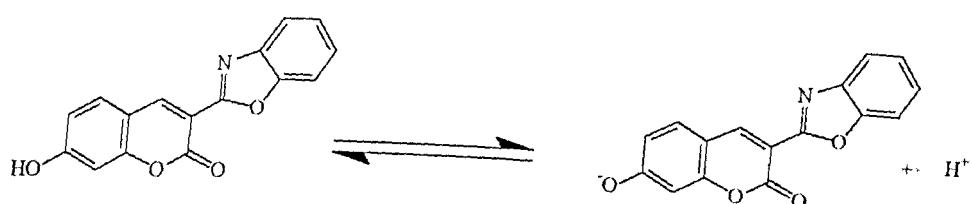


Figura 31 – Esquema do equilíbrio ácido-base proposto para a cumarina 3.

A desprotonação da cumarina 3 também provoca significativas variações nos coeficientes de extinção molar. Foram estimados valores de  $30500 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$  para a espécie em meio ácido ( $\text{pH} \approx 4$ ) e  $40600 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$  para a espécie em meio básico ( $\text{pH} \approx 8$ ), ambos em misturas água/metanol (99:1). A desprotonação da cumarina 3 é ainda observada em solventes de caráter nucleofílico elevado, como DMF e DMSO, onde foram estimados coeficientes de extinção molar de  $41700 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$  e  $55000 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$ , respectivamente.

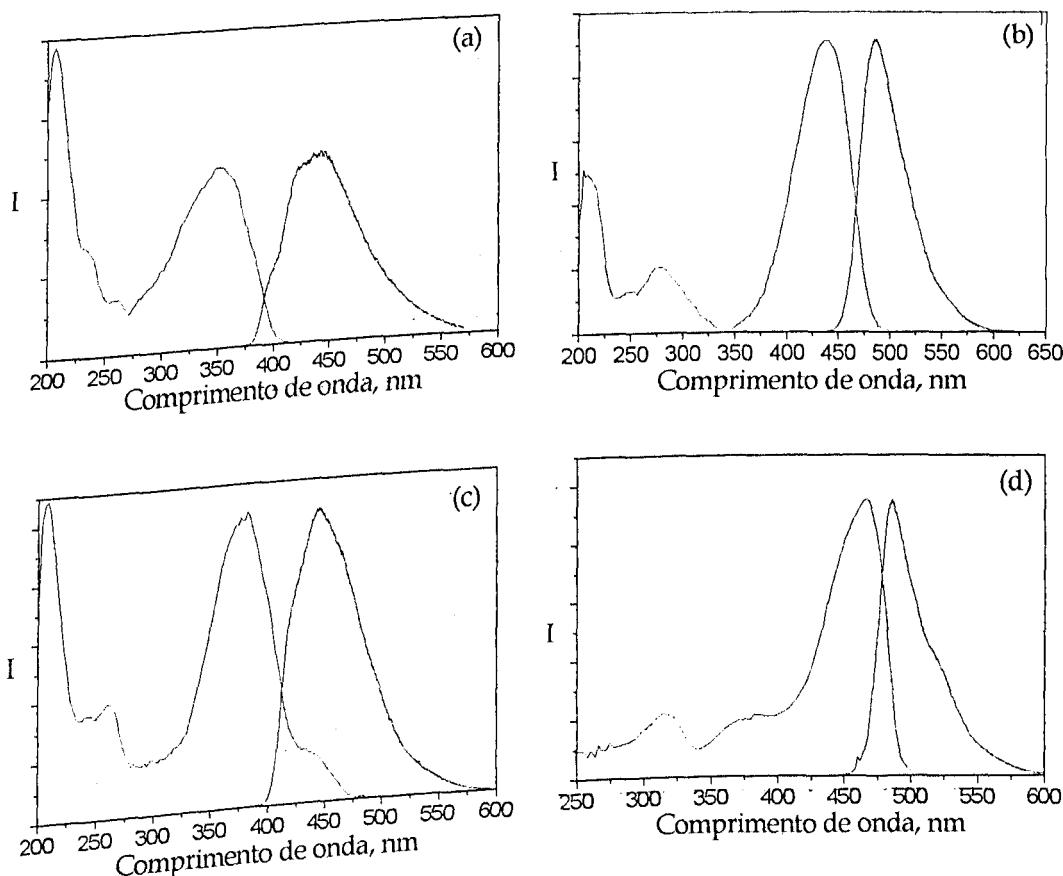
Levando-se em consideração alguns resultados obtidos por meio de cálculo teórico, é possível concluir que o aumento da magnitude do coeficiente de extinção molar é provocado sobretudo pela transferência intramolecular de carga proveniente da nova carbonila formada na posição 7 após a desprotonação da hidroxila. Assim como para a cumarina 2 neutra, a transferência intramolecular de carga favorece a transição  $S_0 \rightarrow S_1$ , fazendo com que a transição seja de caráter  $\pi,\pi^*$  com uma contribuição perturbacional  $n,\pi^*$ .

Na tabela 4 foram também apresentados os coeficientes de extinção molar estimados para a cumarina 3 ionizada. Esses resultados referem-se às medidas realizadas a partir de soluções em diferentes solventes, contendo NaOH dissolvido em metanol (aproximadamente 1% do volume total). Os coeficientes de extinção molar variam de  $30200$  a  $60300 \text{ mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{cm}^{-1}$  aproximadamente. Os valores estimados indicam um decréscimo do coeficiente de extinção molar com o aumento

da polaridade do solvente. Isso porque, o aumento da polaridade da espécie após a desprotonação, favorece as interações soluto/solvente.

### 3.2 A Natureza do Estado $S_1$

A seguir são apresentados alguns espectros de absorção e emissão de fluorescência típicos para as cumarinas estudadas. Os demais se encontram no apêndice, às págs 125 a 128.



apêndice, às págs 125 a 128.

*Figura 32 – Espectros típicos de absorção e emissão de fluorescência para as cumarinas estudadas:*  
 (a) cumarina 1 em metanol ( $\lambda_{exc} = 352 \text{ nm}$ ); (b) cumarina 2 em metanol ( $\lambda_{exc} = 442 \text{ nm}$ ); (c) cumarina 3 em metanol ( $\lambda_{exc} = 381 \text{ nm}$ ); (d) cumarina 3 em DMF, onde é favorecida a desprotonação do substituinte OH da posição 7 do anel cumarínico ( $\lambda_{exc} = 468 \text{ nm}$ ).

A figura 32 mostra que os espectros de absorção são aproximadamente a imagem espelhada dos espectros de emissão de fluorescência para as cumarinas estudadas. O comportamento observado tende a ocorrer para quase todos os diferentes solventes estudados, e pode ser visto como uma indicação de que a geometria do estado  $S_1$  é bastante similar à do estado  $S_0$ , o que foi confirmado por meio de cálculos teóricos [109,128].

No caso da cumarina 3 (c), nota-se a presença de uma pequena banda de absorção a 450 nm. Isso sugere que o espectro de absorção, apresentado na figura acima, corresponde à coexistência de duas espécies em equilíbrio ácido-base. Quando predomina a espécie desprotonada, a simetria espelhada entre os espectros de emissão de fluorescência e absorção é mantida, como pode ser visualizado em (d), já que a DMF possui um forte caráter nucleofílico.

Os dados fornecidos por cálculos ab initio para a cumarina 3 e sua forma desprotonada não mostram substanciais mudanças da geometria para o estado  $S_1$ , quando comparado ao estado fundamental, a não ser um aumento na rigidez estrutural para a forma desprotonada, e mudanças no tamanho da molécula [109]. Para a molécula neutra, o ângulo diedro entre os anéis cumarínico e benzoxazol mudou de 0,049° para 0,017° com a excitação. A maior planaridade do estado excitado pode ser acompanhada pela comparação das ordens de ligação para a ligação entre os átomos de carbono que unem os anéis. Um aumento de 15,5 % é verificado para a forma neutra e é resultado da redistribuição das cargas atômicas, com influência direta no aumento da conjugação sobre a molécula, ocorrida após a excitação. Para a forma desprotonada, a estrutura no estado fundamental apresenta um ângulo diedro de 0,038° entre os anéis, enquanto que para o estado excitado  $S_1$  é 0,006°. Do mesmo modo que ocorre para a forma neutra, a redistribuição de cargas aumenta a deslocalização do sistema  $\pi$ , o que pode ser visto pelo acréscimo de 10,5 % sofrido na ordem de ligação entre os dois anéis [109].

A presença de duas espécies em equilíbrio ácido-base é observada para os demais álcoois estudados e também para solventes como acetonitrila e acetona. A seguir, são apresentados os espectros de absorção da cumarina 3 em acetona.

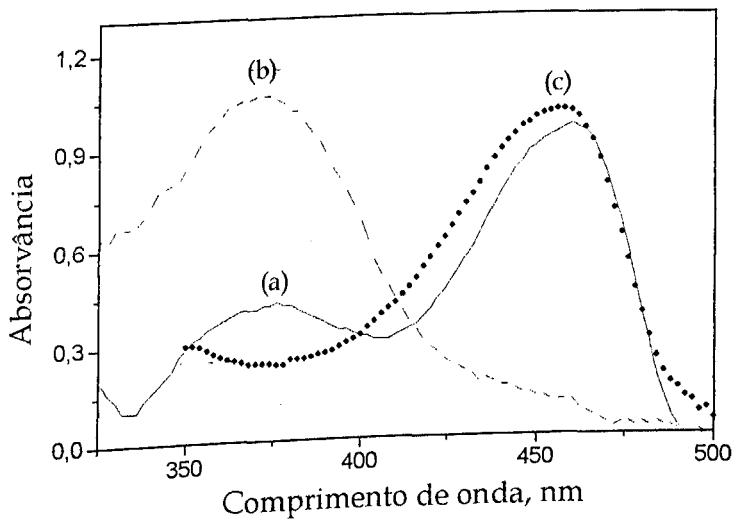
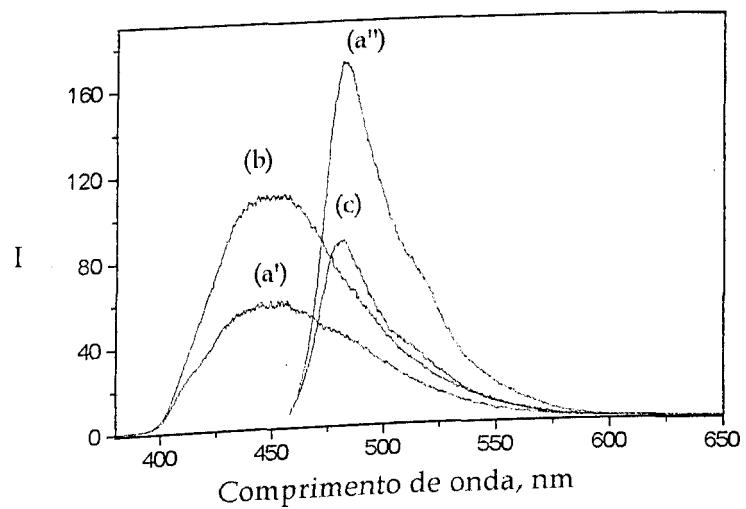


Figura 33 – Espectros de absorção da cumarina 3 em acetona, (a) — em acetona “pura” ( $\lambda_{abs} = 374\text{ nm}$  e  $460\text{ nm}$ ) ; (b) - - - em acetona e ácido clorídrico ( $\lambda_{abs} = 372\text{ nm}$ ); (c) •••• em acetona e  $\text{NaOH}$  ( $\lambda_{abs} = 456\text{ nm}$ ).

Duas bandas na faixa entre 300 e 500 nm são observadas. A banda de absorção com comprimento de onda máximo a 374 nm corresponde à espécie neutra, enquanto que a banda a 460 nm corresponde à espécie proveniente da desprotonação do substituinte OH. Ao adicionar HCl, ou NaOH ao meio, obteve-se espectros distintos, referentes às espécies neutra e desprotonada, respectivamente. Como os máximos de absorção das duas espécies em equilíbrio são distintos, foi possível observar a emissão de fluorescência de cada espécie. A seguir são apresentados os espectros de emissão de fluorescência da cumarina 3, utilizando-se acetona como solvente.



*Figura 34 - Espectros de emissão de fluorescência da cumarina 3 em acetona, (a') em acetona "pura", excitação a 374 nm; (b) em acetona e ácido clorídrico, excitação a 372 nm; (c) em acetona e NaOH, excitação a 456 nm.*

A solução em acetona, contendo HCl, foi excitada a 460 nm, e não indicou a presença da espécie desprotonada. Do mesmo modo, a solução contendo NaOH foi excitada a 374 nm, e a presença da espécie neutra não foi detectada.

Comportamento similar foi observado para misturas metanol/água a diferentes concentrações de  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Os experimentos foram realizados considerando-se misturas metanol/água nas proporções de 1:4 v/v e 1:99 v/v. A figura a seguir apresenta os resultados observados.

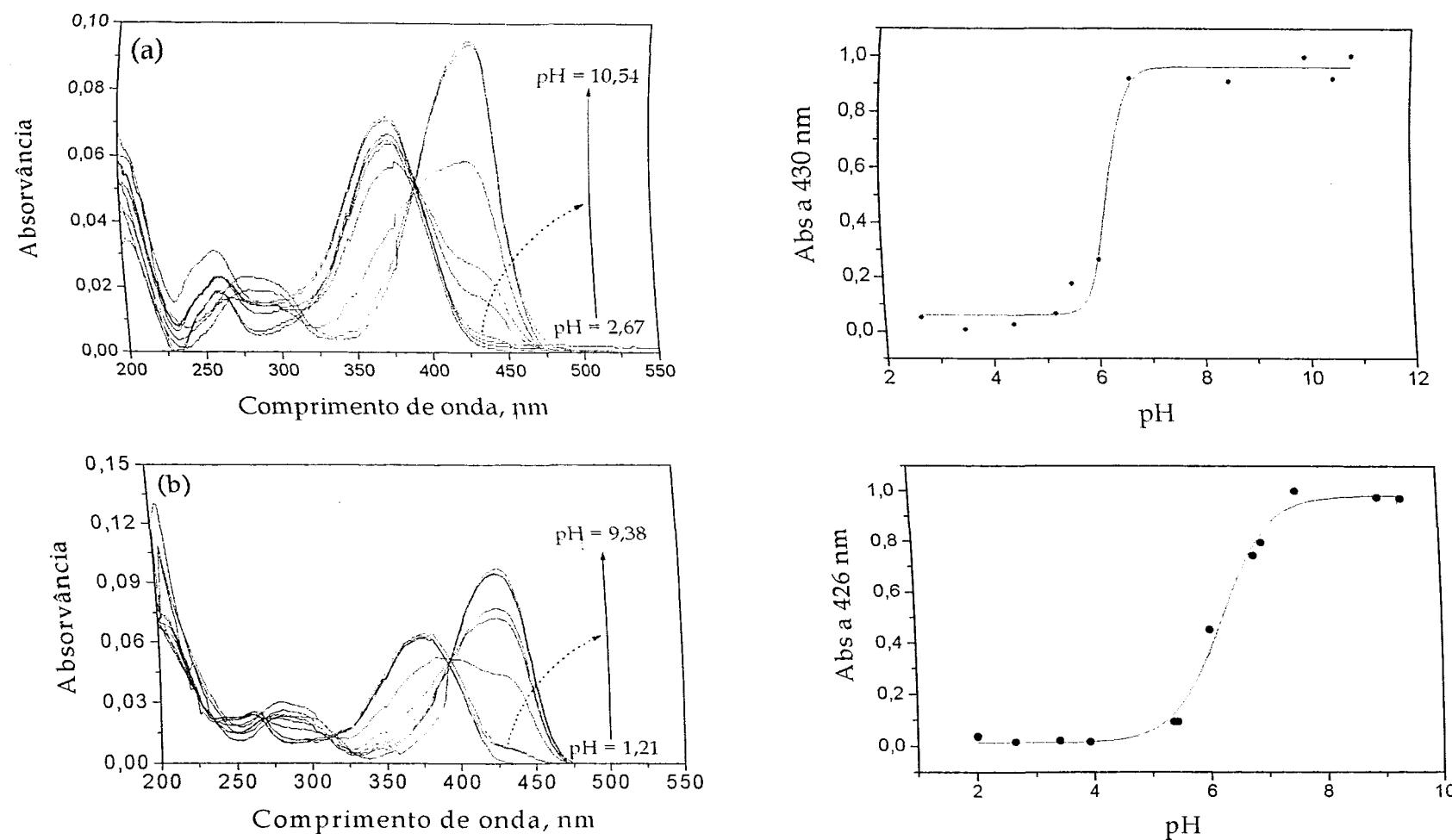


Figura 35 – Bandas de absorção e curvas de monitoramento da absorbância do máximo de absorção da espécie desprotonada da cumarina 3 a diferentes valores de pH em mistura metanol/água: (a) mistura (1:4 v/v); (b) mistura (1:99 v/v).

O equilíbrio de dissociação para a cumarina 3 foi avaliado, considerando o deslocamento batocrômico da banda  $S_0 \rightarrow S_1$ , devido ao aumento do pH. Quando o pH do meio é aumentado, a desprotonação da cumarina 3 fica evidenciada com o surgimento de uma banda com máximo a 430 nm para a mistura 1:4 v/v e a 426 nm para a mistura 1:99 v/v. O pKa, estimado através da segunda derivada da curva Abs vs pH para soluções metanol/água (1:4 v/v), é  $6,33 \pm 0,03$ , e para soluções metanol/água (1:99 v/v) é de  $6,20 \pm 0,02$ .

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos a partir da excitação nos comprimentos de onda de absorção máximos e são apresentados a seguir.

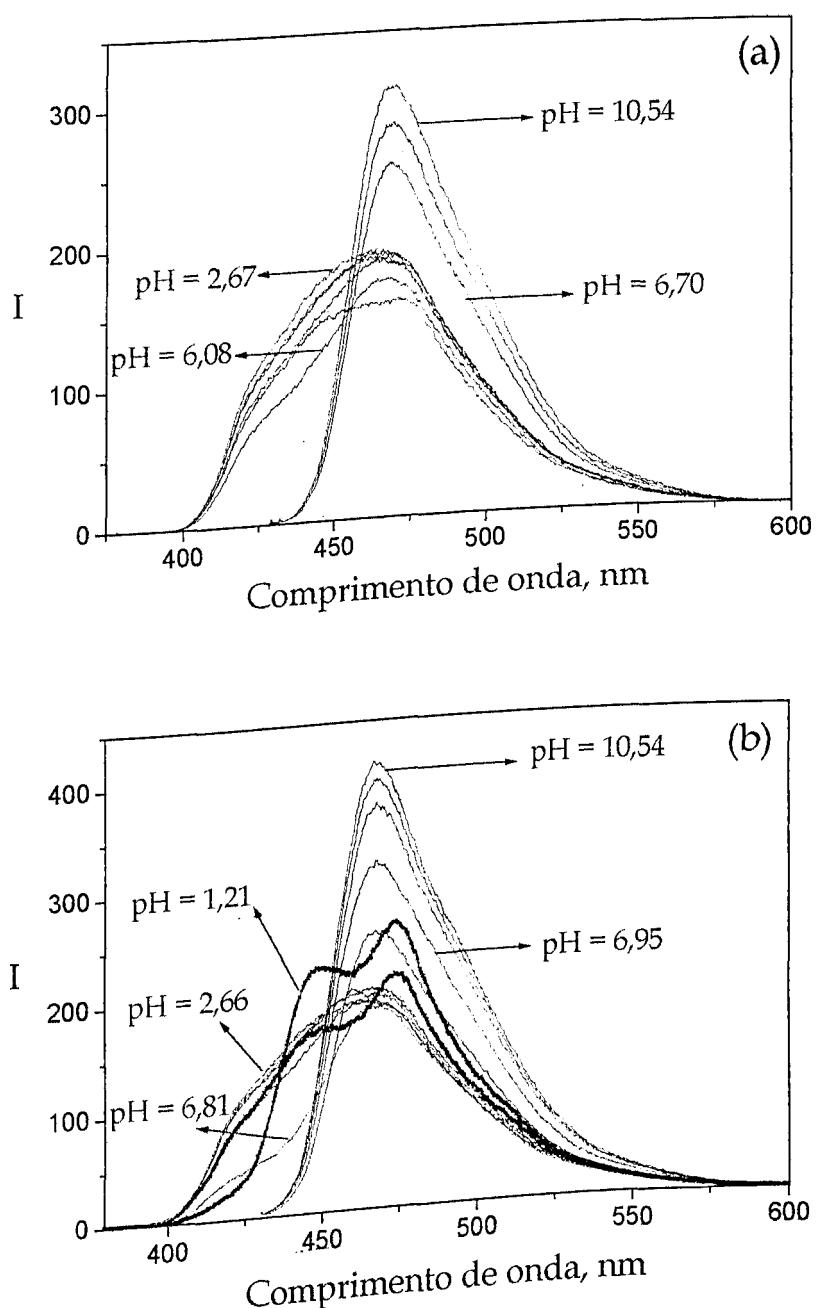


Figura 36 – Comportamento das bandas de emissão de fluorescência da cumarina 3 a diferentes valores de pH em mistura metanol/água: (a)mistura (1:4 v/v); (b) mistura (1:99 v/v).

O comportamento observado para as duas diferentes misturas de solventes é similar. Entretanto, para a mistura metanol/água (1:99 v/v) a pH inferior a 2, é possível observar uma banda adicional, visualizada pelas curvas em destaque. Essa nova banda refere-se à espécie obtida após a protonação do substituinte OH [108].

Desse modo, devem ser consideradas três espécies, de acordo com o pH do meio. Como não foram observadas diferenças nas bandas de absorção em meio fortemente ácido, acredita-se que a protonação do substituinte seja favorecida no estado excitado.

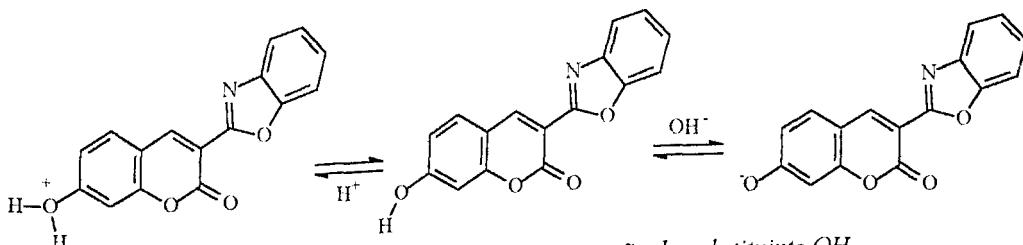


Figura 37 - Espécies geradas pela protonação e desprotonação do substituinte OH.

O pKa referente à protonação não foi estimado, contudo, pode-se sugerir que está próximo de um pH2.

A diferença entre os valores de pKa estimados para a desprotonação da cumarina 3 nas duas diferentes misturas metanol/água está relacionada às características do meio. Levando-se em conta que o conceito de pH está relacionado a sistemas aquosos, deve-se considerar que a mistura contendo 1% de metanol está mais próxima da condição real. Desse modo, o pKa, correspondente à desprotonação da cumarina 3 é 6,20.

Um comportamento similar ao efeito de desprotonação do substituinte hidroxila da cumarina 3 pelo aumento do pH do meio pode ser observado para soluções metanólicas contendo diferentes concentrações de dimetilformamida.

A figura a seguir mostra o comportamento das bandas de absorção e emissão de fluorescência da cumarina 3, em diferentes misturas de metanol/dimetilformamida.

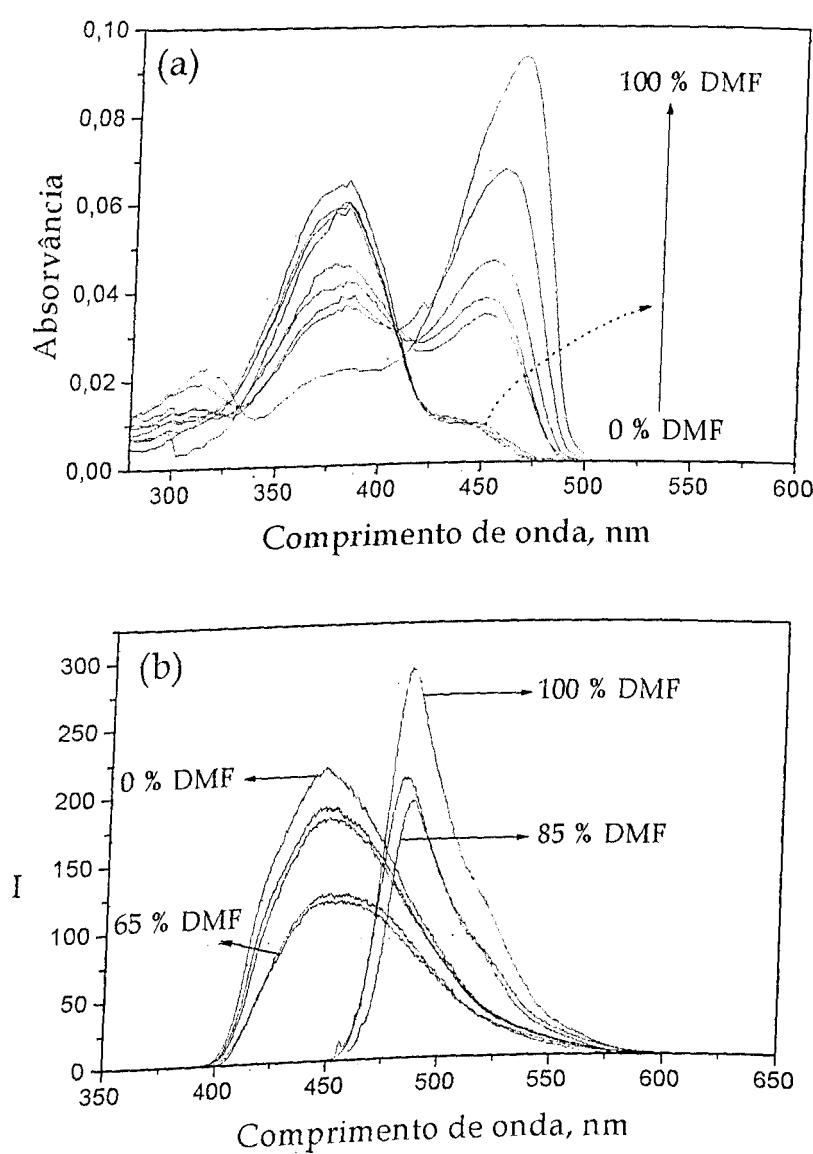


Figura 38 - Espectros de absorção (a) e emissão de fluorescência (b) para a cumarina 3 a diferentes proporções na mistura metanol/DMF.

Como pode ser visualizado, o aumento na proporção de DMF provoca o deslocamento batocromico da banda de absorção, semelhante ao comportamento observado com a variação do pH do meio.

A desprotonação da espécie nessa mistura de solventes foi acompanhada através da redução da absorvância a 382 nm, correspondente ao máximo de absorção da espécie neutra, e através dos espectros de emissão de fluorescência da espécie desprotonada, como pode ser visto nas figuras a seguir.

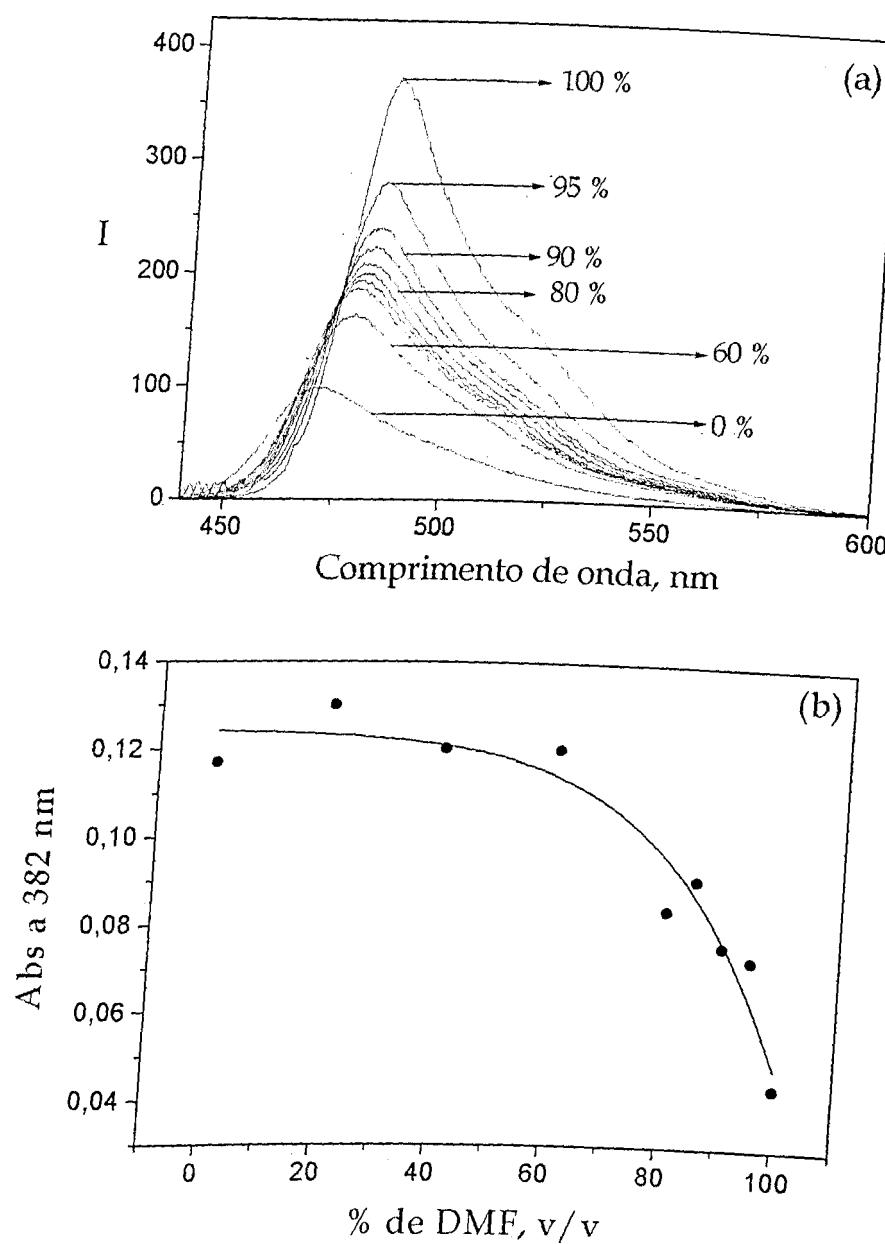


Figura 39 - Espectros de emissão de fluorescência (a) e monitoramento da variação da absorvância a 382 nm, ocorrida para a cumarina 3 (b) em diferentes misturas de metanol/DMF.

A desprotonação é mais acentuada para proporções de DMF superiores a 60 %. O máximo de emissão de fluorescência sofre um deslocamento batocrômico com o aumento na proporção de DMF, indicando uma melhor estabilização do estado excitado da espécie desprotonada nesse solvente. Comportamento semelhante ao observado em DMF deve ser esperado para outras amidas, aminas, sulfôxidos e solventes de elevado caráter nucleofílico.

Um resultado que mostra-se bastante singular quanto ao equilíbrio ácido-base proposto para a cumarina 3, foi observado em experimentos onde se utilizou diisopropilamina como solvente (figura 40).

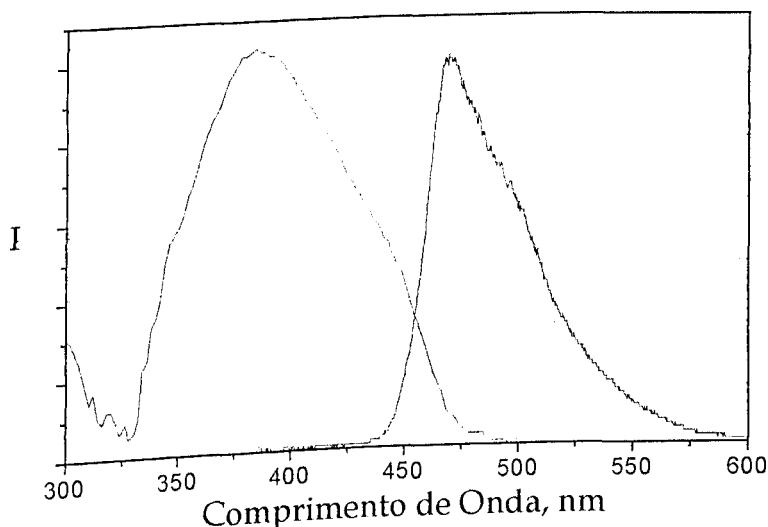


Figura 40 - Espectros de absorção e emissão de fluorescência da cumarina 3 em diisopropilamina ( $\lambda_{exc} = 384\text{ nm}$ ).

Analizando-se o máximo de absorção, nota-se que o mesmo situa-se a 384 nm, próximo ao máximo de absorção observado para a cumarina 3 em metanol, onde predomina a espécie neutra. Por outro lado, o máximo de emissão de fluorescência está localizado a 469 nm, enquanto o valor esperado para a espécie neutra situa-se próximo a 447 nm. Além disso, a forma da banda de emissão de fluorescência é bastante similar à da espécie desprotonada. Esse comportamento sugere que a desprotonação do substituinte hidroxila deve ocorrer a partir do seu estado excitado. Uma vez que a diisopropilamina atua como uma base fraca, em virtude do impedimento estérico provocado pelos grupos isopropila, a desprotonação da hidroxila deve ser desfavorecida no estado fundamental.

Assim como para a cumarina 3, as variações na concentração de  $\text{H}_3\text{O}^+$  no meio provocam alterações quanto ao comportamento das bandas de absorção e emissão de fluorescência da cumarina 2. Nesse caso, a protonação do substituinte dietilamino foi monitorada através de experimentos empregando soluções metanol/água (1:99 v/v), contendo diferentes concentrações de  $\text{H}_3\text{O}^+$  (figura 41).

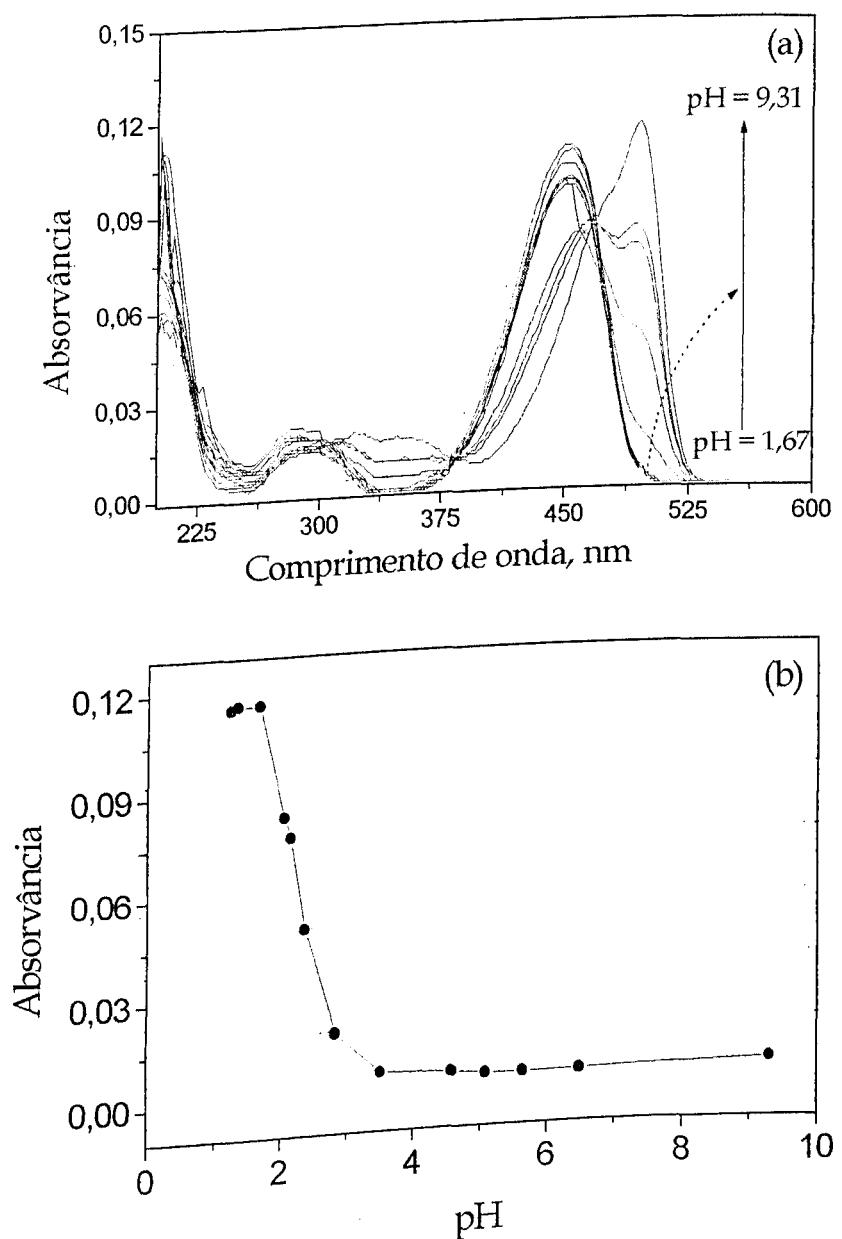


Figura 41 – Bandas de absorção (a) e curvas de monitoramento da absorvância do máximo de absorção ( $\lambda = 452$  nm) da espécie protonada da cumarina 2 (b) a diferentes valores de pH em mistura metanol/água (1:99 v/v)

A redução no pH do meio provoca o deslocamento batocrômico da banda de absorção da cumarina 2. O deslocamento da banda indica a existência de duas espécies, uma neutra e outra formada após a protonação do nitrogênio do substituinte dietilamino. A segunda derivada obtida a partir da curva Abs vs pH permitiu estimar um  $pK_a$   $2,36 \pm 0,02$  para a cumarina 2.

A seguir, são apresentados os espectros de emissão de fluorescência da cumarina 2 frente à variação do pH do meio.

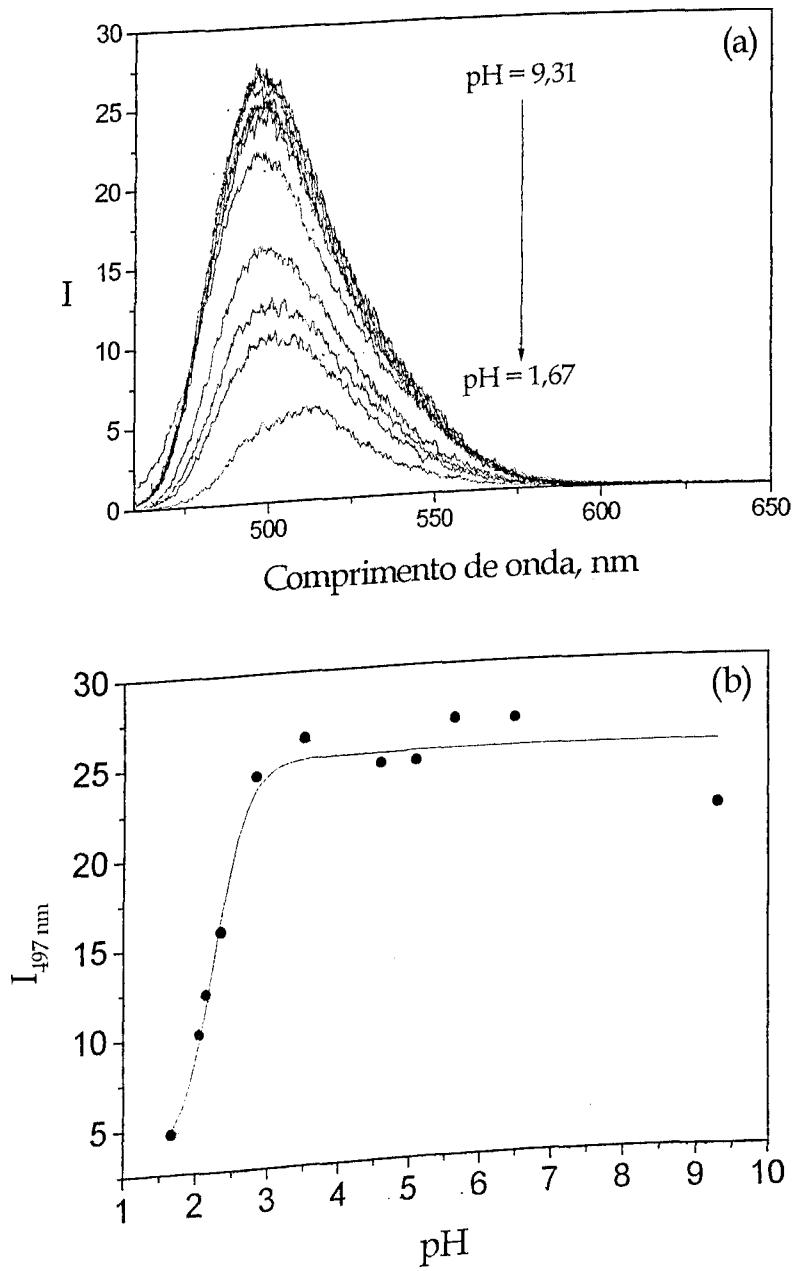


Figura 42 - Comportamento das bandas de emissão de fluorescência (a) e monitoramento da intensidade de fluorescência a 497 nm (b) da cumarina 2 a diferentes valores de pH em mistura metanol/água (1:99).

A figura 42a mostra que a banda de emissão de fluorescência da cumarina 2 sofre um deslocamento batocromico com a diminuição do pH do meio, acompanhada de diminuição na intensidade de fluorescência, diferentemente do comportamento observado para a cumarina 3, onde são obtidas bandas de emissão de fluorescência distintas para as duas espécies do equilíbrio ácido-base. A

relação direta entre a intensidade de fluorescência da cumarina 2 e o pH, permite estimar o  $pK_a'$ , ou seja, o  $pK_a$  da espécie no estado excitado. A estimativa foi feita através da segunda derivada da curva  $I_{497\text{ nm}}$  vs pH. Foi estimado um valor de 2,15, indicando que o estado excitado da cumarina 2 possui um caráter mais ácido que o estado fundamental.

Jones e colaboradores estudaram as propriedades ácido-base de amino cumarinas substituídas por heterociclos na posição 3, as quais são apresentadas a seguir [130].

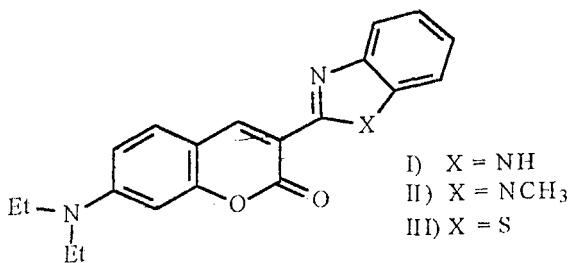


Figura 43 – Cumarinas estudadas por Jones e colaboradores [129].

Foram estimados os  $pK_a$  das espécies I, II, III como sendo 5,0, 4,6 e 0,92, respectivamente [130]. As mudanças observadas foram atribuídas à protonação do nitrogênio do grupo azol com a subsequente formação de um dicáton associado com o nitrogênio do grupo dietilamino em soluções mais ácidas [130]. No entanto, para a aminocumarina (cumarina 2), estudada nesse trabalho, atribuiu-se as mudanças observadas à protonação do grupo dietilamino, uma vez que experimentos prévios, realizados com a cumarina 1 a diferentes pH não indicaram alterações na fotofísica do composto, descartando desse modo a protonação do nitrogênio do substituinte benzoxazol.

A seguir são apresentados os espectros de absorção e emissão de fluorescência da cumarina 2 a diferentes pH, em misturas metanol/água 1:99 v/v.

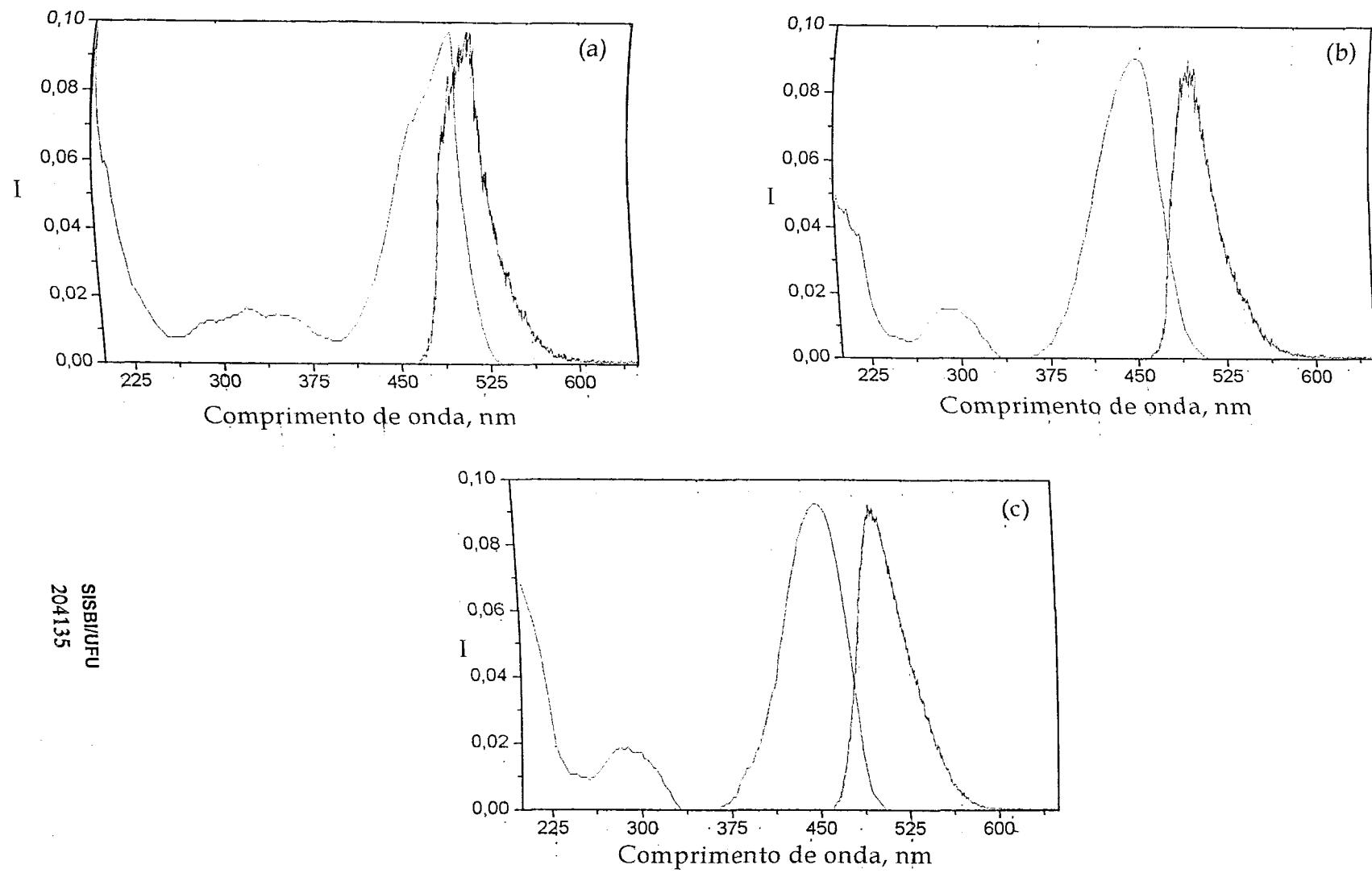


Figura 44 - Espectros de absorção e emissão de fluorescência para a cumarina 2 a diferentes pH em mistura metanol/água (1:99): (a) cumarina 2 a pH = 1,67 ( $\lambda_{exc} = 495\text{ nm}$ ); (b) cumarina 2 a pH = 5,65 ( $\lambda_{exc} = 452\text{ nm}$ ); (c) cumarina 2 a pH = 9,31 ( $\lambda_{exc} = 452\text{ nm}$ ).

Os espectros visualizados na figura acima sugerem que, para as três condições consideradas, a geometria do estado fundamental deve ser similar à do estado excitado. Esses resultados foram confirmados de cálculos teóricos [128].

### *3.3 Efeito do Solvente Sobre a Transição $S_1 \rightarrow S_0$*

Para compreender melhor a influência das interações específicas soluto-solvente sobre a fotofísica das cumarinas estudadas, os resultados obtidos serão tratados separadamente.

A seguir, são apresentados dados fotofísicos obtidos para a cumarina 1. Os solventes foram dispostos em ordem crescente de polaridade, seguindo a escala de polarizabilidade de orientação ( $\Delta f$ ), sendo também considerado o caráter prótico e aprótico do meio.

Tabela 5 – Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos da cumarina I.

Solvente	$\lambda_{abs}, nm$	$\lambda_{em}, nm$	$\tilde{\nu}, cm^{-1}$	$\Phi_f$	$k_r^0, s^{-1}^{(2)}$	$\tau_r^0, ns^{(2)}$	$\tau_{exp}, ns$	$\tau_f, ns$	$k_f, s^{-1}$	$k_{nr}, s^{-1}$	$k_f/k_{nr}$	$\tau_f/\tau_r^0$
Metilciclohexano	356	438	5259	0,94	$3,67 \times 10^8$	2,72	-	-	-	-	-	-
Tetracloreto de carbono	360	444	5256	0,92	$3,05 \times 10^8$	3,28	3,17	3,45	$2,90 \times 10^8$	$2,52 \times 10^7$	11,51	1,05
Tolueno	360	445	5306	0,83	$2,09 \times 10^8$	4,78	-	-	-	-	-	-
1,4-dioxano	357	443	5438	0,84	$2,89 \times 10^8$	3,46	-	-	-	-	-	-
Clorofórmio	356	443	5517	0,87	$2,79 \times 10^8$	3,58	-	-	-	-	-	-
Acetato de etila	352	443	5836	0,86	$2,43 \times 10^8$	4,12	-	-	-	-	-	-
Tetrahidrofurano	354	444	5726	0,77	$3,55 \times 10^8$	2,82	-	-	-	-	-	-
Dimetilsulfóxido	354	453	6174	0,77	$3,07 \times 10^8$	3,26	-	-	-	-	-	-
N,N-dimetilformamida	352	445	5937	0,72	$3,03 \times 10^8$	3,30	-	-	-	-	-	-
Propanona	352	444	5887	0,76	$1,78 \times 10^8$	5,62	-	-	-	-	-	-
Acetonitrila	352	443	5836	0,72	$3,26 \times 10^8$	3,07	-	-	-	-	-	-
Álcool 2-butílico	353	445	5857	0,80	$3,07 \times 10^8$	3,26	-	-	-	-	-	-
Etilenoglicol	354	447	5877	0,68	$3,50 \times 10^8$	2,86	3,78	5,56	$1,80 \times 10^8$	$8,47 \times 10^7$	2,13	1,94
Álcool 2-propílico	354	444	5726	0,76	$3,07 \times 10^8$	3,26	-	-	-	-	-	-
Álcool etílico	352	440	5682	0,72	$3,52 \times 10^8$	2,84	-	-	-	-	-	-
Álcool metílico	352	440	5682	0,67	$3,37 \times 10^8$	2,97	3,47	5,18	$1,93 \times 10^8$	$9,51 \times 10^7$	2,03	1,74

<sup>(2)</sup> estimados a partir dos espectros de absorção.

Os comprimentos de onda de absorção exibem um leve deslocamento hipsofórmico com o aumento da polaridade do solvente, o que indica que o estado fundamental tende a ser melhor solvatado por solventes apolares. Os comprimentos de onda de emissão de fluorescência não apresentam um padrão.

Duas diferentes tendências podem ser consideradas para a variação do deslocamento de Stokes ao separar os solventes quanto ao caráter prótico ou aprótico. Em solventes apróticos, por exemplo, há uma relação direta entre o deslocamento de Stokes e a polaridade do solvente, o que pode ser visualizado na figura 45.

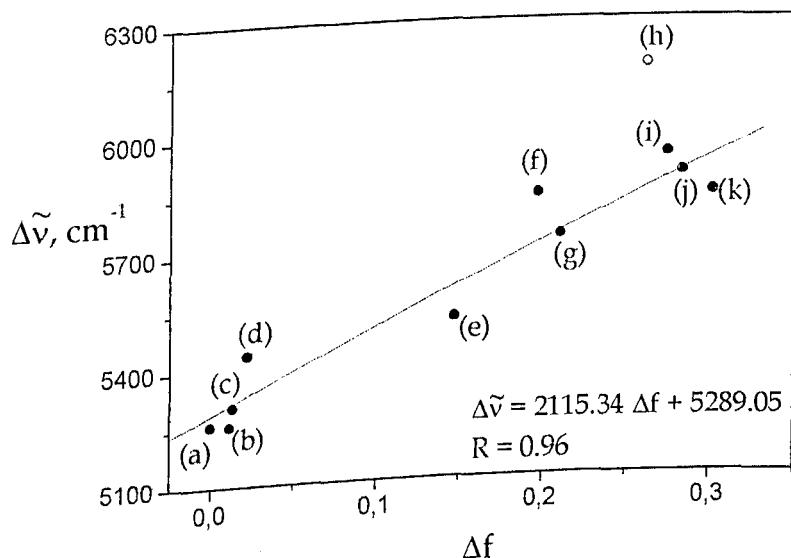


Figura 45 – Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação ( $\Delta f$ ) para a Figura 45 – Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação ( $\Delta f$ ) para a cumarina 1 em solventes apróticos. (a) metilciclohexano; (b) tetracloreto de carbono; (c) tolueno; (d) dioxano; (e) clorofórmio; (f) acetato de etila; (g) THF; (h) DMSO; (i) DMF; (j) acetona; (k) acetonitrila.

Os valores foram representados graficamente utilizando-se o parâmetro  $\Delta f$ , o que permite estimar, a partir da equação 10, um  $\Delta\mu$  de 5,26 Debye entre os momentos de dipolo dos estados fundamental e excitado. O raio de Onsager foi estimado de acordo com a proposta de Lippert para moléculas planares, onde o raio poderia ser considerado como sendo 40 % do comprimento longitudinal da molécula [114]. Desse modo, um valor de 4,04 Å foi obtido a partir de estimativas do comprimento da molécula, feitas por meio de cálculo teórico [128]. Machado e

colaboradores estimaram para a molécula isolada, por meio de cálculos ab initio, um  $\Delta\mu = 0,219$  Debye<sup>o</sup> [128]. Empregando-se um conjunto de funções de bases médio, esse valor aumentou para  $\Delta\mu = 0,868$  Debye. Empregando-se a escala  $E_T^N$  (figura 46), mais adequada para descrever interações polares [ 87, 93], o valor estimado para  $\Delta\mu$  é igual a 2,07 Debye<sup>o</sup>. Desse modo, podemos considerar que o momento de dipolo do estado  $S_1$  se situa entre 0,9 e 2,0 Debye.

A figura a seguir apresenta a aplicação dessa escala para a estimativa desse parâmetro,

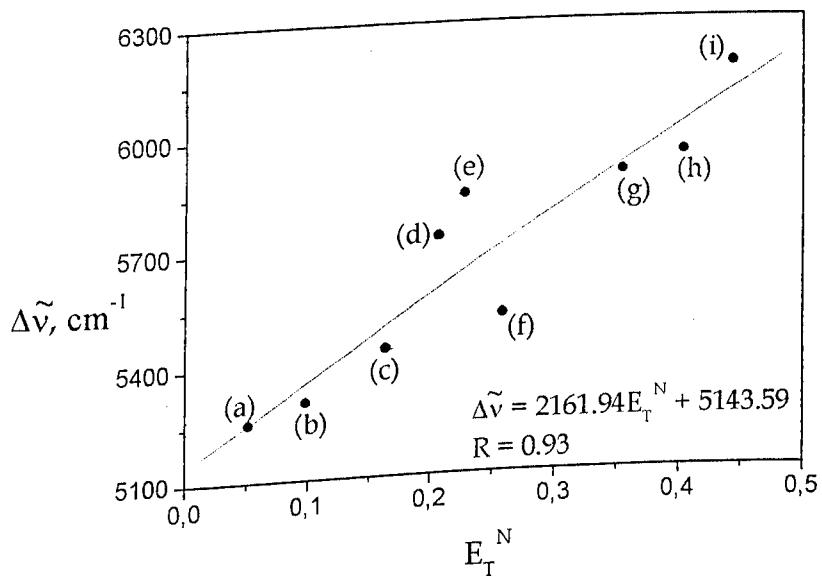


Figura 46 – Deslocamento de Stokes em função do parâmetro de polaridade  $E_T^N$  para a cumarina 1 em solventes apróticos. (a) tetracloreto de carbono; (b) tolueno; (c) dioxano; (d) THF; (e) acetato de etila; (f) clorofórmio; (g) acetona; (h) DMF; (i) DMSO.

Os resultados obtidos em solventes próticos evidenciam uma relação inversa entre o deslocamento de Stokes e a polaridade do meio. Para esses solventes, deve-se levar em consideração a capacidade de formação de ligação de hidrogênio. O melhor parâmetro que relaciona os solventes próticos quanto à

<sup>o</sup>  $S_0 = 2,4830$  Debye (utilizando o método de Hartree-Fock com base STO-3G) e  $S_1 = 2,7018$  Debye (utilizando Configuration Interaction-Singles com base STO-3G).

<sup>o</sup> valor calculado de acordo com a relação: inclinação =  $11307,60[(\Delta\mu/\Delta\mu_B)^2 \cdot (a_B/a)^3]$ ; onde  $\Delta\mu_B =$

9 Debye e  $a_B = 6,2\text{ \AA}$ , valores referentes ao corante de Reichardt.

capacidade de formação de ligação de hidrogênio é o parâmetro  $\alpha$  [95,96]. A figura 47 relaciona o deslocamento de Stokes com esse parâmetro.

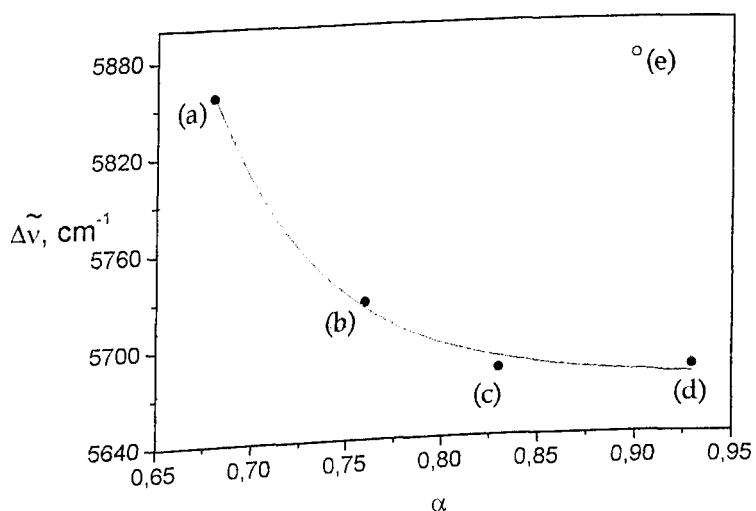


Figura 47 – Deslocamento de Stokes em função do parâmetro  $\alpha$  do solvente prótico para a cumarina 1. (a) 2-butanol; (b) 2-propanol; (c) etanol; (d) metanol; (e) etilenoglicol.

O parâmetro  $\alpha$ , nesse caso, permite obter somente informações qualitativas sobre o efeito das ligações de hidrogênio soluto/solvente. A ausência de linearidade entre os resultados obtidos pode estar relacionada principalmente a características específicas dos álcoois utilizados. Dentre os solventes próticos utilizados para o estudo da fotofísica das cumarinas, há dois álcoois secundários (2-propanol e 2-butanol), um álcool dihidroxílico (etenoglicol) e dois álcoois primários (etanol e metanol). Nos dois primeiros há um impedimento estérico sobre a hidroxila do álcool, provocado pelos substituintes alquílicos, o que dificulta a formação de ligação de hidrogênio. Já no caso do etilenoglicol, há uma maior capacidade de formação de ligações de hidrogênio, somada à alta viscosidade do solvente, o que deve conferir maior rigidez ao meio, e favorecer a interação soluto/solvente. Essas diferentes tendências fazem com que não seja obtida uma linearidade para os valores estimados. Os locais mais prováveis para a formação de ligações de hidrogênio soluto/solvente nessa cumarina são os átomos de oxigênio e nitrogênio do grupo benzoxazol. Tal afirmação está baseada nos resultados existentes na literatura para a cumarina e alguns de seus derivados com substituintes na posição 3, que não sofrem a interferência da natureza prótica do solvente [100]. Isso nos leva a descartar a possibilidade de ser a carbonila do anel

cumarínico, a região de formação da ligação de hidrogênio, responsável pela alteração nas propriedades fotofísicas, como sugerido por alguns autores [85].

Interações provocadas tanto pelo efeito da polaridade do solvente quanto pelas ligações de hidrogênio causam alterações significativas nos rendimentos quânticos de fluorescência (figura 48). Pelos valores dispostos na tabela 5, é possível observar que há uma tendência de desfavorecimento dos processos radiativos de desativação do estado  $S_1$  da cumarina I com o aumento da polaridade do meio. A figura a seguir, apresenta a tendência observada.

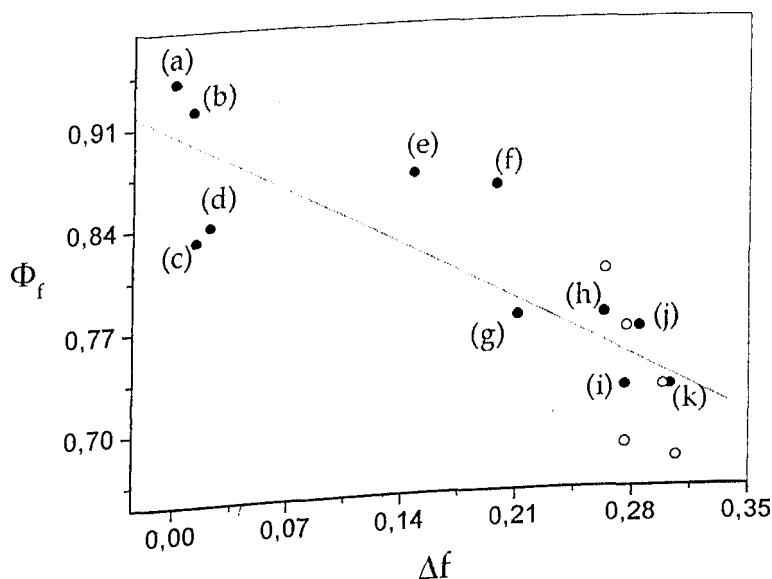


Figura 48 - Relação entre o rendimento quântico de fluorescência da cumarina I e a polarizabilidade de orientação ( $\Delta f$ ) do solvente utilizado. Pontos fechados (●): (a) metilciclohexano; (b) tetracloreto de carbono; (c) tolueno; (d) dioxano; (e) clorofórmio; (f) acetato de etila; (g) THF; (h) DMSO; (i) DMF; (j) acetona; (k) acetonitrila. Pontos abertos (○): solvientes próticos.

De modo geral, essa tendência é a mesma, tanto para solvientes próticos quanto apróticos. Embora essa tendência seja mais acentuada para os solvientes próticos, em virtude de formação de ligações de hidrogênio com o grupo benzoxazol, pode-se generalizar, com base na figura acima, que interações polares entre o grupo benzoxazol são responsáveis pela desativação não-radiativa observada. De forma particular, o comportamento observado para os solvientes

próticos está mostrado na figura 49, onde se relaciona o rendimento quântico de fluorescência com o parâmetro  $\alpha$ ,

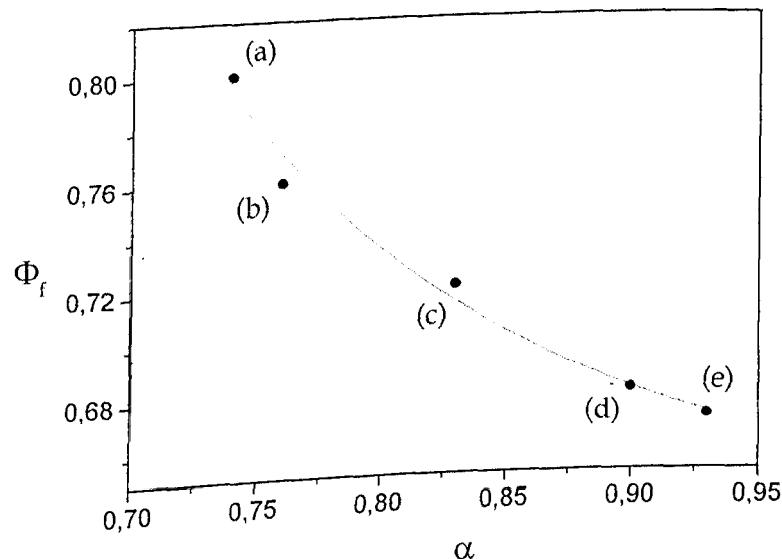


Figura 49 – Relação entre o rendimento quântico de fluorescência da cumarina 1 e o parâmetro  $\alpha$  para solventes próticos. (a) 2-butanol; (b) 2-propanol; (c) etanol; (d) etilenoglicol; (e) metanol.

Esses resultados concordam com a proposição de que os solventes próticos tendem a formar ligações de hidrogênio com o grupo benzoxazol, viabilizando a participação de mecanismos não-radiativos de desativação.

Seixas de Melo e colaboradores propuseram que o aumento da polaridade do solvente, prático ou aprótico, tende a aumentar o rendimento quântico de fluorescência de certas cumarinas em função da inversão de estados [100]. Nossos resultados, mostram um comportamento oposto. No entanto, os derivados de cumarina estudados possuem um estado  $S_1$  preponderantemente  $\pi,\pi^*$ , graças à ação do grupo benzoxazol, ao contrário das cumarinas estudadas por Seixas de Melo e colaboradores, cujo estado  $S_1$  é  $n,\pi^*$ . No nosso caso, interações polares intensas com o grupo benzoxazol devem aumentar o caráter perturbacional de um estado  $n,\pi^*$  mais alto, embora, mesmo assim, esse efeito não seja suficiente para inviabilizar uma eficiente emissão fluorescente por parte desses compostos.

Uma das possíveis causas para o surgimento de uma rota não-radiativa para a desativação do estado  $S_1$  pode ser a mudança no ângulo diedro entre os

anéis cumarínico e benzoxazol, em função das interações com o solvente, alterando a planaridade da molécula. Esse aumento no ângulo diedro faz com que o caráter ressonante do sistema seja diminuído, reduzindo o caráter  $\pi,\pi^*$  da transição, o que pode ser avaliado a partir de resultados de cálculos teóricos. Gao e colaboradores sugeriram que a torção do substituinte na posição 3, causada por interações com o solvente, tende a provocar um efeito significativo sobre a desativação do estado singlete excitado de cetocumarinas [129].

Os valores obtidos para os  $\tau_r^0$  e  $k_r^0$ , estimados a partir dos espectros de absorção da cumarina 1, estão de acordo com a natureza  $\pi,\pi^*$  da transição. Entretanto, esses valores não mostram nenhuma tendência, ao contrário do que se observa para os rendimentos quânticos de fluorescência. No entanto, a razão entre o tempo de vida de fluorescência e o tempo de vida natural mostra que a emissão de fluorescência nos solventes apolares ocorre de um estado solvatado totalmente distinto daquele em solventes polares. Em tetracloreto de carbono, por exemplo, a relação  $\tau_f/\tau_r^0$  se aproxima da unidade, sugerindo que a emissão de fluorescência nesse solvente está ocorrendo a partir de um nível relaxado bem próximo ao nível de Franck-Condon.

Em solventes apolares, o principal mecanismo de desativação do estado  $S_1$  é através da fluorescência. Isso pode ser visualizado através da relação entre as constantes relativas à fluorescência e aos processos não-radiativos de desativação ( $k_f/k_{nr}$ ). À medida que a polaridade do solvente aumenta, há um favorecimento dos processos não-radiativos de desativação. Os resultados estão diretamente relacionados com os rendimentos quânticos de fluorescência, estimados nos experimentos em regime de estado estacionário.

Todos esses efeitos, provocados pela natureza do solvente sobre a fotofísica da cumarina 1 servem como base inicial para a interpretação da fotofísica dos demais derivados em estudo. Entretanto, os resultados sugerem que os efeitos do solvente tendem a se pronunciar mais efetivamente sobre os substituintes da posição 7.

No caso do substituinte  $\text{NEt}_2$ , várias propostas mecânicas visando explicar a desativação de  $S_1$  têm sido propostas [81,83,85,121,129,130]. A inclusão do grupo benzoxazol na posição 3 faz com que a cumarina 2 apresente certas singularidades no seu comportamento fotofísico, quando comparada com

outras aminocumarinas. Os resultados obtidos para a cumarina 2 foram dispostos na tabela 6. Assim como para a cumarina 1, os solventes foram separados em duas classes, de modo a facilitar a interpretação dos resultados.

Tabela 6 – Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 2.

Solvente	$\lambda_{abs}$ , nm	$\lambda_{em}$ , nm	$\Delta \tilde{v}$ , cm <sup>-1</sup>	$\Phi_f$	$k_r^0$ , s <sup>-1</sup> (*)	$\tau_r^0$ , ns <sup>(*)</sup>	$\tau_{exp}$ , ns	$\tau_f$ , ns	$k_f$ , s <sup>-1</sup>	$k_{nr}$ , s <sup>-1</sup>	$k_f/k_{nr}$	$\tau_f/\tau_r^0$
Metilciclohexano	426	478	2554	0,64	$2,17 \times 10^8$	4,61	2,23	3,49	$2,86 \times 10^8$	$1,61 \times 10^8$	1,77	0,76
Tetracloreto de carbono	433	479	2218	0,76	$2,56 \times 10^8$	3,91	2,33	3,07	$3,26 \times 10^8$	$1,03 \times 10^8$	3,16	0,79
Tolueno	434	479	2165	0,79	$2,30 \times 10^8$	4,35	-	-	-	-	-	-
1,4-dioxano	428	476	2356	0,79	$2,64 \times 10^8$	3,79	2,31	2,91	$3,44 \times 10^8$	$0,91 \times 10^8$	3,78	0,77
Clorofórmio	440	480	1894	0,82	$2,64 \times 10^8$	3,79	2,37	2,88	$3,47 \times 10^8$	$0,76 \times 10^8$	4,57	0,76
Acetato de etila	430	480	2423	0,81	$2,24 \times 10^8$	4,46	-	-	-	-	-	-
Tetrahidrofurano	435	482	2242	0,78	$2,76 \times 10^8$	3,62	-	-	-	-	-	-
Dimetilsulfóxido	444	497	2402	0,46	$2,53 \times 10^8$	3,95	1,80	3,89	$2,57 \times 10^8$	$3,00 \times 10^8$	0,86	0,98
N,N-dimetilformamida	441	493	2393	0,58	$2,52 \times 10^8$	3,97	1,94	3,33	$3,01 \times 10^8$	$0,93 \times 10^8$	3,57	0,84
Propanona	434	487	2508	0,76	$2,48 \times 10^8$	4,03	-	-	-	-	-	-
Acetonitrila	438	490	2423	0,61	$2,76 \times 10^8$	3,62	1,87	3,08	$3,25 \times 10^8$	$2,16 \times 10^8$	1,39	0,85
Diisopropilamina	426	474	2377	0,52	$2,84 \times 10^8$	3,52	-	-	-	-	-	-
Álcool 2-butílico	438	487	2297	0,78	$2,41 \times 10^8$	4,15	2,37	3,02	$3,31 \times 10^8$	$1,03 \times 10^8$	3,16	0,73
Etilenoglicol	448	497	2201	0,46	$2,61 \times 10^8$	3,83	1,68	3,65	$2,74 \times 10^8$	$3,21 \times 10^8$	0,85	0,95
Álcool 2-propílico	438	488	2339	0,76	$2,68 \times 10^8$	3,73	2,32	3,06	$3,27 \times 10^8$	$2,32 \times 10^8$	1,33	0,82
Álcool etílico	441	489	2226	0,57	$2,78 \times 10^8$	3,60	1,85	3,25	$3,10 \times 10^8$	$2,09 \times 10^8$	1,56	0,90
Álcool metílico	442	490	2216	0,42	$2,65 \times 10^8$	3,77	1,49	3,53	$2,84 \times 10^8$	$3,89 \times 10^8$	0,73	0,94
Água	452	497	2003	0,11	$1,73 \times 10^8$	5,78	0,71	6,45	$1,55 \times 10^8$	$12,54 \times 10^8$	0,12	1,12

(\*) calculados a partir dos espectros de absorção.

Os resultados mostram que o máximo de absorção segue uma tendência de aumento com a polaridade do meio, tanto para solventes próticos quanto para os apróticos. O mesmo comportamento é observado para o máximo de emissão de fluorescência.

A relação entre o deslocamento de Stokes e o parâmetro de polaridade  $\Delta f$  não apresenta regularidade para todos os solventes da série. Em clorofórmio, por exemplo, há uma diminuição significativa do deslocamento de Stokes, provocada, sobretudo, pela melhor solvatação da espécie no estado fundamental. Mesmo separando os solventes, a estimativa da variação do momento de dipolo da espécie é obtida com uma baixa correlação, como pode ser visualizado na figura 50.

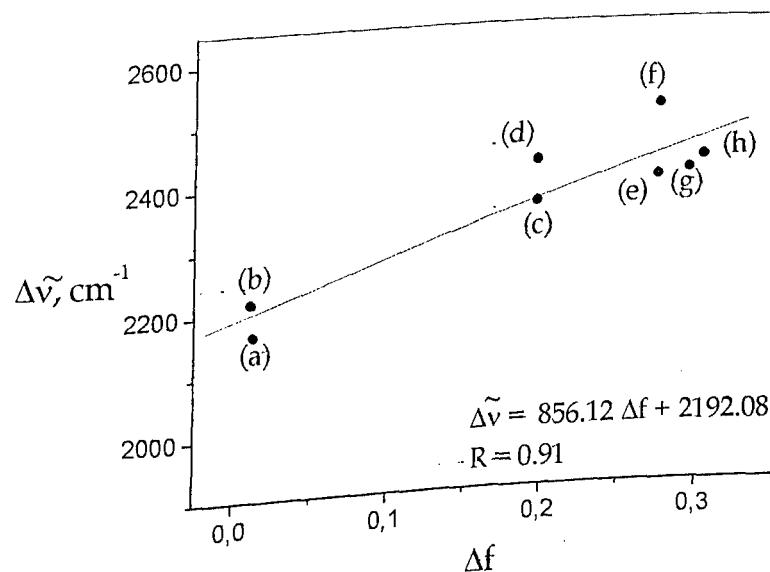


Figura 50 - Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação para a cumarina 2 em solventes apróticos. (a) tetracloreto de carbono, (b) tolueno, (c) dioxano, (d) acetato de etila, (e) DMSO, (f) DMF, (g) propanona, (h) acetonitrila.

Essa baixa correlação é em geral atribuída à formação de um estado ICT mais polar, em equilíbrio com o estado  $S_1$  [76].

A partir da análise dos resultados, baseada na aplicação da equação de Lippert [89], chega-se à informação de que o momento de dipolo do estado excitado deve ser aproximadamente 6,48 Debye maior que o do estado fundamental. Por meio de cálculo teórico (HF/3-21G e CIS/3-21G),  $\Delta\mu = 2,02$

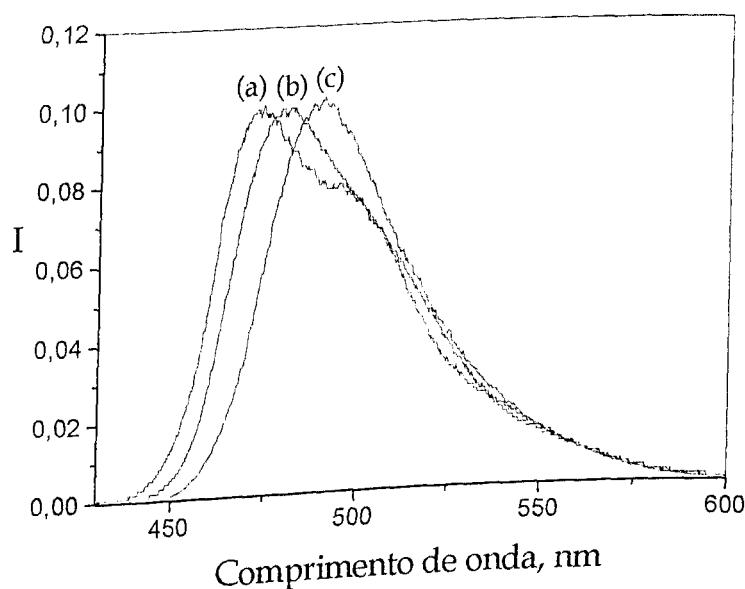
Debye<sup>•</sup> [128]. É possível que o elevado valor obtido experimentalmente esteja relacionado à formação de um estado ICT bastante polar a partir do estado S<sub>1</sub>. O valor  $\Delta E$  (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>) em torno de 58 kJ.mol<sup>-1</sup>, calculado para a molécula isolada, condiz com essa possibilidade [140]. Considerando-se que está 27% majorado com relação aos dados experimentais [128].

Diferentemente do que ocorre para compostos análogos, não se observou para essa cumarina emissão dual de fluorescência, para a maioria dos solventes estudados, o que pode ser uma indicação de que a proporção de espécies excitadas no estado ICT altamente polar seja extremamente elevada. Isso tem uma certa lógica ao se analisar as estruturas obtidas para os estados S<sub>0</sub> e S<sub>1</sub> [128]. Mesmo no estado S<sub>0</sub> se observa a ocorrência de transferência intramolecular de carga, que é ampliada com a excitação: com a redistribuição de cargas que ocorre no estado S<sub>1</sub>, a deslocalização do sistema  $\pi$  se estende para toda a molécula [128].

Como a diferença  $\Delta E$  (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>) é favorável já para a molécula isolada, é provável que uma variação, mesmo que pequena, na polaridade do solvente, possa resultar na formação desse estado mais polar. Isso concorda com os resultados obtidos. Quando se analisa os espectros de fluorescência da cumarina 2 em solventes pouco polares, como por exemplo tolueno e clorofórmio, ou mesmo em certos solventes próticos, como é o caso da diisopropilamina, pode-se observar o comportamento típico de emissão dual de fluorescência,

---

<sup>•</sup> Teoricamente, o estado S<sub>1</sub> possui um  $\mu = 9,348$  Debye, enquanto que o S<sub>0</sub> possui um  $\mu = 7,326$  Debye.



*Figura 51 - Espectros de emissão de fluorescência da cumarina 2 em (a) diisopropilamina, (b) clorofórmio e (c) metanol. Dois máximos de emissão de fluorescência podem ser visualizados: o primeiro, a 473 nm relativo ao estado LE, e a 490 nm relativo ao ICT.*

Pode-se observar que nos solventes acima citados, há dois máximos na emissão de fluorescência. O primeiro, de maior energia, atribuído ao estado  $S_1$  conhecido como “Locally Excited” [140], e o segundo atribuído ao estado ICT polar. Nota-se pelos espectros de emissão de fluorescência que nos solventes mais polares, apenas o estado ICT polar pode ser visto.

Nos solventes próticos, o deslocamento de Stokes tende a diminuir com aumento da eficiência de formação de ligação de hidrogênio do solvente. O efeito é provocado principalmente pelas interações soluto/solvente no estado fundamental, o que resulta em um deslocamento batocromico da banda de absorção para esses solventes.

A polaridade do solvente e sobretudo a capacidade de formação de ligação de hidrogênio provocam efeitos significativos sobre o processo de desativação do estado  $S_1$ . Em solventes apróticos, por exemplo, dois comportamentos distintos podem ser observados com o aumento da polaridade do meio: ocorre uma ligeira tendência de aumento do rendimento quântico de fluorescência para solventes de baixa polaridade, enquanto que nos solventes de polaridade intermediária, há uma

diminuição do rendimento quântico de fluorescência com o aumento da polaridade do meio. Tal comportamento pode ser atribuído ao fato do estado excitado ser melhor solvatado por solventes polares, em virtude do seu elevado momento de dipolo. A figura 52 ilustra a tendência observada em termos do parâmetro polarizabilidade de orientação,  $\Delta f$ , para solventes de polaridade intermediária a alta.

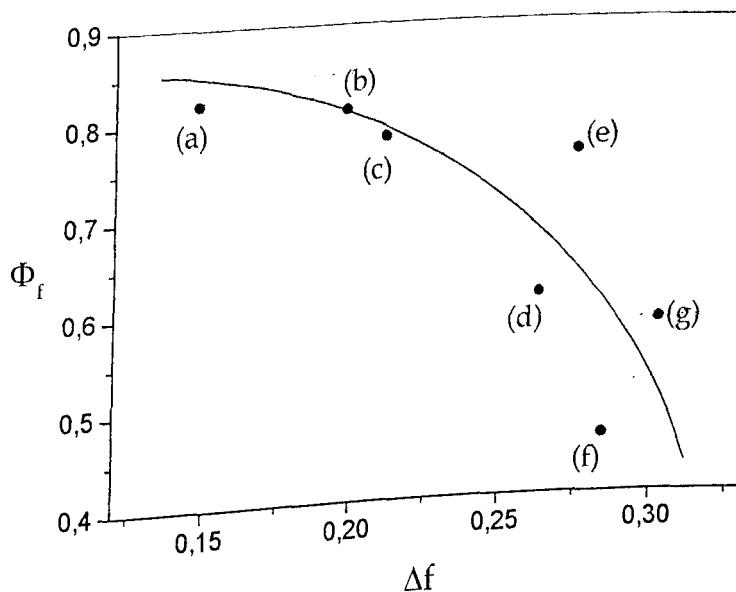


Figura 52 - Comportamento do rendimento quântico de fluorescência da cumarina 2 em solventes apróticos de polaridade intermediária a alta: (a) clorofórmio, (b) acetato de etila, (c) THF, (d) acetona, (e) acetonitrila, (f) DMF, (g) DMSO.

Esses resultados sugerem que o substituinte dietilamino deve também favorecer o estabelecimento de interações polares com o solvente, o que resulta na viabilização dos mecanismos não-radiativos na desativação do estado  $S_1$ . O efeito é bastante pronunciado em solventes de elevada polaridade, tais como DMSO e DMF.

O desfavorecimento da fluorescência é bastante significativo nos solventes próticos. Os resultados são apresentados graficamente na figura 53, relacionados em termos do parâmetro  $\alpha$  do solvente, onde a tendência apresenta boa correlação linear.

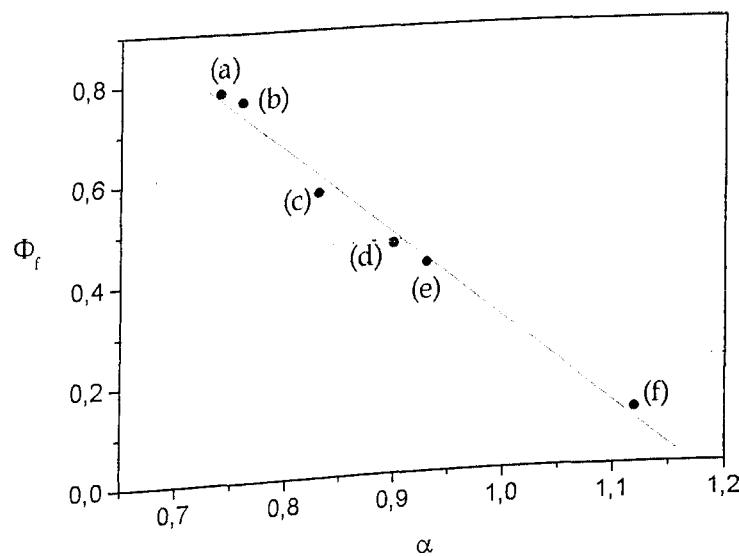
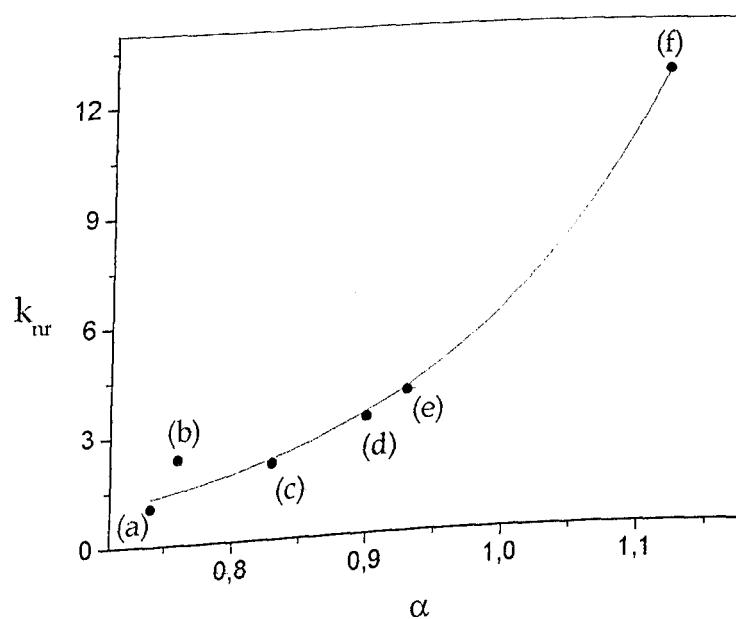


Figura 53 – Comportamento do rendimento quântico de fluorescência da cumarina 2 em função do parâmetro  $\alpha$  do solvente: (a) 2-butanol, (b) 2-propanol, (c) etanol, (d) etilenoglicol, (e) metanol, (f) água.

Na figura acima, não foi incluído o valor estimado em diisopropilamina, uma vez que nesse solvente, a formação de ligação de hidrogênio é desfavorecida pelo impedimento estérico dos substituintes isopropil. Além disso, inexiste uma estimativa para o parâmetro  $\alpha$  para a diisopropilamina. No entanto, se levarmos em consideração que a diisopropilamina segue uma tendência similar à observada para os álcoois, pode-se estimar, a partir da equação da reta acima, um valor de 0,88 para o  $\alpha$  em relação a esse solvente. De qualquer forma, uma interpretação melhor sobre as características das interações entre a cumarina 2 e a diisopropilamina deve ser avaliada com mais cuidado, visto que os únicos estudos, envolvendo cumarinas e aminas, estão relacionados com processos de transferência fotoinduzida de elétrons, utilizando fenilaminas como doadores de elétrons [131].

Quando são analisadas as constantes de desativação dos mecanismos não-radiativos é possível observar a relação direta com a polaridade do solvente, indicando que as interações soluto/solvente aumentam a probabilidade da desativação por mecanismos não-radiativos. Especificamente para os solventes próticos (figura 54) a tendência de favorecimento das rotas não-radiativas de

desativação é mais visível. O valor estimado utilizando-se água como solvente, difere significativamente dos valores obtidos para os álcoois e está relacionada à

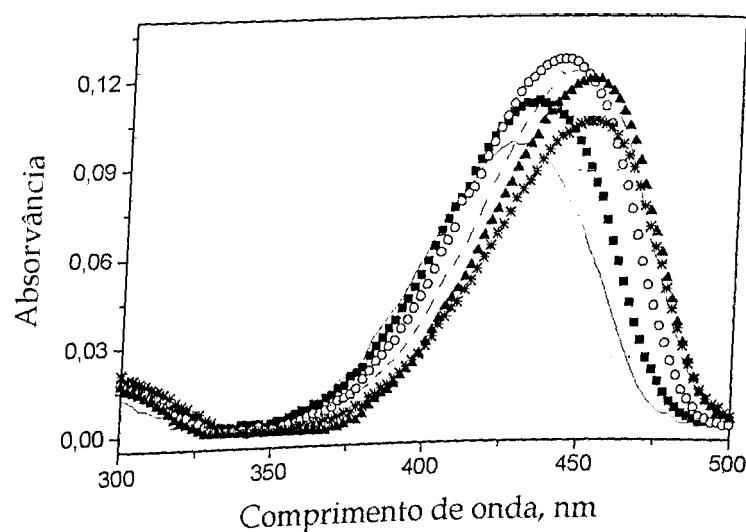


eficiência da água em formar ligações de hidrogênio com o grupo dietilamino.  
*Figura 54 – Relação entre a constante de desativação não-radiativa para a cumarina 2 em função do parâmetro  $\alpha$  do solvente: (a) 2-butanol, (b) 2-propanol, (c) etanol, (d) etilenoglicol, (e) metanol, (f) água.*

A relação entre os tempos de vida radiativo e natural,  $\tau_i/\tau_r^0$ , sugere que a emissão de fluorescência a partir de um nível relaxado próximo ao nível de Franck-Condon é favorecida nos solventes polares.

Para as medidas realizadas em meio aquoso, nota-se que o rendimento quântico de fluorescência sofre um significativo decréscimo, sobretudo pela eficiente capacidade de formação de ligação de hidrogênio. Alguns autores propõem que, além das interações soluto/solvente, há a possibilidade de formação de microagregados, principalmente para aminocumarinas disubstituídas [85,132,133]. No caso da cumarina 2, os resultados sugerem que, se há formação desses microagregados, isso não deve estar influenciando significativamente nos resultados obtidos. O emprego de metanol na preparação das soluções pode estar inviabilizando a formação dos microagregados.

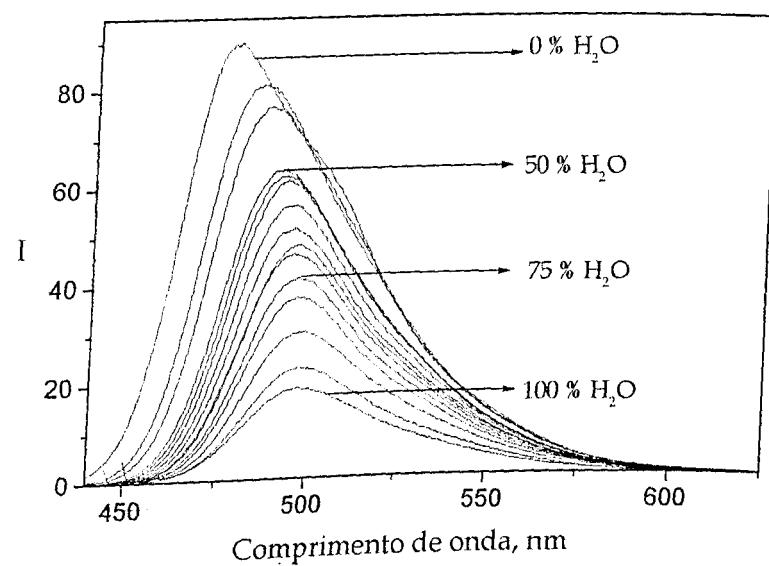
A figura 55, mostra o efeito da proporção de água em uma mistura dioxano/água sobre o espectro de absorção da cumarina 2.



*Figura 55 - Espectros de absorção da cumarina 2 a diferentes proporções de água em dioxano.  
 (—) 0 % água; (----) 5 % água; (○○○○○) 25 % água; (-----) 50 % água; (▲▲▲▲) 75 %  
 água; (\*\*\*\*\*) 100 % água.*

Os espectros mostram que o aumento da concentração de água provoca um deslocamento batocrômico do máximo de absorção da cumarina 2, sugerindo que a estabilização dessa espécie no meio é favorecida com o aumento da eficiência de formação de ligações de hidrogênio.

Já nos espectros de emissão de fluorescência, nota-se que o aumento da concentração de água provoca uma diminuição no sinal da banda de emissão de fluorescência, visualizada na figura a seguir.



*Figura 56 - Espectros de emissão de fluorescência da cumarina 2 em diferentes concentrações de água, para misturas água dioxano.*

Pelos espectros, nota-se a ocorrência de supressão da fluorescência devida à formação de ligações de hidrogênio. A supressão é acompanhada pelo deslocamento batocromico do máximo de emissão de fluorescência. A formação de ligações de hidrogênio afeta consideravelmente a fotofísica da cumarina 2. Os resultados estão dispostos na tabela a seguir.

Tabela 7 - Comprimentos de onda nos máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes e rendimentos quânticos de fluorescência para a cumarina 2 em diferentes composições dioxano/água

% água	$\lambda_{abs}$ , nm	$\lambda_{em}$ , nm	$\Delta \tilde{\nu}$ , $cm^{-1}$	$\Phi_f$
0	428	478	2444	0,79
5	432	486	2572	0,74
10	435	488	2497	0,71
15	438	490	2423	0,66
20	440	491	2361	0,63
25	442	492	2299	0,57
30	443	493	2289	0,58
35	445	494	2229	0,48
40	445	495	2270	0,50
45	448	495	2119	0,44
50	448	497	2201	0,37
55	451	497	2052	0,36
60	451	498	2093	0,34
65	451	498	2093	0,31
70	452	498	2044	0,25
75	452	498	2044	0,24
80	452	498	2044	0,20
85	452	498	2044	0,19
90	452	497	2044	0,16
95	452	497	2003	0,13
100	452	497	2003	0,11

Os resultados mostram uma relação inversa entre o deslocamento de Stokes e a proporção de água na mistura. Essa relação é apresentada na figura 57.

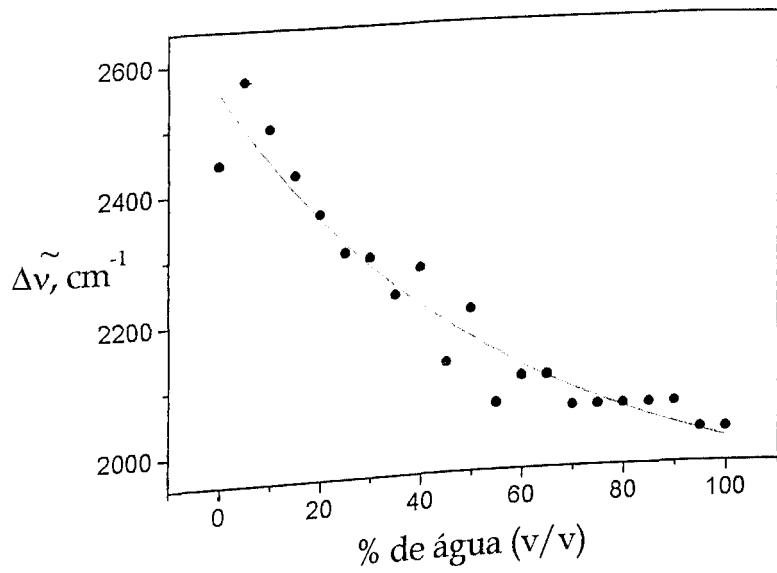


Figura 57 - Deslocamento de Stokes da cumarina 2 para diferentes misturas de dioxano/água.

A variação do rendimento quântico de fluorescência em termos do aumento da proporção de água na mistura dioxano/água é apresentada na figura 58.

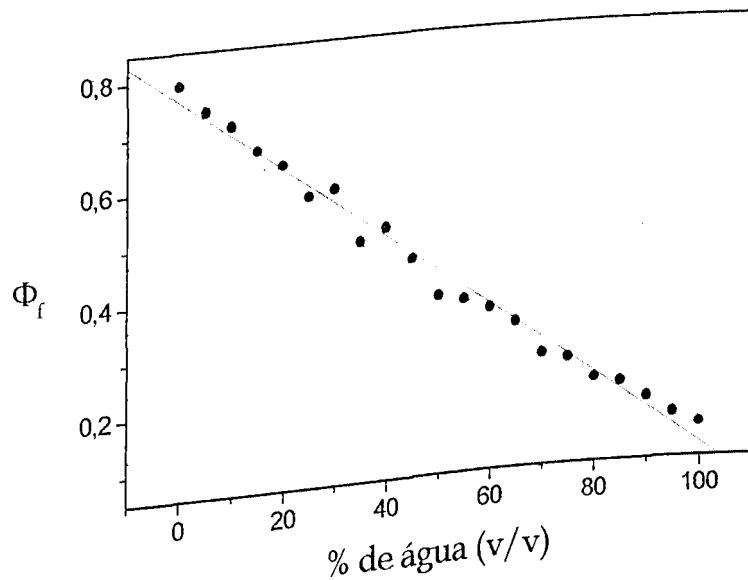


Figura 58 - Rendimento quântico de fluorescência para diferentes misturas dioxano/água.

Esse tipo de comportamento pode ser tratado em termos do efeito da supressão de fluorescência pelo solvente. A relação de Stern-Volmer a seguir,

mostra que a interação soluto/solvente, que resulta na formação de ligação de hidrogênio, induz a ocorrência de um processo de transferência de carga,

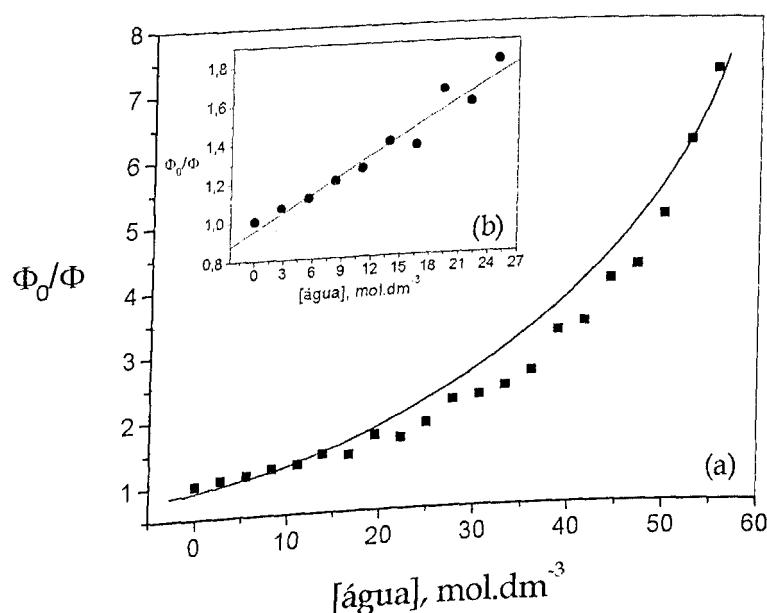


Figura 59 - Relação de Stern-Volmer para a supressão da fluorescência da cumarina 2 em misturas dioxano/água. (a) variação entre 0 e 55,56 mol·dm<sup>-3</sup> de água; (b) variação entre 0 e 25 mol·dm<sup>-3</sup> de água.

Considerando-se um tempo de vida de fluorescência de 6,45 ns para a espécie excitada em meio aquoso, chega-se para o intervalo entre 0 e 25 mol·dm<sup>-3</sup> de água, um valor igual a  $4,74 \times 10^6 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$  para a constante de supressão. A grandeza desse valor é típica de processos de transferência de carga [69]. Nas outras faixas de linearidade dessa curva, as constantes de supressão estimadas encontram-se dentro dessa mesma magnitude ( $1,69 \times 10^7 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$  para o intervalo entre 30,6 a 41,7 mol·dm<sup>-3</sup> e  $4,24 \times 10^7 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$  para o intervalo entre 41,7 a 55,5 mol·dm<sup>-3</sup>).

A possibilidade de protonação do nitrogênio do grupo dietilamino faz com que essa cumarina venha a apresentar algumas peculiaridades nas suas características espectroscópicas na presença de prótons. A tabela 8 mostra, para a mistura metanol/água (1:99, v/v), o efeito de concentrações crescentes de H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> sobre o deslocamento de Stokes e sobre o rendimento quântico de fluorescência.

Tabela 8 - Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes e rendimentos quânticos de fluorescência da cumarina 2 para diferentes  $[H_3O^+]$ , em metanol/água (1:99, v/v).

pH	$\lambda_{abs}, nm$	$\lambda_{em}, nm$	$\Delta \tilde{\nu}, cm^{-1}$	$\Phi_f$
1,67	495	496	41	0,02
2,06	493	511	715	0,05
2,15	466	503	1579	0,06
2,36	460	500	1739	0,07
2,84	450	498	2142	0,09
3,52	450	497	2102	0,09
4,60	451	497	2052	0,09
5,10	453	497	1954	0,10
5,65	452	497	2003	0,11
6,50	452	497	2003	0,10
9,31	452	497	2003	0,11

Os resultados mostram um deslocamento batocromico tanto para os comprimentos de onda de absorção quanto para os de emissão de fluorescência. Entretanto, as variações observadas para os comprimentos de onda de absorção são mais significativas, o que faz com que o deslocamento de Stokes observado para a espécie sofra um intenso decréscimo em pH ácido. O pequeno valor para o deslocamento de Stokes da cumarina 2 protonada a pH 1,67 observado para o deslocamento de Stokes da cumarina 2 protonada a pH 1,67 sugere ainda, que o momento de dipolo da espécie observada no estado fundamental não deve variar após a excitação. Isso foi confirmado através de cálculos teóricos, onde foram observados momentos de dipolo de 21,80 Debye para a espécie no estado fundamental e 21,86 Debye para a espécie no estado  $S_1$  [128].

A figura 60, mostra a dependência do deslocamento de Stokes e do rendimento quântico de fluorescência com relação ao pH do meio.

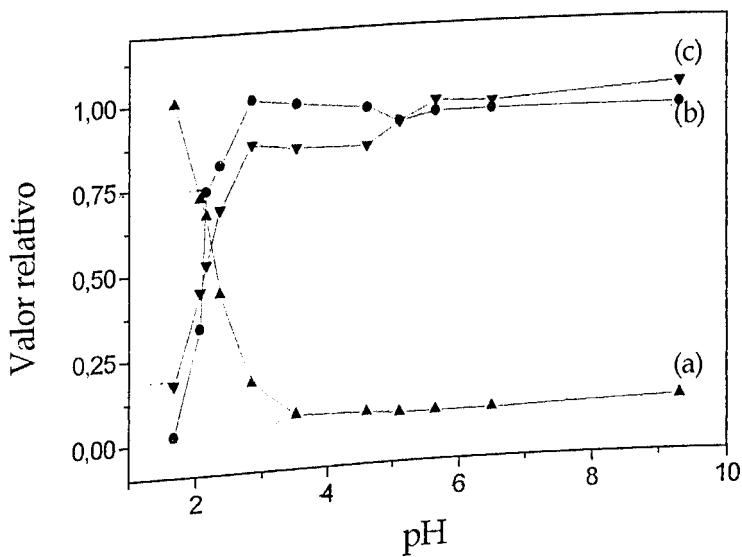


Figura 60 - Valores relativos de absorvância no máximo de absorção (a), deslocamento de Stokes(b) e rendimento quântico de fluorescência (c) para a cumarina 2 em função do pH do meio.

O principal efeito que chama a atenção diz respeito à supressão da fluorescência com a protonação. Um gráfico de Stern-Volmer para a adição de ácido é apresentado a seguir.

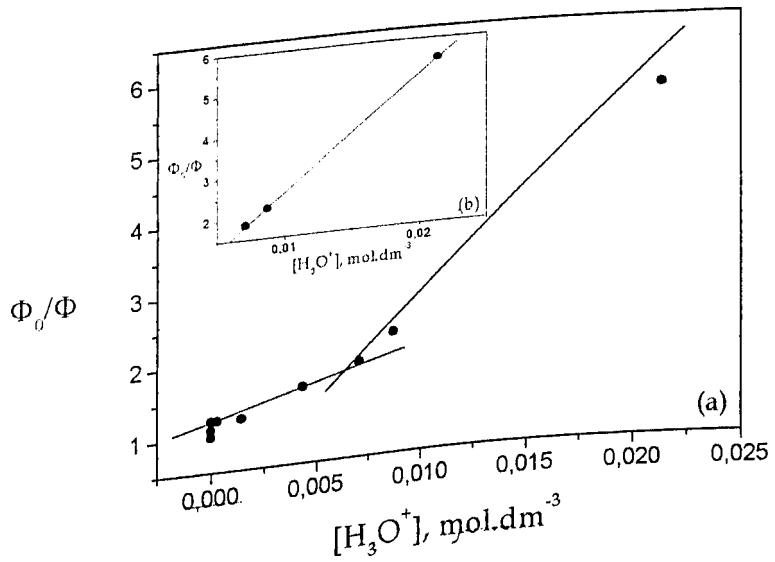


Figura 61 - Relação de Stern-Volmer para a cumarina 2 utilizando-se  $H_3O^+$  como supressor. (a)  
 pH variando entre 1,67 e 2,15 (abaixo do  $pK_a$ ). (b) pH variando entre 1,67 e 9,31.

Duas tendências, relacionadas com o pKa (2,36), podem ser observadas. Em concentrações menores de  $\text{H}_3\text{O}^+$ , o rendimento quântico de fluorescência não sofre grandes variações até atingir o pKa. Em seguida, após a protonação, o rendimento quântico de fluorescência é suprimido. Desse modo, o efeito da supressão deve ser considerado somente após a protonação.

Considerando-se somente as três concentrações maiores de ácido, obtém-se a partir da inclinação do gráfico, uma  $K_{\text{SV}}$  de  $257,95 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3$ . A partir de um tempo de vida de fluorescência em meio aquoso de 6,45 ns, estimou-se uma constante de supressão de  $4,00 \times 10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ , indicando ser a supressão da fluorescência da espécie protonada um processo difusionalmente controlado, ou seja, o processo de supressão independe da interação entre a cumarina excitada e a concentração de  $\text{H}_3\text{O}^+$  no meio. A geometria da molécula protonada no estado fundamental como do  $S_1$  foram otimizadas por cálculo ab initio [128].

Para a cumarina 3, temos na tabela a seguir, uma série de dados espectroscópicos, os quais servem para sistematizar a sua fotofísica.

Tabela 9 - Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 3.

Solvente	$\lambda_{abs}$ , nm	$\lambda_{emi}$ , nm	$\Delta \nu$ , $cm^{-1}$	$\Phi_f$	$k_r^0$ , $s^{-1}^{(n)}$	$\tau_r^0$ , ns	$\tau_{exp}$ , ns	$\tau_f$ , ns	$k_f$ , $s^{-1}$	$k_{nr}$ , $s^{-1}$	$k_f/k_{nr}$	$\tau_f/\tau_r^0$
Metilciclohexano	381	458	4413	0,94	$2,11 \times 10^8$	4,74	-	-	-	-	-	-
Tetracloreto de carbono	382	457	4296	0,99	$2,42 \times 10^8$	4,13	2,57	2,60	$3,85 \times 10^8$	$0,04 \times 10^8$	96,25	0,63
Tolueno	382	456	4248	0,86	$1,92 \times 10^8$	5,21	-	-	-	-	-	-
1,4-dioxano	374	450	4516	0,93	$2,36 \times 10^8$	4,24	-	-	-	-	-	-
Clorofórmio	382	448	3857	0,99	$2,44 \times 10^8$	4,10	-	-	-	-	-	-
Acetato de etila	370	451	4854	0,97	$2,01 \times 10^8$	4,98	-	-	-	-	-	-
Tetrahidrofurano	376	449	4324	0,82	$3,29 \times 10^8$	3,04	-	-	-	-	-	-
Propanona	372	449	4610	0,80	$3,33 \times 10^8$	3,00	-	-	-	-	-	-
Acetonitrila	374	443	4165	0,98	$2,97 \times 10^8$	3,37	-	-	-	-	-	-
Dimetilsulfóxido	468	488	876	0,71	$2,21 \times 10^8$	4,52	-	-	-	-	-	-
N,N-dimetilformamida	466	485	841	0,57	$2,05 \times 10^8$	4,88	2,58	4,53	$3,18 \times 10^8$	$1,76 \times 10^8$	4,24	0,93
Diisopropilamina	384	469	4720	0,51	$2,35 \times 10^8$	4,26	-	-	-	-	-	-
Etilenoglicol	382	451	4005	0,77	$2,36 \times 10^8$	4,24	2,45	3,18	$4,49 \times 10^8$	$0,89 \times 10^8$	5,04	0,75
Álcool 2-butílico	380	451	4143	0,95	$3,29 \times 10^8$	3,04	-	-	-	-	-	-
Álcool 2-propílico	382	450	3956	0,88	$3,44 \times 10^8$	2,91	-	-	-	-	-	-
Álcool metílico	380	447	3944	0,94	$2,71 \times 10^8$	3,69	-	-	-	-	-	-
Água	376	465	5090	0,93	$3,50 \times 10^8$	2,86	-	-	-	-	-	-

<sup>(n)</sup> calculados a partir dos espectros de absorção.

Esses resultados mostram que os máximos de absorção e emissão de fluorescência apresentam uma significativa flutuação com o aumento da polaridade do solvente. Os máximos de absorção mais díspares são observados em DMSO e DMF, os quais favorecem fortemente a desprotonação do grupo OH na posição 7 do anel cumarínico. Esses valores, por sinal, correspondem ao máximo de absorção da espécie desprotonada. Para os demais solventes, o máximo de absorção varia entre 370 e 382 nm. Excetuando-se os três solventes menos polares, onde  $\lambda_{\text{máx}}$  está em torno de 382 nm, podemos, a grosso modo, dividir os polares, onde  $\lambda_{\text{máx}}$  se situa entre 370 e 376 nm, e os próticos, onde demais em apróticos, onde o  $\lambda_{\text{máx}}$  se situa entre 380 e 384 nm. Uma exceção entre os apróticos de média polaridade é o clorofórmio, cujo  $\lambda_{\text{máx}} = 382$  nm. Dentre os solventes próticos, a água é uma exceção. Temos mostrado anteriormente que os solventes próticos tendem a deslocar o equilíbrio entre a forma neutra e a desprotonada (pág. 64). Os valores mais altos de  $\lambda_{\text{máx}}$  nos solventes próticos estão justamente relacionados a uma melhor relaxação da molécula em virtude da formação de ligações de hidrogênio. Comparando-se os solventes apróticos de polaridade média com os próticos, vê-se que há uma tendência de deslocamento batocrômico do  $\lambda_{\text{máx}}$  com a polaridade.

Os valores estimados para os deslocamentos de Stokes nos diferentes solventes não permitem uma estimativa segura do momento de dipolo do estado excitado. Entretanto, resultados teóricos indicam haver uma tendência de aumento no momento de dipolo do estado excitado para a cumarina 3 em sua forma neutra [109].

Em água, a espécie apresenta um deslocamento de Stokes maior que nos demais solventes. Alguns autores têm atribuído esse aumento ao fato de no estado fundamental as hidroxicumarinas atuarem como doadores de prótons enquanto que no estado excitado elas atuariam como aceitoras de prótons [117]. Esse efeito somente pode ser verificado em faixas de  $\text{pH} < 2$ , para misturas metanol/água (1:99 v/v), onde a protonação da hidroxila foi observada no estado excitado. No entanto, os espectros de absorção e emissão de fluorescência não mostraram se tratar da espécie desprotonada.

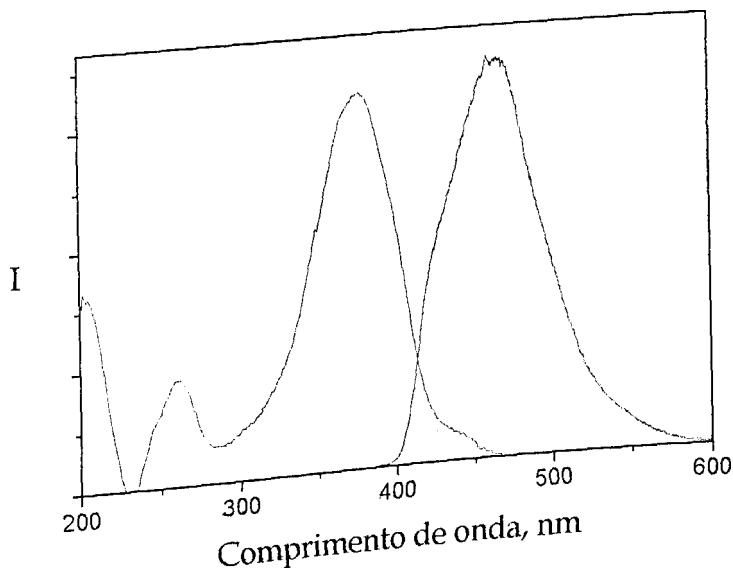


Figura 62 – Espectros de absorção e emissão de fluorescência para a cumarina 3 em água a pH 5,45.

É possível notar que o máximo de absorção da cumarina 3 em água é característico da espécie neutra, enquanto que o máximo de emissão de fluorescência se aproxima do valor estimado para a espécie desprotonada. Alguns autores prevêem a possibilidade de se tratar de um tautômero, correspondente à coexistência das duas espécies [134-136]. Contudo, para a cumarina 3, em questão, os espectros de absorção da forma neutra e da forma desprotonada, são bastante distintos, o que não permite afirmar que estejam sendo excitadas ambas as espécies. Além disso, os decaimentos nas medidas de tempo de vida evidenciaram uma tendência monoexponencial. Por fim, o espectro de emissão de fluorescência aparentemente não apresenta diferenças quanto à forma, quando comparado ao espectro de absorção, diferentemente do que foi observado para experimentos utilizando diisopropilamina como solvente, onde a desprotonação da espécie é favorecida somente no estado excitado, levando a diferenças quanto à forma das bandas de absorção e emissão de fluorescência.

Como nos álcoois e em solventes nucleofílicos foi possível observar a presença da espécie desprotonada, é necessário considerar o comportamento fotofísico da cumarina 3 desprotonada. Os resultados foram dispostos na tabela a seguir. Alguns solventes não foram considerados, devido ao fato de ser impossível manter a estabilidade da espécie desprotonada no meio.

*Tabela 10 – Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural e tempo de vida natural para a cumarina 3 desprotonada.*

Solvente	$\lambda_{abs}$ , nm	$\lambda_{em}$ , nm	$\Delta \tilde{v}$ , cm <sup>-1</sup>	$\Phi_f$	$k_r^0$ , s <sup>-1</sup> (*)	$\tau_r^0$ , ns (*)
Metilciclohexano	444	474	1425	0,63	$3,02 \times 10^8$	3,31
Clorofórmio	444	475	1470	0,78	$2,24 \times 10^8$	4,46
Acetato de etila	448	475	1269	0,63	$3,42 \times 10^8$	2,92
Tetrahidrofurano	458	481	1044	0,45	$2,14 \times 10^8$	4,67
Dimetilsulfóxido	468	488	876	0,45	$2,21 \times 10^8$	4,52
N,N-dimetilformamida	466	485	841	0,57	$2,05 \times 10^8$	4,88
Diisopropilamina	442	480	1791	0,80	$1,86 \times 10^8$	5,38
Etilenoglicol	438	475	1778	0,76	$2,17 \times 10^8$	4,61
Álcool 2-butílico	448	472	1135	0,44	$1,80 \times 10^8$	5,56
Álcool etílico	442	474	1527	0,85	$1,81 \times 10^8$	5,52
Álcool metílico	436	472	1749	0,82	$1,99 \times 10^8$	5,03

(\*) calculados a partir dos espectros de absorção.

Nota-se haver uma ligeira tendência de aumento no máximo de absorção com o aumento da polaridade em solventes apróticos, enquanto que o máximo de emissão de fluorescência não apresenta um padrão de variação com o solvente utilizado. Para os solventes próticos, particularmente os álcoois, tanto o máximo de absorção quanto o de emissão de fluorescência sofrem um decréscimo com o aumento da polaridade do meio.

Os solventes foram divididos em três classes, o que permite observar aspectos importantes quanto ao deslocamento de Stokes da espécie desprotonada. Nos solventes apróticos há uma tendência de diminuição do deslocamento de Stokes com o aumento da polaridade do meio. O mesmo efeito pode ser observado nos solventes de caráter básico. Esse comportamento indica que o momento de dipolo do estado excitado é menor que o do estado fundamental. Essa observação foi confirmada por resultados obtidos a partir de cálculos teóricos [109]. Os deslocamentos de Stokes nesses solventes estão dispostos na figura a seguir,

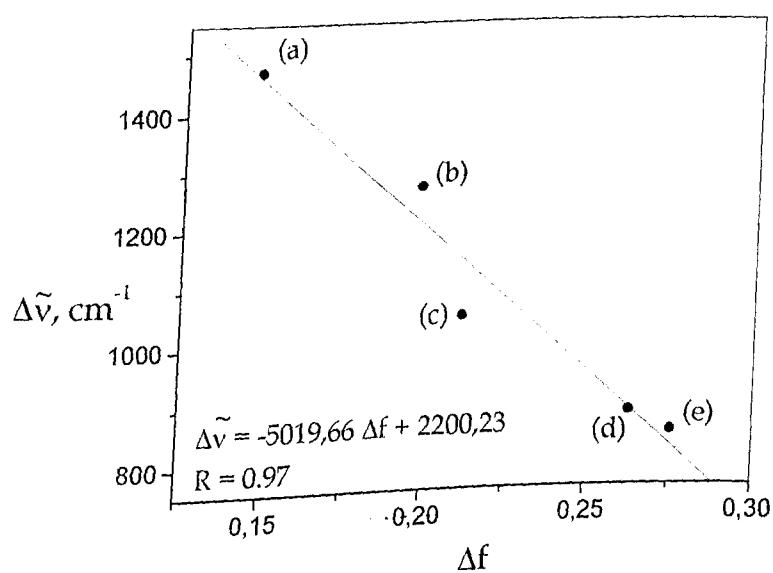


Figura 63 – Deslocamento de Stokes em função da polarizabilidade de orientação para a cumarina 3 desprotonada em solventes apróticos. (a) clorofórmio, (b) acetato de etila, (c) THF, (d) DMSO, (e) DMF.

Nesses solventes, ocorre uma diminuição de aproximadamente 5,75 Debye no momento de dipolo do estado excitado com relação ao estado fundamental. Os resultados teóricos indicaram momentos de dipolo de 9,374 e 8,590 Debye para a espécie desprotonada no estado fundamental e excitado, respectivamente [109]. Essas estimativas foram, entretanto, feitas com um conjunto de bases mínimo, o que pode ter resultado em valores menores que o esperado. De qualquer forma, esses resultados, a um nível semi-quantitativo, evidenciaram a tendência esperada. Também, como observado para a cumarina 1, quando se empregou a escala  $E_T^N$  para estimar o  $\Delta\mu$ , é possível que o resultado obtido pela aplicação da equação de Lippert [89] esteja sobrevalorizado.

No caso dos álcoois, o efeito é oposto, o que indica haver uma melhor estabilização da espécie no estado excitado. Tal comportamento pode ser associado ao fato de que com o aumento da carga eletrônica sobre o oxigênio da carbonila gerada após a desprotonação, há o favorecimento da formação de ligações de hidrogênio, estabilizando a espécie no meio.

Pela tabela 9 é possível observar ainda que os rendimentos quânticos de fluorescência não sofrem uma significativa variação com a polaridade do meio.

As maiores variações são provocadas pelos solventes de caráter nucleofílico. Em DMSO, DMF e diisopropilamina, os rendimentos quânticos de fluorescência mostram-se menores que o observado para os demais solventes. Nesses solventes, os valores estimados referem-se à espécie desprotonada. Esse decréscimo está relacionado principalmente ao efeito provocado pelas interações entre a espécie desprotonada e contra-ions presentes no meio, favorecendo os processos de desativação não-radiativos, principalmente, conversão interna [109].

Os resultados indicam ainda que o efeito provocado pela formação de ligações de hidrogênio não afeta os mecanismos radiativos de desativação do estado  $S_1$ , diferentemente do que se observa, parcialmente para a aminocumarina estudada. O único resultado que se mostra significativamente distinto é observado em etilenoglicol. Se forem comparados os efeitos provocados pelas ligações de hidrogênio entre a cumarina 3 e o solvente, com os resultados obtidos para a cumarina 2, é possível concluir que a nucleofílidade do cromóforo é extremamente importante para a fotofísica desses derivados de cumarina. Apesar do impedimento estérico sobre o átomo de nitrogênio do substituinte dietilamino ser maior que no átomo de oxigênio do substituinte hidróxi, o caráter básico do nitrogênio favorece a ocorrência da interação [85]. Mesmo quando é utilizada água como solvente, o rendimento quântico de fluorescência se mantém próximo à unidade para a cumarina 3.

Os resultados obtidos nos experimentos resolvidos no tempo mostram que ocorre o favorecimento de processos não-radiativos nos solventes onde há interações por ligação de hidrogênio e em solventes básicos, uma vez que podem estar presentes as duas espécies do equilíbrio ácido-base.

A relação entre os tempos de vida indica que a probabilidade da emissão de fluorescência ocorrer a partir de um nível relaxado próximo ao nível de Franck-Condon é favorecida somente em etilenoglicol, sugerindo que para a cumarina 3, há possivelmente uma dependência em relação à viscosidade do solvente.

Os resultados em DMF sugerem que a ocorrência de transferência intramolecular de carga para a espécie desprotonada desfavorece os mecanismos radiativos de desativação. Quando são avaliados, por exemplo, os dados fotofísicos estimados para as misturas metanol/DMF, algumas particularidades podem ser observadas, como pode ser visto na tabela a seguir.

Tabela 11 - Efeito da composição da mistura metanol/DMF sobre a fotofísica da cumarina 3.

Solv., % DMF	$\lambda_{abs}$ , nm	$\lambda_e$ , nm	$\Delta \tilde{\nu}$ , cm <sup>-1</sup>	$\Phi_f$
0	380	447	3944	0,94
20	382	446	3756	0,92
40	382	448	3857	0,91
60	382	449	3906	0,91
80	382	451	4005	0,92
85	382	453	4103	0,89
90	454	482	1280	0,87
95	458	484	1173	0,83
100	466	486	883	0,57

Os dados estimados para as misturas com proporções inferiores a 85% de DMF correspondem à cumarina 3 na forma neutra. Acima de 90 % de DMF nas misturas, os dados são referentes à espécie desprotonada. A estimativa desses dados levou em consideração a espécie predominante no meio, em termos da maior intensidade de absorção observada. Entretanto, é possível notar que para a espécie neutra, o aumento da proporção de DMF na mistura, favorece a estabilização do estado excitado, que pode ser notado pelo aumento do deslocamento de Stokes. Por outro lado, o deslocamento de Stokes para a espécie desprotonada diminui com o aumento da proporção de DMF, uma vez que o momento de dipolo do estado excitado dessa espécie é menor que o do estado fundamental.

Observações similares foram obtidas nos estudos envolvendo a variação do pH do meio. Alguns dados fotofísicos foram estimados para a cumarina 3 a diferentes valores de pH, em misturas metanol/água, foram dispostos nas tabelas a seguir,

Tabela 12 – Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 3 em mistura metanol/água (1:4 v/v) a diferentes pH.

pH	$\lambda_{abs}$ , nm	$\lambda_{em}$ , nm	$\Delta \nu$ , $cm^{-1}$	$\Phi_f$	$\tau_{exp}$ , ns	$\tau_f$ , ns	$k_f$ , $s^{-1}$	$k_{nr}$ , $s^{-1}$	$\tau_f/\tau_r^0$
2,67	376	471	5364	0,68	2,77	3,93	$2,54 \times 10^8$	$1,16 \times 10^8$	1,93
3,48	376	463	4997	0,89	-	-	-	-	-
4,41	376	463	4997	0,88					
5,21	376	464	5044	0,87	2,86	3,29	$3,04 \times 10^8$	$0,45 \times 10^8$	1,41
5,54	380	467	4903	0,85	-	-	-	-	-
6,08	381	467	4833	0,82	-	-	-	-	-
6,70	430	469	1934	0,97	-	-	-	-	-
8,57	430	468	1888	0,67	-	-	-	-	-
10,54	430	469	1934	0,53	2,74	5,17	$1,93 \times 10^8$	$1,72 \times 10^8$	1,00

Tabela 13 – Máximos de absorção e emissão de fluorescência, deslocamentos de Stokes, rendimentos quânticos de fluorescência, constante de desativação natural, tempo de vida natural, tempo de vida experimental, tempo de vida de fluorescência, constante de fluorescência, constante dos processos não radiativos para a cumarina 3 em mistura metanol/água (1:99 v/v) a diferentes pH.

pH	$\lambda_{abs}, nm$	$\lambda_e, nm$	$\delta \tilde{\nu}, cm^{-1}$	$\Phi_f$	$\tau_{exp}, ns$	$\tau_f, ns$	$k_f, s^{-1}$	$k_{nr}, s^{-1}$	$\tau_f/\tau_r^0$
1,21	382	460	4439	0,91	2,29	2,52	$3,97 \times 10^8$	$0,39 \times 10^8$	0,88
2,02	378	461	4763	0,90	-	-	-	-	-
2,66	378	467	5042	0,95	-	-	-	-	-
3,41	376	464	5044	0,96	-	-	-	-	-
3,93	376	462	4951	0,93	-	-	-	-	-
5,38	376	466	5137	0,87	-	-	-	-	-
5,45	376	465	5090	0,93	2,75	2,96	$3,38 \times 10^8$	$0,25 \times 10^8$	1,07
6,02	386	468	4539	0,87	-	-	-	-	-
6,81	424	468	2217	0,89	-	-	-	-	-
6,95	426	468	2107	0,66	-	-	-	-	-
7,58	426	468	2107	0,76	-	-	-	-	-
8,98	426	468	2107	0,86	2,76	3,21	$3,12 \times 10^8$	$0,51 \times 10^8$	0,76
9,38	426	468	2107	0,83	-	-	-	-	-

Para ambas as misturas metanol/água, (1:4 v/v) e (1:99 v/v) são observadas variações significativas nos máximos de absorção e emissão de fluorescência, similares ao efeito observado para as misturas DMF/metanol. Para a mistura metanol/água (1:99 v/v), os máximos de absorção são distintos para as três espécies presentes no meio (protonada, neutra, desprotonada). O deslocamento de Stokes varia na seqüência: espécie neutra > protonada > desprotonada, ou seja, tanto na desprotonação quanto na protonação do substituinte hidróxi, deve-se esperar uma diminuição do momento de dipolo do estado excitado em relação ao estado fundamental.

O rendimento quântico de fluorescência da espécie desprotonada, em ambas misturas de solventes, tende a ser menor que o da espécie neutra e está relacionado ao aumento das interações entre pares iônicos presentes no meio (espécie desprotonada e seu contra-íon), potencializando assim, a conversão interna como rota de desativação não-radiativa.

Além disso, a relação entre os tempos de vida indica que a emissão de fluorescência na mistura metanol/água (1:4 v/v) ocorre de um estado solvatado distinto daquele em metanol/água (1:99 v/v). Em pH básico para a mistura (1:4 v/v), a relação  $\tau_i/\tau_r^0$  é igual a 1, sugerindo que a emissão de fluorescência nesse solvente está ocorrendo de um nível relaxado bem próximo ao nível de Franck-Condon, enquanto que para a mistura (1:99 v/v), o valor que mais se aproxima da unidade é observado em pH 5,45.

### 3.4 Energias de singlete e a capacidade de geração de oxigênio singlete para as cumarinas estudadas

Para nenhuma das cumarinas estudadas foi detectada fosforescência como rota de desativação do estado  $S_1$ . Os espectros de emissão de fluorescência a baixa temperatura para as cumarinas estudadas são apresentados na figura 64.

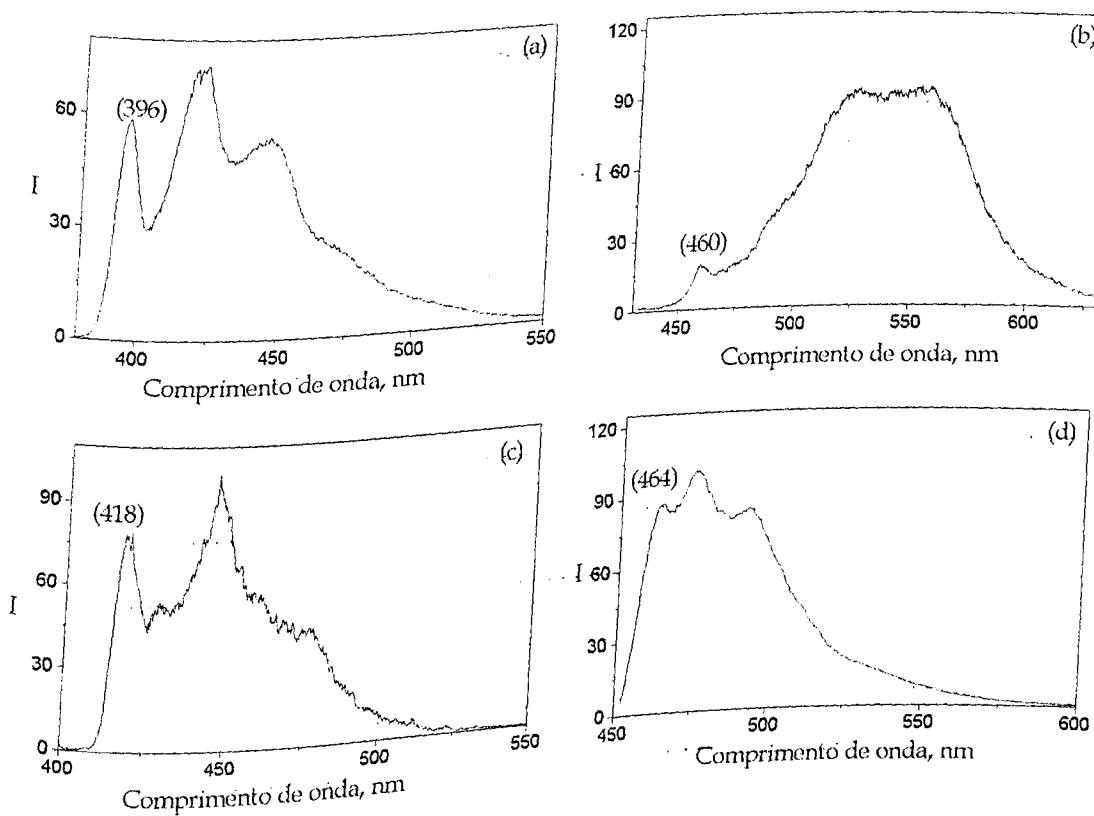


Figura 64 - Espectros de emissão de fluorescência a 77 K em metilciclohexano para as cumarinas estudadas: (a) cumarina 1; (b) cumarina 2; (c) cumarina 3; (d) cumarina 3 desprotonada (solução contendo 20 % de piridina).

A partir desses espectros, foram estimados os valores correspondentes à energia de singlete e o rendimento quântico de fluorescência a 77 K para cada cumarina. Os resultados são apresentados na tabela 14.

Tabela 14 - Energias de singlete e rendimentos quânticos de fluorescência para as três cumarinas estudadas.

	Cumarina			
	1	2	3	3 Ionizada
$E(S_1)$ , $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	302,63	260,04	286,08	257,91
$\Phi_f$	0,97	0,90	0,94	0,79
$\Phi_f$ , 25°C	0,94	0,64	0,94	0,63

Há uma tendência de aumento nos valores estimados para os rendimentos quânticos de fluorescência, quando comparados aos resultados obtidos à temperatura ambiente. No caso da cumarina 2, o aumento é superior a 40 %. Essa diferença é uma indicação de que a temperatura tem um efeito significativo sobre o estado de transferência intramolecular de carga. Um aumento do rendimento quântico de fluorescência é também observado para a cumarina 3 desprotonada, podendo também estar relacionado ao efeito provocado pela temperatura sobre um possível estado ICT excitado dessa espécie.

No caso da cumarina 2, especificamente, foi avaliado o efeito da polaridade do solvente sobre a fotofísica a 77 K. Os espectros de emissão de fluorescência são apresentados a seguir.

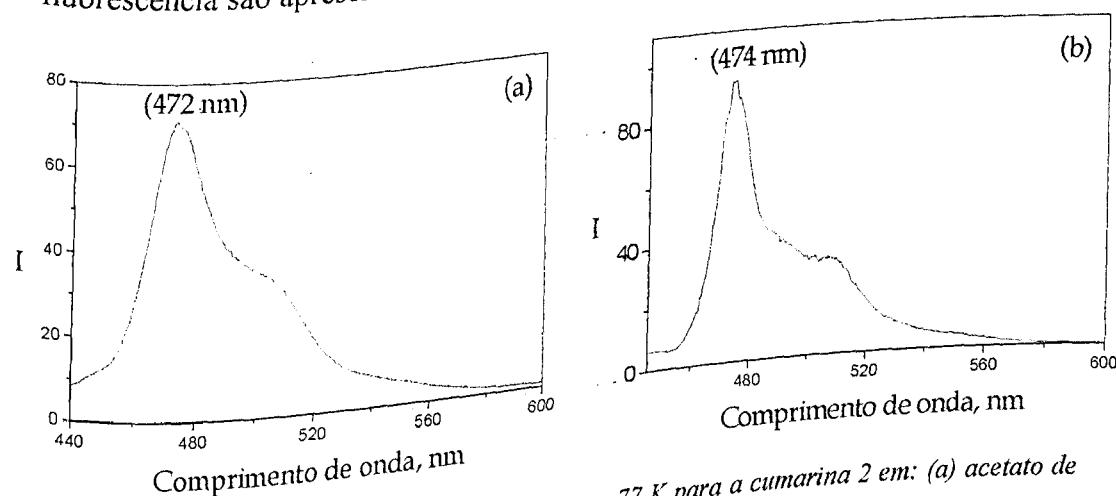


Figura 65 – Espectros de emissão de fluorescência a 77 K para a cumarina 2 em: (a) acetato de etila; (b) etanol 99,8 %.

As energias de singlete estimadas de 253,20 e 252,13  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  para a cumarina 2 em acetato de etila e etanol, respectivamente, indicam que o aumento da polaridade do meio tende a diminuir a energia de singlete da espécie. Isso está de acordo com o esperado, considerando-se que a formação do estado ICT é

favorecida pelo aumento da polaridade do solvente [140]. Entretanto, o principal efeito da polaridade do meio está relacionado à banda próxima a 510 nm para os dois espectros de emissão de fluorescência obtidos. A princípio, essa banda sugere a coexistência do estado ICT com o LE (excitação localizada). Contudo, uma análise mais detalhada do sistema deve ser realizada, na tentativa de se elucidar melhor as características do mesmo.

A ausência de fosforescência pode ainda estar relacionada à estrutura dos estados excitados das cumarinas estudadas. Considerando-se uma natureza  $\pi\pi^*$  para o estado  $S_1$ , uma provável seqüência para os níveis de energia das cumarinas é  ${}^3n\pi^* < {}^3\pi\pi^* < {}^1\pi\pi^* < {}^1n\pi^*$ . Essa seqüência é viabilizada pelos substituintes benzoxazol, na posição 3 do anel cumarínico, e do substituinte doador de elétrons na posição 7.

Medidas da geração de oxigênio singlete a partir da excitação das cumarinas estudadas, na presença de oxigênio, foram feitas de modo a verificar, indiretamente, a participação de estados triplete na fotofísica dos derivados de cumarina estudados. Curvas de decaimentos típicas para a emissão do oxigênio singlete a 1270 nm podem ser visualizadas na figura 66.

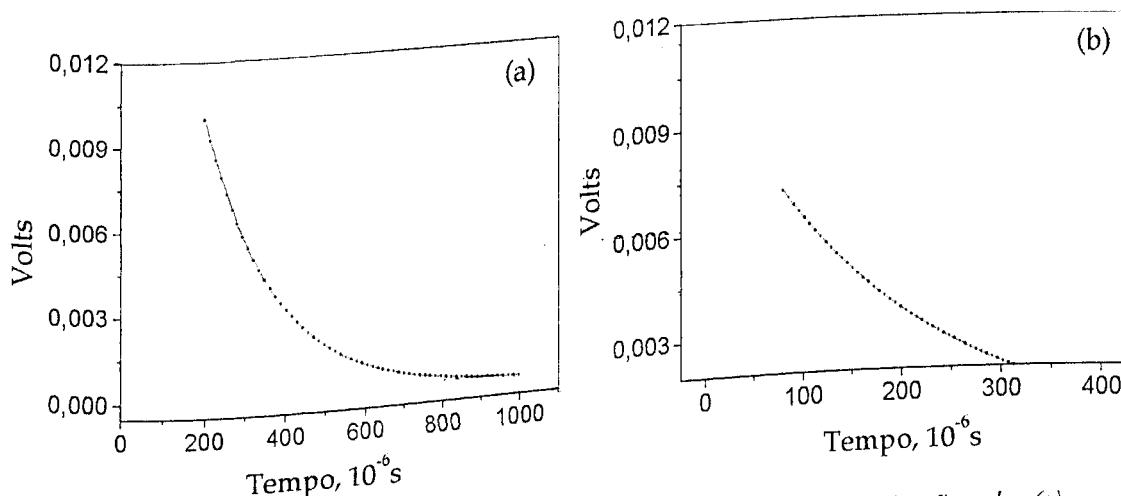


Figura 66 - Decaimento do  ${}^1O_2$ , com emissão a 1270 nm, gerado por fotosensitização pela: (a) cumarina 1; (b) cumarina 3.

Os resultados obtidos foram dispostos graficamente, em relação ao padrão fenalenona (P).

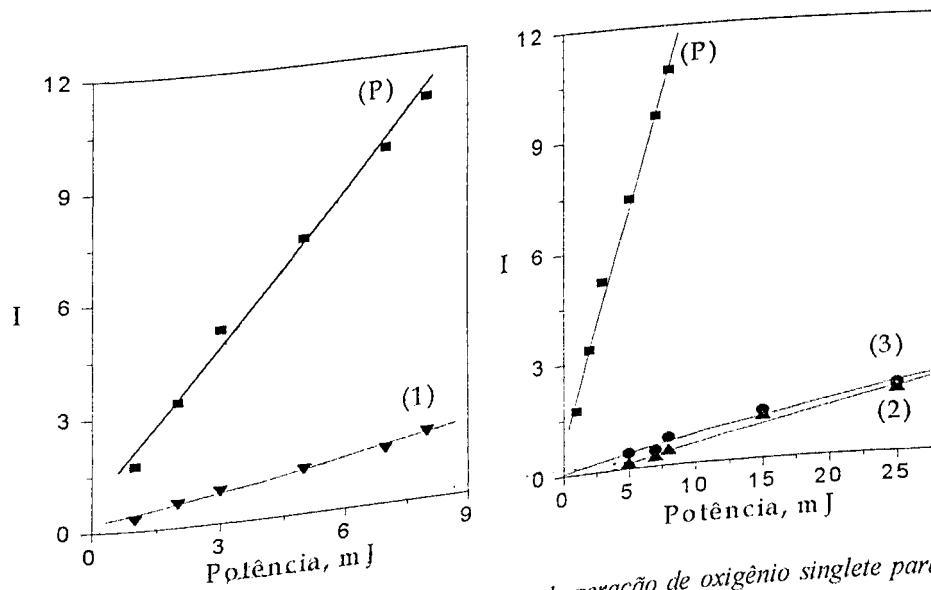


Figura 67 - Curvas para a determinação da eficiência de geração de oxigênio singlete para as cumarinas. (P) fenalenona; (1) cumarina 1; (2) cumarina 2; (3) cumarina 3.

A partir dos gráficos, foram determinadas as eficiências de geração de oxigênio singlete das três cumarinas. Os resultados indicam uma eficiência de 15 % para a cumarina 1 e 6 % para as cumarinas 2 e 3. Esses resultados indicam que a presença de substituintes doadores de elétron na posição 7 do anel cumarínico deve dificultar ainda mais a ocorrência de cruzamento entre sistemas. Em geral,

ocorrência de cruzamento entre sistemas para aminocumarinas, por exemplo, tem sido apontada como sendo muito pequena [139].

Como o valor estimado para o rendimento quântico de fluorescência em metilciclohexano a 77 K para a cumarina 1 não difere muito do valor estimado à temperatura ambiente, é possível que o ISC possa ser favorecido em solventes mais polares como é o caso do clorofórmio, onde os experimentos de fotosensitização foram feitos. Outros solventes deverão ser avaliados para uma conclusão a respeito das características fotosensitizadoras dessa cumarina, e para uma melhor visão da sua fotofísica.

## 4 Conclusões

A fotofísica dos três derivados de cumarina estudados está relacionada com um estado  $S_1$  de natureza  $\pi,\pi^*$ . A natureza  $\pi,\pi^*$  está relacionada, sobretudo, com o caráter aceptor de elétrons do grupo benzoxazol na posição 3 do anel cumarínico. Os valores estimados para a absorbividade molar para a cumarina 1 situam-se entre 14000 e 23000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$ , para a cumarina 2 entre 41000 e 54000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  e entre 21000 e 27000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  para a cumarina 3.

As principais singularidades são observadas para as cumarinas 2 e 3, sendo, sobretudo, relacionadas aos efeitos provocados pelos substituintes dietilamino e hidroxila, respectivamente.

Os maiores valores para o coeficiente de extinção molar são observados para a cumarina 2 e devem-se à ocorrência de transferência intramolecular de carga. A protonação do substituinte dietilamino leva à formação de uma nova espécie com coeficiente de extinção molar igual a 34300  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$ , a pH  $\approx 2$ , em metanol/água (1:99 v/v). A transferência intramolecular de carga é inviabilizada pela protonação do grupo dietilamino. O pKa associado à protonação está por volta de 2,36.

A espécie gerada pela desprotonação do OH da cumarina 3 apresenta um coeficiente de extinção molar de 40600  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$ , estimado em misturas metanol/água (1:99 v/v) a pH 9,38. O pKa para a desprotonação do OH foi estimado como sendo 6,20 em mistura metanol/água (99:1 v/v). A formação dessa espécie desprotonada dá-se em solventes próticos, mas mais eficientemente em solventes básicos. Esse parâmetro fotofísico chega a 55000  $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$  em DMSO (solvente básico), onde a espécie é melhor estabilizada. Do mesmo modo que para a aminocumarina estudada, há a formação de um estado ICT para o estado excitado da cumarina 3 desprotonada, proveniente, nesse caso, da interação entre a carbonila gerada pela desprotonação do substituinte OH e o restante da molécula. O rendimento quântico de fluorescência da espécie desprotonada é menor que o da neutra em virtude da interação entre essa espécie aniónica e contra-ions em solução. Há indícios da existência de uma espécie cationica, resultado da protonação do grupo OH. No entanto, o pKa para o equilíbrio não foi

avaliado. Os resultados sugerem que a protonação dessa cumarina é favorecida no estado excitado.

A simetria observada para os espectros de absorção e emissão de fluorescência dessas moléculas sugere que a geometria do estado excitado deve ser similar à do estado fundamental. Avaliações feitas por cálculo ab initio confirmam isso. O único resultado que se mostra singular a essa tendência é observado para a cumarina 3 em diisopropilamina. Nesse solvente, o espectro de absorção indica a presença da espécie neutra, enquanto que, o espectro de emissão de fluorescência é similar ao da espécie desprotonada, indicando que a desprotonação é favorecida no estado excitado. Uma das possíveis causas para esse comportamento refere-se ao fato de a diisopropilamina atuar como um fraco solvente nucleofílico, devido principalmente ao efeito estérico pronunciado pelos substituintes isopropil.

Os resultados obtidos para os deslocamentos de Stokes para as três cumarinas estudadas sugerem que os momentos de dipolo do estado excitado é maior que o estado fundamental. Estimativas feitas com base na equação de Lippert mostram que o  $\Delta\mu$  é de pelo menos, 5,26 Debye para a cumarina 1 e 6,48 Debye para a cumarina 2. Para a cumarina 3 desprotonada, os resultados indicam uma diminuição do momento de dipolo com a excitação da molécula. Esse resultado é confirmado por cálculo teórico. A variação do momento de dipolo é maior para a aminocumarina, e está relacionada, sobretudo, com a formação do estado ICT. Já para a espécie protonada dessa cumarina, o momento de dipolo do estado fundamental é de 21,80 Debye, enquanto que no estado excitado, foi estimado como sendo igual a 21,86 Debye, utilizando cálculo teórico. Esse resultado sugere que a protonação do grupo dietilamino desfavorece a transferência intramolecular de carga, mas se assemelha ao comportamento esperado para um estado TICT.

Todos os três derivados possuem elevados rendimentos quânticos de fluorescência. Entretanto, a fotofísica desses compostos é fortemente dependente da natureza do substituinte na posição 7 do anel cumarínico e do solvente utilizado. Tanto a polaridade, quanto a natureza prótica do solvente utilizado, interferem nos processos de desativação dos três derivados. Esse efeito é menos eficiente para a cumarina 1, em função do fato de que para essa cumarina, as

interações tipo ligação de hidrogênio entre a cumarina e o solvente, são formadas somente entre o substituinte benzoxazol e o solvente.

Para a cumarina 2, os resultados mostram que a interação do estado ICT excitado com solventes próticos, favorece parcialmente processos de desativação não-radiativos, ao contrário do reportado para outras aminocumarinas. Uma estimativa da supressão da fluorescência dessa aminocumarina em virtude da formação de ligação de hidrogênio entre o estado ICT excitado e o solvente resultou em uma constante de supressão igual a  $3,72 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ , indicando ser esse um processo de transferência de carga.

A fotofísica das cumarinas 2 e 3 desprotonada sofre um significativo efeito da temperatura. Os experimentos realizados a 77 K sugerem que o estado ICT excitado proposto para essas duas espécies é dependente da temperatura.

Não foi detectada fosforescência para nenhuma das cumarinas estudadas. Entretanto, a existência de estados triplete povoados foi observada através de experimentos de geração de oxigênio singlete. A cumarina 1 apresenta um rendimento quântico de geração de oxigênio singlete de 15%, o que torna possível suas propriedades como fotosensitizador. Para os demais derivados, os resultados indicam uma baixa eficiência de geração de  ${}^1\text{O}_2$ , em torno de 6 %.

## 5 Sugestões para trabalhos futuros

- Avaliar a capacidade de geração de oxigênio singlete por parte da cumarina 1 em diferentes solventes, assim como parâmetros cinéticos relativos à sua ação como fotosensitizador;
- Avaliar a possibilidade da cumarina 2 atuar como sonda de fluorescência para o estudo de microambientes;
- Avaliar o efeito da supressão da cumarina 2 frente à presença de compostos capazes de realizar ligações de hidrogênio, de modo a esclarecer melhor os mecanismos envolvidos nos processos;
- Estudar com detalhes, o processo de transferência intramolecular de carga que ocorre na cumarina 2, elucidando o mecanismo;
- Avaliar de maneira mais aprofundada a fotofísica da cumarina 3 em termos do pH do meio, estudando detalhadamente as espécies presentes, realizando inclusive estudos com  $\beta$ -ciclodextrina. A cavidade interna desse oligosacarídeo tem uma excelente habilidade para incorporar moléculas aromáticas hidrofóbicas em solução aquosa, o que permite avaliar de modo mais detalhado a espectroscopia da molécula de interesse;
- Estimar os parâmetros fotofísicos da cumarina 3 protonada em misturas metanol/água;
- Avaliar a possibilidade de ocorrência de processos de transferência intramolecular de próton no estado excitado para a cumarina 3, especialmente nos solventes de elevada polaridade;
- Elucidar o papel do grupo benzoxazol, através de cálculo teórico, sobre as características observadas nos derivados estudados.
- Estudar a fotofísica das cumarinhas a 77 K em outros solventes, avaliando o efeito da polaridade do meio, sobretudo para os sistemas que apresentam ICT;
- Estudar o efeito da temperatura e da viscosidade do meio sobre as propriedades fotofísicas desses compostos.

## 6 Apêndice

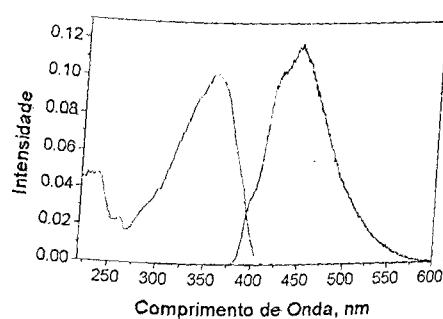
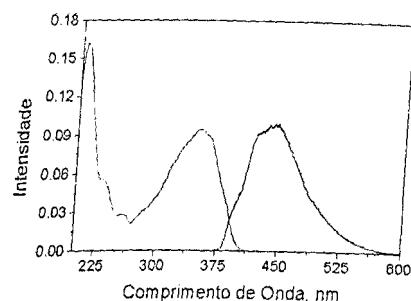
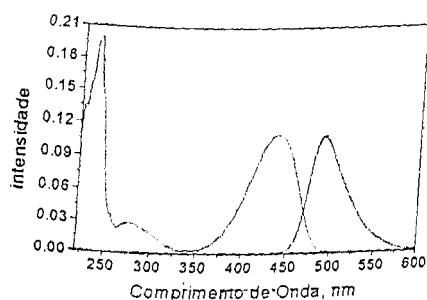
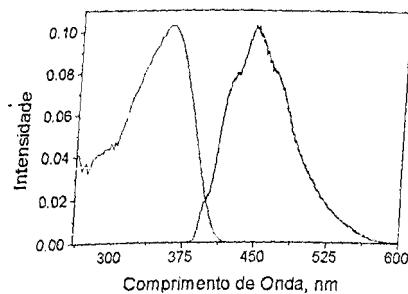
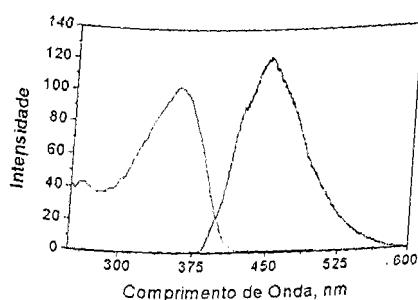
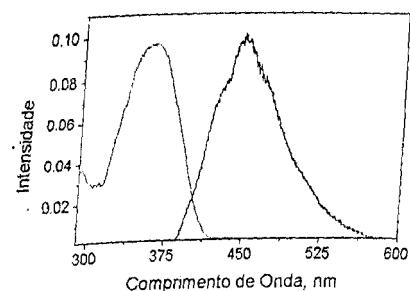
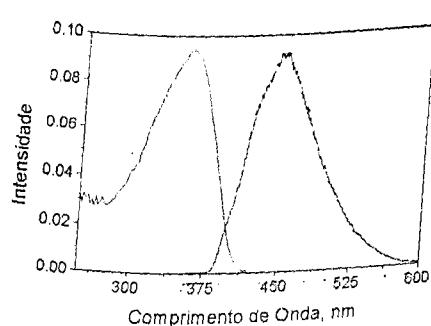
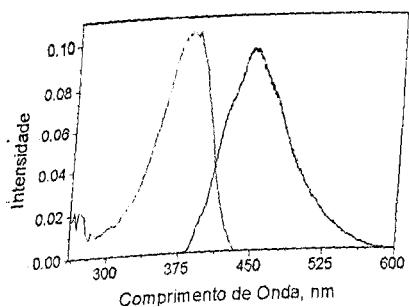
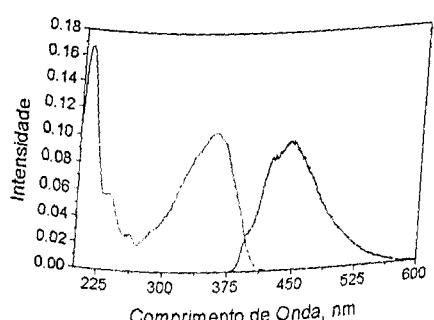
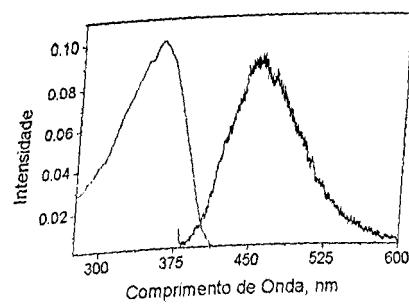
Tabela 15 – Propriedades físicas dos solventes utilizados.

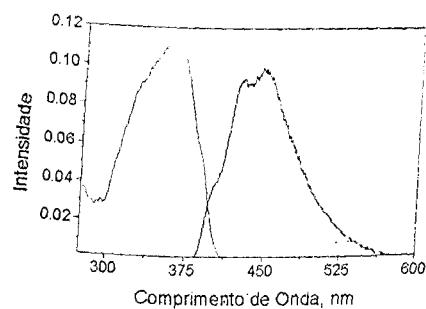
Solvente	Viscosidade a 25°C, mPa.s	$\epsilon_s$	$n$ a 25°C
Metilciclohexano (MCH)	0,679	2,024	1,4220
Tetracloreto de carbono (TCC)	0,908 0,560	2,238 2,379	1,4580 1,4965
Tolueno	1,177	2,219	1,4200
1,4-Dioxano (Diox)	0,393	2,923	1,4429
Diisopropilamina	0,537	4,807	1,4481
Clorofórmio ( $CHCl_3$ )	0,423	6,081	1,3802
Acetato de etila (Ac.Etila)	0,456	7,520	1,3995
Tetrahidrofurano (THF)	1,987	47,24	1,4791
Dimetilsulfóxido (DMSO)	3,096	17,26	1,3955
Álcool 2-butílico (2-BuOH)	0,794	38,25	1,4282
N,N-dimetilformamida (DMF)	16,10	41,40	1,4320
Etilenoglicol	2,038	20,18	1,3764
Álcool 2-propílico (2-PrOH)	0,306	21,01	1,3587
Propanona (acetona)	1,074	36,64	1,3615
Álcool etílico (EtOH)	0,369	33,00	1,3435
Acetonitrila (ACN)	0,544	25,30	1,3170
Álcool metílico (MeOH)			

Tabela 16 – Dados solvatocrônicos dos solventes utilizados

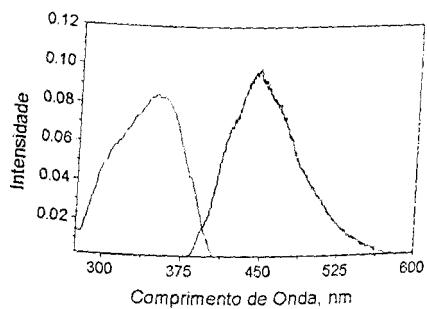
Solvente	$\Delta f$	$E_T(30)$ , kcal.mol $^{-1}$	$E_T^N$	$\beta$	$\alpha$
Metilciclohexano	0,0002	-	-	0,00	0,00
Tetracloreto de carbono	0,0117	32,4	0,052	0,00	0,00
Tolueno	0,0133	33,9	0,099	-	0,00
1,4-Dioxano	0,0222 / 0,198	36,0	0,164	0,37	0,00
Ditisopropilamina	0,0714	-	-	-	-
Clorofórmio	0,1475	39,1	0,259	0,00	0,00
Acetato de etila	0,1979	38,1	0,228	0,45	0,00
Tetrahidrofurano	0,2115	37,4	0,207	0,55	0,00
Dimetilsulfóxido	0,2633	45,1	0,444	0,76	0,00
Álcool 2-butilico	0,2642	47,1	0,506	1,01	0,81
N,N-dimetilformamida	0,2759	43,8	0,404	0,69	0,00
Etilenoglicol	0,2761	54,9	0,747	0,52	0,90
Álcool 2-propílico	0,2770	48,4	0,546	0,95	0,76
Propanona	0,2848	42,2	0,355	0,48	0,08
Álcool etílico	0,2985	45,6	0,460	0,77	0,83
Acetonitrila	0,3030	55,4	0,762	0,31	0,19
Álcool metílico	0,3066	51,9	0,654	0,62	0,93
Água	0,3190	63,1	1,000	0,18	1,17

\* o valor de  $\Delta f$  para o 1,4-dioxano assume dois valores, devido ao fato desse solvente possuir uma constante dielétrica dinâmica, variando entre 5 e 7. Para uma constante de 7, o valor correspondente de  $\Delta f$  é de 0,198.

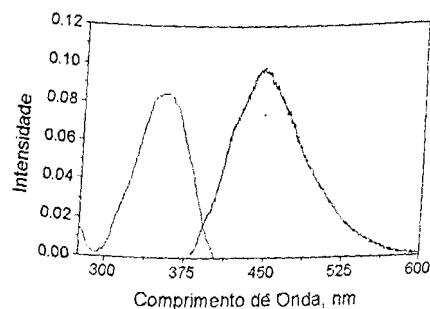
Cl em 2-BuOH ( $\lambda_a=353\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=445\text{ nm}$ ).Cl em MeOH ( $\lambda_a=352\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=440\text{ nm}$ ).Cl em ACN ( $\lambda_a=352\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=443\text{ nm}$ ).Cl em TCC ( $\lambda_a=360\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=444\text{ nm}$ ).Cl em Diox ( $\lambda_a=357\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=443\text{ nm}$ ).Cl em THF ( $\lambda_a=354\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=444\text{ nm}$ ).Cl em DMF ( $\lambda_a=352\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=445\text{ nm}$ ).Cl em DMSO ( $\lambda_a=354\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=453\text{ nm}$ ).Cl em 2-PrOH ( $\lambda_a=354\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=444\text{ nm}$ ).Cl em tolueno ( $\lambda_a=360\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=445\text{ nm}$ ).



Cl em CHCl<sub>3</sub>. ( $\lambda_a=356\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=443\text{ nm}$ ).

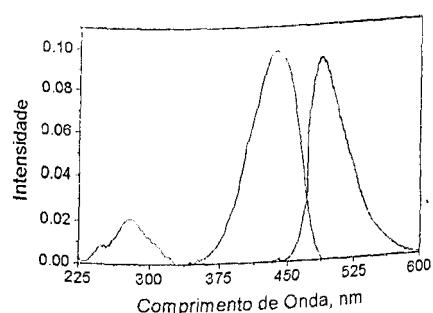
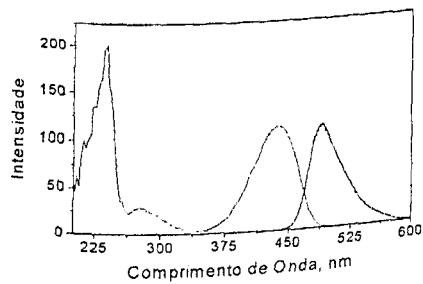
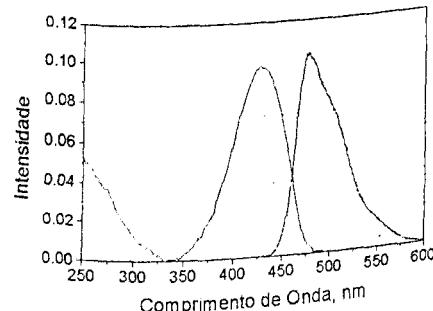
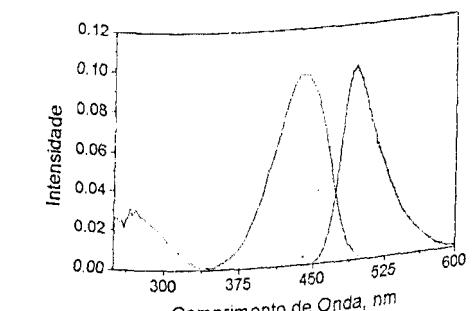
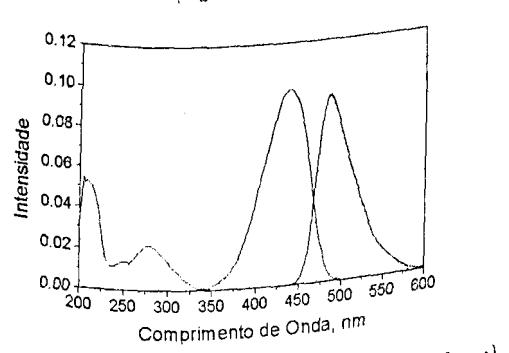
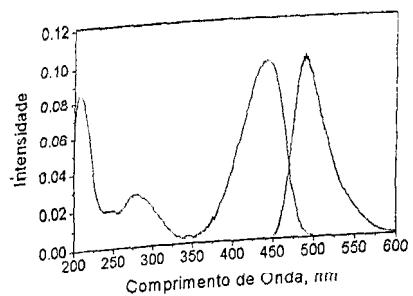
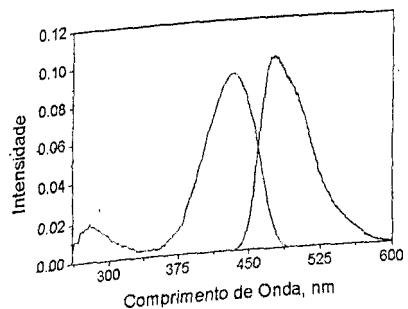
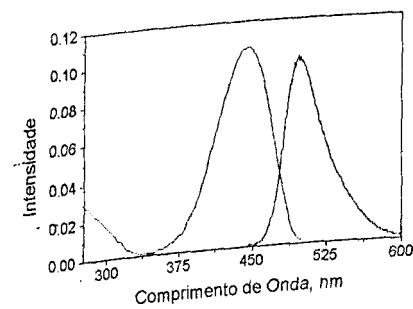
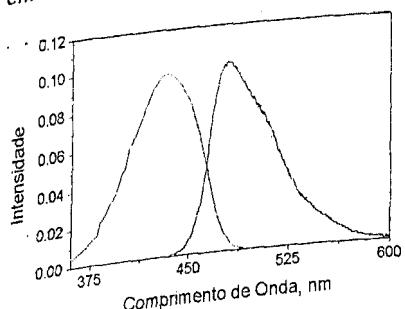
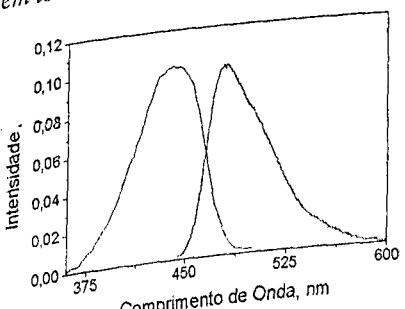


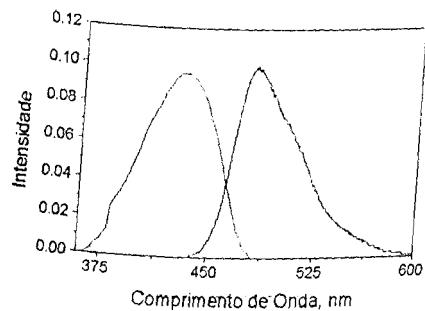
Cl em Ac. Etílica ( $\lambda_a=352\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=443\text{ nm}$ ).



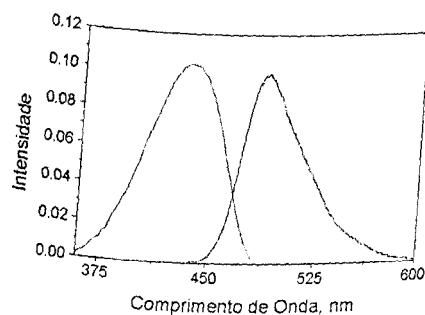
Cl em acetona ( $\lambda_a=352\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=444\text{ nm}$ ).

Os espectros de emissão foram obtidos com fendas de excitação e emissão de 1.0 nm.

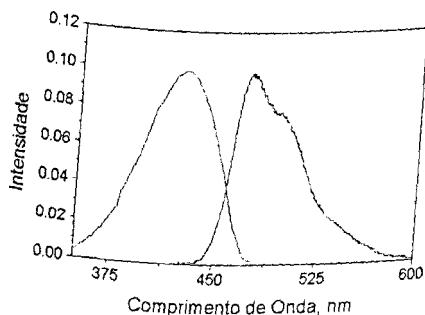
C2 em 2-ButOH ( $\lambda_a=438\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=487\text{ nm}$ )C2 em ACN ( $\lambda_a=438\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=490\text{ nm}$ )C2 em Diox ( $\lambda_a=428\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=476\text{ nm}$ )C2 em DMF ( $\lambda_a=441\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=493\text{ nm}$ )C2 em 2-PropOH ( $\lambda_a=438\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=488\text{ nm}$ )C2 em MeOH ( $\lambda_a=442\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=490\text{ nm}$ )C2 em TCC ( $\lambda_a=433\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=479\text{ nm}$ )C2 em DMSO ( $\lambda_a=444\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=497\text{ nm}$ )C2 em tolueno ( $\lambda_a=434\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=479\text{ nm}$ )C2 em CHCl<sub>3</sub> ( $\lambda_a=440\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=480\text{ nm}$ )



C<sub>2</sub> em Ac. Etíla ( $\lambda_a=430\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=480\text{ nm}$ ).

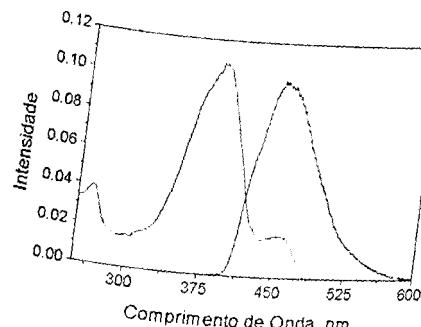
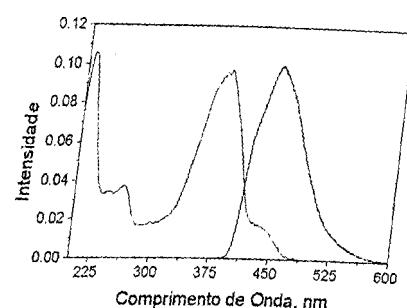
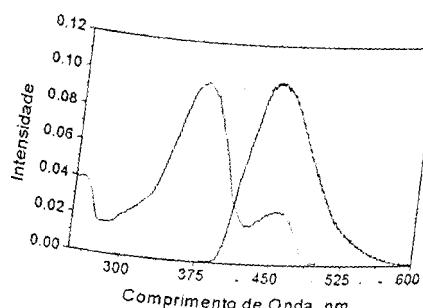
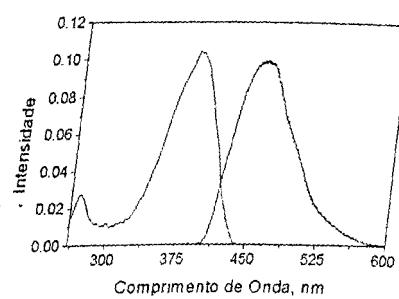
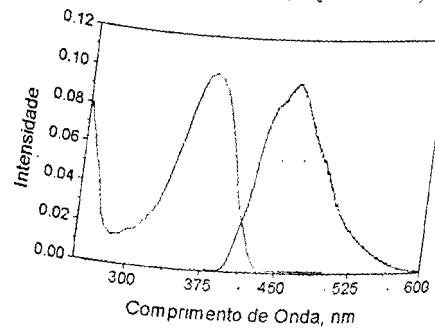
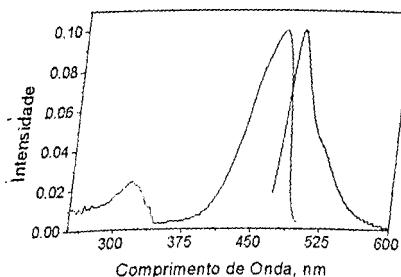
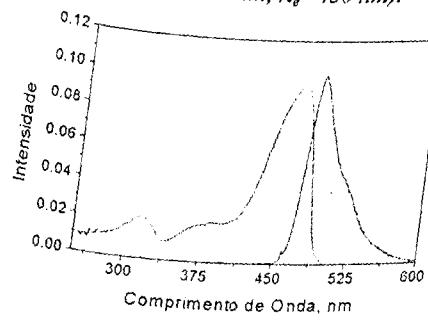
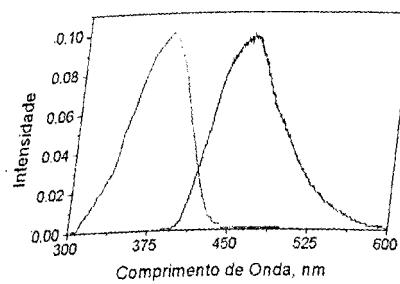
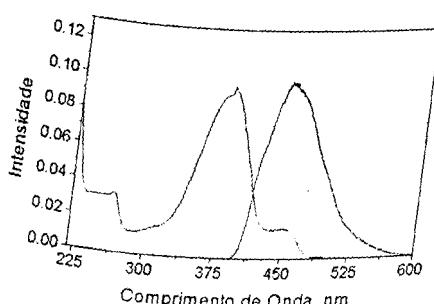
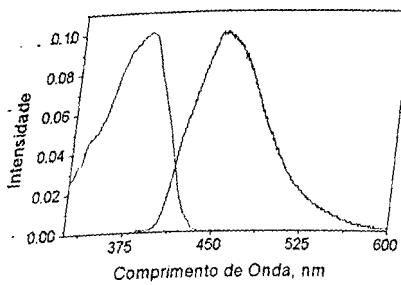


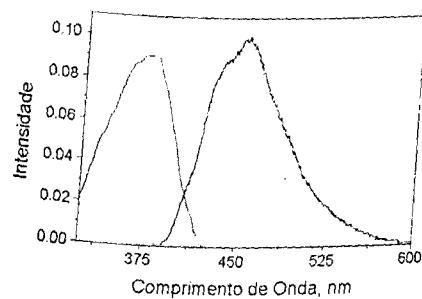
C<sub>2</sub> em acetona ( $\lambda_a=434\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=487\text{ nm}$ ).



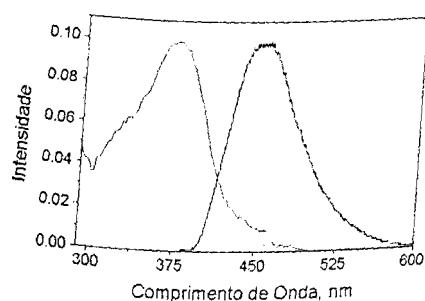
C<sub>2</sub> em diisopropilamina ( $\lambda_a=426\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=474\text{ nm}$ ).

Os espectros de emissão foram obtidos com fendas de excitação e emissão de 1.0 nm.

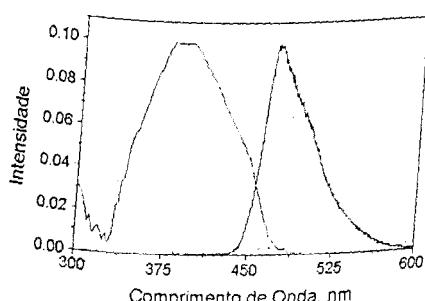
C3 em 2-BuOH ( $\lambda_a=380\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=451\text{ nm}$ ).C3 em MeOH ( $\lambda_a=380\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=465\text{ nm}$ ).C3 em ACN ( $\lambda_a=374\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=443\text{ nm}$ ).C3 em TCC ( $\lambda_a=382\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=457\text{ nm}$ ).C3 em Diox ( $\lambda_a=374\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=450\text{ nm}$ ).C3 em DMSO ( $\lambda_a=468\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=488\text{ nm}$ ).C3 em DMF ( $\lambda_a=466\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=485\text{ nm}$ ).C3 em tolueno ( $\lambda_a=382\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=456\text{ nm}$ ).C3 em 2-PrOH ( $\lambda_a=382\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=450\text{ nm}$ ).C3 em CHCl<sub>3</sub> ( $\lambda_a=382\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=448\text{ nm}$ ).



C3 em Ac. Etíla ( $\lambda_a=370\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=451\text{ nm}$ ).



C3 em acetona ( $\lambda_a=372\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=449\text{ nm}$ ).



C3 em diisopropilamina ( $\lambda_a=384\text{ nm}$ ,  $\lambda_e=469\text{ nm}$ ).

Os espectros de emissão foram obtidos com fendas de excitação e emissão de 1,0 nm.

## 7 Referências Bibliográficas

1. Roberts, J. D.; Caserio, M. C. In *Basic Principles of Organic Chemistry*, W.A. Benjamin, Inc. New York 1965, 1025.
2. Hoult, J. R. S.; Payá, M. *Gen. Pharmac.* 1988, 27(4), 713.
3. Hazeleton, L.W.; Tusing, T.W.; Zeitlin, B.R.; Thiessen, R.; Murer, H. K. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1956, 118, 348.
4. Hagan, E. C.; Hansen, W. H.; Fitzhugh, O. G.; Jenner, P. M.; Jones, W. I.; Taylor, J. M.; Long, E. L.; Nelson, A. A.; Brower, J. B. *Food Cosmet. Toxicol.* 1967, 5, 141.
5. Lee, M.; Roldan, M. C.; Haskell, M. K.; McAdam, S. R.; Hartley, J. A. *J. Med. Chem.* 1994, 37, 1208.
6. Becker, R. S.; Chakravorti, S.; Garter, C. A. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1993, 89, 1007.
7. Fletcher, A. N. *Appl. Phys.* 1977, 14, 295.
8. Okuyama, T.; Takata, M.; Nishino, H.; Nishino, A.; Takayasu, J.; Iwashima, A. *Chem. Pharm. Bull.* 1990, 38(4), 1084.
9. Okuyama, T.; Takata, M.; Takayasu, J.; Hasegawa, T.; Tokuda, H.; Nishino, A.; Nishino, H.; Iwashima, A. *Planta Med.* 1991, 57(3), 242.
10. Nishino, H.; Okuyama, T.; Takata, M.; Shibata, S.; Tokuda, H.; Takayasu, J.; Hasegawa, T.; Nishino, A.; Ueyama, H.; Iwashima, A. *Carcinogenesis* 1990, 11(9), 1557.

11. Mizuno, A.; Okada, Y.; Nishino, H.; Okuyama, T. *Wakan Iyakugaku Zasshi* **1994**, 11(3), 220.
12. Gawron, A.; Glowniak, K. *Planta Med.* **1987**, 53(6), 526.
13. McCulloch, P.; George, W. D. *Br. J. Cancer* **1989**, 59(2), 179.
14. Marshall, M. E.; Kervin, K.; Benefield, C.; Umerani, A.; Albainy-Jenei, S.; Zhao, Q.; Khazaeli, M. B. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1994**, 120(Suppl. S), S3-S10.
15. Prosser, E.; Cox, D.; O'Kennedy, R.; Carroll, K.; Van der Putten, W. *Cancer Lett.* **1990**, 52(1), 71.
16. Myers, R. B.; Parker, M.; Grizzle, W. E. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1994**, 120(Suppl. S), S11-S13.
17. Gu, J.; Walker, V. E.; Lipinskas, T. W.; Walker, D. M.; Ding, X. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1997**, 146, 134.
18. Lake, B. G. *Arch. Toxicol. Suppl.* **1984**, 7, 16.
19. Lake, B. G.; Grasso, P. *Fundam. Appl. Toxicol.* **1996**, 34, 105.
20. Ratanasavanh, D.; Lamiable, D.; Biour, M.; Guedes, Y.; Gersberg, M.; Leutenegger, E.; Riche, C. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **1996**, 10, 504.
21. Lake, B. G.; Gaudin, H.; Price, R. J.; Walters, D. G. *Food Chem. Toxicol.* **1992**, 30, 105.
22. Moran, E.; O'kennedy, R.; Thornes, R. D. *J. Chromatogr.* **1987**, 416, 165.
23. Harvey, R. G.; Cortez, C.; Ananthanarayan, T. P.; Schmolka, S. *J. Org. Chem.* **1988**, 53(17), 3936.

24. Kranz, R. G.; Beckman, D. L.; Foster-Hartnett, D. *FEMS Microbiol. Lett.* **1992**, 93(1), 25.
25. Contreras, A.; Maxwell, A. *Mol. Microbiol.* **1992**, 6(12), 1617.
26. Haworth S.; Lawlor, T.; Morteimans, K.; Speck, W.; Zeiger, E. *Environ. Mutag.* **5** 1983, (Suppl. 1), 3-142.
27. Cohen, A. *J. Food Cosmet. Toxicol.* **1979**, 17, 277.
28. Goeger, D. E.; Hsie, A. W.; Anderson, K. E. *Food and Chem. Toxicol.* **1999**, 37, 581.
29. Kashman, Y.; Gustafson, K. R.; Fuller, R. W.; Cardellina, J. H., II; McMahon, J. B.; Currens, M. J.; Buckheit, R. W., Jr.; Hughes, S. H.; Cragg, G. M.; Boyd, M. R. *J. Med. Chem.* **1993**, 36(8), 1110.
30. Gustafson, K. R.; Bokesch, H. R.; Fuller, R. W.; Cardellina, J. H., II; Kadushin, M. R.; Soejarto, D. D.; Boyd, M. R. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35(32), 5821.
31. Fuller, R. W.; Bokesch, H. R.; Gustafson, K. R.; McKee, T. C.; Cardellina, J. H., II; McMahon, J. B.; Cragg, G. M.; Soejarto, D. D.; Boyd, M. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, 4(16), 1961.
32. Pengsuparp, T.; Serit, M.; Hughes, S. H.; Soejarto, D. D.; Pezzuto, J. M. *J. Nat. Prod.* **1996**, 59(9), 839.
33. Thaisrivongs, S.; Watenpaugh, K. D.; Howe, W. J.; Tomich, P. K.; Dolak, L. A.; Chong, K.; Tomich, C. C.; Tomasselli, A. G.; Turner, S. R. *J. Med. Chem.* **1995**, 38(18), 3624.

34. Hossain, C. F.; Okuyama, E.; Yamazaki, M. *Chem. Pharm. Bull.* 1996, 44(8), 1535.
35. Patil, A. D.; Freyer, A. J.; Eggleston, D. S.; Haltiwanger, R. C.; Bean, M. F.; Taylor, P.B.; Caranfa, M. J.; Breen, A. L.; Bartus, H. R. *J. Med. Chem.* 1993, 36(26), 4131.
36. Kashman, Y.; Gustafson, K. R.; Fuller, R. W.; Cardellina, J. H., II; McMahon, J. B.; Currens, M. J.; Buckheit, R. W., Jr.; Hughes, S. H.; Cragg, G. M.; Boyd, M. R. *J. Med. Chem.* 1992, 35(15), 2735.
37. Maruyama, T.; Otagiri, M.; Schulman, S. G. *J. Pharm.* 1990, 59(2), 137.
38. Hong, M.; Panela, J.; Jiang, T.; Li, C.; Han, G. *J. Chin. Pharm. Sci.* 1992, 1(1), 13.
39. Jong, T. T.; Hwang, H. C.; Jean, M.Y.; Wu, T. S.; Teng, C. M. *J. Nat. Prod.* 1992, 55(10), 1396.
40. Winn, M. J.; Cholerton, S.; Park, B. K. *J. Pharmacol.* 1988, 94(4), 1077.
41. Hakim, G.; Fiorentini, D.; Falasca, A.; Prosdocimi, M.; Rossi, C. A. *Experientia* 1988, 44(3), 226.
42. De Bôer-van den Berg, M.; Thijssen, H. H. W.; Vermeer, C. *Thromb. Haemostasis* 1988, 59(2), 147.
43. McCulloch, P.; George, W. D. *J. Cancer* 1989, 59(2), 179.
44. Porcellati, S.; Costantini, V.; Prosdocimi, M.; Stasi, M.; Pistolesi, R.; Nenci, G. G.; Goracci, G. *Agents Actions* 1990, 29(3-4), 364.
45. Porcellati, S.; Costantini, V.; Prosdocimi, M.; Pistolesi, R.; Porrovecchio, P.; Neni, G. G.; Goracci, G. *Thromb. Res.* 1987, 47(1), 15.

46. Paya, M.; Goodwin, P.A.; Heras, B.; Hoult, J.R.S. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 48(3), 445.
47. Brackmann, U. In *Lambdachrome Laser Dyes*, Lambda Physik, Gmbh **1986**.
48. Bos, F. *Appl. Optics* **1981**, 20(20), 3553.
49. Thomas, J. K. *J. Phys. Chem.* **1987**, 91, 267.
50. Gilat, S. L.; Adronov, A.; Frechet, J.M.J. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 7474.
51. Pathak, M. A.; Fitzpatrick, T. B. *J. Photochem. Photobiol.* **1992**, 14, 1992, 3.
52. Dall'Acqua, F.; Vedaldi, D.; Caffieri, S. In *The Fundamental Bases of Phototherapy*, Honigsmann, H., Jori, G., Young, A.R. (Eds), OEMF, Milan, **1996**, 29.
53. Thorn, R.M. *J. Immunol.* **1978**, 121, 1920.
54. Schoonderwoded, S. A.; Beijersbergen van Henegouwen, G. M. J.; Persons, C. C. M.; Caffieri, S.; Dall'Acqua, F. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **1991**, 10, 257.
55. Zarebska, Z. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **1994**, 23, 101.
56. Scott, B.; Pathak, M. A.; Mohn, G. *Mutat. Res.* **1976**, 39, 29.
57. Averbeck, D.; Dardalhon, M.; Magana-Schwencke, N.; Meira, L.; Meniel, V.; Boiteux, S.; Sage, E. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **1992**, 14, 47.
58. a) Laskin, J. D.; Lee, E.; Yurkow, E. J.; Laskin, D. L.; Gallo, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 6158. b) Repanovici, R.; Plesa, A.; Anton, G. J. *Photochem. Photobiol., B: Biol.* **1997**, 37, 26.

59. Dall'Acqua, F.; Marciano, S. M.; Zambon, F.; Rodighiero, G. *Photochem. Photobiol.* 1979, 29, 489.
60. Wilkinson, F.; Phillip Helman, W.; Ross, A.B. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 1995, 24, 663; b) Frimer, A.A. in *Singlet Oxygen*, CRC Press, Boca Raton, USA, 1989, 4 vol.
61. Parrish, J. A.; Fitzpatrick, T. B.; Tanenbaum, L.; Pathak, M.A. *J. Med.* 1974, 291, 1207.
62. Hearst, J. E. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 1981, 10, 69.
63. Goodrich, R. P.; Yerram, N. R.; Goodrich, B.; Foster, P.; Platz, M. S.; Kasturi, C.; Park, S.C.; Aebischer, J. N.; Ray, S.; Kulaga, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1984, 91, 5320.
64. North, J.; Neyendorff, H.; Levy, J. G. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 1993, 29, 99.
65. Ussery, D. W.; Hoepfner, R.W.; Sinden, R. R. *Methods Enzymol.* 1992, 212, 242.
66. Thompson, J. F.; Hearst, J. E. *Cell* 1983, 32, 1355.
67. Averbeck, D.; Moustacchi, E. *Photochem. Photobiol.* 1980, 31, 475.
68. Besson, T.; Ruiz, N.; Coudert, G.; Guillaumet, G. *Tetrahedron* 1995, 51(11), 3197.
69. Turro, N. J. In *Modern Molecular Photochemistry*, University Science Books, USA 1991.

70. Ewing, G. W. In *Métodos Instrumentais de Análise Química*, vol I, Edgard Blucher LTDA, São Paulo 1972.
71. Jaffé, H. H.; Orchin, M. *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*, New York, John Wiley and Sons, 4<sup>a</sup> ed. 1966.  $\oplus \text{P}$
72. Birks, J. In *Photophysics of Aromatic Molecules*, London, Wiley-Interscience 1970.
73. a) Michl, J. *Molec. Photochem.* 1972, 4, 253. b) Dewar, M. J. S.; Dougherty, R. C. In *The PMO Theory of Organic Chemistry*, Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall 1975.
74. Wayne, R. P. In *Principles and Applications of Photochemistry*, Oxford Science Publications 1991.
75. Gilbert, A.; Baggott, J. In *Essentials of Molecular Photochemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1991.  $\oplus \text{P}$
76. Lakowicz, J. R. In *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2<sup>a</sup> ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 1999.  $\oplus \text{P}$
77. a) MacColl, A. *Quarter. Rev.* 1947, 1, 16. b) McMillin, D. R. *J. Chem. Ed.* 1978, 55, 7.
78. Lerosen, A. L.; Reid, C. E. *J. Chem. Phys.* 1952, 20, 233.  $\oplus \text{P}$
79. Painelli, A., Terenziani, F. *Chem. Phys. Lett.* 1999, 312, 211.
80. Raju, B. B.; Eliasson, B. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1998, 116, 135.
81. Raju, B. B.; Varadarajan, T. S. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1995, 85, 263.

82. Dey, J.; Warner, I. M. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1998**, 116, 27.
83. Raju, B. B.; Varadarajan, T. S. *J. Phys. Chem.* **1994**, 98, 8903.
84. Chu, G.; Yangbo, F. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1987**, 83, 2533.
85. Arbeloa, T. L.; Arbeloa, F. L.; Tapia, M. J.; Arbeloa, I. L. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 4704.
86. Reichardt, C. In *Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry*, 2<sup>nd</sup> ed., Ed. Weinheim, Cambridge **1988**.
87. Reichardt, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1979**, 18, 98.
88. Onsager, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, 58, 1486.
89. a) Mataga, N.; Kaifu, Y.; Koizumi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1956**, 29, 465. b) Von Lippert, E. *Z. Electrochem.* **1956**, 61, 962. c) Weigang, O. E.; Wild, D. *J. Phys. Chem.* **1962**, 37, 1180.
90. a) Bayliss, N. S. *J. Chem. Phys.* **1950**, 18, 292. b) McRae, E. G. *J. Phys. Chem.* **1956**, 61, 562. *o* *A1*
91. a) Kosower, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 3253. b) Reichardt, C. *Chem. Ver.* **1994**, 94, 2319. *o* *Q1*
92. Kosower, E. M. In *Introduction to Physical Organic Chemistry*, John Wiley & Sons, New York **1968**, 293.
93. Reichardt, C; Harbusch-Gornet, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 5, 721. *o* *7*
94. a) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. *Prog. Phys. Org. Chem.*, **1981**, 13, 485. b) Kamlet, M. J.; Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. *J. Am. Chem.* **o** *9*

- Soc. 1977, 99, 6027. c) Abboud, J. L. M.; Kamlet, M. J.; Taft, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 8325. b)
95. a) Taft, R. W.; Kamlet, M. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1979*, 2, 1723. b)  
Taft, R. W.; Kamlet, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1976, 98, 2866.
- \*96. a) Kamlet, M. J.; Solomonovici, A.; Taft, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 3734. b) Kamlet, M. J.; Abraham, M.H.; Abboud, J. L. M.; Taft, R. W. *J. Org. Chem.* 1983, 48, 2877. b)
97. Strickler, S. J.; Berg, R. A. *J. Chem. Phys.* 1962, 37, 814.
98. Eaton, D. F. *Pure & Appl. Chem.* 1988, 60, 1107.
99. Becker, R. S.; Macanita, A. L. *J. Phys. Chem.* 1994, 98(24), 6054.
100. Seixas de Melo, J.; Maçanita, A. L. *Chem. Phys. Lett.* 1993, 204(5,6), 556.
101. Chou, P.; Martinez, M.; Studer, S. L. *Chem. Phys. Lett.* 1992, 188(1-2), 49.
102. Becker, R. S.; Chakravorti, S.; Gartner, C.A.; Graca, M. M. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1993, 89(7), 1007.
103. Sprecht, P.; Martic, P.A.; Farid, S. *Tetraedron* 1982, 38, 1203.
104. Griffiths, J.; Millar, V.; Bahra, G. S. *Dyes and Pigm.* 1995, 28(4), 327.
105. Christie, R.; Lui, C. *Dyes and Pigm.* 1999, 42, 85
106. Heldt, J.R.; Heldt, J.; Ston, M.; Diehl, H. *Spectrochim. Acta* 1995, 51(A), 1549.

107. Ravi, M.; Soujanya, T.; Samanta, A.; Radhakrishnan, T. P. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1995, 91(17), 2739.
108. Seixas de Melo, J.; Fernandes, P.F. *J. Mol. Struct.* 2001, 565-566, 69.
109. Machado, A.E.H.; Miranda, J.A. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2001, 141, 109.
110. Kaholek, M.; Hrdlovic, P. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1997, 108, 283.
111. Ismail, L. F. M.; Antonious, M. S.; Mohamed, H. A.; Ahmed, H. A. H. *Proc. Indian Acad. Sc., Chem. Sc.* 1992, 104(2), 331.
112. Bart, E.; Meltsin, A.; Huppert, D. *Chem. Phys. Lett.* 1992, 200(6), 592.
113. Parkanyi, C.; Antonious, M. S.; Aaron, J. J.; Buna, M.; Tine, A.; Cisse, L. *Spectrochim. Lett.* 1994, 27(4), 439.
114. Lippert, E.; *Naturforsch. Z. Teil A* 1955, 10, 541.
115. Ayad, M. M.; El-Daly, S. A.; Azim, S. A. *Spectrochim. Acta* 1993, 49A(3), 437.
116. Kimura, Y.; Hirota, N. *J. Chem. Phys.* 1999, 111(12), 5474.
117. Kumar, S.; Rao, V.C.; Rastogi, R.C. *Spectrochim. Acta* 2001, 57(A), 41.
118. Raju, B. B.; Varadarajan, T. S. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* 1994, B59(1), 83.
119. Birckner, E.; Steinfuehrer, T.; Weissenfels, M. *Exp. Tech. Phys.* 1991, 39(4-5), 343.

120. Taneja, L.; Sharma, A. K.; Singh, R. D. *J. Luminesc.* 1995, 63(4), 203.
121. Vijila C.; Ramalingam, A.; Palanisamy, P.K.; Masilamani, V. *Spectrochim. Acta* 2001, 57(A), 491.
122. a) Giri, R. *Spectrochim. Acta* 1992, 48A(6), 843. b) Kumar, S.; Giri, R.; Mishra, S. C.; Mahwe, M. K. *Indian J. Pure Appl. Phys.* 1995, 33(10), 615.
123. Kumar, S.; Giri, R.; Mishra, S. C.; Mahwe, M. K. *Indian J. Pure Appl. Phys.* 1996, 34(2), 126.
124. Kutty, A. P. G.; Venkates Waran, S.; Vaidya, S. N.; Kartha, V. B. *J. Phys. Chem.* 1993, 97(28), 7132.
125. Dey, J.; Warner, I. M. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1998, 116, 27.
126. Schmidt, R.; Tanielian, C.; Dunsbach, R.; Wolff, C. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1994, 79, 11.
127. Arimori, S.; Bosch, L.I.; Ward, C.J.; James, T.D. *Tetrahedron Lett.* 2001, 42, 4553.
128. Machado e colaboradores, *Resultados não publicados*.
129. Gao, F.; Li, H.R.; Yang, Y. *Dyes and Pigm.* 2000, 47, 231.
130. Jones II, G.; Jimenez, J.A.C. *Tetrahedron Lett.* 1999, 40, 8551.
131. Nad, S.; Pal, H. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2000, 134, 9.
132. Arbeloa, I. L.; Ruiz Ojeda, P. *Phys. Chem. Lett.* 1982, 87, 556.
133. Arbeloa, I. L.; Ruiz Ojeda, P.; Arbeloa, F. L. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1988, 84(2), 1903.

134. Seixas de Melo, J.; Maçanita, A.L. *Chem. Phys. Lett.* 1993, 204(5-6), 556.
135. Al-Hazmy, S.M.; Nassab, K.N.; El-Daly, S.A.; Ebeid, E.M. *Spectrochim. Acta* 2000, 56(A), 1773.
136. Hoshiyama, M.; Kubo, K.; Igarashi, T.; Sakurai, T. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2001, 138, 227.
137. Tominaga, K.; Walker, G. C. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1995, 87(2), 127.
138. Arbeloa, T. L.; Arbeloa, F. L.; Fernandez Bartolomé, P.; Arbeloa, I. L. *Chem. Phys.* 1992, 160, 123.
139. Priyadarshini, K.I.; Stiegman, A.E.; Murthy, P.N. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1990, 54, 251.
140. Zachariasse, K.A.; Grobys, M.; Von der Haar, Th; Hebecker, A.; Il'ichev, Yu.; Jiang, Y.-B.; Morawski, O.; Küngle, W. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 1996, 102, 59.

## 8 Produção Bibliográfica (2000-2001)

### 8.1 Trabalhos em Eventos

1. MACHADO, A.E.H., GUILARDI, S., FRANCA, E.F., MIRANDA, J.A. Previsão de Propriedades Espectroscópicas do Composto 3-benzoxazol-2-ilcromen-2-ona, Empregando Cálculo Semi-empírico. In: XV SIMPÓSIO BRASILEIRO DE QUÍMICA TEÓRICA, 2001, Caxambu. Livro de Resumos do Simpósio Brasileiro de Química Teórica. 2001.
2. MACHADO, A.E.H., DUARTE, E.T.F.M., ALBUQUERQUE, Y.D.T., FERREIRA, L.F., MIRANDA, J.A., RUGGIERO, R., SATTLER, C., OLIVEIRA, L., Estudo da Degradação do Efluente de Uma Indústria de Papel e Celulose, Induzida Por Fotocatálise Mediada Por Dióxido de Titânio. In: 1º ENCONTRO SOBRE APLICAÇÕES AMBIENTAIS DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS, 2001, Águas de São Pedro, Livro de Resumos do 1º Encontro Sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados. 2001. V. único.
3. CRISTÓVAN, F.H., MACHADO, A.E.H., MIRANDA, J.A., VELANI, V. Efeito do Ambiente Micelar Sobre a Fluorescência da Ftalocianina de Zinco. In: XIII ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2000, Araraquara. Livro de Resumos do XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. 2001. V.único
4. MIRANDA, J.A., MACHADO, A.E.H. Avaliação das Propriedades Fotofísicas de um Derivado de Cumarina. In: XXIV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2001, Poços de Caldas. Livro de Resumos da XXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2001. V.único. p. FT001.

5. MIRANDA, J.A., MACHADO, A.E.H. Charge-transfer effects on the photophysical of 3-benzoxazol-2-il-7-diethylamino-chromen-2-one. In: TWELFTH INTER-AMERICAN PHOTOCHEMICAL CONFERENCE, 2001, Ascochinga, Córdoba, Argentina. Twelfth Inter-American Photochemical. 2001. V.único.
6. MIRANDA, J.A., MACHADO, A.E.H., CRISTÓVAN, F.H. Eficiência da FtZn Como Mediadora em Reações do Tipo II em suspensões Contendo Células Tumorais: Medida da Atividade Fotodinâmica. In: XXIV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2001, Poços de Caldas. Livro de Resumos da XXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2001. V.único. p. FT002.
7. MIRANDA J.A., MACHADO, A.E.H., BARTASSON, M.C., OLIVEIRA-CAMPOS, A.M.F., OLIVEIRA, A.M.A.G. A Photophysical/Quantum Mechanical Comparative Study of Some Properties of 3-benzoxazol-2-il-7-hydroxy-cromen-2-one. In: PHOTOPHYSICS AND PHOTOCHEMISTRY 2000, Costa do Estoril, Portugal. Photophysics and Photochemistry 2000. 2000. V.único. p. 93.
8. MIRANDA J.A., MACHADO, A.E.H., OLIVEIRA, C.A., OLIVEIRA NETO, A.D., LOOSE, A. Avaliação Cítotóxica da Ftalocianina de Zinco e Comparação de sua Ação Fotodinâmica com a do Azul de Metíleno. In: XXIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, , 2000, Poços de Caldas. Livro de Resumos da XXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2000. V.3. p. MD29.
9. MIRANDA J.A., MACHADO, A.E.H., OLIVEIRA, C.A., OLIVEIRA NETO, A.D., FURTADO, S.T.F., STEIN, C.G., OLIVEIRA, O.V. Comportamento de Dois Corantes Alimentícios Quando Expostos a Células de um Tumor Ascítico. In: XIV ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2000, Uberlândia. Livro de Resumos do XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. 2000. V.único.

10. MIRANDA, J.A., MACHADO, A.E.H., OLIVEIRA-CAMPOS, A.M.F., OLIVEIRA, A.M.A.G., SEVERINO, D., NICODEM, D.E. Determinação da eficiência Quântica de Geração de Oxigênio Singlete de Cumarinas. In: XIV ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2000, Uberlândia. Livro de Resumos do XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. 2000. V.único.
11. MIRANDA, J.A., MACHADO, A.E.H., OLIVEIRA-CAMPOS, A.M.F., OLIVEIRA, A.M.A.G., RAPOSO, M., SEVERINO, D., NICODEM, D.E. Fotofísica de Análogos de Psoralenos: Medida da Capacidade de Geração de Oxigênio Singlete. In: XIV ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2000, Uberlândia. Livro de Resumos do XIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. 2000. V.único.

## 8.2 Artigos Publicados em Periódicos

1. MACHADO, A.E.H., MIRANDA, J.A. Photophysical/Quantum Mechanical Characterization of the Compound 3-benzoxazol-2-il-7-hydroxy-cromen-2-one. *J. Photochem. Photobiol.* 2001, 141(A), 109.
2. MACHADO, A.E.H., MIRANDA, J.A., SEVERINO, D., NICODEM, D.E., OLIVEIRA-CAMPOS, A.M.F. Photophysical Properties of Two New Psoralen Analogues. *J. Photochem. Photobiol.* 2001, 146(A), 72.
3. MIRANDA, J.A., MACHADO, A.E.H., OLIVEIRA, C.A. Comparison of The Photodynamic Action of Methylene Blue and Zinc Phthalocyanine on TG-180 Tumoral Cells. *J. Porphyrins and Phthalocyanines.* 2001. (no prelo)

*8.3 Artigos em Redação*

1. MACHADO, A.E.H., MIRANDA, J.A., MATOS, M.S. Spectral Properties of The Compound 3-benzoxazol-2-il-7-diethylamine-cromen-2-one.
2. MACHADO, A.E.H., MIRANDA, J.A., GUILARDI, S., NICODEM, D.E., SEVERINO, D. Structure and Photophysics of The Compound 3-benzoxazol-2-il -cromen-2-one.
3. MACHADO, A.E.H., ALBUQUERQUE, Y.D.T., MIRANDA, J.A., RUGGIERO, R., SATTLER, C., OLIVEIRA, L., MELO, E.I., VELANI, V. Development of Technologies For Water Detoxification Using Photocatalysis and Solar Energy: I. Detoxification of The Effluent From a Celulose and Paper Industry.