

Natasha Londero Ferreira

Síntese e avaliação de dispositivos supramoleculares para a detecção de espécies aniônicas e agentes alquilantes

Tese submetida ao Programa de Pós
Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Vanderlei
Gageiro Machado

Florianópolis
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

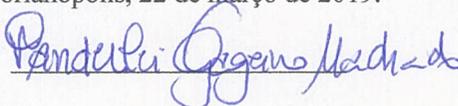
Londero Ferreira, Natasha
Síntese e avaliação de dispositivos
supramoleculares para a detecção de espécies
aniônicas e agentes alquilantes / Natasha Londero
Ferreira ; orientador, Vanderlei Gageiro Machado,
2019.
172 p.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis,
2019.
Inclui referências.
1. Química. 2. Química supramolecular, detecção,
corantes. I. Gageiro Machado, Vanderlei. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Química. III. Título.

Natasha Londero Ferreira

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE DISPOSITIVOS
SUPRAMOLECULARES PARA A DETECÇÃO DE ESPÉCIES
ANIÔNICAS E AGENTES ALQUILANTES**

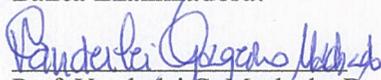
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutora em Química” e aprovada em sua forma final pelo Programa Programa de Pós-Graduação em Química –UFSC-Florianópolis-SC.

Florianópolis, 22 de março de 2019.



Prof. Dr. Vanderlei G. Machado.
Coordenador do Curso

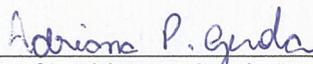
Banca Examinadora:



Prof. Vanderlei G. Machado, Dr.
Orientador
(QMC-UFSC)



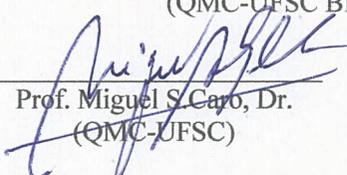
Prof.^a Vânia R. Lima, Dr.^a
Relatora
(QMC-FURG)



Prof.^a Adriana P. Gerola, Dr.^a
(QMC-UFSC)



Prof Ismael C. Bellettini, Dr
(QMC-UFSC Blumenau)



Prof. Miguel S. Caro, Dr.
(QMC-UFSC)

– Essas coisas que parece
 não terem beleza
 nenhuma
– é simplesmente porque
não houve nunca quem lhes desse ao menos
 um segundo
 olhar!
As coisas, Mario Quintana.

AGRADECIMENTOS

Desde já peço desculpas se esqueci de agradecer alguém, pois foram inúmeras pessoas que contribuíram para minha formação ao longo desses anos, e minha memória muitas vezes é falha.

Primeiramente, gostaria de agradecer imensamente ao professor Vanderlei por todo o acolhimento, incentivo e coragem com que me recebeu e acompanhou, não existem palavras para expressar o quanto sou grata. Por ser um grande exemplo de dedicação ao mundo científico, pela presença e paciência e por todos os ensinamentos.

Aos meus colegas do Laboratório Polissol por terem me recebido e por toda a ajuda fornecida no dia a dia, em especial para o Celso e Carlos pela participação ativa no trabalho e para o Eduardo, Juliana e Crislaine pelo companheirismo.

Aos funcionários da Central de Análises pela realização das análises.

A todos os funcionários do Departamento de Química, em especial à Grace por toda ajuda e por ser sempre muito prestativa.

Ao Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME), em especial à Elis Amaral Rosa pela grande ajuda e dedicação nas análises.

A minha mãe, Val e meu pai, Paulo pelo incentivo, paciência e doçura.

Ao meu namorado Kaue, por todo o companheirismo, paciência e amor nos momentos felizes e nos difíceis.

Aos meus amigos que me apoiaram imensamente, em especial à Cristine, Renata e Marcia.

Ao CNPq, à FAPESC e à Capes pelo apoio financeiro e à UFSC pela estrutura disponibilizada.

RESUMO

Um composto derivado do ácido de Meldrum (**1**) foi sintetizado e caracterizado pelas técnicas espectrométricas de IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e massas de alta resolução. O composto **1** foi utilizado na estratégia de detecção quimiodosimétrica que permitiu o reconhecimento seletivo de CN^- e sulfeto. Primeiramente, observou-se que o composto em acetonitrila (CH_3CN), de coloração amarela, age como um quimiodosímetro cromogênico “liga-desliga” (*on/off*) devido à quebra da conjugação, pela adição dos ânions CN^- e F^- à sua estrutura, resultando em uma solução incolor. O sistema de detecção aniônico foi estudado em meio orgânico-aquoso ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$; 1:1) e a detecção seletiva de CN^- sobre F^- foi obtida pela adição de água ao sistema que solvata de maneira mais efetiva o F^- diminuindo a sua capacidade nucleofílica. O meio orgânico-aquoso permitiu ainda a detecção do sulfeto. Foram realizados experimentos de titulação no UV-vis com o composto **1** e os ânions CN^- e sulfeto, sendo que ambos apresentaram limites de detecção e quantificação bastante baixos. A seletividade para CN^- foi alcançada pela adição de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, que permitiu a remoção do sulfeto na forma de um precipitado (PbS_2). O composto **1** foi também empregado em uma estratégia fluorogênica do tipo “desliga-liga” (*off/on*) em meio orgânico-aquoso ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$; 4:1), onde a adição de CN^- e sulfeto resultou em um sistema fluorescente. A titulação do composto **1** com CN^- e sulfeto resultou em um sistema de detecção com valores de limites de detecção e quantificação extremamente baixos, na ordem de 10^{-8} mol L^{-1} . Por fim, foi realizado um experimento simples que simula a contaminação de água com CN^- e o sistema de detecção para o dispositivo **1** em meio aquoso-orgânico permitiu a detecção de CN^- em uma amostra de água de torneira, mostrando o potencial do sistema em ser aplicado na análise real de água contaminada pelo ânion. Na segunda parte desta Tese foi sintetizada e caracterizada uma série de compostos derivados da merocianina de Brooker (**2-4**) e seus derivados metilados (**2b-4b**). Essa série foi planejada pela potencialidade que o grupo piridínico apresenta para realizar reações do tipo substituição nucleofílica bimolecular com agentes alquilantes. Os compostos **2-4** foram utilizados em uma estratégia quimiodosimétrica no reconhecimento de um agente alquilante modelo, iodeto de metila, em meio orgânico (CH_3CN). Inicialmente, os derivados **2-4** foram submetidos a testes visuais onde observou-se que os compostos atuam como quimiodosímetros cromogênicos na detecção de iodeto de metila, pois a alquilação ocasionou a mudança na coloração das soluções e no

espectro na região visível. Foram realizados experimentos de titulações, que apontaram para o composto **4** como aquele com maior potencialidade para a detecção de haletos de alquila. O sistema de detecção do iodeto de metila com o quimiodosímetro **4** foi avaliado cineticamente, na ausência e na presença de íon Ag^+ como catalisador. O sal de prata afetou o sistema de forma a acelerar o processo de detecção em até 2 vezes, devido à complexação com o grupo de saída (iodo), resultando em um sistema mais eletrofílico. Por fim, o composto **4** foi utilizado em uma estratégia quimiodosimétrica fluorogênica do tipo “liga-desliga” (*on/off*), mostrando a potencialidade desse sistema em ser aplicado como dispositivo versátil para a detecção de agentes alquilantes.

Palavras-chave: quimiodosímetros; detecção visual; dispositivos ópticos de detecção; cianeto; sulfeto; agentes alquilantes.

ABSTRACT

A compound derived from Meldrum's acid (**1**) was synthesized and characterized by IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and high resolution mass spectrometric techniques. Compound **1** was used in the chemodosimetric detection strategy that allowed the selective recognition of CN^- and sulfide. First, compound **1**, yellow-colored in acetonitrile (CH_3CN), was observed to act as a chromogenic *on/off* chemodosimeter because of the breakdown of conjugation by the addition of CN^- and F^- anions to its molecular structure, resulting in a colorless solution. The anionic detection system was studied in organic-aqueous medium ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$, 1:1) and the selective detection of CN^- on F^- was obtained by adding water, which is able to make a preferential solvation of F^- , decreasing its nucleophilic capacity. The organic-aqueous medium also allowed detection of sulfide. UV-vis titration experiments were performed with compound **1** and CN^- and sulfide as anions, both of which had very low detection and quantification limits. The selectivity for CN^- was reached by the addition of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, which allowed the removal of the sulfide in the form of a precipitate (PbS). Compound **1** was also employed in an *off-on* fluorogenic strategy in organic-aqueous medium ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$; 4:1), where addition of CN^- and sulfide resulted in a fluorescent system. Titration of compound **1** with CN^- and sulfide resulted in a detection system with extremely low detection and quantification limit values, in the order of 10^{-8} mol L^{-1} . Finally, a simple experiment was carried out to simulate the contamination of water with CN^- and the detection system involving **1** in aqueous-organic medium allowed the detection of CN^- in a sample of tap water, showing the potential of the system to be applied in the real analysis of water contaminated by the anion. In the second part of this thesis a series of compounds derived from Brooker's merocyanine (**2-4**) and their methylated derivatives (**2b-4b**) were synthesized and characterized. This series was planned by the potentiality that the pyridine group presents to carry out reactions of bimolecular nucleophilic substitution with alkylating agents. Compounds **2-4** were used in a chemodosimetric strategy in the recognition of a model alkylating agent, methyl iodide, in organic medium (CH_3CN). Initially, derivatives **2-4** were subjected to visual tests where it was observed that the compounds act as chromogenic chemodosimeters in the detection of methyl iodide, since the alkylation caused a change in the coloration of the solutions and in the spectrum in the vis region. Titration experiments were performed and suggested that compound **4** has the greatest

potential for the detection of alkyl halides. The detection system of methyl iodide with chemodosimeter **4** was evaluated kinetically, in the absence and presence of Ag^+ ion as catalyst. The silver salt affected the system in order to accelerate the detection process by up to 2 times, due to the complexation with the leaving group (iodine), resulting in a more electrophilic system. Finally, compound **4** was used in an *on/off* fluorogenic chemodosimetric strategy, showing the potential of this system to be applied as a versatile device for the detection of alkylating agents.

Keywords: chemodosimeters; naked-eye detection; optical detection devices; cyanide; sulfide; alkylating agents.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das estruturas supramoleculares de alguns complexos de éteres–coroa com íons metálicos.	32
Figura 2. Ilustração para o funcionamento de um dispositivo óptico de detecção cromogênico ou fluorogênico.(adaptado de [13])... 35	35
Figura 3. Rota proposta para a detecção de F^- para um quimiossensor cromogênico derivado da antraquinona.....	37
Figura 4. Ilustração para um quimiossensor óptico baseado na estratégia de ensaio de competição.	38
Figura 5. Mecanismo proposto para a detecção de acetilcolina por um quimiossensor derivado de calixareno, fundamentado na estratégia de competição.	39
Figura 6. Representação geral para os três modelos de quimiodosímetros.	41
Figura 7. Mecanismo proposto para o ataque nucleofílico de F^- e CN^- a derivados de iminas–silil éteres.	42
Figura 8. Esquema reacional para a detecção de CN^- com corantes oxazínicos.	43
Figura 9. Um quimiodosímetro baseado na adição de cianeto em acetonitrila a um azobenzeno.	44
Figura 10. Detecção de <i>D</i> -glicose por derivados do ácido borônico. Adaptado de [34].....	48
Figura 11. Representação da reação entre pararrosanilina (coloração magenta) com o formaldeído para gerar o corante violeta de metila (coloração púrpura). [75].....	48
Figura 12. Detecção de aminas primárias alifáticas por meio de um sal de pirílio.....	49
Figura 13. Estruturas moleculares de alguns éteres de cloroalquila carcinogênicos.....	51
Figura 14. Representação geral da interação do DNA com agentes alquilantes.....	52
Figura 15. Representação química estrutural dos agentes alquilantes antineoplásicos CP e IF.....	53
Figura 16. Níveis de energia e possíveis transições eletrônicas.55	55
Figura 17. Transições eletrônicas de compostos orgânicos.....	56
Figura 18. Ensaios experimentais dos estudos da interação dos ânions com o composto 1.	69

Figura 19. Ensaios experimentais da interação dos compostos 2–4 com iodeto de metila.	71
Figura 20. Detecção aniônica utilizando um derivado do ácido de Meldrum em estratégia do tipo ácido–base.	73
Figura 21. Representação da possível interação do quimiodosímetro 1 com espécies aniônicas.	74
Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 1.	76
Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 1.	77
Figura 24. Espectro de massas de alta resolução do composto 1, utilizando fonte ESI(+).	78
Figura 25. Espectro de IV do composto 1 (pastilha de KBr). ...	79
Figura 26. Influência do tempo nos valores de absorvância do composto 1 a 25 °C em (A) acetonitrila ($c(1) = 4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; 438 nm) e (B) em acetonitrila:água, 1:1 ($c(1) = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; 444 nm).	80
Figura 27. (A) Soluções e (B) espectros de UV–vis de 1 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na ausência e presença de vários ânions ($6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em acetonitrila.	81
Figura 28. (A) Soluções e (B) espectros de UV–vis de 1 ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na ausência e presença de vários ânions ($6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em acetonitrila:água (1:1; v/v).	82
Figura 29. Composto 1 em solução na presença de CN^-	83
Figura 30. Espectro de massas de alta resolução para o produto de detecção entre 1 e CN^-	84
Figura 31. (A) Espectros de UV–vis e (B) curva de titulação correspondente a 438 nm para a titulação do composto 1 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN^- em acetonitrila.	85
Figura 32. (A) Espectros de UV–vis e (B) curva de titulação correspondente a 444 nm para a titulação do composto 1 ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN^- em acetonitrila:água (1:1; v/v).	86
Figura 33. Razão molar para o composto 1 com CN^- (A) em acetonitrila e (B) acetonitrila:água (1:1; v/v).	88
Figura 34. (A) Espectros de UV–vis e (B) curva de titulação correspondente a 444 nm para a titulação do composto 1 ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de sulfeto em acetonitrila: água (1:1; v/v).	90
Figura 35. Gráfico da razão molar para a titulação de 1 com sulfeto em acetonitrila: água (1:1; v/v).	91

Figura 36. Espectros de RMN de ^1H (200 MHz) em CD_3CN para 1 na ausência e presença de quantidades crescentes de CN^-	92
Figura 37. Expansão de $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMQC (δ 4.0–9.5 ppm) de 1 em CD_3CN	93
Figura 38. Expansão de $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMQC (δ 4.0–9.5 ppm) de 1 em CD_3CN após a adição de 1 equiv. de CN^-	93
Figura 39. Expansão $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC (δ 4.0–9.5 ppm) de 1 em CD_3CN depois de 1 equivalente de CN^-	94
Figura 40. Soluções de 1 em água:acetonitrila (1:1) na presença de CN^- e sulfeto seguido da adição de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ para tornar o sistema seletivo para CN^- devido à precipitação de sulfeto como PbS . c (1) = $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; c (ânion) = $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ c ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) = $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	95
Figura 41. (A) Espectros de UV-vis do composto 1 ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1) na presença e na ausência de vários ânions ($6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e na presença e na ausência de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) (B) Absorbâncias relativas em 444 nm para o composto 1 na ausência (barra preta) e presença (barra vermelha) de CN^-	96
Figura 42. (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{exc}} = 360 \text{ nm}$) e (B) intensidades de emissão correspondentes a 453 nm do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes proporções de acetonitrila:água (v/v).	98
Figura 43. (A) Solvatação preferencial do composto 1 por moléculas de água e (B) excitação sob lâmpada de 360 nm do composto 1 em MeCN pura, 4:1 (MeCN:H ₂ O; v/v) e 1:1 (MeCN:H ₂ O v/v).	99
Figura 44. (A) Espectros de emissão do composto 1 em (a) mistura água/acetonitrila contendo 40% de água; (b) adicionando acetonitrila para reduzir a proporção de água para 20%; e (c) para efeitos comparativos, uma solução de 1 em uma mistura preparada independentemente, contendo 20% água. (B) Espectros de emissão do composto 1 em mistura de acetonitrila contendo alta porcentagem de água: (a) 60% água; (b) adicionando acetonitrila para 47% de água em acetonitrila; e (c) para efeitos comparativos, uma solução de 1 em uma mistura água/acetonitrila preparada independentemente, contendo 47% de água.	101
Figura 45. (A) Conjunto de espectros de emissão de fluorescência do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) na ausência e presença de ânions ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e (B) correspondentes intensidades de	

emissão relativas em 445 nm para o composto 1 na ausência e na presença de na ausência e na presença de ânions.....	102
Figura 46. (A) Espectros de emissão e (B) curva correspondente para as intensidades de emissão em 445 nm para a titulação do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹) com quantidades crescentes de CN ⁻ em acetonitrila:água (4:1; v/v).....	104
Figura 47. Gráfico de razão molar para a titulação de 1 com CN ⁻ em acetonitrila:água (4:1; v/v) usando a técnica de fluorescência.....	105
Figura 48. (A) Espectros de emissão e (B) curva correspondente a 445 nm para a titulação do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹) com quantidades crescentes de sulfeto em acetonitrila: água (4:1; v/v).	106
Figura 49. (A) Espectros de UV-vis de água da torneira (a) sem CN ⁻ , (b) com $1,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de CN ⁻ e (c) com $2,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de CN ⁻ . (B) Curva a 444 nm para a titulação do composto 1 ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹) com quantidades crescentes de CN ⁻ em acetonitrila:água (1:1; v/v). Os círculos vermelhos inseridos na curva correspondem às amostras da água da torneira contendo CN ⁻	108
Figura 50. (A) Espectros de emissão de água da torneira (a) sem CN ⁻ , (b) com a adição de $3,42 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ de CN ⁻ e (c) $6,23 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ de CN ⁻ . (B) Curva a 445 nm para a titulação do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹) com quantidades crescentes de CN ⁻ em acetonitrila:água (4:1; v/v). Os quadrados vermelhos inseridos correspondem a amostras de água da torneira contendo CN ⁻	110
Figura 51. Merocianina de Brooker atuando como quimiossensor cromogênico ácido-base.....	113
Figura 52. Possível alquilação da merocianina de Brooker ...	114
Figura 53. Formas mesoméricas zwitteriônica e quinoidal da merocianina de Brooker.	117
Figura 54. Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do composto 4.	121
Figura 55. Espectro de massas de alta resolução do composto 4, utilizando fonte ESI (+).	122
Figura 56. Representação da interação dos corantes estudados com iodeto de metila.....	123
Figura 57. Diferença de coloração entre os compostos 2 e 2b em acetonitrila.....	124
Figura 58. Espectros de UV-vis para soluções dos compostos 2 ($2,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ ; $\lambda_{\max} = 435$ nm) e 2b ($2,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ ; $\lambda_{\max} = 550$ nm) em acetonitrila.....	124
Figura 59. Diferença de coloração entre os compostos 3 e 3b em acetonitrila.....	125

- Figura 60.** Espectros de UV-vis para soluções dos compostos 3 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 400 \text{ nm}$) e 3b ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 500 \text{ nm}$) em acetonitrila. 126
- Figura 61.** Diferença de coloração entre os compostos 4 e 4b em acetonitrila. 127
- Figura 62.** Espectros de UV-vis para soluções dos compostos 4 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ nm}$) e 4b ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$) em acetonitrila. 127
- Figura 63.** (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto 2 ($2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ com adições crescentes de MeI. (B) Curva de variação da absorvância em 550 nm , referente à formação do composto 2b, com a adição de quantidades crescentes de MeI. 128
- Figura 64.** (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto 3 ($4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ com adições crescentes de MeI. (B) Curva de variação da absorvância em 500 nm , referente à formação do composto 3b, com a adição de quantidades crescentes de MeI. 130
- Figura 65.** (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto 4 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ com adições de MeI. (B) Curva de variação da absorvância em 470 nm , referente à formação do composto 4b, com a adição de quantidades crescentes de MeI. 132
- Figura 66.** Influência da adição de AgNO_3 na velocidade da reação entre o composto 4 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e MeI ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ 135
- Figura 67.** Possível influência do nitrato de prata na reação de detecção do agente alquilante. 135
- Figura 68.** (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto 4 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), AgNO_3 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ com adições de MeI. (B) Curva de variação da absorvância em 470 nm , referente à formação do composto 4b, com a adição de quantidades crescentes de MeI. 136
- Figura 69.** Soluções dos compostos (a) 4 e (b) 4b em acetonitrila expostas à lâmpada em $\lambda = 360 \text{ nm}$ e seu respectivo espectro de varredura tridimensional (fenda de excitação de 5 nm e de emissão de 10 nm). As concentrações dos compostos foram iguais a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 138
- Figura 70.** Gráfico de emissão de fluorescência do composto 4 ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, CH_3CN) na ausência e em diferentes concentrações de AgNO_3 a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ 139

Figura 71. (A) Espectros de emissão de fluorescência resultantes para a titulação do composto 4 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹), na presença de AgNO₃ ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹), em CH₃CN e a 25,0 °C, com adições de MeI. (B) Curva de variação de intensidade de emissão em 480 nm do composto 4 com a adição de quantidades crescentes de MeI. 140

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Representação geral das possíveis interações do quimiossensor com uma espécie aniônica, fundamentada em reações ácido-base ou interações por LH.	36
Esquema 2. Síntese do ácido de Meldrum. (a) Condições reacionais: anidrido acético, H₂SO₄, 30 min, 0 °C.	75
Esquema 3. Síntese do composto 1. (a): etanol, temperatura ambiente, 1 h.	75
Esquema 4. Representação da síntese da merocianina de Brooker. Condições experimentais: (a) 2-propanol, 2 h/refluxo; (b) I) piperidina, EtOH, 24 h/refluxo; II) KOH; (c) acetona, K ₂ CO ₃ , MeI, 3h/refluxo. .	116
Esquema 5. Síntese dos derivados azo 2 e 2b. (a) NaNO ₂ , HBF ₄ , 0-5 °C; (b) MeCN, K ₂ CO ₃ , MeI, 3 h, refluxo.....	117
Esquema 6. Rota sintética de preparação dos compostos imínicos 3 e 3b. (a) HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , refluxo; (b) SnCl ₂ /H ⁺ ; (c) CH ₃ COOH; (d) MeCN, K ₂ CO ₃ , MeI, 3 h/refluxo.....	119
Esquema 7. Representação da síntese dos estilbenos 4 e 4b. (a) KOH, 3 h, 125 °C; (b) MeCN, K ₂ CO ₃ , MeI, 3 h, refluxo.....	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs – absorvância

A_r – absorvância da reação

A_{∞} – absorvância infinita

b – caminho óptico da cubeta

CP – ciclofosfamida

CIC – Comitê de Identificação Carcinogênica

d – duplete

c – concentração

DNA – ácido desoxirribonucleico

Equivalente – equiv.

ESI(+) – *Electrospray Ionization* (ionização por eletrospray em modo positivo)

FRET – energia de transferência de ressonância fluorescente

HRMS – *High-Resolution Mass Spectrometry* (espectrometria de massas de alta resolução)

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

Hz – Hertz

IARCA – Agência Internacional de Pesquisa do Câncer

IV – Infravermelho

IF – isofosfamida

I – indicador

J - constante de acoplamento

K_a – constante de associação

K_d – constante de dissociação

k_{obs} – constante de velocidade observada

LH – ligação de hidrogênio

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

MB –merocianina de Brooker

OMS – Organização Mundial da Saúde

PET – Transferência eletrônica fotoinduzida

R – receptor

RMN de ^1H – Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN de ^{13}C – Ressonância magnética nuclear do isótopo 13 de carbono

s – singleto

S – substrato

S_{b1} – desvio padrão

S_{ca} – coeficiente angular

S_{N2} – substituição nucleofílica bimolecular

t – tempo

t_{∞} – tempo infinito

t.a. – temperatura ambiente

UPLC – Cromatografia líquida de ultra performance

UV-vis – região do ultravioleta-visível (400 a 800 nm)

ε – coeficiente de absorção molar

λ_{max} – comprimento de onda máximo

δ – deslocamento químico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	31
1.1	QUÍMICA SUPRAMOLECULAR	32
1.2	DISPOSITIVOS ÓPTICOS DE DETECÇÃO DE ANALITOS.....	34
1.2.1	Químiossensores fundamentados em reações ácido-base e/ou interações por ligações de hidrogênio.....	36
1.2.2	Químiossensores baseados em ensaios de competição	37
1.2.3	Quimiodosímetros	39
1.3	IMPORTÂNCIA DAS ESPÉCIES ANIÔNICAS	44
1.4	DISPOSITIVOS ÓPTICOS DE DETECÇÃO DE ANALITOS NEUTROS.....	47
1.5	AGENTES ALQUILANTES: APLICAÇÕES E IMPORTÂNCIA DE SUA DETECÇÃO	50
1.5.1	AGENTES ALQUILANTES ANTINEOPLÁSICOS	52
1.6	TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS.....	53
2	OBJETIVOS.....	57
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	57
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	57
3	METODOLOGIA	59
3.1	MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
3.2	INSTRUMENTAÇÃO.....	59
3.3	SÍNTESE DOS COMPOSTOS	60
3.3.1	Preparação da 2,2-dimetil-5-(piren-1-ilmetileno)-1,3-dioxano-4,6-diona (1)	60
3.3.2	Preparação dos derivados da merocianina de Brooker ...	61
3.4	ESTUDOS DOS COMPOSTOS OBTIDOS COMO SISTEMAS DE DETECÇÃO	67
3.4.1	Estudo do composto 1 com os ânions.....	67
3.4.2	Titulações espectrofotométricas.....	68

3.4.3	Experimento de titulação por espectrometria de RMN de ^1H com CN^-	69
3.4.4	Detecção de cianeto na água da torneira	69
3.4.5	Estudo dos compostos 2–4 com o agente alquilante.....	70
3.4.6	Determinação do limite de detecção e de quantificação ..	71
3.5	ESTUDOS CINÉTICOS	72
3.6	TRATAMENTO DOS RESÍDUOS DE CIANETO, SULFETO E AZIDA	72
4	UM DISPOSITIVO DE DETECÇÃO ANIÔNICO BASEADO EM UMA ESTRATÉGIA DO TIPO QUIMIADOSIMÉTRICA PARA A DETECÇÃO DE CIANETO E SULFETO EM MEIO AQUOSO	73
4.1	SÍNTESE DO COMPOSTO 1	74
4.1.1	Estudo do composto 1 como quimiodosímetro cromogênico.....	79
4.1.2	Estudo do composto 1 como quimiodosímetro fluorogênico 97	
4.1.3	Aplicação do quimiodosímetro 1 na detecção de cianeto em água de torneira	108
4.2	CONCLUSÕES.....	112
5	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE (E)-N,N-DIMETIL-4-(2-(PIRIDINA)VINIL)ANILINA E SEUS ANÁLOGOS PARA A APLICAÇÃO EM DISPOSITIVOS ÓPTICOS DE DETECÇÃO DE AGENTES ALQUILANTES	113
5.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS 115	
5.2	Dispositivos moleculares cromogênicos/fluorogênicos baseados em uma estratégia do tipo quimiodosímetro	122
5.2.1	Titulações dos quimiodosímetros com iodeto de metila.	128
5.2.2	Influência da adição do íon metálico prata aos dispositivos cromogênicos de detecção para agentes alquilantes.....	133
5.2.3	Um quimiodosímetro cromogênico/fluorogênico para a detecção de agentes alquilantes.....	137
5.3	CONCLUSÕES.....	142

6	CONCLUSÕES GERAIS E PERPECTIVAS	143
7	REFERÊNCIAS	144
8	ANEXOS	159

1 INTRODUÇÃO

A forma com que a vida se desenvolveu está intrinsicamente relacionada com os processos de armazenamento e transmissão da informação, o que é inerente ao reconhecimento molecular. As forças que levam a essa associação específica não covalente entre receptor e substrato dependem da particularidade de cada sistema.

Diversos processos biológicos carregam em sua essência o reconhecimento molecular, que por muitas vezes são tidos como um encaixe perfeito, tais como a interação do neurorreceptor–neurotransmissor; enzima–substrato; anticorpo–antígeno e diversas vias metabólicas. Esses sistemas complexos são resultantes de um grande número de múltiplas forças que cooperam para gerar efeitos substanciais.

A compreensão da origem e dos princípios que cada força representa em um determinado sistema permite o planejamento de novos receptores artificiais e a construção de moléculas funcionais.

Dentro desse contexto, a construção de quimiossensores desponta como uma área interdisciplinar de interesse, principalmente pela simplicidade e baixo custo das técnicas utilizadas, fácil operação, precisão e confiabilidade. O desenho de dispositivos de detecção cromogênicos e/ou fluorogênicos possibilita a detecção de forma quantitativa e qualitativa de analitos aniônicos, catiônicos e moléculas neutras com importância industrial, química, ambiental e bioquímica.

Os mais variados sistemas de detecção são reportados na literatura, no entanto, o desenvolvimento e aprimoramento de dispositivos com a capacidade de detecção de espécies aniônicas relevantes como CN^- e sulfeto de maneira rápida e eficiente se fazem necessários. Por outra via, nada pode ser encontrado sobre a detecção de agentes alquilantes envolvendo quimiossensores ópticos. O desenvolvimento de dispositivos de reconhecimento para agentes alquilantes se faz importante devido ao papel desempenhado por essas substâncias no tratamento de doenças tumorais.

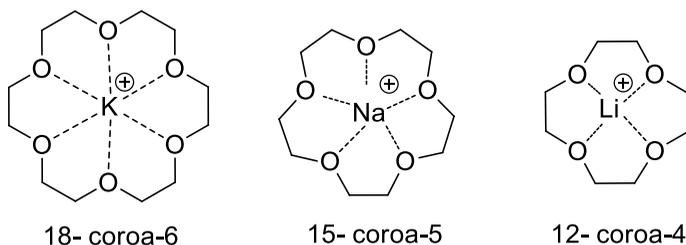
Sendo assim, esta tese tem como objetivo a síntese e o estudo de um dispositivo molecular para atuar na detecção visual e quantitativa de cianeto e sulfeto, assim como sistemas piridínicos que possam ser utilizados como dispositivos ópticos de detecção de agentes alquilantes.

Com a finalidade de melhor entendimento da proposta do projeto, bem como oferecer suporte literário, a seguir será apresentada uma introdução sobre o assunto.

1.1 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

Inspirados em eventos biológicos, os tópicos de reconhecimento molecular e química supramolecular vêm sendo alvos de extensos estudos nas últimas décadas. Charles Pedersen, um dos expoentes nos ensaios de reconhecimento supramolecular, em 1967 reportou uma classe de poliéteres cíclicos, chamados éteres–coroa. (Pedersen 1988) Ele observou que essas estruturas moleculares excepcionais complexavam cátions simples (**Figura 1**). Pode-se considerar este trabalho como a pedra fundamental para a área de química supramolecular. Posteriormente, a área foi substancialmente enriquecida pelos trabalhos pioneiros dos grupos de pesquisa de Jean-Marie Lehn e de Donald James Cram, o que levou os três pesquisadores a compartilhar o Prêmio Nobel de Química em 1987 por suas contribuições trazidas àquele campo do conhecimento. (Lehn 1995)

Figura 1. Representação das estruturas supramoleculares de alguns complexos de éteres–coroa com íons metálicos.



Em vista disso, a química do tipo receptor–substrato emergiu como um campo científico interdisciplinar. (Anslyn 2010) Definida por Lehn como *a química além da molécula*, (Lehn 1990) a química supramolecular nos remete desde questões práticas como a construção de novos dispositivos de detecção para espécies químicas, até mesmo a indagações filosóficas. A possibilidade de se arquitetar dispositivos moleculares em escalas nanométricas e até menores, com funções específicas, fez despontar a química supramolecular como um campo de

pesquisa forte e amplo, sendo redefinida como a *ciência dos sistemas informados*.(Manna 2015)

Entender os princípios e obter uma otimização racional das forças que governam a interação receptor–substrato leva ao desenvolvimento de novas tecnologias, fármacos e agroquímicos. Por muitas vezes a racionalização dessas forças torna–se uma tarefa laboriosa uma vez que a natureza construiu através de processos de milhões de anos a escolha detalhada de cada componente para gerar um evento biológico. Desde a escolha do átomo de fósforo na composição do DNA (Westheimer 1987) até o papel do ferro na hemoglobina (Abbaspour, Hurrell et al. 2014) todos os sistemas biológicos foram selecionados ao longo das eras geológicas.(Lehninger and Cox 2014, Persch, Dumele et al. 2015) A obtenção de medidas quantitativas exatas das forças entre receptor (R) e substrato (S) (**Equação 1**) requer uma abordagem minuciosa. Assim, o perfil e os parâmetros termodinâmicos são trazidos no contexto do reconhecimento molecular.



O controle termodinâmico está presente em praticamente todos os processos na química supramolecular, onde a estrutura mais estável é gerada a partir da mistura dos componentes iniciais. O elevado valor da constante de associação, K_a (**Equação 2**) implica na forte associação entre receptor e substrato, indicando que o equilíbrio está deslocado em direção à formação do complexo R·S. Dessa forma, a constante de dissociação K_d diminui em magnitude, e o complexo obtido se torna mais estável. Não obstante, a relatividade da estabilidade intrínseca que envolve a competição variacional de energia para levar à formação da supermolécula R·S depende de outros parâmetros, tais como a solvatação, a entropia e a energia livre de Gibbs. (Anslyn and Dougherty 2006)

$$K_a = \frac{[R \cdot S]}{[R][S]} \quad (\text{Equação 2})$$

Nesse contexto, a soma de múltiplos pequenos efeitos como atração dipolo–dipolo, ligação de hidrogênio, empilhamento π – π e efeitos estéreos e hidrofóbicos, entre outros, levam a um evento de maior magnitude de interação envolvendo duas ou mais moléculas. Quando a combinação dos efeitos resulta em uma diminuição da energia

livre de Gibbs, o evento é cooperativo positivo. Por outro lado, o aumento da energia livre de Gibbs da soma desses efeitos é denominado como uma cooperatividade negativa.(Anslyn and Dougherty 2006) Essa cooperatividade entre as partes individuais leva a interessantes aplicações práticas como o efeito de cooperatividade alostérica encontrada em muitas proteínas, como a hemoglobina.(Abbaspour, Hurrell et al. 2014) Diversos medicamentos modernos são elaborados tendo como base esses conceitos, como por exemplo antibióticos com alvo em bactérias super-resistentes.

Os esforços em desenvolver sistemas supramoleculares automontados tornam a química supramolecular uma área altamente interdisciplinar, na qual o domínio de técnicas analíticas, de físico-química e de síntese orgânica e inorgânica é empregado para a obtenção de sistemas que permitem a modulação de sinais químicos e/ou físicos. O reconhecimento molecular de uma determinada espécie, ou até mesmo de várias espécies simultâneas, requer um evento posterior de sinalização de uma ou mais espécies para que seja possível a quantificação.(Huang, University et al. 2015) Em vista disso, quimiodosímetros e quimiossensores cromogênicos e fluorogênicos são dispositivos ópticos capazes de interagir com a matéria ou a energia, gerando uma resposta e possibilitando medir o fenômeno de detecção de cátions, ânions e de espécies neutras em diferentes processos.(Ariga, Ito et al. 2012)

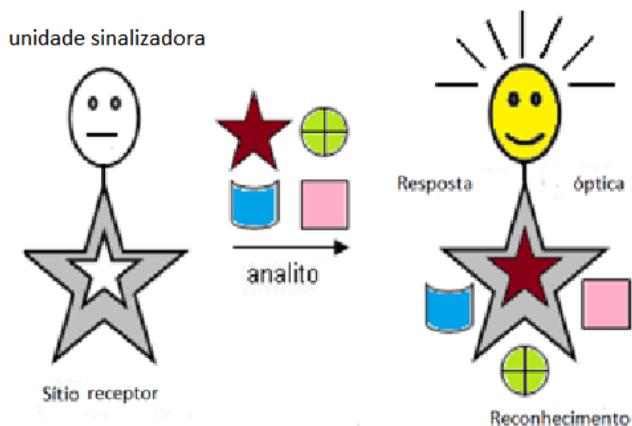
1.2 DISPOSITIVOS ÓPTICOS DE DETECÇÃO DE ANALITOS

Em um dispositivo químico óptico de detecção uma resposta óptica mensurável é obtida como uma resposta a sua interação com matéria ou luz. Os dispositivos ópticos de detecção podem ser classificados de acordo com a natureza da sua interação com componentes específicos.(Zimmermann-Dimer and machado 2008)

A estratégia para o planejamento de um dispositivo óptico de detecção consiste na escolha de uma unidade receptora adequada, responsável pelo reconhecimento do analito, e de uma unidade sinalizadora, que interage com a unidade de reconhecimento e é responsável por informar se o analito foi reconhecido (**Figura 2**). Se a unidade ou o produto da detecção contém um grupo cromóforo, a resposta é sinalizada pela alteração de coloração da solução, permitindo a detecção visual e quantitativa. Conquanto, se a unidade receptora for

um fluoróforo, a complexação do analito perturba esta unidade produzindo alteração nas propriedades fotofísicas, tais como mudança no espectro de emissão de fluorescência e rendimento quântico. (Wlskur, Hassan Ait-Haddou et al. 2001)

Figura 2. Ilustração para o funcionamento de um dispositivo óptico de detecção cromogênico ou fluorogênico. (adaptado de [13])



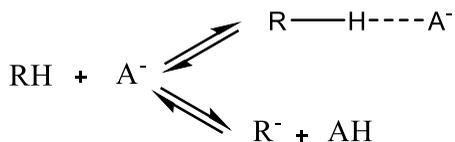
A criação e aplicação de dispositivos ópticos de detecção envolve uma gama de perspectivas para a detecção de inúmeras espécies. Os desenvolvimentos realizados nessa área levaram Anslyn em 2007 a cunhar o termo “*química analítica supramolecular*”, que corresponderia ao uso das ferramentas da química supramolecular para o desenvolvimento de estratégias analíticas de detecção. Três são as etapas analíticas necessárias a um dispositivo óptico de detecção: geração; detecção e processamento de um sinal. A primeira etapa consiste nas interações químicas e equilíbrios, enquanto a segunda depende do sinal ser alcançado por uma instrumentação adequada. Por fim, para o processamento do sinal podem ser necessárias técnicas quimiométricas, que são amplamente difundidas na química analítica. (Anslyn 2007)

Inúmeras estratégias para o desenvolvimento de sistemas ópticos moleculares e supramoleculares para a detecção de analitos podem ser encontradas na literatura. Dentre elas, destacam-se os quimiossensores fundamentados em reações ácido-base e/ou interações

por ligações de hidrogênio (LH), os quimiossensores baseados em ensaios de competição e os quimiodosímetros.

1.2.1 Quimiossensores fundamentados em reações ácido-base e/ou interações por ligações de hidrogênio

Uma das estratégias mais simples e elegantes em química supramolecular, para a detecção de analitos, faz uso de quimiossensores cujas estruturas moleculares apresentam em seu sítio receptor grupos doadores de ligação de hidrogênio (LH), tais como OH, NH e SH. Estes grupos são capazes de interagir com o analito, geralmente um ânion, transferindo um hidrogênio, de forma que este possa ser abstraído ou que a interação ocorra mais fracamente por meio de LH com o ânion (**Esquema 1**). Ambos os processos podem ocorrer em duas etapas, sendo que na primeira o analito interage com o quimiossensor por LH e a partir de um segundo equivalente do analito a unidade de sinalização é desprotonada para gerar a resposta óptica. (Boiocchi, Boca et al. 2004)



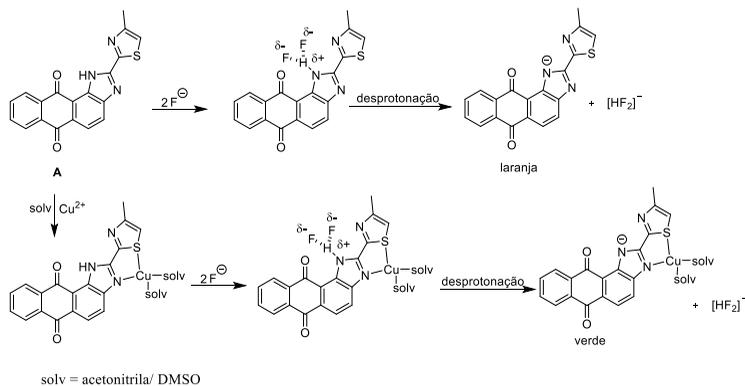
Esquema 1. Representação geral das possíveis interações do quimiossensor com uma espécie aniônica, fundamentada em reações ácido-base ou interações por LH.

Tais processos estão intrinsecamente relacionados com a acidez do quimiossensor e a basicidade do analito, podendo o processo ser modulado pelo meio em que as espécies se encontram. Essas características estabelecem a relação de seletividade do sistema. Assim, o meio é fundamental no sentido de modular as propriedades ácido-básicas do quimiossensor e do analito, levando à alteração no espectro de UV-vis e/ou de fluorescência. (Amendola 2006)

Os quimiossensores fundamentados em estratégia ácido-base ou via LH são amplamente explorados na literatura. (Gale 2000) Entre

vários analitos aniônicos, o F^- tem despertado interesse, em especial, por seu papel na fisiologia. Os benefícios do fluoreto são conhecidos nos tratamentos de osteoporose, ortodontia, mineralização do esmalte e como antidepressivo. No entanto, a ingestão excessiva desse ânion pode trazer sérias consequências para a saúde, incluindo fluorose (dentária e esquelética) e câncer. (Ozsvath 2009) Nesse contexto, Mukherjee e colaboradores (Sarkar, Bhattacharyya et al. 2016) desenvolveram um quimiossensor derivado da antraquinona **A** (**Figura 3**) para a detecção de F^- . Os autores observaram que na presença do ânion a solução contendo o corante (**A**) passou de amarelo-pálida para uma coloração laranja, alterando o espectro em um $\Delta\lambda$ de 68 nm, com um limite de detecção de 0,081 ppm. Com a presença concomitante de 0,5 equiv de Cu^{2+} a cor da solução mudou para verde e provocou um deslocamento de 50 nm com limite de detecção de 0,038 ppm. A seletividade do sistema está relacionada com o sítio doador de LH, devido às propriedades eletrônicas, principalmente relacionada à transição eletrônica relacionada com a transferência de carga $\pi_{imidazol} \rightarrow \pi^*$ antraquinona.

Figura 3. Rota proposta para a detecção de F^- para um quimiossensor cromogênico derivado da antraquinona.

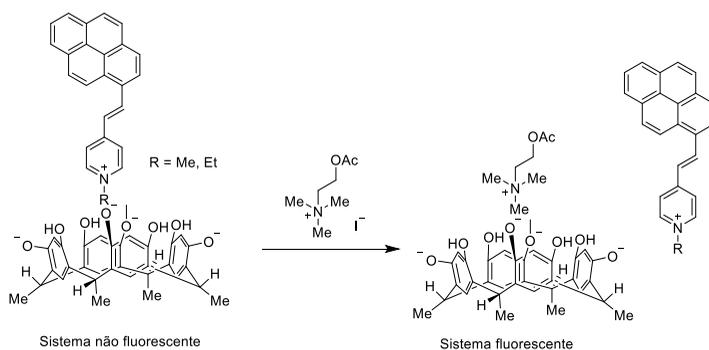


1.2.2 Quimiossensores baseados em ensaios de competição

O campo de detecção de analitos envolvendo ensaios de competição, também denominado como ensaios de deslocamento,

detecção. Em um dos estudos pioneiros envolvendo ensaios de competição, Inoue e Shinkai (Inouye, Kei-ichi Hashimoto et al. 1994) desenvolveram um método de detecção óptica para a acetilcolina, um neurotransmissor que atua na transmissão do impulso nervoso dos neurônios para as células musculares. Foi empregado um receptor do tipo calixareno derivado do resorcinol e o indicador escolhido foi um pireno modificado (**Figura 5**).

Figura 5. Mecanismo proposto para a detecção de acetilcolina por um quimiossensor derivado de calixareno, fundamentado na estratégia de competição.



Sistemas planejados com base nessa estratégia possuem a vantagem da reversibilidade, pois o receptor não se liga covalentemente ao indicador, podendo este último ser escolhido para a finalidade requerida após a síntese do receptor. Além disso, quimiossensores fundamentados em ensaios de competição apresentam bom desempenho em solventes orgânicos e alguns em meio aquoso, o que implica na possibilidade do uso de sistemas binários de solventes.

1.2.3 Quimiodosímetros

Com o crescente conhecimento de reconhecimento molecular em sistemas biológicos e artificiais, os dispositivos ópticos de detecção vêm se sofisticando de forma a serem mais facilmente projetados e executados com o máximo de eficiência. Uma alternativa às interações intermoleculares compreende a formação de ligações químicas

covalentes irreversíveis entre o dispositivo de detecção e o analito. O termo quimiodosímetro foi descrito por Chae e Czarnik (Chae and Czarnik 1992) como uma molécula abiótica utilizada para o reconhecimento de um analito com a transmissão irreversível da informação de um sinal.

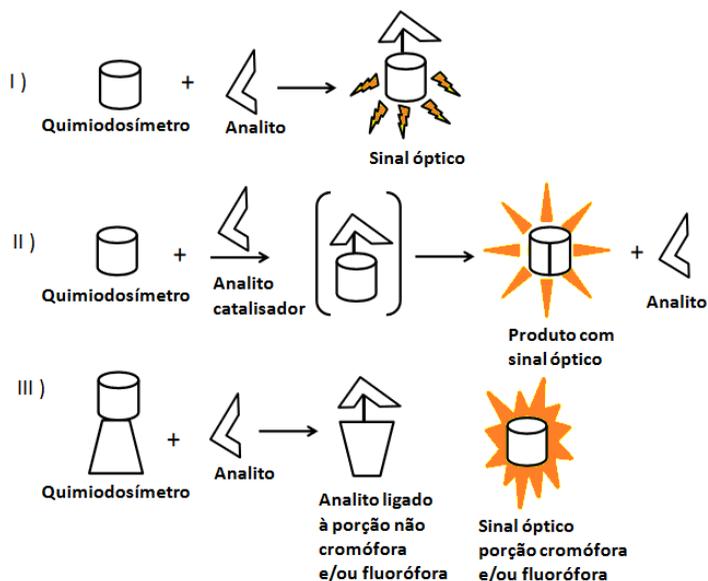
Assim, quimiodosímetros são sistemas ópticos de detecção, mas não são quimiossensores pelo fato de envolverem reações irreversíveis. Os dispositivos ópticos de detecção fundamentados nesses conceitos envolvem reações químicas irreversíveis monitoradas por processos de mudanças ópticas do sistema, refletindo uma resposta cumulativa diretamente proporcional à concentração do analito. (Quang and Kim 2010) Três modelos de quimiodosímetros (**Figura 6**) podem ser estabelecidos (Zimmermann-Dimer and machado 2008):

I) o analito pode se ligar covalentemente ao quimiodosímetro com propriedades cromogênicas e/ou fluorogênicas, gerando uma variação na cor ou na banda de emissão de fluorescência;

II) o analito interage com o quimiodosímetro, catalisando uma reação química que conduz à variação espectral;

III) o analito reage com o quimiodosímetro, liberando um grupo de saída cromogênico ou fluorogênico. Neste caso, um ânion que seja fortemente nucleofílico reage com algum grupo não cromóforo ligado à porção cromogênica latente do quimiodosímetro. Como resultado, o quimiodosímetro, que era incolor (ou colorido) ou não fluorescente, por reação com o analito libera um produto que apresenta uma coloração diferente da original em solução ou uma espécie fluorescente.

Figura 6. Representação geral para os três modelos de quimiossímteros.

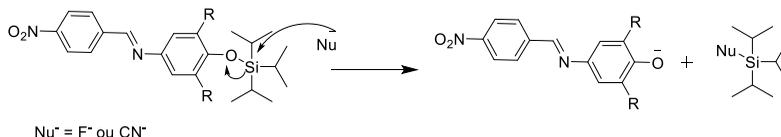


O interesse no planejamento e desenvolvimento de novos quimiossímteros tem sido extensamente explorado na literatura, em especial para F^- . Outro ânion de interesse na detecção é o CN^- , por apresentar uma grande toxicidade mesmo em quantidades pequenas, podendo ser letal devido a sua intervenção em várias funções metabólicas, incluindo sistema cardíaco, nervoso, renal, vascular e respiratório. Contudo, o CN^- é amplamente usado nas indústrias de mineração, papel, têxtil e de plásticos. (Leavesley, Li et al. 2008)

Recentemente, Nicoletti et al. (Nicoletti, Nandi et al. 2016) reportaram uma classe de quimiossímteros cromogênicos baseados em iminas e contendo grupamentos silil éter em sua estrutura molecular (**Figura 7**). Alguns desses derivados se mostraram mais seletivos para o CN^- quando comparados a F^- em sistemas binários de acetonitrila contendo 4% (v/v) de água. No entanto, quando o sistema estudado foi posto em acetonitrila pura, a seletividade do meio foi somente para o F^- . A adição de água ao sistema reduziu a nucleofilicidade de F^- , favorecendo o ânion CN^- devido ao menor raio de hidratação do CN^- ,

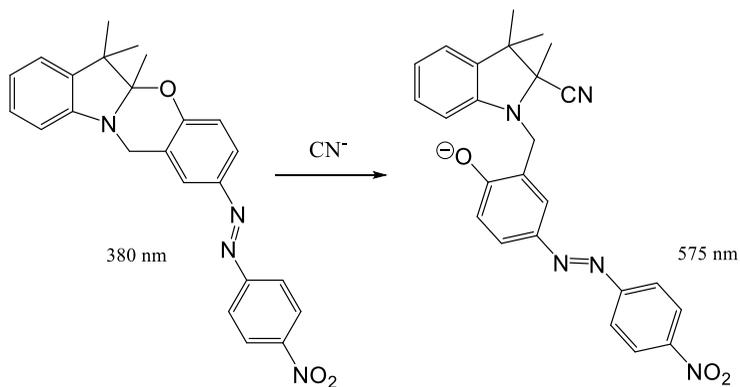
beneficiando o ataque nucleofílico deste íon ao centro eletrofílico de silício. Evidenciou-se assim que ocorre o ataque nucleofílico do F^- ou CN^- ao centro de silício do quimiossímulo, e que a reação procede via um mecanismo do tipo $S_N2@Si$ para a liberação de fenolatos coloridos. O mecanismo da reação proposto foi corroborado através de estudos cinéticos e por experimentos de RMN PGSE (spin-eco de gradiente pulsado, do inglês *Pulsed Gradient Spin Echo*).

Figura 7. Mecanismo proposto para o ataque nucleofílico de F^- e CN^- a derivados de iminas-silil éteres.



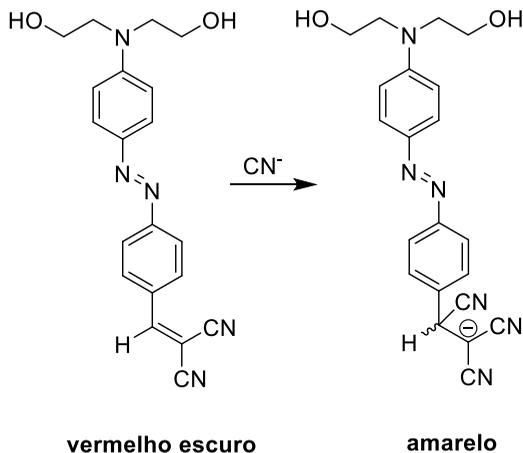
No mesmo segmento de detecção, Raymo e colaboradores (Tomasulo, Sortino et al. 2005) utilizaram compostos heterocíclicos para a detecção colorimétrica de CN^- . Este dispositivo quimiossímulo para CN^- tem como base uma reação irreversível de abertura do anel de um corante oxazínico (**Figura 8**). O planejamento dessas estruturas consistiu na fusão do anel benzoxazínico com a porção indólica em três etapas sintéticas a partir de precursores comerciais. O composto obtido (**A**, **Figura 8**) absorve em um λ_{max} de 380 nm. Na presença do CN^- , a molécula é convertida quantitativamente em um produto (**B**) que apresenta em sua estrutura molecular um grupo cianamínico e um grupo 4-nitrofenilazofenolato, sendo este último grupo responsável pelo λ_{max} verificado em 575 nm. A sensibilidade deste quimiossímulo em solvente orgânico ocorre na faixa de 1×10^{-3} mol L⁻¹, entretanto quando empregado um meio bifásico constituído de diclorometano e água, o limite de detecção do CN^- diminui para 1×10^{-6} mol L⁻¹.

Figura 8. Esquema reacional para a detecção de CN^- com corantes oxazínicos.



Um trabalho reportado na literatura por Cheng e colaboradores (Cheng, Zhou et al. 2012) envolveu a síntese de um azobenzeno utilizado para detecção seletiva de CN^- (**Figura 9**). Inicialmente a solução em acetonitrila do sensor apresenta coloração vermelha intensa com uma banda de absorção máxima no UV-vis de 515 nm. Após a adição do ion CN^- ocorre o aparecimento de uma banda de absorção em 435 nm e a solução torna-se amarela.

Figura 9. Um quimiodosímetro baseado na adição de cianeto em acetonitrila a um azobenzeno.



Outros estudos publicados na literatura mostram o potencial dos dispositivos quimiodosimétricos cromogênicos e/ou fluorogênicos para a detecção de forma qualitativa e quantitativa de cátions, ânions e moléculas neutras em diversas amostras biológicas, industriais e ambientalmente relevantes.(Reichard 1994, Zimmermann-Dimer and Machado 2009, Mohammadi, Dehghan et al. 2016)

1.3 IMPORTÂNCIA DAS ESPÉCIES ANIÔNICAS

Dentre a pluralidade de espécies que desempenham importante papel em áreas do conhecimento, como química, bioquímica e ciências ambientais, merecem destaque as espécies aniônicas (Schmidtchem 2006, Blackledge, Griesel et al. 2010). Esses analitos desempenham inúmeras funções nos processos biológicos, desde a manutenção do equilíbrio osmótico celular e o pH dos fluidos intersticiais mantidos pelo cloreto, até interações com macromoléculas como RNA e DNA (Grueso, Prado-Gotor et al. 2005, Harvey and Ferrier 2010). Na indústria, os ânions são largamente utilizados como oxidantes (íon cromato), conservantes alimentícios (nitrito) e medicamentos como

vasodilatadores (nitrato) (Kukovetz, Holzmann et al. 1987, Almerindo, Gaborim et al. 2017). A síntese de dispositivos para o reconhecimento dessas espécies está relacionada a características que levam em consideração a complexidade química desses analitos, tais como a sua topologia e natureza coulômbica. Comparativamente, os ânions podem apresentar uma maior variedade geométrica sendo que os ânions com geometria esférica, por exemplo, apresentam raios iônicos maiores que seus cátions isoeletrônicos, exigindo assim receptores apresentando sítios de reconhecimento com tamanho maior que os receptores catiônicos (Beer and Gale 2001, Suksai and Tuntulani 2003). Ademais, muitas espécies aniônicas dependem do pH do meio para existirem (Gale and Quesada 2006, Schmidtchem 2010).

Amplamente reconhecido por sua toxicidade, o íon CN^- apresenta grande relevância no interesse em desenvolvimento de dispositivos de detecção. (Ma and Dasgupta 2010, Nandi, Nicoletti et al. 2017) A sua popularidade como espécie letal pode ser verificada no emprego por vilões em literatura e filmes policiais, e pela fatalidade em tragédias que culminaram no óbito de centenas de pessoas como o incêndio no interior de uma boate em Santa Maria, Rio Grande do Sul. Naquela tragédia, o gás tóxico cianeto de hidrogênio (HCN) foi liberado pela queima da espuma de poliuretano que revestia a boate.

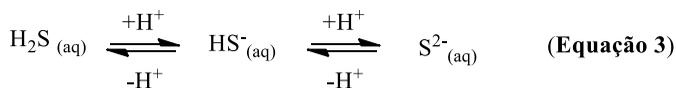
De fato o CN^- é extremamente letal mesmo em baixas concentrações, Por ingestão, a dose letal varia de 0,5 a 3,5 mg kg^{-1} (cianeto/massa corpórea) e, por inalação, a concentração crítica desse íon está em torno de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ar. A OMS estabeleceu o limite de detecção de 0,07 mg L^{-1} no abastecimento de água potável (Organization 2003). A toxicidade do CN^- é atribuída ao complexo formado entre ele e o íon férrico (Fe^{3+}) presente no sítio ativo de enzimas, como a citocromo-oxidase, o que perturba assim no processo de transporte de elétrons e interfere na capacidade dos tecidos para utilizar o oxigênio, ocasionando em disfunção celular e morte. (Hamel 2011) Os cianetos são ocasionalmente encontrados como contaminantes na água potável e em consequência do seu uso em processos industriais (Donato, Nichols et al. 2007).

A regulamentação normatizada pela ABNT para determinação de CN^- em amostras de água inclui os métodos colorimétrico e titulométrico, sendo o primeiro empregado para baixas concentrações (0,02 mg kg^{-1} de CN^- a 1 mg kg^{-1} de CN^-), e o último para a faixa mais elevada. (ABNT 1999) Esses métodos exigem etapas prévias de destilação para evitar interferências e empregam reagentes como

piridina e ácido barbitúrico, entre outros, considerados de manuseio extremamente perigoso pela sua elevada toxicidade.

O sulfeto é um ânion biologicamente e ambientalmente importante pois é amplamente utilizado em processos industriais como na produção de enxofre, ácido sulfúrico, corantes e cosméticos.(Zaman and Chakma 1995, Jiménez, Martínez-Máñez et al. 2003) A maior parte de sulfeto presente nas águas e no ar é derivada de fontes naturais e processo industrial. Este ânion pode ser incorporado ao ecossistema por meio de redução microbiana de sulfato por bactérias anaeróbicas ou produzido a partir de aminoácidos contendo enxofre. O forte odor do sulfeto é perceptível em algumas águas subterrâneas, dependendo da fonte mineralógica e microrganismos presentes. A exposição em curto prazo pode causar vômitos e dor epigástrica após a ingestão. O sulfeto pode, a longo prazo e em baixas concentrações, causar irritação na mucosa, doenças crônicas e doenças do trato respiratório, sangue, olhos, pele e sistema digestivo (Titova, Borisova et al. 2009, Wang , Li et al. 2014). As formas protonadas, HS^- ou H_2S , são mais tóxicas que o próprio S^{2-} . Em baixa concentração, o H_2S pode causar tontura, enquanto em uma concentração mais alta ocorre perda de consciência, dano permanente dos tecidos cerebrais ou até mesmo a morte por asfixia.(Li and Lancaster 2013) O sulfeto protonado também pode contribuir para a obesidade e doenças como as doenças de Parkinson e Alzheimer (Eto, Asada et al. 2002, Paul and Snyder 2012, Kolluru, Shen et al. 2013, Lewis and Copley 2014). O limite de detecção de sulfeto na água potável estabelecido pela OMS está entre $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ ($1,56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ($3,13 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) (Organization 2003).

A forma que o sulfeto é encontrado está intrinsecamente relacionada ao pH do meio(Li and Lancaster 2013). H_2S é um ácido fraco, sendo que em solução aquosa os ânions HS^- e S^{2-} encontram-se em equilíbrio, conforme representado pela **Equação 3**.



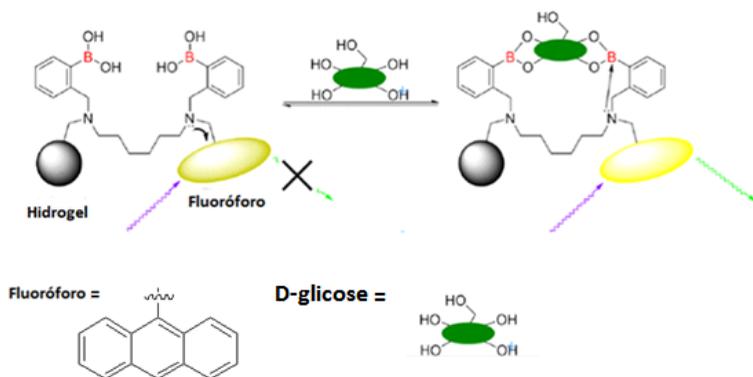
A literatura apresenta diferentes métodos de detecção de sulfeto e CN^- mas métodos mais sensíveis para a detecção desses ânions em meio aquoso e em sistemas biológicos são de grande interesse(De Rosa and Litton 1991, Amine, Alafandy et al. 1995, Lawrence, Davis et al. 2000,

Jiménez, Martínez-Máñez et al. 2003, Ma and Dasgupta 2010, Cheng, Zhou et al. 2012, Kaur, Saini et al. 2012, Cui, Liu et al. 2013, Kuyucak and Akcil 2013, Nandi, Nicoletti et al. 2014, Attar, Cubillana-Aguilera et al. 2015, Guerra, Lindner et al. 2015, Li, Yin et al. 2015, Cheng, Wu et al. 2016, Gale and Caltagirone 2018).

1.4 DISPOSITIVOS ÓPTICOS DE DETECÇÃO DE ANALITOS NEUTROS

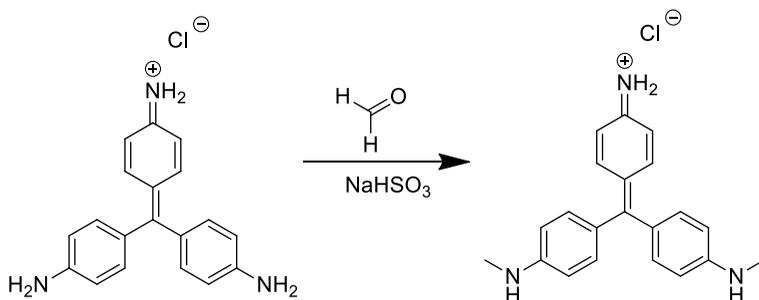
O desafio na construção de dispositivos para a detecção de analitos neutros envolve a química supramolecular em um patamar de maior complexidade, no qual a arquitetura dos receptores abrange cuidadosamente o planejamento da transmissão da informação desejada. (Mohr 2004) A detecção seletiva em moléculas neutras, como sacarídeos, foi explorada por James e colaboradores. (Tony D. James, K. R. A. Samankumara Sandanayake et al. 1994) O estudo de detecção envolveu o mecanismo de PET, com uma molécula apresentando grupos do tipo ácido fenilborônico e grupos aminos posicionados para promover uma ligação eficiente com sacarídeos em pH fisiológico (**Figura 10**). (Crane BC, Barwell NP et al. 2015, Kolesnichenko and Anslyn 2017) Quando o sacarídeo se liga ao ácido borônico, o par de elétrons que está no orbital livre não ligante do grupo amino se envolve na ligação com o átomo de boro, interrompendo assim a PET, levando por consequência o sistema a emitir fluorescência. O teste com este composto mostrou uma vasta melhoria na precisão do monitoramento da glicemia em relação a métodos convencionais.

Figura 10. Detecção de *D*-glicose por derivados do ácido borônico. Adaptado de [34].



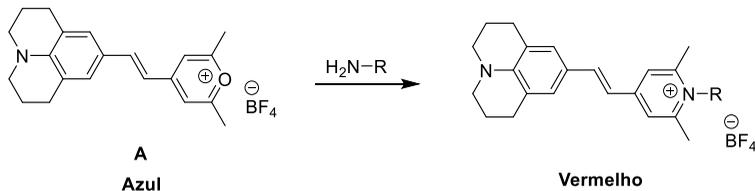
A detecção óptica do formaldeído foi reportada por Narayanaswamy e Baker, (Baker and Narayanaswamy 1994) através do desenvolvimento de um quimiossensor baseado no corante pararrosanilina (**Figura 11**). O indicador colorimétrico foi imobilizado em uma resina de troca catiônica (Amberlite) e em uma matriz polimérica (fosfato de celulose). O sistema imobilizado corante–resina Amberlite requereu condições ácidas e adição de sulfito para a detecção seletiva do formaldeído. No entanto, a formação concomitante do isômero cancerígeno *bis*(clorometil) sob tais condições impediu uma investigação mais aprofundada desse sistema. Pararrosanilina imobilizada na matriz de fosfato celulose foi capaz de responder seletivamente ao formaldeído sem requerer a adição de sulfito como desenvolvedor cromogênico. Esse sistema imobilizado demonstrou uma resposta linear de 50–2500 μg para o formaldeído, com um coeficiente de correlação de 0,997.

Figura 11. Representação da reação entre pararrosanilina (coloração magenta) com o formaldeído para gerar o corante violeta de metila (coloração púrpura). [75]



Moléculas eletricamente neutras como as aminas, possuem um interesse no que se refere a sua detecção óptica, pois implicam diretamente na análise de uma variedade de moléculas biologicamente relevantes. O grupo de pesquisa de Wolfbeis (Wetzl, Yarmoluk et al. 2004, Hoefelschweiger, Duerkop et al. 2005) tem se dedicado na construção de sondas ópticas que atuem de forma seletiva na detecção de aminas. Os autores desenvolveram quimiossímios ópticos baseados em sais de pirílio especialmente planejados (**Figura 12, A**), para a detecção, inicialmente de proteínas e peptídeos, e posteriormente para aminas alifáticas primárias simples. O corante 2,6-dialquilpirílio (**A**), após a interação com aminas primárias, apresenta uma mudança de coloração do azul para o vermelho, acompanhado pelo deslocamento da banda máxima de excitação de 611 nm para 503 nm e de emissão de 665 nm para 602 nm. Entretanto, o sistema de detecção **A** não mostrou seletividade no que concerne às diferenças no tamanho da cadeia das aminas, o que direciona a sua aplicação para aminas marcadas em proteínas.

Figura 12. Detecção de aminas primárias alifáticas por meio de um sal de pirílio.



1.5 AGENTES ALQUILANTES: APLICAÇÕES E IMPORTÂNCIA DE SUA DETECÇÃO

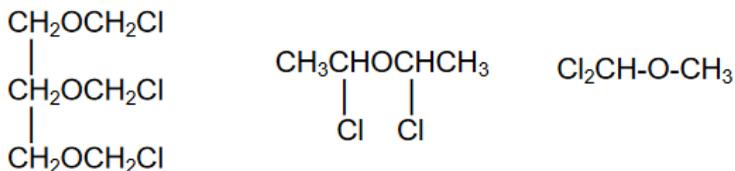
Os impactos da demanda social contemporânea influenciam diretamente nos processos biológicos, ambientais e industriais. Grande parte dos substratos utilizados nos mais diversos procedimentos, caso sejam bioacumuláveis, é danosa aos organismos. Dentre os mais diversos analitos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana, os agentes alquilantes apresentam um grande interesse na sua detecção em virtude da variedade de aplicações dessas espécies. (Postal, Maluf et al. 2016)

Os agentes alquilantes têm sido amplamente utilizados em uma gama de aplicações como solventes, materiais de partida em sínteses, tratamentos têxteis e pesticidas. Como intermediários químicos, estes são aplicados na fabricação de corantes, polímeros, resinas de troca iônica, fármacos e outros produtos químicos. Além disso, esses agentes podem ser formados como subprodutos de indústrias químicas em inúmeros processos. As principais fontes de contaminações podem ocorrer na exposição profissional nos processos de fabricação, manipulação e aplicação desses materiais. No entanto, para a população em geral, pode ocorrer como resultado da ingestão de água contaminada ou de forma indireta pelo uso de fármacos. (Helleday, Petermann et al. 2008, Lamoureux and Agüero 2009)

Estudos envolvendo éteres de cloroalquila foram realizados e estas estruturas foram submetidas a uma avaliação toxicológica pelo Comitê de Identificação Carcinogênica (CIC). Os resultados identificaram, durante o período preliminar de avaliação, evidências suficientes de propensão ao câncer de pulmão e outras patologias em trabalhadores expostos a éteres de cloroalquila. Algumas de suas estruturas moleculares estão representadas na **Figura 13**. Os riscos à saúde ligados a essas espécies foram desde o aumento de papilomas

epiteliais a tumores malignos.(LM, RJ et al. 1983, Agency and EPA) 1994)

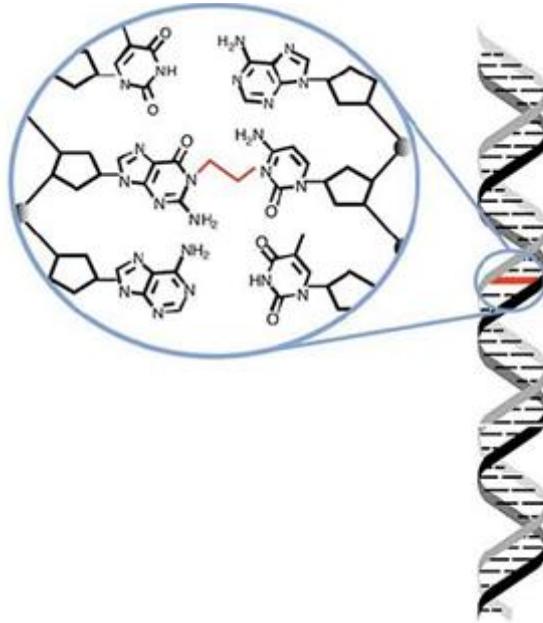
Figura 13. Estruturas moleculares de alguns éteres de cloroalquila carcinogênicos.



Muitos fármacos requerem durante o seu processo de síntese para a incorporação de blocos de construção em sua estrutura molecular a utilização de agentes alquilantes. Além disso, muitos medicamentos têm como mecanismo de ação o próprio princípio da alquilação de bioestruturas para produzir o efeito farmacológico desejado. Neste último caso estão englobados alguns fármacos empregados no tratamento terapêutico do câncer. (Mishina, Duguid et al. 2006)

A terapia do câncer geralmente envolve a exposição do organismo a agentes que matam as células cancerígenas de forma mais eficiente do que as células que compõem o tecido saudável. O principal alvo crítico de fármacos antineoplásicos alquilantes, principalmente agentes de clorometilação e cloroetilação, é o DNA. As lesões causadas pela alquilação do DNA (**Figura 14**) desencadeiam um mecanismo de reparação pela enzima alquiltransferase, levando a processos secundários que fazem ocorrer a apoptose mitocondrial.(Helleday, Petermann et al. 2008) Por conseguinte, a análise quantitativa desses agentes alquilantes é de profundo interesse para o monitoramento da pureza desses compostos, bem como em amostras biológicas e ambientais.

Figura 14. Representação geral da interação do DNA com agentes alquilantes.



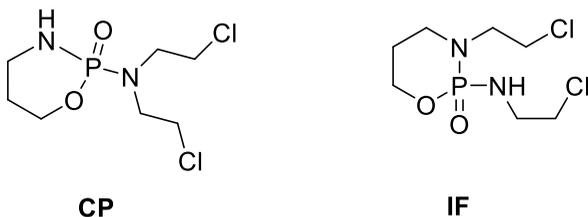
1.5.1 AGENTES ALQUILANTES ANTINEOPLÁSICOS

Agentes antineoplásicos são fármacos que atuam para destruir neoplasmas, dessa forma evitam ou inibem o crescimento e a disseminação de tumores.(Malothu, Veldandi et al. 2009, Sanson, Silva et al. 2011) Dessa forma, os agentes antineoplásicos são utilizados em tratamentos quimioterápicos. No entanto, afetam não só as células cancerígenas, mas também devido a sua menor seletividade interferem na reprodução de células saudáveis. Atualmente, de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC), nove agentes alquilantes antineoplásicos são classificados como carcinogênicos a humanos.(Sanson, Silva et al. 2011)

Nesse cenário, a ciclofosfamida (**CP**; **Figura 15**) se destaca como um dos agentes alquilantes antineoplásicos mais utilizados.(Kennedy, Groepper et al. 2010) Devido as suas propriedades

imunossupressoras, o fármaco também é empregado no tratamento de doenças autoimunes e nos transplantes de medula óssea e renal. **CP** é um pré-fármaco que predominantemente tem sua ativação metabólica inicial no fígado pela enzima do citocromo P450. Após a ativação da **CP** pelas enzimas hepáticas, o metabólito intermediário ativo formado passa a formar ligações do tipo covalentes com o DNA e proteínas, induzindo a morte celular. A **CP** é usualmente administrada em combinação com outro agente alquilante antineoplásico, como a isofosfamida (**IF**), **Figura 15**, devido ao efeito sinérgico apresentado pelas duas espécies em conjunto. A administração desses fármacos é utilizada no tratamento de doenças malignas como leucemia, linfomas e uma variedade de sarcomas do tecido ósseo.(Siddappa, Hanamshetty et al. 2013)

Figura 15. **Representação química estrutural dos agentes alquilantes antineoplásicos CP e IF.**



Alguns métodos têm sido descritos na literatura para a análise quantitativa de agentes alquilantes antineoplásicos. Entretanto, esses métodos requerem a utilização de técnicas espectroscópicas analíticas que envolvem um alto custo ou o uso de espécies complexas. O limite de quantificação para a técnica de HPLC com variados detectores foi de 1 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e para UPLC-MS/MS de 0,10 a 0,80 ng mL^{-1} .(Said, Hassan et al. 2008, Ferrando-Climent, Rodriguez-Mozaz et al. 2013, Lekskulchai 2016)

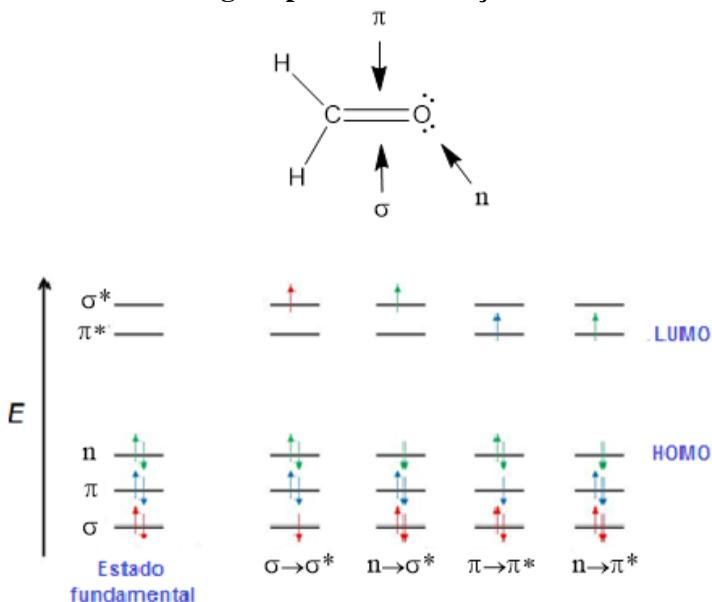
1.6 TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS

Um salto quântico, também chamado de transição eletrônica, corresponde à promoção de um elétron de um orbital de menor energia, no estado fundamental, para um orbital não ocupado de maior energia, por meio da absorção de fótons. O estado de maior energia é chamado de estado excitado. O retorno do elétron no estado excitado para o estado de menor energia pode levar à luminescência, que consiste na emissão de fótons na região ultravioleta, visível ou infravermelho. (VALEUR, 2001; PAVIA et al., 2010)

A compreensão dos fenômenos de luminescência através das transições eletrônicas é descrita em função do tipo de orbitais envolvidos. Dessa forma, considerando-se possíveis combinações de orbitais atômicos do tipo s e do tipo p, os orbitais moleculares formados resultantes da soma das funções de onda de (a) um orbital atômico s e um orbital atômico p, (b) dois orbitais atômicos s, ou (c) dois orbitais atômicos p segundo um eixo de simetria colinear, caracterizam os orbitais moleculares σ (ligante) e σ^* (antiligante). A sobreposição lateral de dois orbitais atômicos p resulta nos orbitais moleculares π (ligante) e π^* (antiligante). Um orbital do tipo n corresponde aos pares de elétrons não ligantes presentes em um heteroátomo, como por exemplo, átomos de oxigênio ou nitrogênio. (VALEUR, 2001; PAVIA et al., 2010)

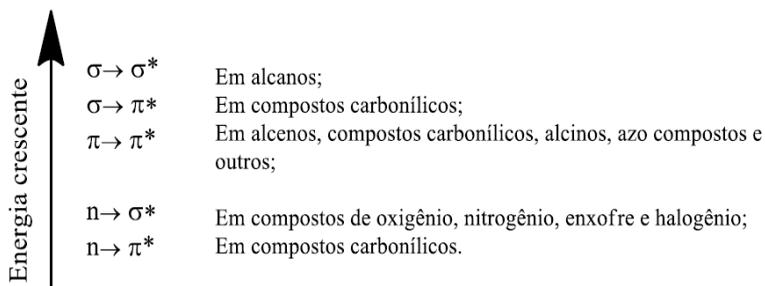
Os níveis energéticos e as possibilidades de transições eletrônicas de uma molécula orgânica como o formaldeído estão representados na **Figura 16**. As transições eletrônicas de maior contribuição são correspondentes ao orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) para o orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO), podendo ser do tipo: π - π^* , n- π^* , σ - σ^* , σ - π^* e n- σ^* . (VALEUR, 2001; PAVIA et al., 2010)

Figura 16. Níveis de energia e possíveis transições eletrônicas.



As interações dos átomos e ou moléculas também podem ser descritas a partir de um cromóforo, a parte ou conjunto de átomos de uma molécula, chamados de grupos funcionais orgânicos que absorvem na região do ultravioleta ou visível. Ao absorver energia esses elétrons dos grupos cromóforos são excitados a um nível energético maior e ao retornarem ao estado fundamental emitem essa radiação, e dependendo do comprimento de onda da energia transmitida, apresentarão uma coloração específica. A absorção de energia desses grupos ocorre devido à excitação de elétrons em orbitais moleculares ligantes, sendo que diversas transições com diferentes energias podem ocorrer pela presença de diferentes grupos orgânicos absorventes, conforme pode ser observado na **Figura 17**.

Figura 17. **Transições eletrônicas de compostos orgânicos.**



Em uma abordagem quântica, o elétron excitado através da absorção de um fóton para um nível mais energético apresenta um estado eletrônico composto por diferentes níveis vibracionais e rotacionais. Dependendo da energia, absorvida o elétron pode ser excitado para diferentes níveis vibracionais e rotacionais, o que se relaciona com a forma que a energia é emitida quando o elétron retorna para o estado fundamental. (VALEUR, 2001; PAVIA et al., 2010)

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Em consonância com a breve introdução supracitada, este projeto tem como objetivo desenvolver dispositivos de detecção de espécies eletricamente carregadas e analitos neutros, mais especificamente dos ânions CN^- e sulfeto, e para agentes alquilantes, para serem aplicados em solução

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A) Detecção aniônica:

I) Sintetizar um corante contendo em sua estrutura o ácido de Meldrum e o grupo pirenil;

II) caracterizar o composto sintetizado, utilizando as técnicas espectrométricas de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e massas de alta resolução;

III) investigar o potencial do composto sintetizado para atuar como dispositivo de detecção cromogênico através da estratégia quimiodosimétrica para a detecção de CN^- em CH_3CN e CN^- e sulfeto em meio aquoso;

IV) investigar o potencial do composto sintetizado como um quimiodosímetro cromogênico para a detecção seletiva de CN^- em meio aquoso;

V) determinar a estequiometria da interação quimiodosímetro:analito para as estratégias estudadas;

VI) estudar os sistemas para possíveis aplicações de detecção em amostras reais;

VII) investigar o potencial do composto sintetizado como quimiodosímetro para detecção fluorogênica para a detecção de CN^- em mistura CH_3CN com água.

B) Detecção dos analitos neutros:

- I)** Sintetizar uma série de corantes contendo o grupo piridina;
- II)** sintetizar derivados alquilados dos corantes contendo o grupo piridina;
- III)** caracterizar as moléculas sintetizadas utilizando técnicas espectrométricas de RMN de ^1H e ^{13}C e massas de alta resolução;
- IV)** avaliar as propriedades espectroscópicas dos compostos sintetizados frente às técnicas de UV-vis e de fluorescência;
- V)** verificar o potencial dos corantes para atuarem como quimiosímetros cromogênicos diante de um agente alquilante;
- VI)** determinar o limite de quantificação e limite de determinação da interação quimiosímetro:analito.

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Os solventes e reagentes empregados nas sínteses, purificações e caracterizações foram de pureza analítica e foram adquiridos de fontes comerciais (Sigma–Aldrich, Vetec e Synth). CH₃CN (Sigma–Aldrich, grau HPLC), etanol (Vetec) e acetona (Synth) foram purificados de acordo com o procedimento descrito na literatura e armazenados em peneira molecular (4 Å, Sigma–Aldrich). A água deionizada usada nos testes foi fervida e mantida em uma atmosfera de nitrogênio para evitar a presença de gás carbônico.

Para o acompanhamento das reações foram utilizadas placas de cromatografia em camada delgada (CCD) (Macherey–Nagel) e uma lâmpada de UV para revelação. Nas purificações por coluna cromatográfica utilizou-se sílica gel 60 (70–230 mesh; Macherey–Nagel).

Os ânions estudados (HSO₄⁻, H₂PO₄⁻, NO₃⁻, CN⁻, CH₃COO⁻, F⁻, Cl⁻, Br⁻ e I⁻) foram usados na forma de sais de tetra-*n*-butilamônio com uma pureza superior a 95–99%. Os sais foram adquiridos da Fluka (Cl⁻, > 98%; NO₃⁻, > 97%;), Vetec (Br⁻, > 99%; I⁻, > 99%; HSO₄⁻, > 99%) e Sigma–Aldrich (H₂PO₄⁻, > 99%; CN⁻, > 95%; CH₃COO⁻, > 97%; F⁻, > 98%). Estes foram armazenados em dessecador a vácuo, na presença de pentóxido de fósforo. Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), Pb(NO₃)₂, > 99%; Na₂S (nona-hidratado, > 98%) e NaN₃, > 99%; foram adquiridos da Sigma–Aldrich.

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

Os pontos de fusão foram medidos em um aparelho de medição de ponto de fusão da marca Didática SP (modelo MQAPF–302) e não foram corrigidos.

Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram realizados na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC em um espectrômetro modelo Varian NMR AS-400 MHz, marca Varian e NMR 200 MHz, modelo AC-200, marca Bruker Avance a 25 °C, em um tubo de 5 mm. Os deslocamentos químicos são expressos em partes por milhão (ppm) em relação ao TMS, sendo as constantes de acoplamento (*J*) apresentadas em Hertz (Hz).

O espectro no IV também foram obtidos junto à Central de Análises do Departamento de Química da UFSC em um espectrofotômetro ABB FTLA 2000 da marca ABB, e a amostra foi preparadas na forma de pastilhas de KBr.

As análises de HRMS foram realizadas no aparelho MicrOTOFQII 10243, Bruker, equipado com fonte de ionização por electrospray (ESI) e analisador quadrupolo-tempo de vôle, localizado no Laboratório Central de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME).

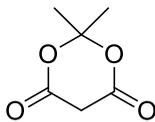
As medidas de UV-vis foram realizadas em um espectrofotômetro de UV-vis de arranjo de diodo da Hewlett Packard, modelo 8452A e um espectrofotômetro Cary 60 da Agilent Technologies. A termostatização das cubetas foi feita usando-se um banho de água termostatizado Micro Química MQBTC 99-29. Foram utilizadas cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico, fechadas com septo de borracha para evitar a volatilização do solvente.

As medidas de pH foram realizadas a $25,0 \pm 0,1$ °C usando um pHmetro Beckman modelo ϕ 71, com um eletrodo de vidro combinado. O pHmetro foi calibrado previamente com soluções padrões com pH = 7,0, pH = 4,0 e pH = 10,0.

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos utilizando espectrofluorímetro modelo Hitachi F4500 equipado com uma cela termostatizada a $25,0 \pm 0,1$ °C.

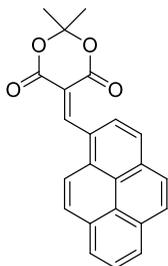
3.3 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

3.3.1 Preparação da 2,2-dimetil-5-(piren-1-ilmetileno)-1,3-dioxano-4,6-diona (1)



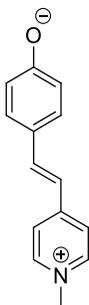
Ácido de Meldrum (**2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-dieno**): Em uma suspensão de ácido malônico (10,0 g; 0,0961 mol) em anidrido acético (11,0 mL; 0,1165 mol) e sob agitação adicionou-se ácido sulfúrico (0,3 mL). A solução foi resfriada em banho de água-gelo, e adicionou-se acetona gota-a-gota (7,6 mL; 0,1035 mol) numa razão em que a temperatura da mistura reacional não excedesse 0 °C. Após a adição da acetona, a solução final foi agitada por 30 min, e depois mantida em um refrigerador por 24 h. O sólido formado foi filtrado por sucção em funil

de Büchner, lavado com água gelada e recristalizado em acetona (15 mL) e água destilada (30 mL), sendo a solução deixada em um refrigerador durante 24 h. Os cristais transparentes foram filtrados por sucção em funil de Büchner e lavados com água gelada. O produto obtido foi seco em um dessecador sob vácuo. O produto foi obtido com 30% de rendimento; p.f. obtido: 95–96 °C; p.f. da literatura: 94–95 °C (Davidson and Bernhard 1948).



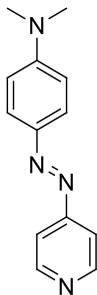
Composto 1: Uma mistura de ácido de Meldrum (0,25 g, 1,74 mmol) e pireno-1-carbaldeído (0,4 g; 1,74 mmol) em etanol foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h. Em seguida, o precipitado foi removido por filtração sob vácuo e seco. O sólido obtido foi subsequentemente recristalizado utilizando etanol. O produto foi obtido na forma de um sólido de cor alaranjada com rendimento de 44%, com ponto de fusão obtido experimentalmente de 195–197 °C . IV (KBr, $\bar{\nu}_{max}/cm^{-1}$): 2992, 1764 e 1735 (C=O), 1593, 1379, 1289, 1199, 1001, 928; RMN de 1H (CDCl₃, 400 MHz) \square /ppm: 9,51 (*s*, 1H), 8,48 (*d*, 1H, *J* = 8,2 Hz), 8,31–8,01 (*m*), 1,91 (*s*, 6H); RMN de ^{13}C (CDCl₃, 100 MHz) \square /ppm: 163,17, 159,98, 156,28, 134,93, 131,72, 130,92, 130,36, 130,21, 129,83, 128,73, 127,28, 127,08, 126,99, 126,51, 125,52, 124,36, 124,17, 122,64, 115,05, 104,67, 27,85; . HRMS ESI (+), C₂₃H₁₆O₄, [M+Na]⁺: teórico m/z = 379,0941, experimental m/z 379,0947.

3.3.2 Preparação dos derivados da merocianina de Brooker



(E)-4-(2-(1-metilpiridin-1-ium-4-il)vinil)fenolato (MB): Em um balão reacional 28,4 g (0,2 mol) de iodeto de metila foram vagarosamente adicionados a uma solução, em banho de gelo, de 18,6 g (0,19 mol) de γ -picolina em 20 mL de 2-propanol, e então a mistura foi aquecida em refluxo por 2 h. Após esse período a mistura reacional foi resfriada e cristais amarelos foram obtidos e ao término de duas recristalizações utilizando álcool

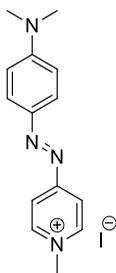
etílico foram obtidos 28,4 g (61%) do precursor iodeto de 1,4-dimetilpiridínio. Em um balão reacional 28,4 g (0,12 mol) de iodeto de 1,4-dimetilpiridínio, 14,5 g (0,12 mol) de 4-hidroxibenzaldeído e 10 mL (0,10 mol) de piperidina foram dissolvidos em 150 mL de etanol anidro e aquecidos em refluxo por 24 h. A mistura reacional foi resfriada e obteve-se um sólido vermelho que foi filtrado. O sólido filtrado foi suspenso em 700 mL de solução 0,2 mol L⁻¹ de hidróxido de potássio e aquecido por 30 min. Após esse ínterim a solução foi resfriada e foram obtidos cristais vermelho-azulados do produto, que após recristalização com água forneceram 22 g (87%) do produto desejado. P.f. obtido: 220 °C; p.f. literatura 220 °C (Morley, Morley et al. 1998) RMN de ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ/ppm: 3,93 (s, 3H); 6,13 (d, 2H, J = 8,8 Hz); 6,52 (d, 1H, J = 15,2 Hz); 7,29 (d, 2H, J = 8,4 Hz); 7,56 (d, 2H, J = 6,8 Hz); 7,67 (d, 1H, J = 15,6 Hz); 8,18 (d, 2H, J = 6,8 Hz). RMN de ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz): δ/ppm 154,00, 152,15, 144,65, 142,30, 130,38, 122,88, 122,43, 117,50, 112,34, 47,01.



(E)-N,N-dimetil-4-(piridin-4-diazenil)anilina (2):

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,5 g (5,3 mmol) de 4-aminopiridina e 10 mL de ácido tetrafluorobórico (HBF₄) e com o auxílio de um banho de gelo resfriou-se o sistema a 0 °C. Foi então adicionada, lentamente, com o auxílio de um funil de adição uma solução aquosa de NaNO₂ (0,5 g em 2 mL de água), mantendo-se a temperatura entre 0-5 °C. A solução resultante foi mantida sob agitação magnética por 1 h. Após esse período adicionou-se lentamente a N,N-dimetilanilina (1,30 mL; 10 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 30 min. Adicionaram-se pastilhas de NaOH até a neutralidade e obteve-se um sólido escuro que foi filtrado e purificado por coluna cromatográfica de sílica com eluente *n*-hexano/acetato de etila (1:1). O

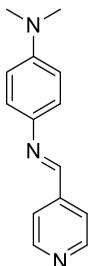
produto obtido apresentou coloração vermelho–escura. Rendimento de 28% (0,334 g) p.f. experimental: 209 °C; p.f literatura: (Royo, Costero et al. 2011) 210 °C. RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ /ppm: 3,15 (*s*, 6H); 6,77 (*d*, 2H, $J = 9,6$ Hz); 7,70 (*d*, 2H, $J = 6,4$ Hz); 7,93 (*d*, 2H, $J = 9,2$ Hz); 8,72 (*d*, 2H, $J = 6,0$ Hz). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ /ppm: 158,70, 153,71, 149,89, 143,71, 126,36, 116,40, 111,50, 40,31. HRMS ESI (+), $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4$, $[\text{M}+\text{H}]^+$: teórico $m/z = 227,1291$, experimental $m/z = 227,1292$.



Iodeto de (E)-4-(4-(dimetilamino)fenil)diazenil)-1-metilpiridínio

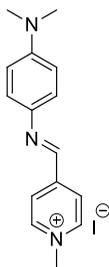
(2b): Em um balão de fundo redondo foram adicionados o composto **2** (90 mg; 0,4 mmol), iodeto de metila (0,114 mg; 0,8 mmol) e 2 mL de acetonitrila. A mistura reacional foi levada a refluxo

por 3 h. Após esse período o solvente foi removido sob vácuo e o sólido resultante foi filtrado e lavado com etanol gelado. O produto obtido apresentou coloração vermelho–escura. Rendimento de 94% (90 mg) RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ /ppm: 3,29 (*s*, 6H); 4,54 (*s*, 3H); 6,83 (*d*, 2H, $J = 9,6$ Hz); 7,98 (*d*, 2H, $J = 9,2$ Hz); 8,10 (*d*, 2H, $J = 7,2$ Hz); 8,92 (*d*, 2H, $J = 6,8$ Hz). HRMS ESI (+), $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_4^+$: teórico $m/z = 241,1448$, experimental $m/z = 241,1449$.



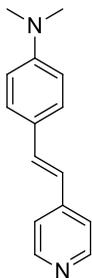
(E)-N,N-dimetil-N-(piridin-4-metileno)benzeno-1,4-diamina (3): Em um erlenmeyer adicionaram-se 15 mL de *N,N*-dimetilanilina (110 mmol; 13,32 g), e com o auxílio de um banho de gelo o sistema foi resfriado a 0 °C. Sob agitação magnética foram adicionados lentamente 40 mL de HCl concentrado. Paralelamente, em um béquer, preparou-se uma solução aquosa de nitrito de sódio (10 g em 15 mL de água). Esta foi adicionada à *N,N*-dimetilanilina, mantendo-se a temperatura entre 0–5 °C. Após a completa adição das duas soluções deixou-se o sistema em repouso por 1 h e um sólido foi formado, o qual foi filtrado e obtiveram-se 8 g de um sólido amarelo. Para a redução da *N,N*-dimetil-*p*-nitrosoanilina: Em um balão de fundo redondo adicionou-se a *N,N*-dimetil-*p*-nitrosoanilina obtida (1,5 g; 9,98 mmol), estanho granulado (3,14 g), HCl concentrado (10 mL) e etanol (15 mL). A mistura reacional foi mantida em refluxo por 1,5 h. Ao final desse período obteve-se um sólido de coloração esbranquiçada, o qual se referiu ao produto complexado com sal de estanho. Dissolveu-se este sólido em água e adicionou-se CaCO₃ para que a solução atingisse pH 10 e extraiu-se a 4-amino-*N,N*-dimetilanilina com acetato de etila. O solvente foi removido sob vácuo e obteve-se um líquido de coloração amarelada, o qual foi utilizado em seguida para a próxima etapa reacional, devido à fácil oxidação deste intermediário. b) Formação do composto 2. Em um balão de fundo redondo adicionou-se aproximadamente 1 mL (7 mmol) de 4-amino-*N,N*-dimetilanilina e 1,2 mL de 4-piridinacarboxaldeído (12,7 mmol, 1,36 g) e uma gota de ácido

acético como catalisador. Esta mistura foi deixada sob agitação magnética à temperatura ambiente por 24 h. Ao término desse período obteve-se um sólido amarelo, que foi filtrado e lavado com etanol gelado. Rendimento de 60% (0,945 g). p.f. experimental: 200 °C; p.f. literatura: (Wong and Wong 1999) 197–198 °C. RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ /ppm: 3,02 (s, 6H); 6,75 (dd, 2H, $J^1 = 2,4$ Hz, $J^2 = 6,8$ Hz); 7,34 (dd, 2H, $J^1 = 2,0$ Hz, $J^2 = 6,8$ Hz); 7,73 (dd, 2H, $J^1 = 1,6$ Hz, $J^2 = 4,4$ Hz); 8,50 (s, 1H); 8,71 (dd, 2H, $J^1 = 1,6$ Hz, $J^2 = 4,4$ Hz). RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ /ppm: 152,08, 150,32, 150,28, 143,71, 139,20, 122,86, 121,88, 112,52, 40,54. HRMS ESI (+), $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3$, $[\text{M}+\text{H}]^+$: teórico $m/z = 226,1319$, experimental $m/z 226,1336$.

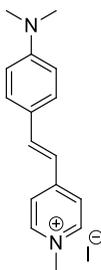


Iodeto de (E)-4-(4-(dimetilamino)fenil)imino)metil-1-metilpiridínio (3b).

Em um balão de fundo redondo foram adicionados o composto **3** (90 mg; 0,4 mmol), iodeto de metila (0,11 4mg; 0,8 mmol) e 2 mL de acetonitrila. A mistura reacional foi levada a refluxo por 3 h. Após esse período o solvente foi removido sob vácuo e o sólido resultante foi filtrado e lavado com etanol gelado. O produto obtido apresentou coloração violeta escura. Rendimento de 93% (91 mg). RMN de ^1H (acetona- d_6 , 400 MHz) δ /ppm: 3,08 (s, 6H); 4,62 (s, 3H); 6,84 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz); 7,57 (d, 2H, $J = 9,2$ Hz); 8,54 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz); 9,04 (s, 1H); 9,14 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz). HRMS ESI (+), $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_3^+$: teórico $m/z = 240,1495$, experimental $m/z 240,1491$.



(E)-N,N-dimetil-4-(2-piridin-4-vinil)anilina (4). Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,0 g (6,7 mmol) de 4-dimetilaminobenzaldeído, 1,3 mL (13,4 mmol) de γ -picolina e 0,4 g (7,1 mmol) de hidróxido de potássio. A mistura foi mantida sob refluxo em 125 °C, durante 3 h. Após esse período obteve-se um sólido amarelo que foi lavado com água e etanol gelado. O sólido foi recristalizado em uma mistura etanol-acetato de etila (1:2, v/v) e 0,358 g do produto foram obtidos (24 %). p.f obtido: 247-248 °C; p.f literatura: (Draguta, Fonari et al. 2015) 245-247 °C. RMN de ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz) δ /ppm: 3,02 (s, 6H); 6,72 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz); 6,81 (d, 1H, 16,0 Hz); 7,25 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz); 7,32 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz); 7,45 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz); 8,52 (d, 2H, $J = 6,0$ Hz). RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 100 MHz) δ /ppm: 149,94, 145,69, 133,43, 128,65, 128,35, 126,05, 121,14, 120,40, 112,20, 40,42. HRMS ESI (+), $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2$, $[\text{M}+\text{H}]^+$: teórico m/z = 225,1386, experimental m/z 225,1385.



Iodeto de (E)-4-(4-dimetilaminoestiril)1-metilpiridínio (4b). Em um balão de fundo redondo foram adicionados o composto **4** (90 mg; 0,4 mmol), iodeto de metila (0,114 mg; 0,8 mmol) e 2 mL de acetonitrila. A mistural reacional foi levada a refluxo por 3h. Após esse período o solvente foi removido sob vácuo e o sólido resultante foi filtrado e lavado com etanol gelado. O produto obtido apresentou coloração violeta escura. Rendimento de 95% (90 mg). P.f obtido: 263°C; p.f literatura: (Li, Shao et al. 2014) 261 °C. RMN de ^1H ($\text{DMSO}-d_6$; 400

MHz) δ /ppm: 3,01 (*s*, 6H); 4,17 (*s*, 3H); 6,76 (*d*, 2H, $J = 8,8$ Hz); 7,17 (*d*, 1H, $J = 16,3$ Hz); 7,59 (*d*, 2H, $J = 9,2$ Hz); 7,91 (*d*, 1H, $J = 16,0$ Hz); 8,04 (*d*, 2H, $J = 6,8$ Hz); 8,68 (*d*, 2H, $J = 6,8$ Hz). RMN de ^{13}C (DMSO- d_6 ; 100 MHz) δ /ppm: 153,85, 152,27, 144,72, 142,43, 130,56, 123,02, 122,52, 117,72, 112,46, 47,07. HRMS ESI (+), $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2^+$: teórico $m/z = 239,1542$, experimental m/z 239,1543.

3.4 ESTUDOS DOS COMPOSTOS OBTIDOS COMO SISTEMAS DE DETECÇÃO

3.4.1 Estudo do composto 1 com os ânions

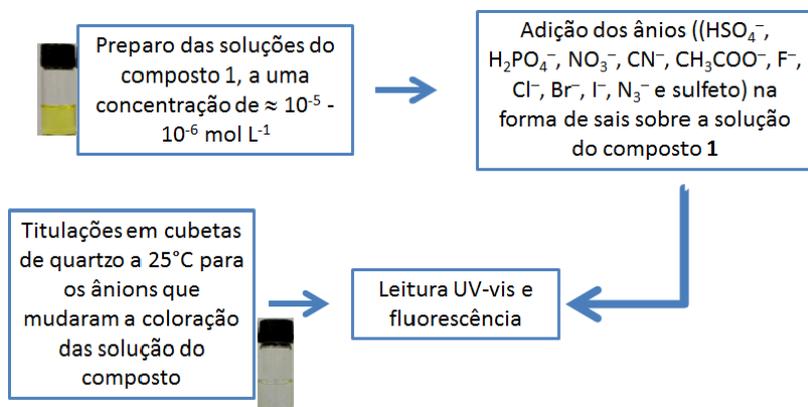
Para os testes visuais e os estudos por espectrofotometria de UV-vis e fluorescência foi preparada uma solução estoque para o composto **1** na concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} utilizando-se acetona seca como solvente. Foi coletada com uma microsseringa uma alíquota da solução estoque, suficiente para se obter a concentração desejada do composto para o estudo de detecção, e foi colocada num frasco. Após a evaporação do solvente, adicionou-se o solvente que seria utilizado no estudo. Esta solução foi usada para preparar a solução de cada ânion na forma de sais de tetra-*n*-butilamônio ou sais de sódio e potássio em CH_3CN ou para o meio orgânico-aquoso (HSO_4^- , H_2PO_4^- , NO_3^- , CN^- , CH_3COO^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , N_3^- e sulfeto) numa concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ – $1,0 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} . Foi verificado primeiramente através da detecção visual qual ânion provocou alguma mudança perceptível de coloração na solução do composto. Após, foi tirada uma fotografia digital e o espectro a 25 °C foi registrado para cada solução e os valores de

absorbância e intensidade de emissão foram anotados nos valores de λ_{max} .

3.4.2 Titulações espectrofotométricas

A Figura 18 ilustra de forma geral como foram feitas as titulações espectrofotométricas. As soluções para esses estudos foram preparadas conforme a seção 3.4.1. A solução do composto 1 foi usada para preparar 1 mL de solução estoque do ânion ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), em um frasco de vidro pequeno fechado com tampa de borracha e vedado com parafilme. A partir desta solução, preparou-se a solução titulante do ânion na concentração desejada de $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (UV-vis) e $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Após, adicionou-se uma alíquota (1,2 mL) da solução do composto numa cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico, sendo fechada com septo de borracha e vedada com parafilme. A primeira leitura foi realizada para a solução a ser titulada, sem adição de ânion e após, por meio de uma microsseringa, foram adicionadas alíquotas da solução titulante do ânion à solução na cubeta. Os espectros de UV-vis e de emissão de fluorescência a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ foram obtidos e os valores de absorbância e intensidade de emissão foram coletados para os respectivos valores de λ_{max} de cada composto. Os dados coletados serviram para a construção das curvas de titulações com absorbância em função da concentração do ânion.

Figura 18. **Ensaio experimentais dos estudos da interação dos ânions com o composto 1.**



3.4.3 Experimento de titulação por espectrometria de RMN de ^1H com CN^-

Para as titulações usando espectrometria de RMN de ^1H , mediou-se a massa do composto (6 mg) em tubo de RMN e adicionou-se CD_3CN (0,6 mL), sendo a concentração final de **1** de $1,28 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Foi preparada a solução do ânion, CN^- (como sal de tetra-*n*-butilamônio), em CD_3CN e alíquotas dessa solução foram adicionadas ao tubo de RMN contendo o composto e os espectros de RMN de ^1H foram obtidos à temperatura ambiente.

3.4.4 Detecção de cianeto na água da torneira

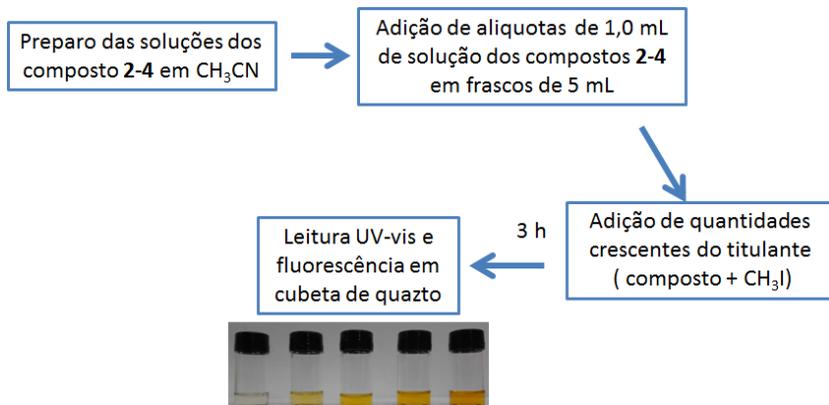
Estudos sobre amostras de água da torneira foram conduzidos utilizando o composto **1**. Diferentes volumes de CN^- de uma solução estoque aquosa ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foram adicionados à água da

torneira. Quatro diferentes soluções foram preparadas, as quais foram usadas para preparar misturas com acetonitrila (acetonitrila: água v/v 1:1 e 4:1 para as medidas de UV-vis e fluorescência, respectivamente). Em seguida, o composto **1** foi adicionado de uma solução estoque ($2,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) para concentrações finais de $5,0 \times 10^{-5}$ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, para análise de UV-vis e fluorescência, respectivamente. Como um branco analítico, para comparação, um ensaio semelhante foi realizado com água da torneira sem CN⁻. Posteriormente, os espectros de UV-vis e de emissão de fluorescência foram feitos, as absorvâncias a 444 nm e os valores de emissão a 445 nm foram obtidos e os dados foram comparados com as correspondentes curvas de calibração.

3.4.5 Estudo dos compostos 2-4 com o agente alquilante

Os ensaios realizados dos compostos **2-4** com o iodeto de metila em solução foram feitos conforme esquematizado na **Figura 19**. A partir dos corantes obtidos (**2-4**), foram preparadas soluções utilizando como solvente CH₃CN em concentrações apropriadas de acordo com a absorvância de cada composto. A partir desta solução, preparou-se a solução titulante do agente alquilante iodeto de metila na concentração desejada de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ (UV-vis) e $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (fluorescência). Após, adicionou-se uma alíquota 1,0 mL da solução do composto em frascos de 5 mL, e a esses frascos adicionaram-se quantidades crescentes do titulante. Após um período de 3 h foi realizada a leitura dessas soluções usando-se cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. A primeira leitura foi realizada para a solução a ser titulada, sem adição do titulante. Os espectros de UV-vis e de emissão de fluorescência a 25,0 °C foram obtidos e os valores de absorvância e intensidade de emissão foram coletados para os respectivos valores de λ_{\max} de cada composto. Os dados coletados serviram para a construção das curvas de titulações com absorvância em função da concentração do ânion.

Figura 19. **Ensaio experimentais da interação dos compostos 2–4 com iodeto de metila.**



3.4.6 Determinação do limite de detecção e de quantificação

Para a determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ) foi utilizado a parte linear das curvas de titulação normalizadas. Após o ajuste linear dos dados experimentais, os valores de LD e LQ foram obtidos de acordo com o procedimento descrito na literatura, usando-se as Equações 4 e 5, sendo S_{b1} o desvio padrão do coeficiente linear da curva de calibração e S_{ca} o coeficiente angular da curva de calibração.

$$LD = \frac{3 \times Sb1}{S_{ca}} \quad \text{(Equação 4)}$$

$$LQ = \frac{10 \times Sb1}{S_{ca}} \quad \text{(Equação 5)}$$

3.5 ESTUDOS CINÉTICOS

Todas as corridas cinéticas foram realizadas assegurando-se condições de *pseudoprimeira* ordem. Aliquotas das soluções estoques foram adicionadas em uma cubeta de quartzo hermeticamente vedada contendo 2 mL de CH₃CN. Deixou-se alcançar o equilíbrio térmico a 25 °C usando-se um banho termostatizado e iodeto de metila foi adicionado à cubeta. As reações foram iniciadas e os dados cinéticos foram coletados em intervalos de tempo. As reações foram monitoradas através da mudança de absorvidade (A_t) nos respectivos valores de λ_{\max} como uma função do tempo (t) da reação. Os valores das constantes de velocidade observadas de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) foram calculados através da regressão não linear utilizando o programa ORIGIN 6.1 ® utilizando a **Equação 6**, sendo A_∞ a absorbância da reação no $t = \infty$.

$$A_t = [\exp(-k_{\text{obs}}t)] + A_\infty \quad (\text{Equação 6})$$

3.6 TRATAMENTO DOS RESÍDUOS DE CIANETO, SULFETO E AZIDA

Os resíduos contendo CN⁻ e sulfeto foram tratados conforme procedimento disponível na literatura,[96] adicionando-se NaOH a 10% (2,5 mol L⁻¹) e alvejante doméstico.

Para os resíduos de azida, foi adicionado cuidadosamente nitrato cérico amoniacal 5,5% (pelo menos quatro vezes o volume da solução de azida) e agitado durante uma hora. A solução foi então descartada com pelo menos 50 vezes seu volume de água.[96]

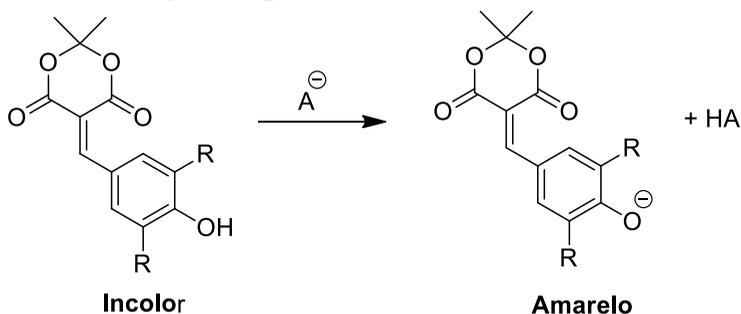
A manipulação dos sistemas contendo agentes alquilantes foi realizada com o uso de equipamento para proteção individual (EPI), como luvas nitrílicas descartáveis, sem talco; óculos de proteção; máscara de carvão ativado e avental de manga longa.[97] Esses reagentes foram utilizados dentro de uma capela fechada com exaustor e as soluções foram mantidas sob fluxo de gás inerte. Os resíduos gerados foram armazenados separadamente em recipientes identificados para posterior envio ao incinerador a fim de torná-los inócuos.

4 UM DISPOSITIVO DE DETECÇÃO ANIÔNICO BASEADO EM UMA ESTRATÉGIA DO TIPO QUIMIADOSIMÉTRICA PARA A DETECÇÃO DE CIANETO E SULFETO EM MEIO AQUOSO

Tendo em vista a relevância da detecção de ânions como o cianeto e sulfeto e a necessidade de um reconhecimento rápido, simples e viável dessas espécies, planejou-se a síntese de um composto de fácil obtenção e que pudesse atuar em uma estratégia do tipo quimiodosimétrica.

O nosso grupo de pesquisa vem explorado uma gama de sistemas para a detecção de ânions. Dentre eles, os derivados do ácido de Meldrum ganham destaque (**Figura 20**) devido à fácil obtenção e alta eficiência na detecção de ânions (Schramm 2017).

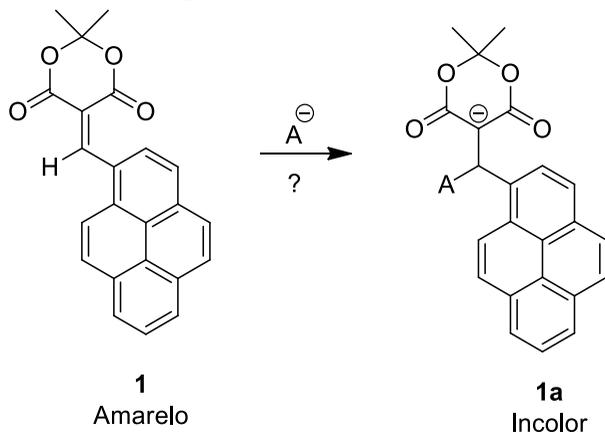
Figura 20. Detecção aniônica utilizando um derivado do ácido de Meldrum em estratégia do tipo ácido-base.



Dessa forma, planejou-se um composto que apresentasse em sua estrutura um derivado do ácido de Meldrum e uma porção altamente conjugada, um grupo pirenil. Assim, o derivado do ácido de Meldrum contendo o grupo pirenil, dispositivo **1**, foi planejado para ser aplicado como um quimiodosímetro aniônico. Considerando-se o potencial dos grupos carbonilados do ácido de Meldrum em estabilizar cargas

negativas e a nucleofilicidade dos ânions frente à estrutura sintetizada, esperava-se que ocorresse uma mudança de coloração visual e espectral que sinalizasse a presença do analito (**Figura 21**). Ao mesmo tempo, o composto apresenta uma unidade pirenil, um fluoróforo que é classicamente empregado em muitos sistemas químicos, o que deveria permitir em princípio o uso do composto como um dispositivo fluorescente para a detecção aniônica.

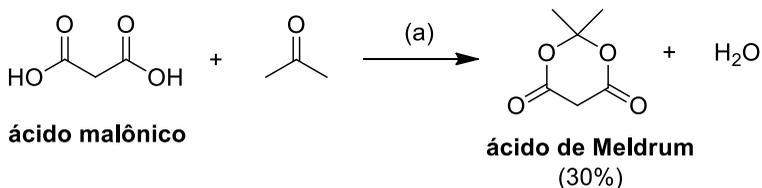
Figura 21. **Representação da possível interação do quimiodosímetro 1 com espécies aniônicas.**



A= espécie aniônica

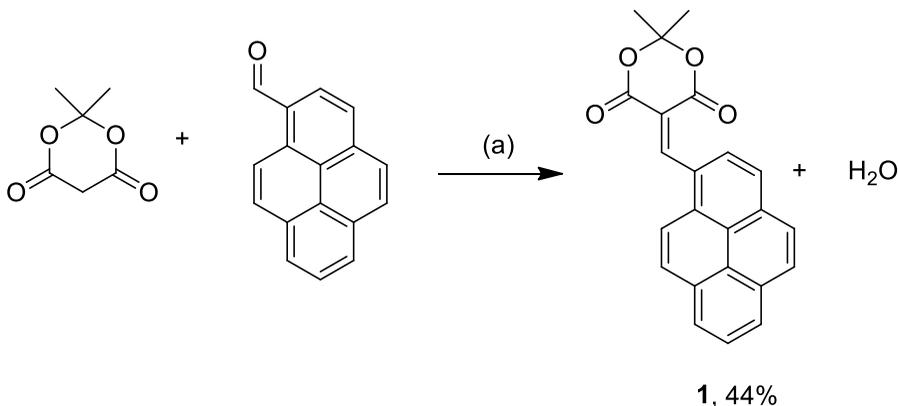
4.1 SÍNTESE DO COMPOSTO 1

O **Esquema 2** ilustra a rota sintética adotada para a obtenção do ácido de Meldrum por meio de uma condensação entre o ácido malônico e acetona. A reação foi conduzida em meio ácido (anidrido acético e H_2SO_4) em temperatura de 0°C . Após 30 min um sólido branco foi obtido, o qual foi recristalizado em acetona/ H_2O para gerar o produto desejado em 30% com pureza adequada para a próxima etapa reacional.



Esquema 2. Síntese do ácido de Meldrum. (a) Condições reacionais: anidrido acético, H_2SO_4 , 30 min, 0°C .

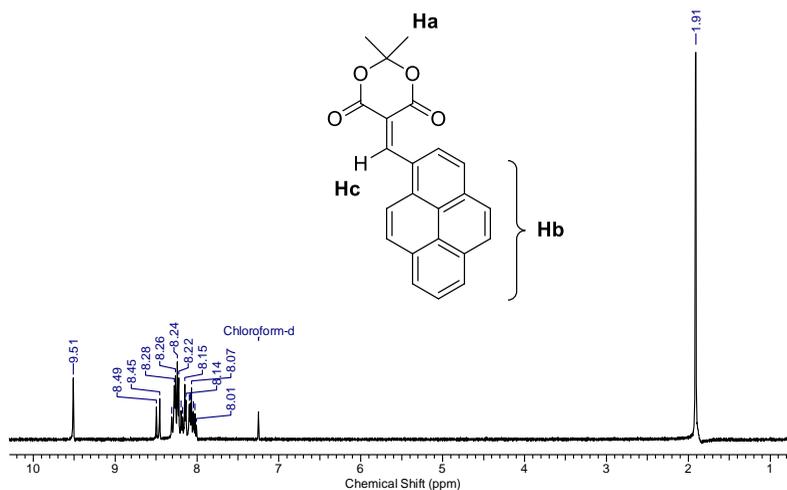
Estruturalmente o ácido de Meldrum apresenta dois grupos carboxilados elétron-aceitadores, tornando o sistema suscetível a conexões com uma porção elétron-doadora. Essa estratégia foi utilizada para ancorar o grupo pireno ao ácido de Meldrum, por meio de uma ponte conjugada $\text{CH}=\text{C}$. O **Esquema 3** mostra a obtenção do dispositivo molecular **1**, através de uma reação de condensação entre o ácido de Meldrum e o 1-pireno-carboxialdeído para gerar o produto de interesse em 44% de rendimento. A reação foi realizada em meio etanólico, por 1 h à temperatura ambiente e produziu um sólido laranja.



Esquema 3. Síntese do composto 1. (a): etanol, temperatura ambiente, 1 h.

A estrutura inédita do quimiodosímetro **1** foi confirmada utilizando as técnicas espectrométricas de RMN de ^1H e ^{13}C , de IV e de massas de alta resolução. Na **Figura 22** pode-se visualizar o espectro de RMN de ^1H , no qual é possível identificar um simpleto com deslocamento químico em δ 1,91 ppm referente aos hidrogênios do grupo metila (**Ha**). Na região de baixo campo entre δ 8,00–8,50 ppm estão localizados os sinais dos hidrogênios do grupo pirenil (**Hb**), e em δ 9,51 ppm se encontra o hidrogênio Hc referente à ponte $\text{CH}=\text{C}$.

Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **1**.



A análise do espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 23**) corrobora a estrutura esperada. Em δ 27,85 ppm é possível observar o sinal referente aos carbonos do grupo metila. O carbono vizinho aos grupos metila se encontra em δ 104,67 ppm, e em δ 115,05 ppm o carbono entre os grupos carbonílicos. Na região entre δ 122,00–157 ppm estão dispostos

os sinais que compreendem os carbonos do grupo pirenil. O sinal do carbono da ponte C=C está localizado em δ 159,97 ppm e o maior deslocamento de δ 163,17 ppm corresponde aos carbonos do grupo carbonila. Com o intuito de confirmar a estrutura do quimiodosímetro **1** foi realizada uma análise por espectrometria de massas de alta resolução (**Figura 24**), utilizando fonte de ionização *electrospray* em modo positivo ESI(+). O valor encontrado corresponde ao pico de massa do composto **1** com o ganho um sódio, $[M+Na]^+$ m/z experimental: 379,0947; $[M+Na]^+$ m/z teórico: 379,0941.

Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) do composto **1**.

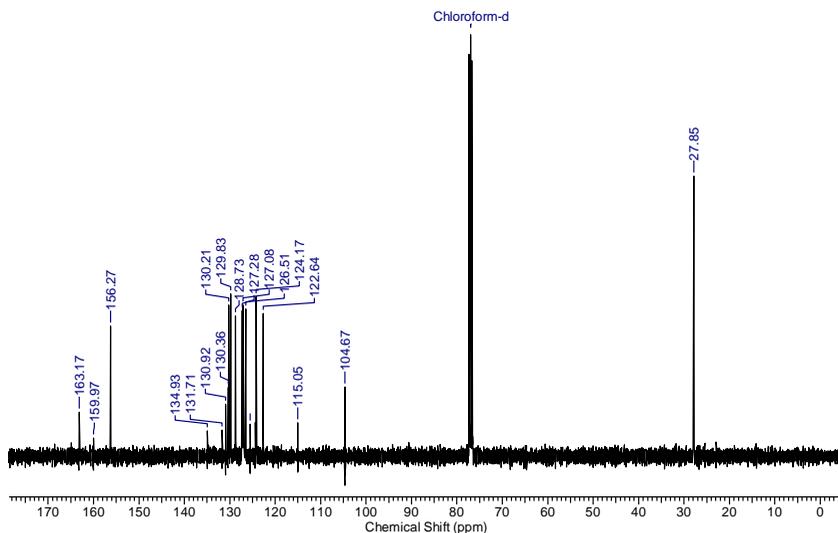
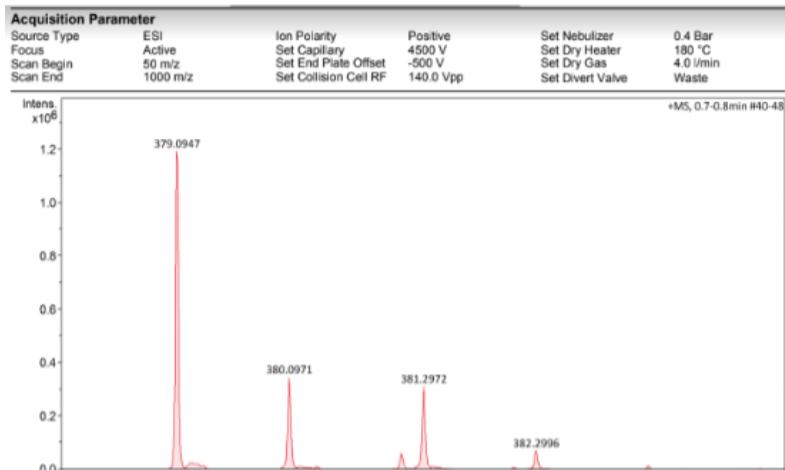
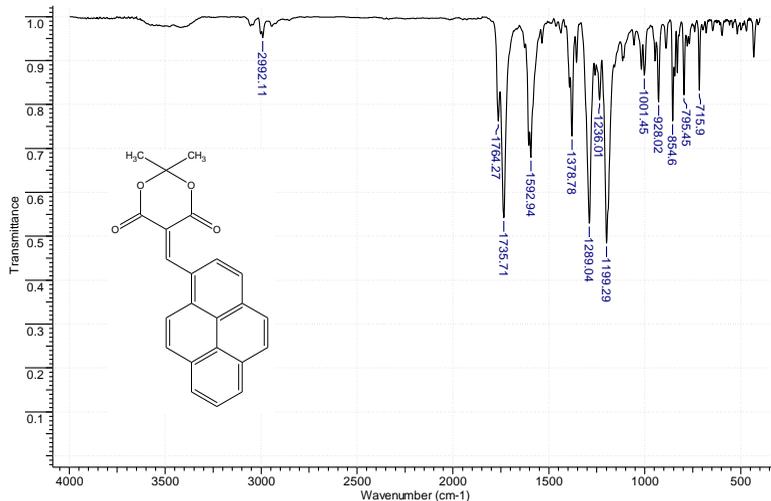


Figura 24. Espectro de massas de alta resolução do composto **1**, utilizando fonte ESI(+).



O espectro de infravermelho (**Figura 25**) mostra as bandas de absorção na região da “impressão digital” entre $715 - 1378 \text{ cm}^{-1}$ associadas às vibrações relativas às deformações axial e angular das ligações C-O, C-C e C=C presentes na estrutura de **1**. Em 1592 cm^{-1} se encontra a banda vibracional referente à C=C aromática do grupo pirenil. A banda relativa à carbonila do grupamento éster pode ser observada em 1736 cm^{-1} . Na região entre $2500 - 3600 \text{ cm}^{-1}$, usualmente associada a ligações como O-H e N-H livres, não se observa banda de intensidade pronunciada, corroborando com a estrutura do composto **1**.

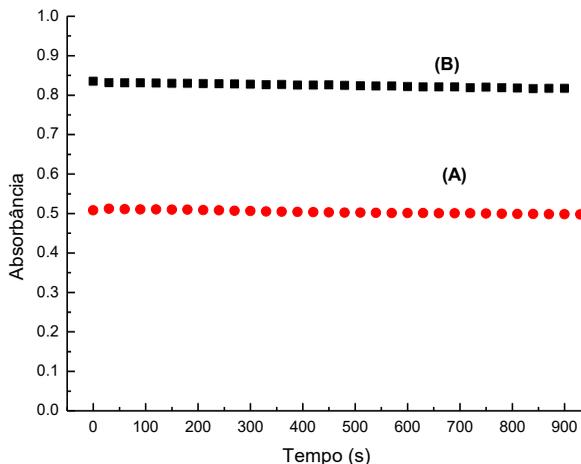
Figura 25. Espectro de IV do composto 1 (pastilha de KBr).



4.1.1 Estudo do composto 1 como quimiodosímetro cromogênico

Primeiramente, foi realizado um estudo cinético simples (**Figura 26**) para verificar a estabilidade do composto 1 em diferentes meios para comprovar que somente as espécies aniônicas interagem com a molécula num tempo muito rápido. O composto 1 em solução frente a meio orgânico (CH₃CN) e em meio orgânico/aquoso (CH₃CN:H₂O, 1:1, v/v) se mostrou muito estável em um intervalo de tempo de 900 s. Quando o composto 1 foi posto em uma proporção do sistema orgânico/aquoso de acetonitrila:água 2:3 e 3:7 (v/v) não foi observada estabilidade, assim como em solução tampão aquosa de acetato (pH 5,0, 5,5, 6,0 e 7,0) e solução tampão Tris-HCl aquoso (pH 5,4 e 6,2).

Figura 26. **Influência do tempo nos valores de absorbância do composto 1 a 25 °C em (A) acetonitrila ($c(1) = 4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; 438 nm) e (B) em acetonitrila:água, 1:1 ($c(1) = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; 444 nm).**



Com o intento de avaliar o comportamento do composto **1** frente a diferentes ânions (HSO_4^- , H_2PO_4^- , NO_3^- , CN^- , CH_3COO^- , F^- , Cl^- , Br^- , N_3^- e I^-) foram conduzidos testes visuais em meio orgânico e orgânico-aquoso (**Figuras 27A e 27B**). O composto **1** em solução tem uma coloração amarela. Em acetonitrila, apenas F^- e CN^- causaram descoloração das soluções contendo o composto (**Figura 27A**). No sistema aquoso verificou-se que F^- não causa mais descoloração da solução, pois o raio de hidratação diminui a capacidade nucleofílica deste ânion impedindo que o centro de detecção do composto **1** seja alcançado (**Figura 27A**). Não foi possível realizar os testes de sulfeto em meio orgânico porque este ânion não está comercialmente disponível como sal de tetra-*n*-butilamônio. Em meio aquoso, sulfeto e CN^- causaram descoloração da solução. Quando avaliadas as soluções do composto **1** na presença e na ausência dos ânions perante a absorção no UV-vis o espectro resultante corroborou com o teste visual realizado. Em acetonitrila, os ânions CN^- e F^- extinguíram a banda de absorção do composto **1**, sinalizando assim a presença dessas espécies (**Figura 27B**).

A influência dos ânions avaliados sobre o espectro de UV-vis do dispositivo **1** em meio MeCN:H₂O (1:1) também confirmou os testes visuais (**Figura 28A**). Nesse meio, os ânions CN⁻ e sulfeto

diminuíram a banda de máxima absorvância do composto **1**, indicando que a mudança de polaridade do meio afeta o processo de detecção.

Figura 27. (A) Soluções e (B) espectros de UV-vis de 1 ($4,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) na ausência e presença de vários ânions ($6,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) em acetonitrila.

(A)



Sem ânion HSO₄⁻ H₂PO₄⁻ NO₃⁻ CN⁻ AcO⁻ F⁻ Cl⁻ Br⁻ I⁻ N₃⁻

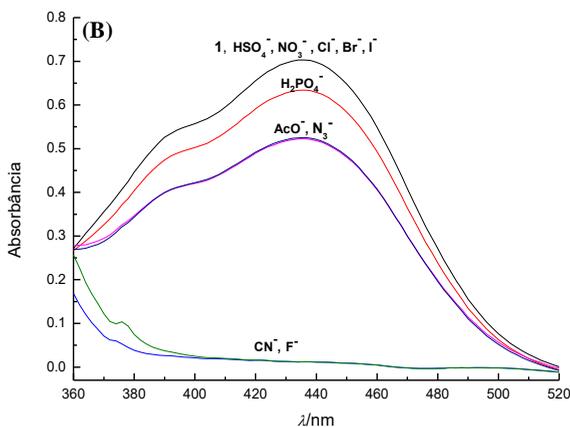
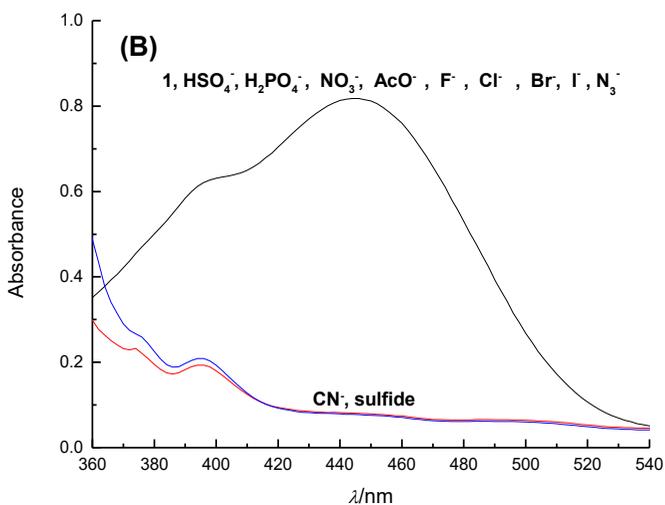
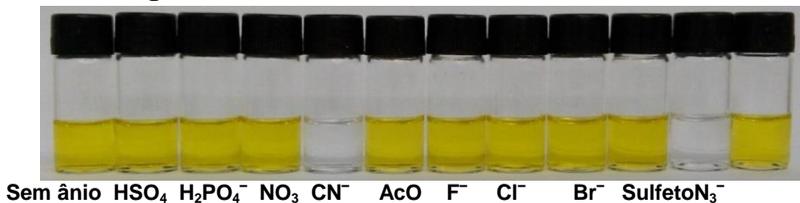
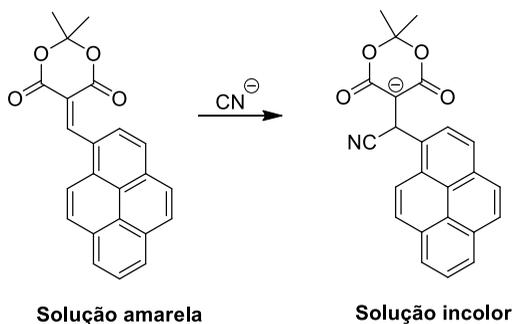


Figura 28. (A) Soluções e (B) espectros de UV-vis de **1** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) na ausência e presença de vários ânions ($6,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) em acetonitrila:água (1:1; v/v).



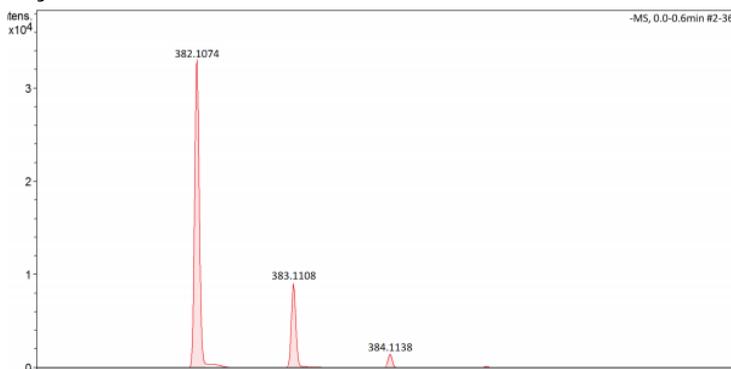
É importante lembrar que essa extensa conjugação do composto leva a uma transição eletrônica do tipo $\pi-\pi^*$, de natureza de transferência de carga, entre o grupo doador de elétrons pirenil e o grupo elétron-aceitador 1-3-dioxano-4,6-diona, que é responsável por transmitir cor ao composto, conforme ilustrado na **Figura 29**. Assim, a explicação para o fato de CN^- e sulfeto em solução tornarem incolores as soluções do composto **1** é que esses ânions atacam nucleofilicamente a dupla ligação $\text{C}=\text{C}$, levando à quebra da conjugação de elétrons na estrutura do composto. Nesse processo, o meio reacional influencia na capacidade nucleofílica do analito.

Figura 29. Composto 1 em solução na presença de CN^- .



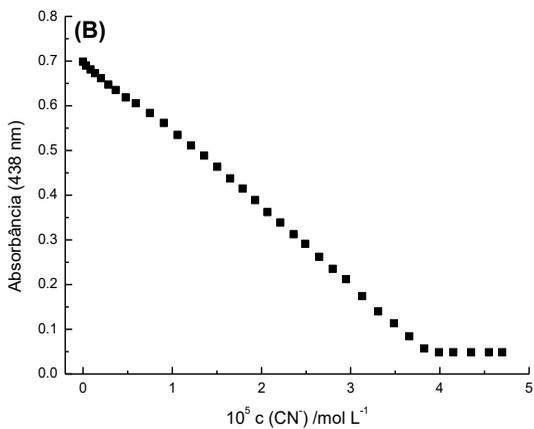
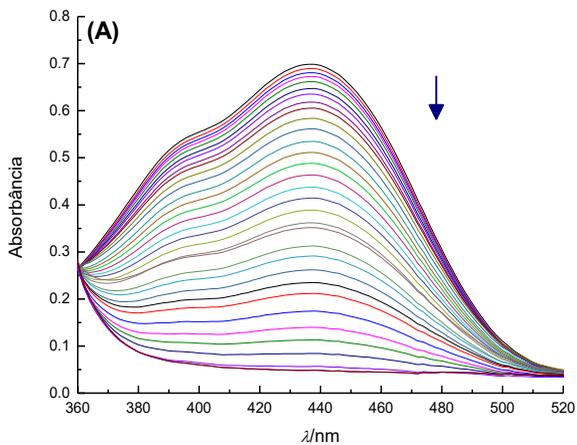
O produto da detecção entre o composto **1** e CN^- foi capturado pela espectrometria de massas de alta resolução utilizando o método ESI (-), onde é possível identificar a massa correspondente à adição do grupo ciano à estrutura de **1** como produto de substituição nucleofílica (**Figura 30**). O pico obtido experimentalmente foi de $m/z = 382,1074$, valor idêntico para o m/z teórico.

Figura 30. Espectro de massas de alta resolução para o produto de detecção entre **1** e CN^- .



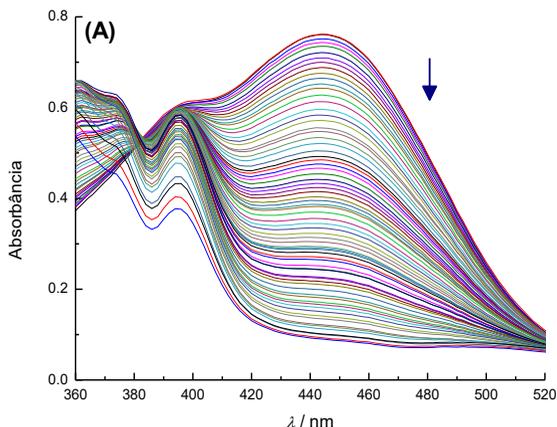
Experimentos de titulação de **1** com CN^- e sulfeto foram realizados pela técnica de UV-vis com o intuito de obter dados quantitativos a respeito da sensibilidade do sistema. A **Figura 31A** apresenta espectros de UV-vis resultantes da titulação do composto **1** em MeCN utilizando o CN^- , em que se mostra que a banda no visível, com $\lambda_{\text{max}} = 438 \text{ nm}$, diminui de intensidade com a adição crescente do anólito. Com os valores de absorvância coletados em 438 nm foi possível a construção do gráfico na **Figura 31B**, das absorvâncias em função da concentração de CN^- , do qual o segmento linear foi utilizado para obter os valores necessários para serem lançados nas Equações 4 e 5, que forneceram $LD = 1,78 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 5,94 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

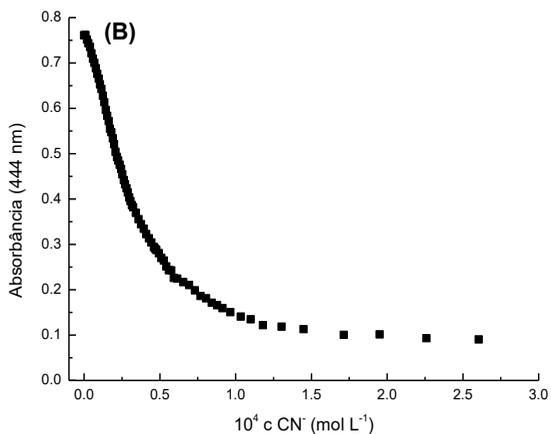
Figura 31. (A) Espectros de UV-vis e (B) curva de titulação correspondente a 438 nm para a titulação do composto 1 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN^- em acetonitrila.



A influência do meio MeCN:H₂O (1:1) na titulação do **1** utilizando CN⁻ pode ser observada na **Figura 32**. A banda UV-vis do composto, com máximo a 444 nm, diminui sua intensidade com o aumento da concentração do ânion (**Figura 32A**). A **Figura 32B** mostra a curva de titulação correspondente a 444 nm para o sistema com os valores da variação da absorbância que diminui com a adição de CN⁻ até o completo desaparecimento da banda. O segmento linear da curva foi utilizado para gerar a equação da reta correspondente e os valores de sensibilidade encontrados, de $LD = 6,94 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 2,31 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, são limites bem similares aos encontrados para a titulação do composto em somente acetonitrila. Esses dados sugerem que o meio de detecção influencia na seletividade do sistema, no entanto o ânion CN⁻ praticamente não afeta sua reatividade.

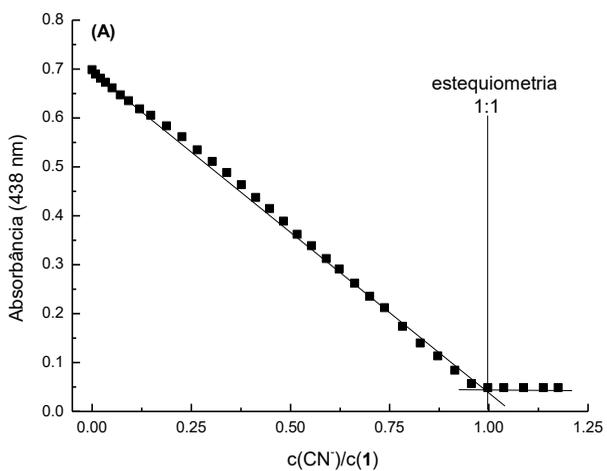
Figura 32. (A) Espectros de UV-vis e (B) curva de titulação correspondente a 444 nm para a titulação do composto **1** ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN⁻ em acetonitrila:água (1:1; v/v).

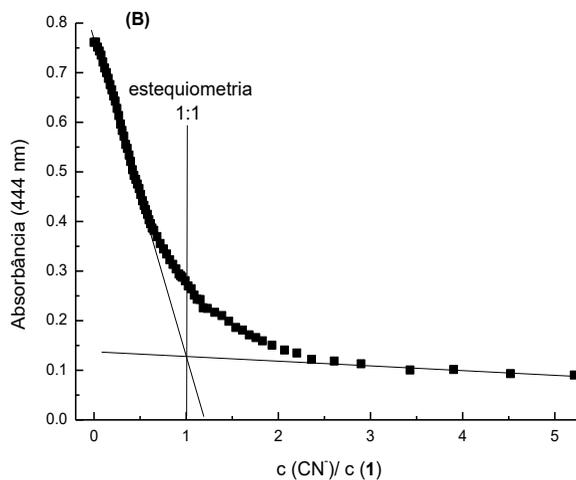




A estequiometria para os sistemas de detecção quimiodosímetro $\mathbf{1}:\text{CN}^-$ foi avaliada (**Figura 33**). Os valores de absorbância foram obtidos em 438 nm para o sistema em acetonitrila e em 444 nm para a mistura MeCN:H₂O (1:1), sendo que ambos os sistemas exibem uma razão molar que mostra uma estequiometria 1:1.

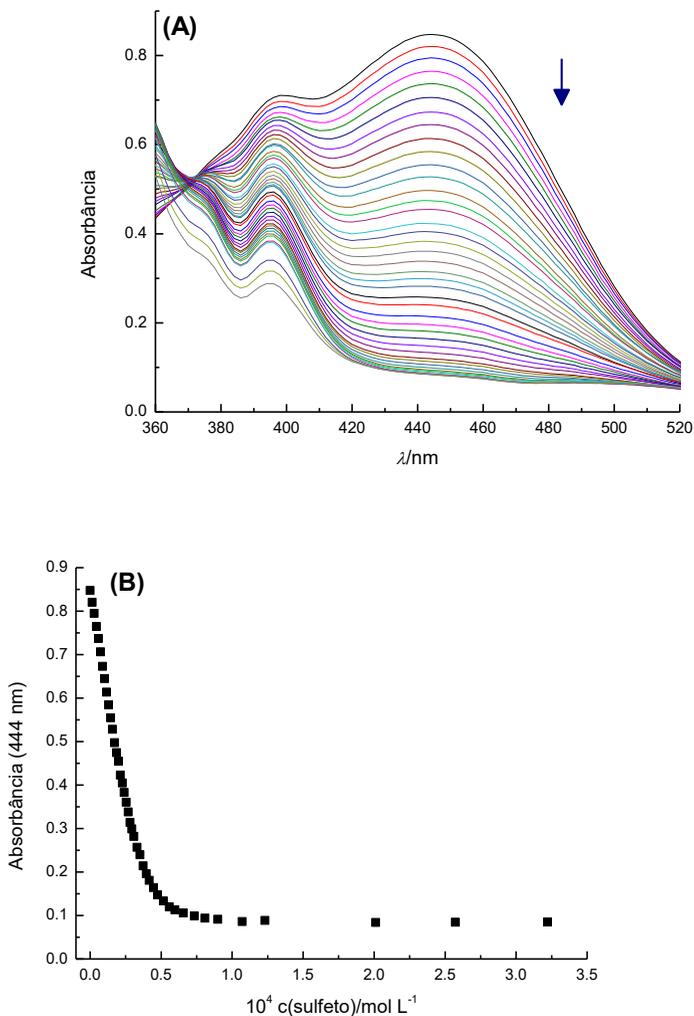
Figura 33. Razão molar para o composto 1 com CN^- (A) em acetonitrila e (B) acetonitrila;água (1:1; v/v).





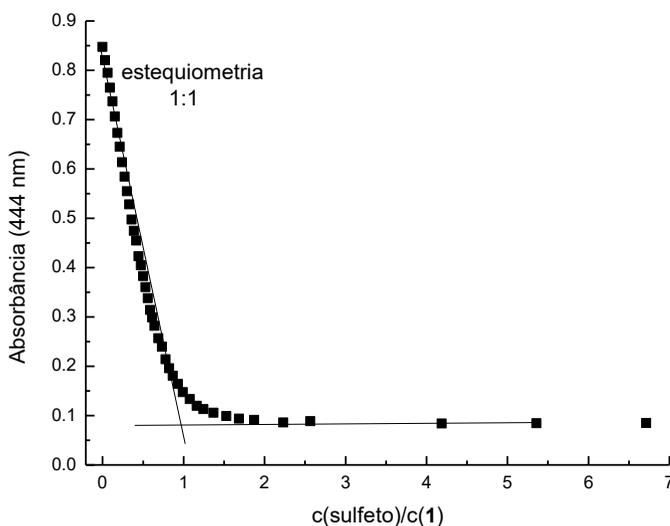
A **Figura 34A** mostra os espectros de UV-vis para a titulação do composto **1** em MeCN:H₂O (1:1) com quantidades crescentes de sulfeto. A adição de sulfeto causa uma redução na intensidade da banda de máxima absorção do composto **1** em 444 nm. Com os dados recolhidos da variação de absorbância foi possível a construção da curva de titulação em função da concentração de sulfeto adicionado (**Figura 34B**). Foram também obtidos os valores de $LD = 2,03 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 6,76 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 34. (A) Espectros de UV-vis e (B) curva de titulação correspondente a 444 nm para a titulação do composto 1 ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) com quantidades crescentes de sulfeto em acetonitrila: água (1:1; v/v).



A estequiometria para o sistema composto **1**:sulfeto foi avaliada pelo método da razão molar (**Figura 35**). O gráfico obtido indica claramente uma estequiometria 1:1, a mesma encontrada para o ânion CN^- .

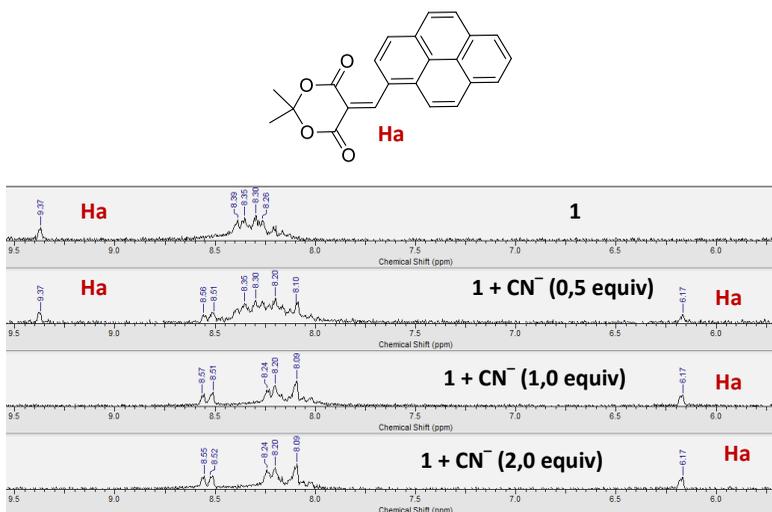
Figura 35. **Gráfico da razão molar para a titulação de 1 com sulfeto em acetonitrila: água (1:1; v/v).**



Foram realizados espectros de RMN de ^1H para o quimiodosímetro **1** em CD_3CN na ausência e na presença de quantidades crescentes de CN^- (**Figura 36**). É possível observar que o hidrogênio **Ha** do carbono da ligação dupla aparece no espectro como um simpleto a δ 9,37 ppm, e após a adição de 0,5 equiv inicia-se a formação do produto de detecção com o aparecimento de um sinal a δ 6,17 ppm, que se refere ao mesmo hidrogênio, mas agora tendo o grupo ciano ligado à sua vizinhança. Com a adição de 1 equiv de CN^- , o sinal

a δ 9,37 ppm desaparece e o sinal a δ 6,17 ppm persiste. Isso reforça o fato já verificado pelas titulações UV-vis de que a estequiometria do processo é do tipo 1:1. O excesso da adição de CN^- (2 equiv) não causou modificações no espectro, mostrando que não ocorre a formação de quaisquer produtos secundários de detecção.

Figura 36. Espectros de RMN de ^1H (200 MHz) em CD_3CN para **1** na ausência e presença de quantidades crescentes de CN^- .



A reação do composto **1** com CN^- também foi monitorada por experimentos bidimensionais de RMN (HSQC e HMBC). O experimento HSQC foi realizado com **1** em CD_3CN e o singlete em δ 9,37 ppm, correspondente a **Ha**, foi usado para atribuir o carbono ligado a **Ha**, a δ 155,65 ppm (**Figura 37**). A mesma análise foi realizada após a adição de um equivalente de CN^- (**Figura 38**). Simultaneamente com o desaparecimento do sinal **Ha** δ 9,37 ppm e o aparecimento em δ 6,17 ppm, o sinal em δ 155,65 ppm desapareceu e um sinal apareceu em δ 31,17 ppm, evidenciando a formação do produto. O experimento HMBC revelou acoplamento entre o grupo ciano e **Ha** (**Figura 39**).

Figura 37. Expansão de ^1H - ^{13}C HMQC (δ 4.0–9.5 ppm) de **1** em CD_3CN .

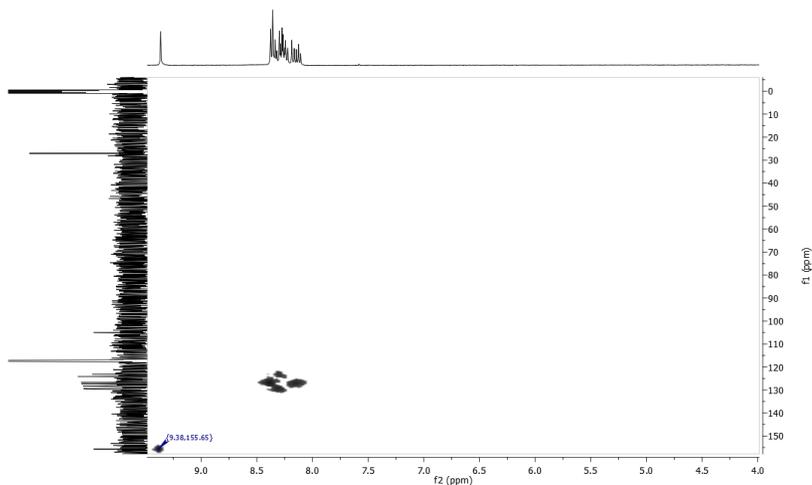


Figura 38. Expansão de ^1H - ^{13}C HMQC (δ 4.0–9.5 ppm) de **1** em CD_3CN após a adição de 1 equiv. de CN^- .

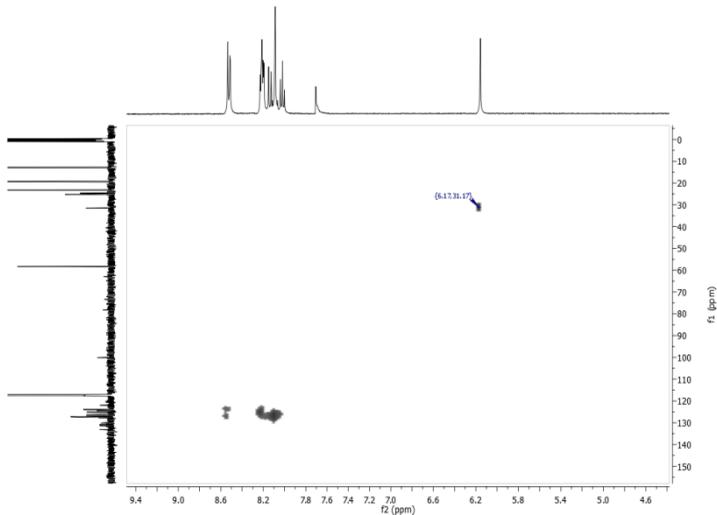
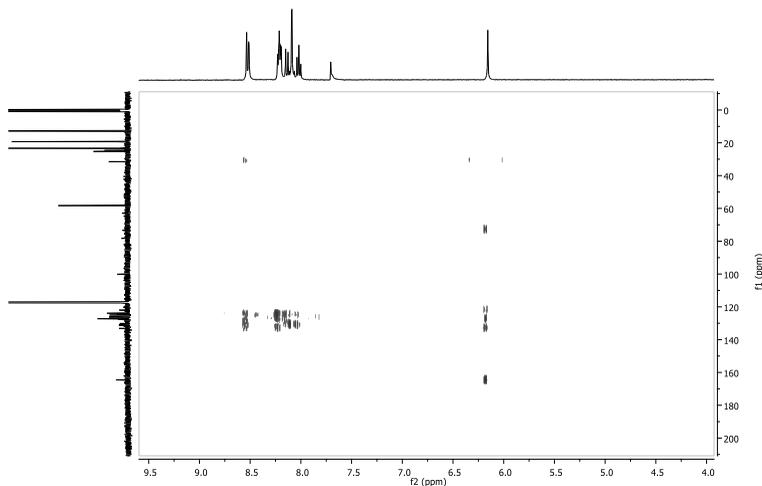


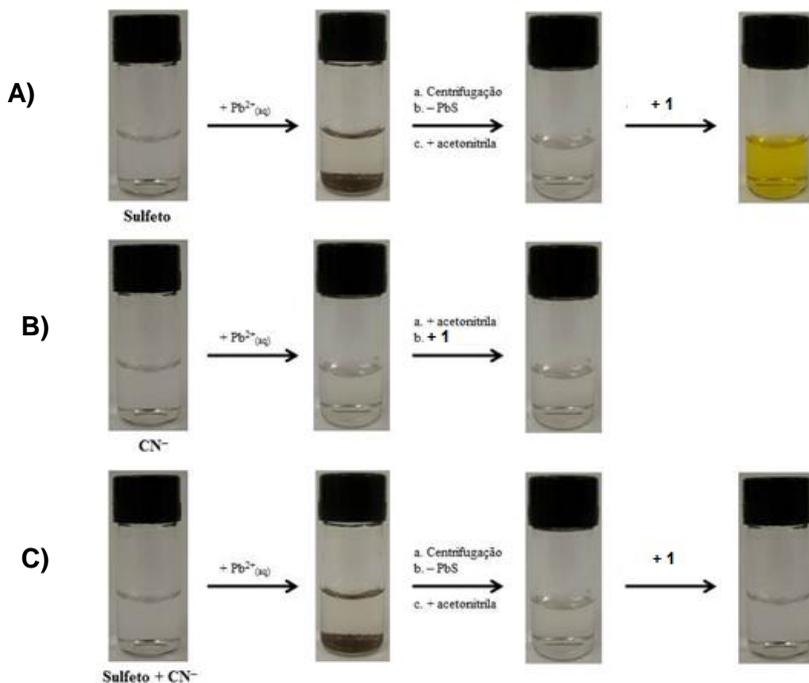
Figura 39. Expansão ^1H - ^{13}C HMBC (δ 4.0–9.5 ppm) de **1** em CD_3CN depois de 1 equivalente de CN^- .



Nos estudos com o composto **1**, apenas CN^- e sulfeto mudaram a cor da solução de amarela para incolor para os ânions estudados. A determinação seletiva de CN^- em uma mistura desses ânions pode ser realizada com a remoção de sulfeto por precipitação usando Pb^{2+} . Em soluções contendo sulfeto, com a adição de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, a formação de PbS ocorre como um precipitado marrom. Assim, foi realizado um estudo com a adição de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ em três frascos. O primeiro frasco continha apenas solução aquosa com sulfeto, o segundo frasco continha apenas solução aquosa com CN^- e o terceiro frasco continha uma mistura de CN^- e sulfeto. Apenas nas duas situações em que o sulfeto estava presente, a reação ocorreu com a formação de um precipitado. O conteúdo dos frascos foi centrifugado, e após a remoção do PbS precipitado, adicionou-se acetonitrila e composto **1**. Após a adição ao frasco que continha originalmente apenas sulfeto, a solução ficou amarela (**Figura 40A**). No frasco contendo apenas CN^- a solução ficou incolor (**Figura 40B**). Finalmente, no balão contendo CN^- e sulfeto, a solução resultante foi incolor (**Figura 40C**). Assim, esta estratégia pode

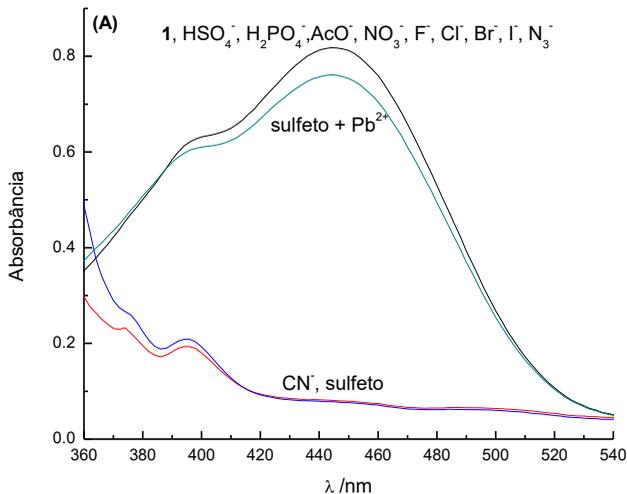
ser usada para a detecção seletiva de CN^- sobre sulfeto em uma mistura contendo essas duas espécies.

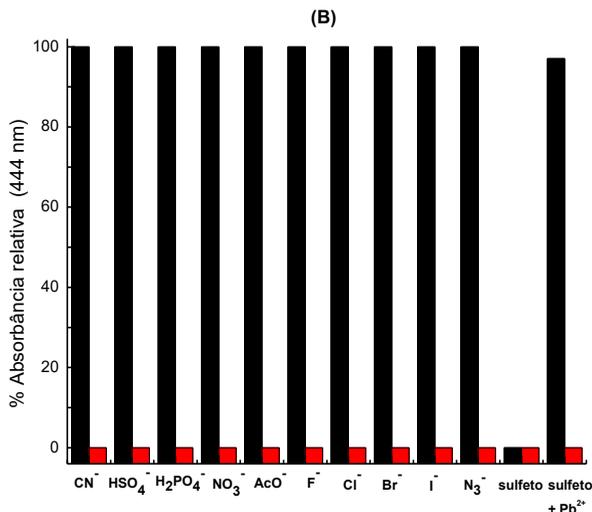
Figura 40. Soluções de 1 em água:acetonitrila (1:1) na presença de CN^- e sulfeto seguido da adição de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ para tornar o sistema seletivo para CN^- devido à precipitação de sulfeto como PbS . $c(1) = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $c(\text{ânion}) = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ $c(\text{Pb}(\text{NO}_3)_2) = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



O espectro de UV-vis do composto **1** em meio orgânico-aquoso MeCN:H₂O (1:1; v/v) apresenta uma banda com $\lambda_{\text{max}} = 444$ nm, que diminui sua intensidade apenas na presença de CN⁻ e sulfeto. Para verificar a seletividade do sistema frente aos diferentes ânions, foram realizados estudos com a presença concomitante de CN⁻ e os outros ânions empregados (**Figura 41**). A presença de outros ânions não afetou a seletividade do CN⁻, exceto quando o sulfeto estava presente. Para reforçar o uso da estratégia com Pb(NO₃)₂ em tornar o composto **1** seletivo para CN⁻, foi conduzido um experimento na presença deste sal, o qual demonstrou ser efetivo para tornar o sistema de detecção seletivo para o CN⁻ nessas condições experimentais

Figura 41.(A) Espectros de UV-vis do composto **1** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) em CH₃CN:H₂O (1:1) na presença e na ausência de vários ânions ($6,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) e na presença e na ausência de Pb(NO₃)₂ ($1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹) (B) Absorbâncias relativas em 444 nm para o composto **1** na ausência (barra preta) e presença (barra vermelha) de CN⁻.



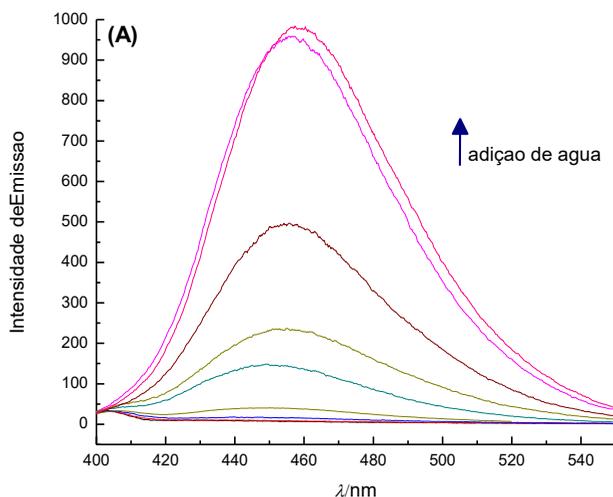


4.1.2 Estudo do composto **1** como quimiossímetro fluorogênico

O composto **1** tem uma porção pirenil, que é um grupo fluoróforo potencial, na sua estrutura molecular. Assim, alguns estudos foram realizados para verificar se o composto poderia atuar como quimiossímetro fluorogênico para espécies aniônicas. Primeiramente, foram feitos estudos com o composto em acetonitrila:água (1:1; v/v), que demonstrou que o sistema era fluorescente na excitação a 360 nm, exibindo uma banda de emissão com máximo em 453 nm. Esta banda não sofreu modificações com a adição de CN⁻ ou sulfeto. A fim de verificar uma possível influência do meio, o espectro de emissão de **1** foi coletado em várias misturas de acetonitrila:água (**Figura 42A**). A **Figura 42B** mostra que o composto **1** não é fluorescente ou exibe fluorescência muito fraca a partir de acetonitrila pura até a adição de 30% de água (v/v). Acima dessa porcentagem, entre 30 e 50% de água, o sistema apresenta um grande aumento na fluorescência, com o aparecimento de uma banda de emissão com máximo em 453 nm. A emissão praticamente não muda no intervalo de 50 a 60% da água. Esses

resultados sugerem que as moléculas de água, na faixa de 30 a 50% da água, solvatam preferencialmente o composto, especificamente através da ligação de hidrogênio com a porção 1,3-dioxano-4,6-diona do composto. Essas interações intermoleculares do solvente com **1** devem ativar a fluorescência do composto (**Figura 43A**). A **Figura 43B** mostra o que ocorre com as soluções do composto **1** expostas à lâmpada UV (360 nm). É possível verificar a forte emissão que ocorre se o composto é colocado em um meio que apresenta água e acetonitrila em iguais proporções.

Figura 42. (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm) e (B) intensidades de emissão correspondentes a 453 nm do composto **1** ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$) em diferentes proporções de acetonitrila:água (v/v).



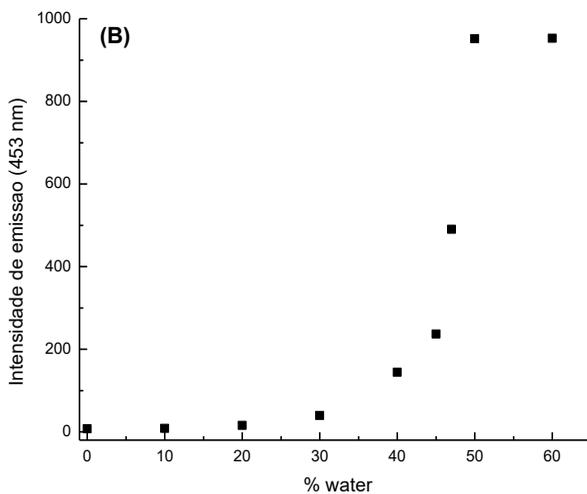
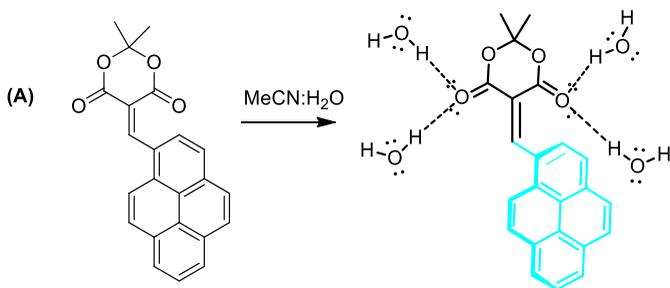


Figura 43. (A) Solvatação preferencial do composto 1 por moléculas de água e (B) excitação sob lâmpada de 360 nm do composto 1 em MeCN pura, 4:1 (MeCN:H₂O; v/v) e 1:1 (MeCN:H₂O v/v).



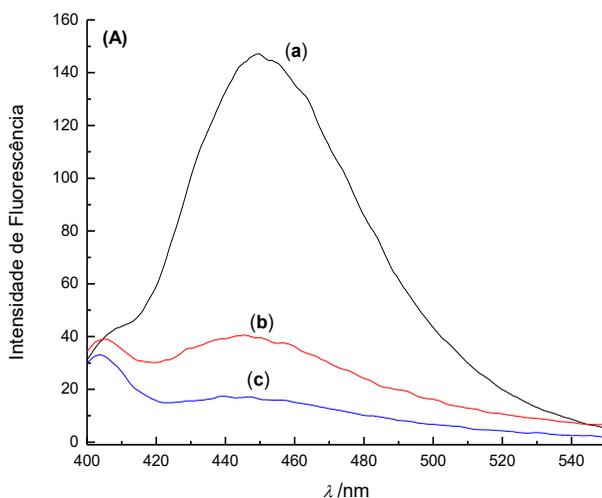
(B)

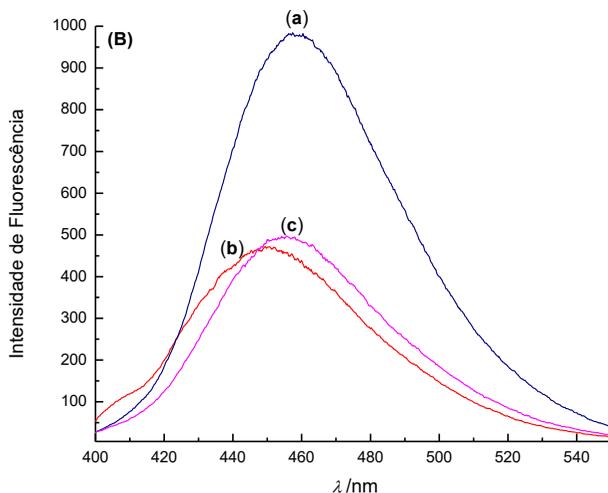


MeCN 4:1 1:1

Foi a seguir verificado se o fenômeno da fluorescência verificada quando o composto **1** é dissolvido em uma determinada porcentagem de água/acetonitrila é reversível. A **Figura 44A** representa um experimento em que o composto **1** foi posto em uma mistura de 40% de água/acetonitrila e apresentou uma intensidade de emissão de fluorescência igual a 145 u.a. Esta intensidade de emissão de fluorescência diminuiu para 37 u.a. com a adição de acetonitrila à solução da cubeta, uma redução de 75%, mostrando assim que o processo de solvatação preferencial é reversível. O valor encontrado é próximo a uma solução de 20% preparada inicialmente, que mostrou 17 u.a. de intensidade de emissão no mesmo comprimento de onda. A **Figura 44B** ilustra o mesmo estudo com uma porcentagem maior de água. Inicialmente a solução contendo o composto **1** em 60% água/acetonitrila exibiu uma intensidade de fluorescência de 967 u.a., e após adição de acetonitrila até a proporção 47% água/acetonitrila a intensidade de emissão diminuiu para 465 u.a. Novamente, o valor encontrado é próximo quando comparado a uma solução preparada a 47%, que apresentou intensidade de 490 u.a.

Figura 44. Figura 44. (A) Espectros de emissão do composto 1 em (a) mistura água/acetonitrila contendo 40% de água; (b) adicionando acetonitrila para reduzir a proporção de água para 20%; e (c) para efeitos comparativos, uma solução de 1 em uma mistura preparada independentemente, contendo 20% água. (B) Espectros de emissão do composto 1 em mistura de acetonitrila contendo alta porcentagem de água: (a) 60% água; (b) adicionando acetonitrila para 47% de água em acetonitrila; e (c) para efeitos comparativos, uma solução de 1 em uma mistura água/acetonitrila preparada independentemente, contendo 47% de água.

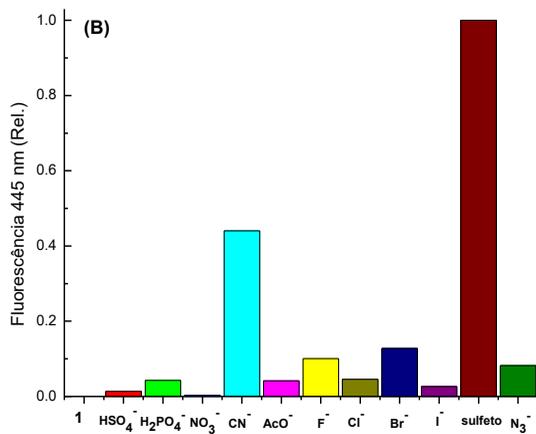
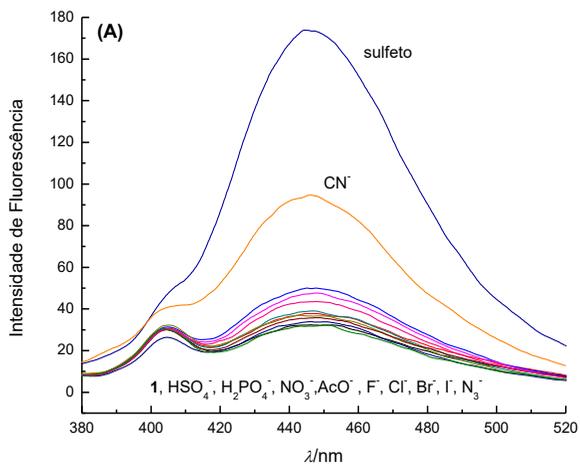




Com uma proporção de 4:1 (v/v) acetonitrila:água foi avaliada a interação do quimiossímulo **1** com os ânions (HSO_4^- , H_2PO_4^- , NO_3^- , CN^- , CH_3COO^- , F^- , Cl^- , Br^- , sulfeto, N_3^- e I^-) pela técnica de fluorescência, usando-se o composto e cada ânion em iguais concentrações ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). A **Figura 45A** apresenta espectros de emissão nos quais se mostra o efeito da adição individual dos ânions sobre o composto **1**. Os íons sulfeto e CN^- foram os que causaram maior mudança espectral, aumentando a intensidade de fluorescência em 445 nm de forma significativa. Na **Figura 45B** pôde-se avaliar de forma comparativa a intensidade relativa de fluorescência causada pela adição dos ânions, mostrando que o sulfeto é aquele que exerce maior influência na intensidade de emissão, para uma condição experimental em que a concentração do composto é igual a do ânion, seguido pelo CN^- . Esses resultados sugerem que a adição desses ânions à estrutura de **1** interrompe a conjugação eletrônica do grupo pirenil com o ácido de Meldrum, fazendo assim com que a fluorescência seja emitida.

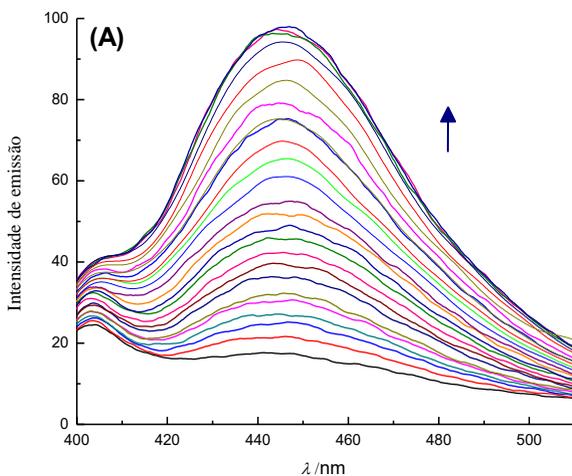
Figura 45. (A) Conjunto de espectros de emissão de fluorescência do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) na ausência e presença de ânions ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) e (B) correspondentes intensidades de

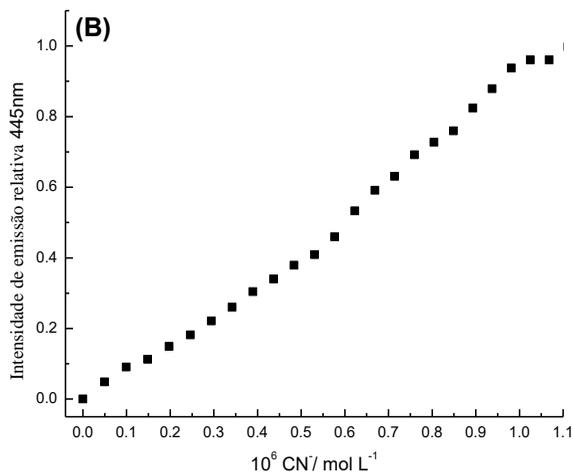
emissão relativas em 445 nm para o composto 1 na ausência e na presença de na ausência e na presença de ânions.



Uma vez determinada a proporção de água/acetonitrila mais adequada para a técnica de fluorescência, foi realizada a titulação do quimiodosímetro **1** com CN^- em acetonitrila/água (4:1, v/v). A **Figura 46A** apresenta uma sequência de espectros de emissão de **1** na presença de quantidades crescentes de CN^- , que mostra que a banda de emissão do quimiodosímetro aparece em $\lambda_{\text{max}} = 445 \text{ nm}$, e que aumenta sua intensidade com a adição do ânion. Quando a adição de um equivalente do ânion é alcançada, verifica-se um platô na curva de titulação. Os valores de intensidade de emissão em 445 nm foram utilizados para construir uma curva de titulação em função da concentração do CN^- adicionado. O segmento linear da curva de titulação foi utilizado para fornecer os valores de $LD = 1,56 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 5,20 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, mostrando este como um sistema de detecção de CN^- bastante sensível.

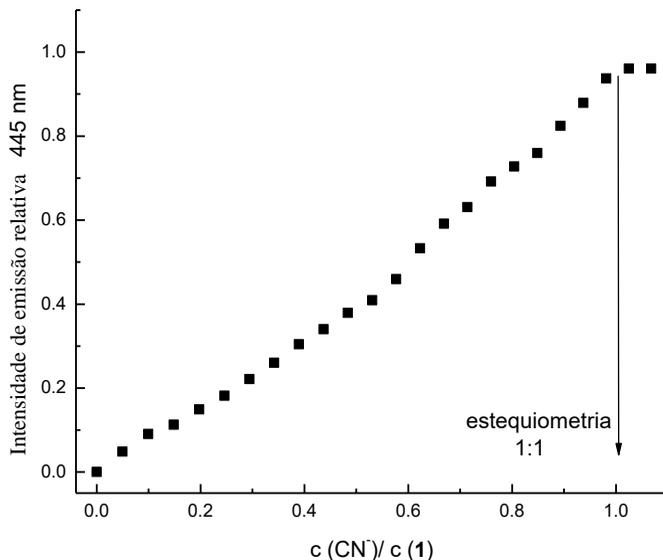
Figura 46.(A) Espectros de emissão e (B) curva correspondente para as intensidades de emissão em 445 nm para a titulação do composto **1** ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN^- em acetonitrila:água (4:1; v/v).





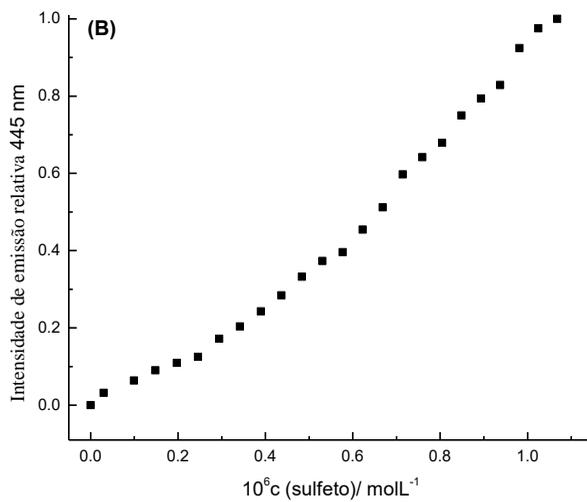
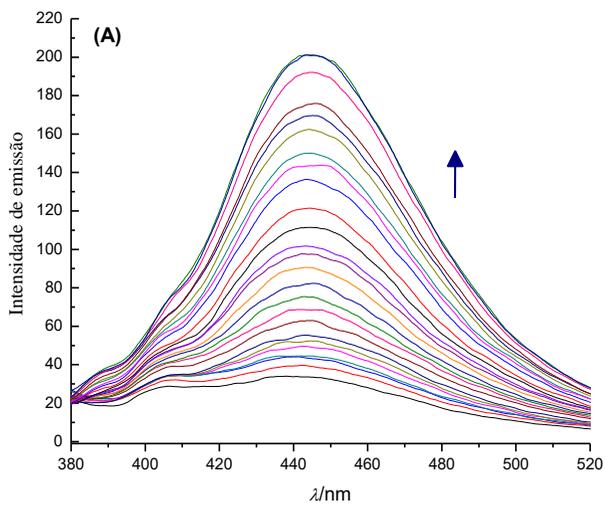
Para confirmar a estequiometria utilizou-se o método da razão molar (**Figura 47**), o qual indica uma estequiometria 1:1, concordando com o resultado encontrado utilizando as técnicas de UV-vis e de RMN.

Figura 47. Gráfico de razão molar para a titulação de 1 com CN^- em acetonitrila:água (4:1; v/v) usando a técnica de fluorescência.



A **Figura 48** mostra o experimento da titulação do composto **1** com sulfeto em $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1; v/v). Pode ser visto que com a adição do ânion a banda de emissão de fluorescência aumenta a sua intensidade. Com os valores da variação de intensidade de emissão em 445 nm foi construída uma curva em função da concentração de sulfeto adicionado, e os limites de detecção e quantificação foram calculados como $4,35 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,45 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

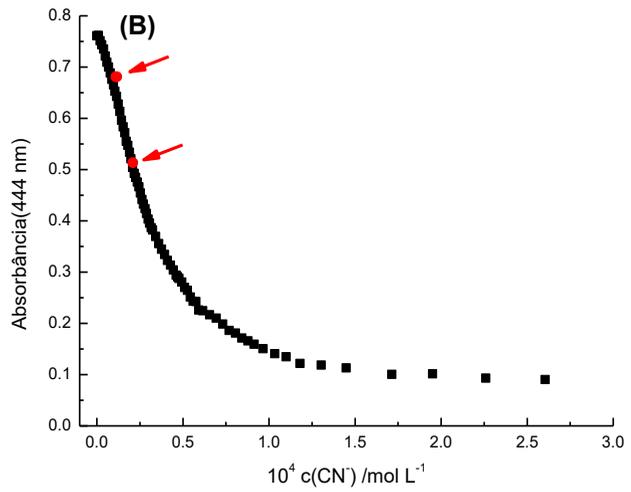
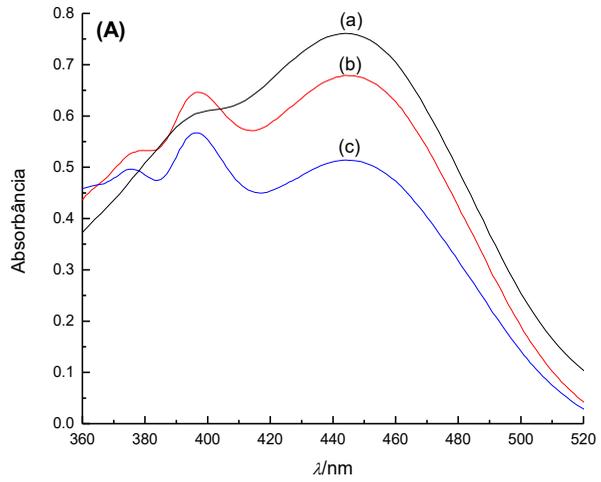
Figura 48. (A) Espectros de emissão e (B) curva correspondente a 445 nm para a titulação do composto 1 ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de sulfeto em acetonitrila: água (4:1; v/v).



4.1.3 Aplicação do quimiodosímetro **1** na detecção de cianeto em água de torneira

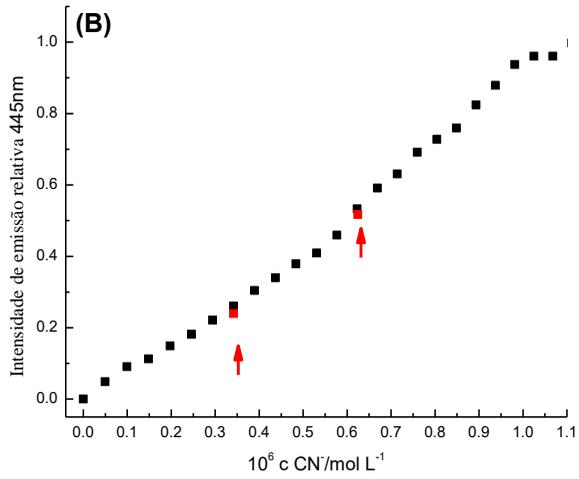
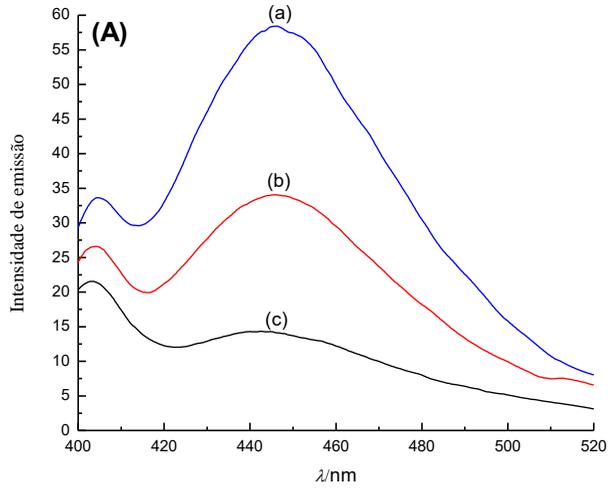
Para avaliar o potencial de aplicação prática do composto **1** como quimiodosímetro cromogênico frente a uma amostra real foi realizado um experimento que mimetiza uma matriz contaminada com CN^- . A **Figura 49A** apresenta espectros de UV-vis do composto **1** em acetoneitrila, com a adição de água de torneira na ausência e na presença de concentrações distintas de CN^- , para uma proporção final acetoneitrila:água 1:1 (v/v). Com a adição de uma alíquota de água de torneira (pH 5,7) não foi observada mudança na absorbância, não ocorrendo assim nenhum processo de detecção. Quando adicionado à solução do composto **1** em acetoneitrila quantidades diferentes de água de torneira contendo CN^- , conforme a metodologia descrita na Parte Experimental, foi observada uma diminuição na banda de absorbância com $\lambda_{\text{max}} = 444 \text{ nm}$. Os resultados obtidos foram comparados com a curva de titulação (**Figura 49B**), podendo-se aferir que o método utilizando o composto **1** é passível de ser utilizado em uma situação real de contaminação em água. Os dados ainda mostram que os possíveis contaminantes presentes na água de torneira, tais como sais dissolvidos, não interferiram no resultado das análises feitas.

Figura 49. (A) Espectros de UV-vis de água da torneira (a) sem CN^- , (b) com $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CN^- e (c) com $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de CN^- . (B) Curva a 444 nm para a titulação do composto **1** ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN^- em acetoneitrila:água (1:1; v/v). Os círculos vermelhos inseridos na curva correspondem às amostras da água da torneira contendo CN^- .



Foram também realizados estudos que simulam amostras reais contendo íon CN^- como contaminante por meio da técnica de fluorescência. A **Figura 50A** mostra os espectros de emissão do composto **1** em acetonitrila com a adição de água de torneira, na ausência e na presença de diferentes concentrações de CN^- , em proporção acetonitrila:água 4:1 (v/v). O processo de detecção ocorreu para as alíquotas nas quais o ânion foi adicionado, alterando assim os valores das intensidades de emissão de fluorescência. Os resultados obtidos foram comparados na curva de titulação (**Figura 50B**), mostrando assim que é viável a detecção de CN^- em amostras reais contendo o composto **1** usando-se a técnica de fluorescência.

Figura 50. (A) Espectros de emissão de água da torneira (a) sem CN^- , (b) com a adição de $3,42 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de CN^- e (c) $6,23 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de CN^- . (B) Curva a 445 nm para a titulação do composto **1** ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) com quantidades crescentes de CN^- em acetonitrila:água (4:1; v/v). Os quadrados vermelhos inseridos correspondem a amostras de água da torneira contendo CN^- .



4.2 CONCLUSÕES

Foi possível sintetizar o composto **1** derivado do ácido de Meldrum e com as técnicas necessárias para a elucidação de sua estrutura e para verificar a sua elevada pureza. Após a síntese, purificação e caracterização do composto, passou-se para a etapa de testar este como dispositivo óptico para a detecção aniônica.

As titulações espectrofotométricas mostram que CN^- e sulfeto interagem quase instantaneamente com o composto, causando diminuição na intensidade da banda de absorção do composto na região vis. As curvas de titulação foram utilizadas para obter a estequiometria do processo, que é de 1: 1 quimiodosímetro: ânion. Experimentos de titulação por espectrometria de RMN de ^1H com CN^- e **1** reforçam os dados obtidos pelas titulações UV-vis de que a estequiometria da reação é de 1: 1. Além disso, o experimento mostrou que o ânion ataca nucleoficamente a ligação $\text{C} = \text{C}$ do composto.

Para o sistema **1**: CN^- em acetonitrila, valores de $1,78 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} e $5,94 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} foram obtidos para *LD* e *LQ*, respectivamente. Para o sistema **1**: CN^- em acetonitrila: água (1:1) os valores de $6,94 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} e $2,32 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} foram obtidos para *LD* e *LQ*, respectivamente. Como o valor máximo estabelecido pela OMS é de 0,07 mg L^{-1} ($2,69 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) de CN^- para que a água seja considerada potável, pode-se dizer que o teste pode ser usado como um método para determinar o CN^- dentro dos padrões determinados pelo órgão.

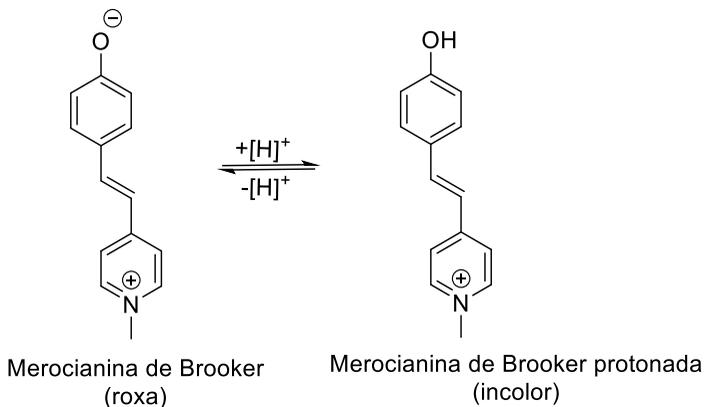
Para o sistema **1**: sulfeto em acetonitrila: água (1:1) os valores de $2,03 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} e $6,76 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} foram obtidos, respectivamente, para *LD* e *LQ*. Como o limite desta espécie estabelecido pela OMS para a potabilidade da água está entre 0,05 mg L^{-1} ($1,56 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}) e 0,1 mg L^{-1} ($3,13 \times 10^{-6}$ mol L^{-1}), o teste poderia ser usado como um método para determinar o sulfeto dentro dos padrões determinados pelo órgão.

5 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE (E)-N,N-DIMETIL-4-(2-(PIRIDINA)VINIL)ANILINA E SEUS ANÁLOGOS PARA A APLICAÇÃO EM DISPOSITIVOS ÓPTICOS DE DETECÇÃO DE AGENTES ALQUILANTES

Compostos estruturalmente simples e eficientes, que sejam capazes de atuar em uma estratégia do tipo quimiodosímetro, podem ser planejados para a elaboração de dispositivos ópticos para a detecção de agentes alquilantes.

O nosso grupo de pesquisa tem se dedicado a explorar sistemas derivados da merocianina de Brooker (**MB**) (Nicolini, Venturini et al. 2009, Nandi 2015) na atuação como dispositivos de detecção utilizando estratégias do tipo ácido-base. Estruturalmente, a **MB** apresenta um grupo fenolato que quando protonado deixa de ser um corante, respondendo assim de maneira visual e espectral à mudança em sua estrutura molecular (zimmermann-Dimer, Reis et al. 2009).

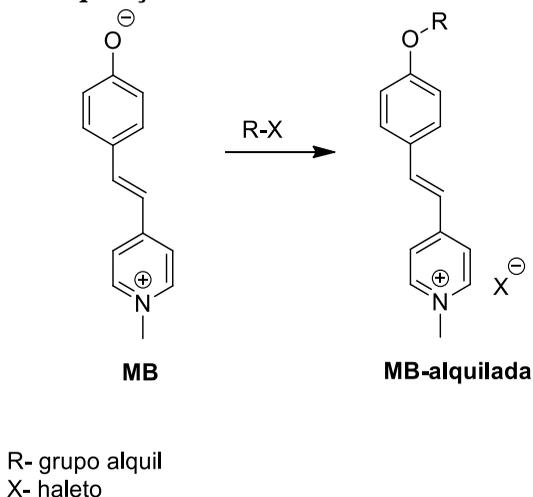
Figura 51. Merocianina de Brooker atuando como quimiossensor cromogênico ácido-base.



Tendo em vista a aplicação da **MB** para atuar como dispositivo cromogênico do tipo “liga/desliga” (*on-off*), planejou-se utilizar a merocianina de Brooker e outros compostos com estrutura molecular

semelhante para atuarem como dispositivos de detecção frente a agentes alquilantes. A **Figura 52** ilustra a potencialidade do grupo fenolato presente na **MB** para ser alquilada e gerar uma resposta óptica cromogênica e/ou fluorogênica. A alquilação da **MB**, inicialmente com coloração roxa e não fluorescente, causaria mudança na coloração visual e alteração nos espectros de UV-vis e de fluorescência após a inserção do grupo alquil à sua estrutura molecular.

Figura 52. Possível alquilação da merocianina de Brooker

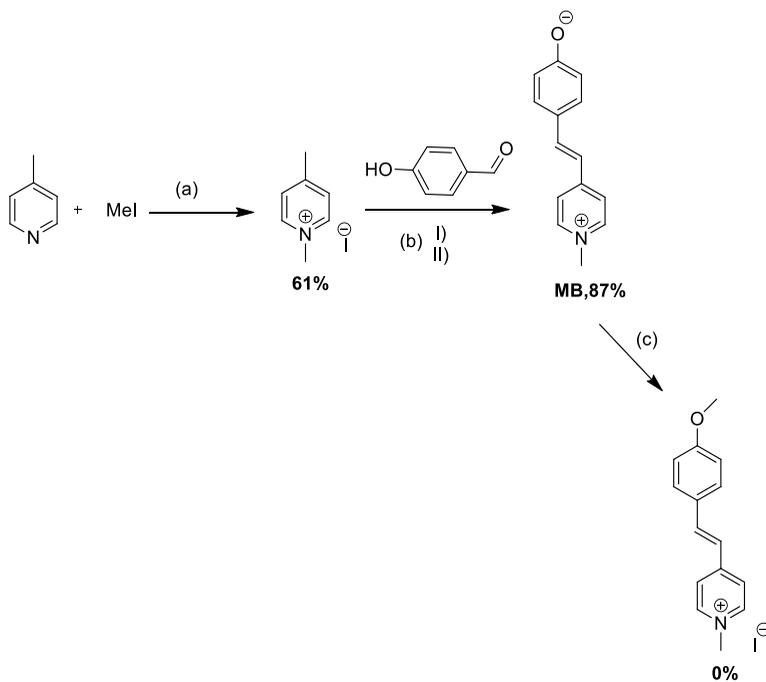


Com esta premissa, de início, o planejamento sintético constituiu-se na obtenção de compostos cuja estrutura molecular apresentasse grupos potencialmente nucleofílicos, com a porção eletrônica disponível para promover uma reação de detecção do tipo substituição nucleofílica. Grupamentos como 4-piridinas e fenolatos foram elencados devido à potencialidade no emprego em reações nucleofílicas frente a agentes alquilantes. Além do sítio reativo, arquitetou-se a modulação da molécula-dispositivo, variando-se a ponte conjugada, dos tipos azo (N=N), imino (CH=N) e estilbeno (CH=CH).

Desta forma, os compostos obtidos através das rotas sintéticas apresentadas a seguir foram devidamente caracterizados através de espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e HRMS.

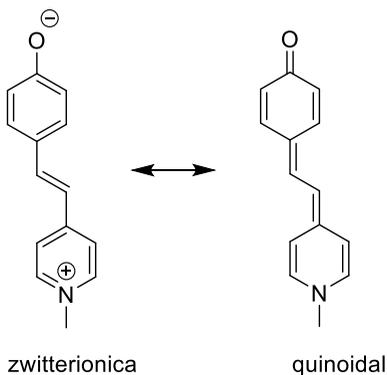
5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

O **Esquema 4** ilustra a rota sintética para a obtenção da molécula conhecida como a merocianina de Brooker (**MB**). Partindo-se da γ -picolina e iodeto de metila foi gerado o precursor, o iodeto de 1,4-dimetilpiridínio, para em seguida este ser aplicado na condensação com 4-hidroxibenzaldeído, para gerar a **MB** com 87% de rendimento. A **MB** foi posta em um sistema reacional com um agente alquilante modelo, MeI com excesso de 2 equiv, em um solvente polar não doador de ligação de hidrogênio, acetona, usando-se carbonato de potássio como base. Esse sistema foi levado a refluxo, e a reação foi acompanhada através de cromatografia de camada delgada (CCD). No entanto, após 3 h de reação somente os materiais de partida foram observados. A reação foi deixada por 24 h e não foi observada a formação do produto desejado, indicando assim que a **MB** não é eficiente como um dispositivo molecular na detecção de agente alquilante por meio de um sistema simples de alquilação. A não metilação da **MB** sugere que o híbrido de ressonância na forma quinoidal tem uma contribuição significativa nesse sistema estudado em comparação com a forma zwitteriônica (**Figura 53**). Isso torna a densidade eletrônica menos disponível para o ataque nucleofílico

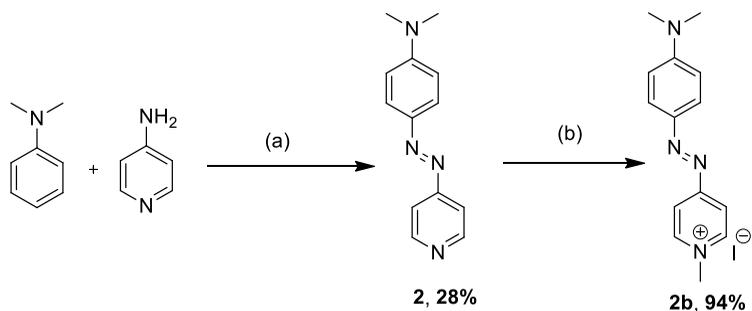


Esquema 4. Representação da síntese da merocianina de Brooker. Condições experimentais: (a) 2-propanol, 2 h/refluxo; (b) I) piperidina, EtOH, 24 h/refluxo; II) KOH; (c) acetona, K₂CO₃, MeI, 3h/refluxo.

Figura 53. Formas mesoméricas zwitteriônica e quinoidal da merocianina de Brooker.

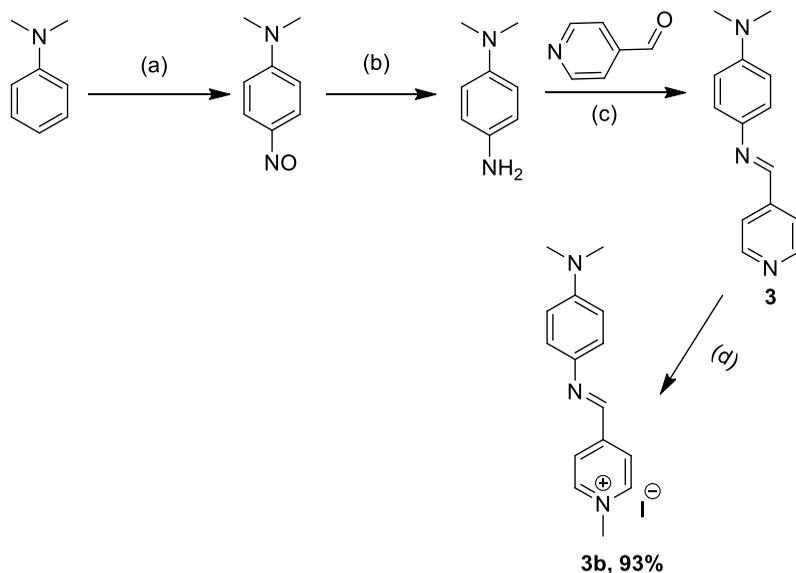


O próximo sistema estudado para promoção da reação de alquilação foi o composto **2**. Para a obtenção do composto **2** foi realizada uma reação de diazotação (**Esquema 5**, (a)) entre a *N,N*-dimetilanilina e 4-aminopiridina em meio aquoso, resultando no produto desejado. A alquilação do produto **2** utilizando iodeto de metila em acetonitrila gerou o produto **2b**, indicando o potencial do sítio piridínico atuar como dispositivo molecular na detecção de agentes alquilantes.



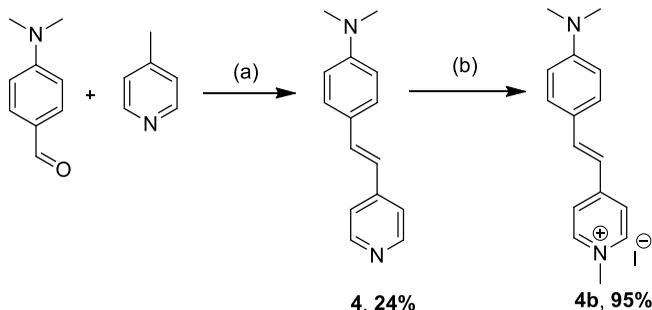
Esquema 5. Síntese dos derivados azo **2** e **2b**. (a) NaNO_2 , HBF_4 , 0-5 °C; (b) MeCN, K_2CO_3 , MeI, 3 h, refluxo.

Dados os resultados obtidos na alquilação do composto **2**, decidiu-se modular a estrutura do corante através da variação da ponte conjugada. O **Esquema 6** mostra a obtenção do produto contendo ponte imina (CH=N) e o centro piridínico. Inicialmente, realizou-se a nitrosação da *N,N*-dimetilanimilina com nitrito de sódio em meio ácido para obtenção do produto nitrosado. Na próxima etapa sintética o grupamento NO foi reduzido para a funcionalidade amina por intermédio de SnCl₂ em meio etanólico. O produto obtido foi utilizado logo em seguida na próxima etapa devido à facilidade com que ele sofre oxidação. Na terceira etapa da rota sintética, foi realizada uma reação de condensação catalisada por ácido entre a 4-(*N,N*-dimetilamino)anilina obtida e 4-piridinocarboxaldeído. Essa reação foi conduzida à temperatura ambiente por um período de 24 h para a obtenção do produto desejado **3**. Para avaliar a potencial aplicação do composto **3** como quimiossímulo frente a agentes alquilantes, foi efetuada a reação de alquilação com iodeto de metila. Foi obtido o produto metilado **3b** em 93% de rendimento, reforçando assim o potencial de corantes contendo grupamento piridina como sítio de reação na detecção de agentes alquilantes.



Esquema 6. Rota sintética de preparação dos compostos imínicos 3 e 3b. (a) HNO_3 , H_2SO_4 , refluxo; (b) SnCl_2/H^+ ; (c) CH_3COOH ; (d) MeCN , K_2CO_3 , MeI , 3 h/refluxo.

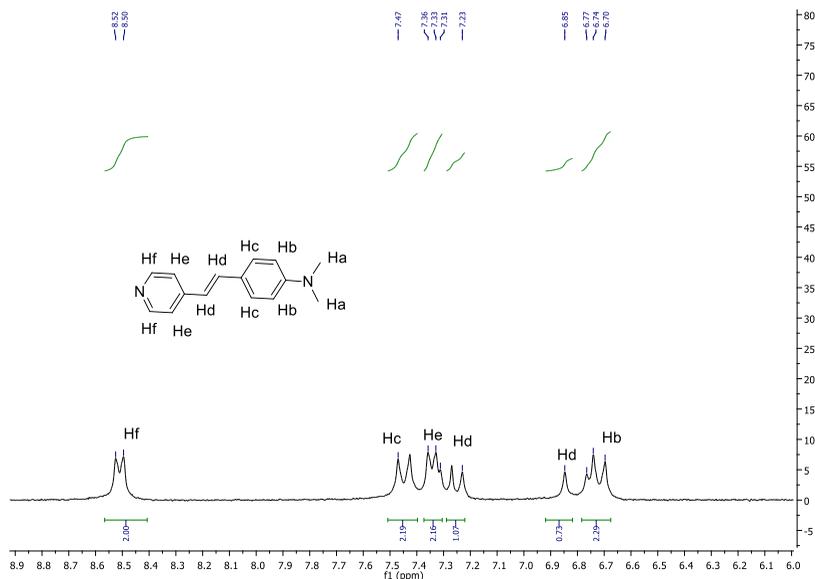
O **Esquema 7** ilustra a rota sintética adotada para a obtenção do dispositivo **4**, o qual apresenta a ponte conjugada $\text{CH}=\text{CH}$ e o seu derivado metilado **4b**. O produto desejado **4** foi obtido por meio de uma reação de condensação aldólica entre a γ -picolina e 4-dimetilaminocarboxialdeído catalisada por base. O derivado metilado **4b** foi gerado a partir da reação do composto **4** com iodeto de metila em meio orgânico com rendimento de 95%.



Esquema 7. Representação da síntese dos estilbenos **4** e **4b**. (a) KOH, 3 h, 125 °C; (b) MeCN, K₂CO₃, MeI, 3 h, refluxo.

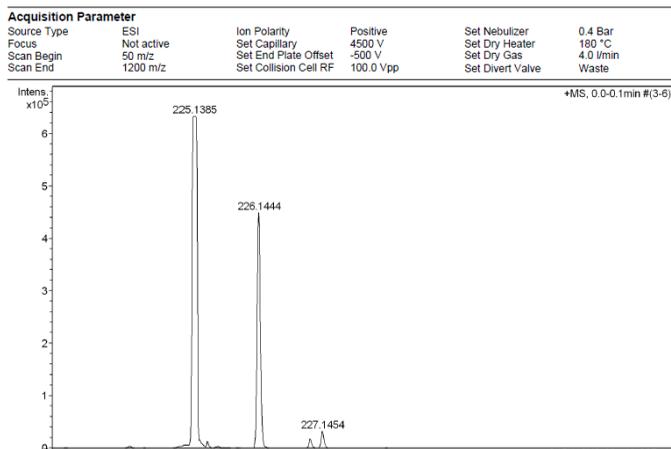
Os compostos obtidos foram caracterizados com as devidas técnicas de análise, e os espectros obtidos se encontram em anexo. A título de exemplo, serão discutidos os espectros do corante **4**. A **Figura 54** mostra o espectro de RMN de ¹H obtido para o composto **4**. Analisando o espectro é possível identificar um simpleto com deslocamento químico em δ 3,02 ppm com integral 6, referente aos hidrogênios das metilas ligados ao nitrogênio (Ha). Na região de δ 6,72 ppm é observado um duplete com constante de acoplamento $J = 8,8$ Hz representando os dois hidrogênios (Hb) *orto* ao grupo *N,N*-dimetil. Os sinais referentes aos 2 hidrogênios da ponte conjugada (Hd) para o isômero *E* aparecem em dois dupletos δ 6,81 ppm e δ 7,25 ppm, ambos com $J = 16,0$ Hz, valor característico para acoplamento do tipo *E*. Os 2 hidrogênios em posição *meta*s (Hc) ao grupo Me₂N aparecem no desdobramento duplete em δ 7,45 ppm com $J = 8,8$ Hz. Os hidrogênios do anel piridínico *meta* ao nitrogênio (He) se encontram na forma de um duplete em δ 7,32 ppm com $J = 6,0$ Hz e os hidrogênios próximos do nitrogênio em δ 8,52 ppm com $J = 6,0$ Hz na forma de um duplete. Os valores encontrados experimentalmente estão de acordo com aqueles descritos na literatura (Li, Shao et al. 2014).

Figura 54. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do composto 4.



Com o intuito de corroborar a síntese do composto **4**, foi realizado uma análise de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) para determinar a massa molecular do composto. Utilizando fonte de ionização por *electrospray* em modo positivo ESI (+), **Figura 55**, foi encontrado o valor do pico de massa do composto **4** com o ganho de um próton $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z : 225,1385 sendo este valor próximo ao teórico $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z : 225,1386, resultando em um erro de apenas 0,44 ppm.

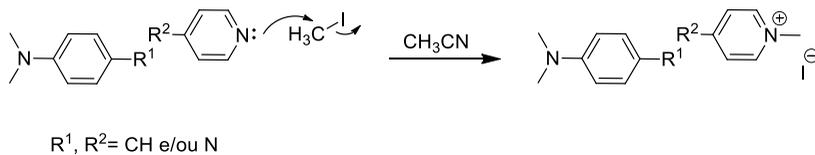
Figura 55. Espectro de massas de alta resolução do composto 4, utilizando fonte ESI (+).



5.2 Dispositivos moleculares cromogênicos/fluorogênicos baseados em uma estratégia do tipo quimiodosímetro

Nesta seção investigou-se a possibilidade de se empregar os corantes **2** a **4** em acetonitrila (CH_3CN) como quimiodosímetros na detecção de um agente alquilante modelo, iodeto de metila (MeI), considerando-se o potencial nucleofílico do centro piridínico e a mudança de coloração que sinalize a detecção, bem como a espectral, quando este compõe estruturalmente um corante. A **Figura 56** representa de forma geral a interação dos corantes com o analito estudado.

Figura 56. Representação da interação dos corantes estudados com iodeto de metila



Os compostos **2-4** foram sintetizados e convertidos por meio de uma reação de alquilação usando-se um método usual, indicando assim o potencial desses compostos em atuarem como dispositivos na detecção e quantificação de agentes alquilantes em solução orgânica. A interpretação dos dados foi realizada em termos da transferência completa e irreversível do grupo alquil para o nitrogênio do grupo piridínico do corante.

Primeiramente, por meio de um teste de bancada investigou-se o emprego de alguns meios orgânicos como DMSO, MeOH e MeCN em conjunto com os compostos **2-4** e iodeto de metila. Dentre estes, o meio que possibilitou a conversão dos corantes em seus derivados metilados de maneira mais efetiva, com mudança na coloração da solução, foi a MeCN. Em seguida foram realizados espectros de UV-vis dos compostos estudados com o intuito de verificar o deslocamento e a diferença da banda de absorção dos compostos antes e depois da alquilação, assim como a mudança de coloração perceptível a olho nu desse processo. A **Figura 57** ilustra a mudança visual da solução do composto **2** contendo a ponte azo, coloração laranja, e o seu derivado metilado correspondente (**2b**), de coloração violeta. Quando avaliado o deslocamento da banda de máxima absorção no UV-vis entre as espécies **2** e **2b** (**Figura 58**), observou-se que a transferência do grupo metila produziu um deslocamento de 435 nm e um valor de coeficiente de absorvidade molar (ϵ_{max}) de $1,36 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para 550 nm ($\epsilon_{\text{max}} = 2,78 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), respectivamente. Essa diferença de λ_{max} permite a quantificação da detecção dessas espécies pela técnica de UV-vis.

Figura 57. Diferença de coloração entre os compostos 2 e 2b em acetonitrila.

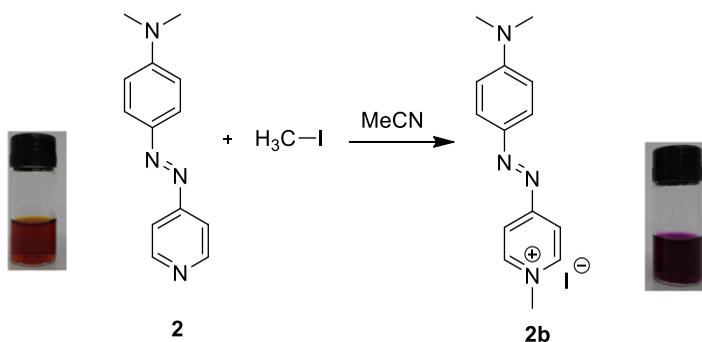
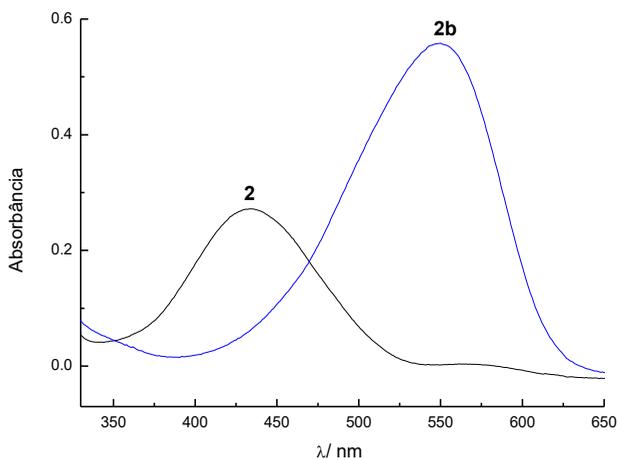


Figura 58. Espectros de UV-vis para soluções dos compostos 2 ($2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; $\lambda_{\text{max}} = 435$ nm) e 2b ($2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; $\lambda_{\text{max}} = 550$ nm) em acetonitrila.



As mudanças de coloração e espectrais por UV-vis também foram verificadas para a conversão do composto **3** para o seu derivado metilado **3b**. O composto não metilado apresenta coloração amarela (**Figura 59**) e após a inserção do grupo metil a coloração passou para alaranjada intensa. Para a banda de absorção na região vis também foi verificado a diferença no comprimento de máxima absorção (**Figura 60**) do composto não metilado para o metilado de 400 nm ($\epsilon_{\max}=1,41 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹) para 500 nm ($\epsilon_{\max}=1,24 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹).

Figura 59. Diferença de coloração entre os compostos **3** e **3b** em acetonitrila.

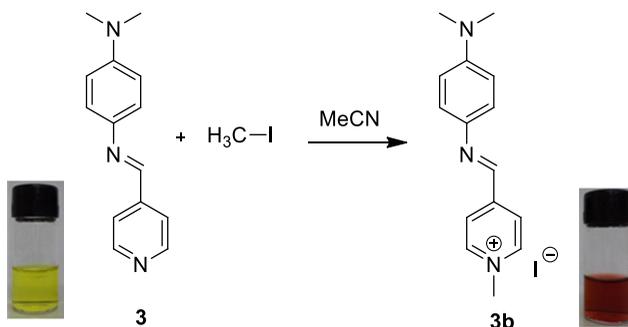
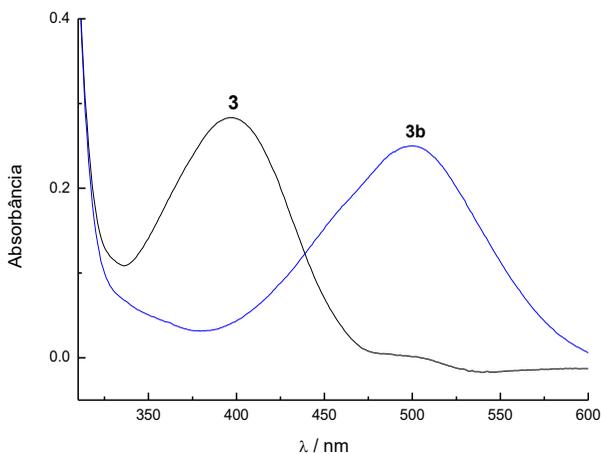


Figura 60. Espectros de UV-vis para soluções dos compostos **3** ($2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; $\lambda_{\text{max}} = 400$ nm) e **3b** ($2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; $\lambda_{\text{max}} = 500$ nm) em acetonitrila.



O corante **4** apresentou uma mudança significativa de coloração em relação ao seu derivado metilado **4b** (Figura 61), passando de uma tonalidade amarelo-clara para um alaranjado intenso, possibilitando assim a detecção visual. As bandas de absorção dessas duas espécies no UV-vis também puderam ser diferenciadas. A Figura 62 mostra os espectros de UV-vis para os compostos **4** e **4b** em acetonitrila. O máximo no comprimento de onda para o corante não metilado é de 360 nm ($\epsilon_{\text{max}} = 1,78 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹) e para o derivado alquilado é igual a 470 nm ($\epsilon_{\text{max}} = 3,50 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹).

Figura 61. Diferença de coloração entre os compostos 4 e 4b em acetonitrila.

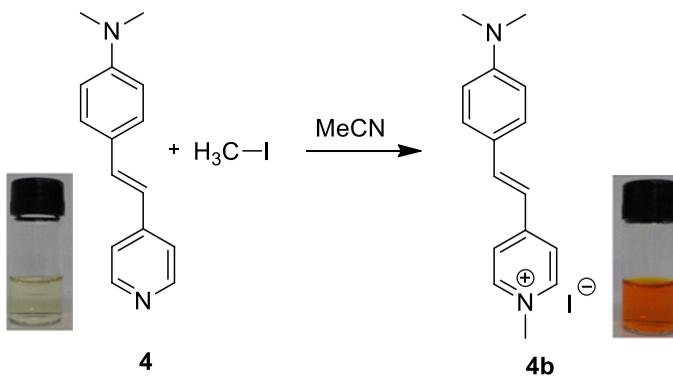
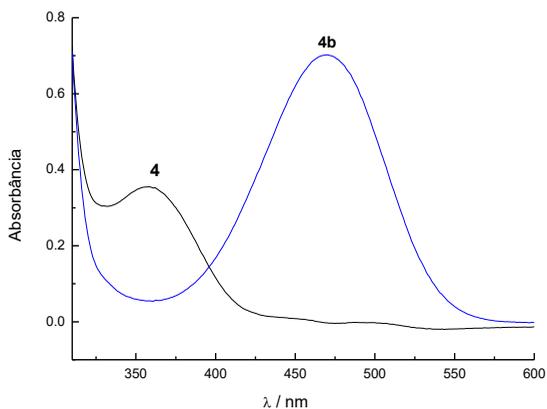


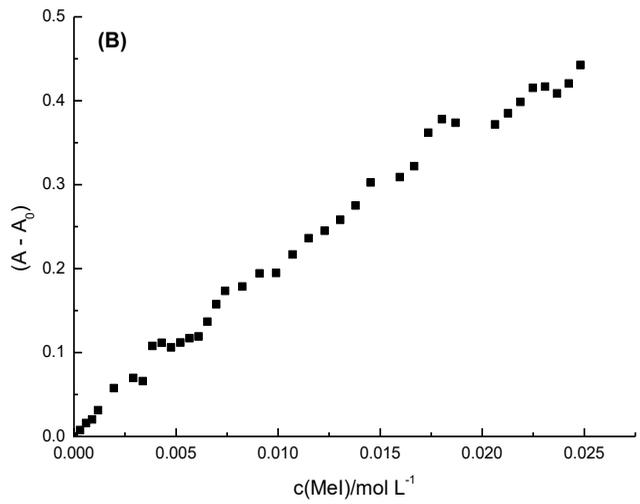
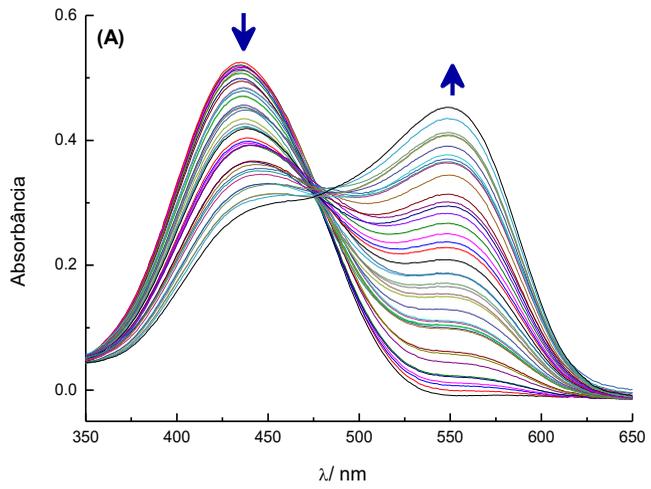
Figura 62. Espectros de UV-vis para soluções dos compostos 4 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ nm}$) e 4b ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$) em acetonitrila.



5.2.1 Titulações dos quimiodosímetros com iodeto de metila

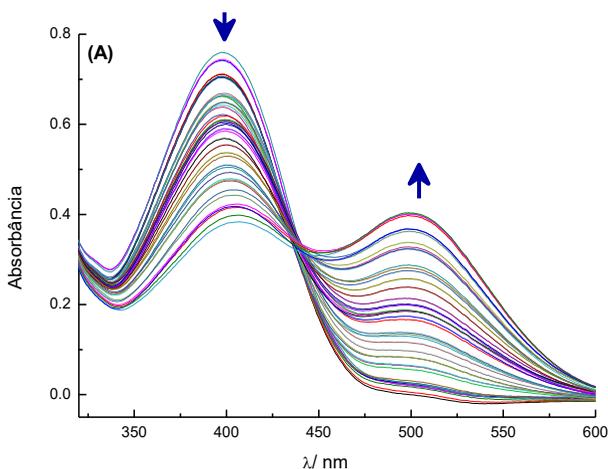
As medidas de quantificação dos quimiodosímetros sintetizados, frente à capacidade de detecção de um agente alquilante, foram realizadas através de titulações monitoradas por espectros de UV-vis, uma vez que as bandas de absorção dos compostos não alquilados são distintas dos alquilados. A titulação do composto **2** em CH₃CN foi conduzida com a adição de quantidades crescentes de iodeto de metila (**Figura 63**), e a banda relativa ao corante **2** em 435 nm teve sua absorbância diminuída. Simultaneamente, a banda com um λ_{max} de 500 nm, referente ao composto **2b**, teve a absorbância aumentada, enquanto um ponto isobéptico foi verificado em 477 nm. Com os valores de absorbância coletados em 550 nm, referentes à formação do produto metilado, foi possível a construção do gráfico mostrado na **Figura 63b**. O segmento linear da curva de calibração foi utilizado para gerar a equação da reta correspondente e os valores de limites ópticos de detecção (*LD*) e de quantificação (*LQ*) para esse sistema de detecção foram determinados. A partir dos valores extraídos da equação da reta e com a aplicação das **Equações 4 e 5** foram obtidos $LD = 1,70 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 5,86 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

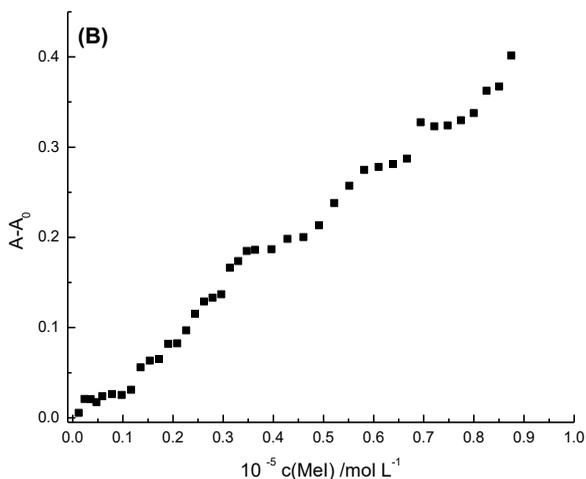
Figura 63. (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto **2** ($2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH₃CN a 25,0 °C com adições crescentes de MeI. (B) Curva de variação da absorbância em 550 nm, referente à formação do composto **2b**, com a adição de quantidades crescentes de MeI.



A titulação da imina **3** foi realizada adicionando-se pequenas alíquotas de MeI e o conjunto de espectros de UV-vis coletados está representado na **Figura 64**. Com a adição de iodeto de metila a uma solução do composto **3** a banda relativa a este composto em λ_{\max} de 400 nm teve a sua absorbância diminuída e simultaneamente a banda de absorção em $\lambda_{\max} = 500$ nm referente ao composto **3b** foi aumentada. No entanto, esse sistema se mostrou pouco reativo e requereu uma grande quantidade de reagente alquilante, portanto o corante **3** não foi levado adiante para os demais estudos.

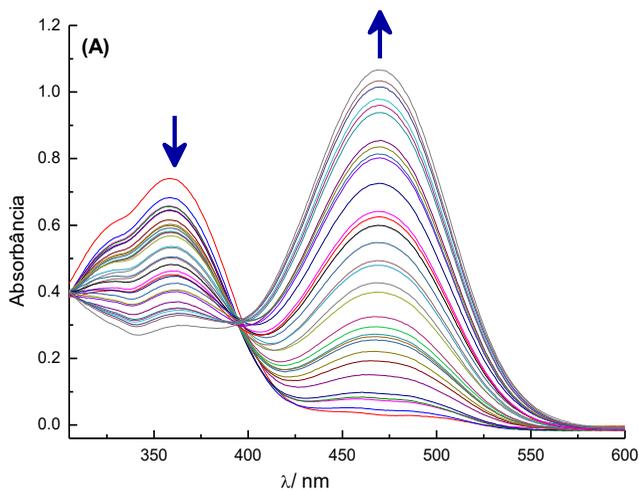
Figura 64. (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto **3** (4×10^{-5} mol L⁻¹) em CH₃CN a 25,0 °C com adições crescentes de MeI. (B) Curva de variação da absorbância em 500 nm, referente à formação do composto **3b**, com a adição de quantidades crescentes de MeI.

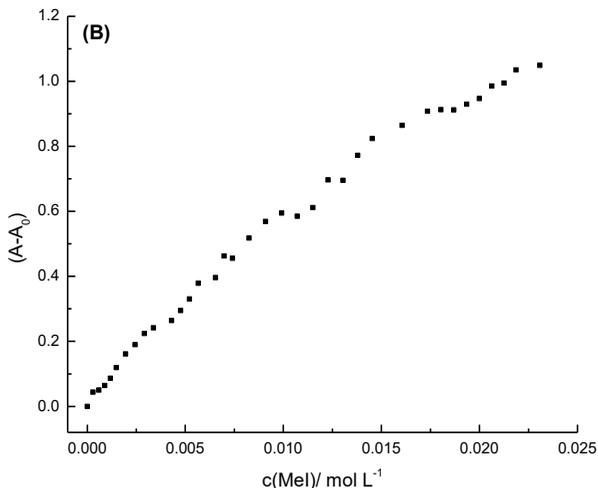




De maneira análoga, o composto **4** foi titulado em CH_3CN com MeI e o experimento foi acompanhado pela técnica de UV-vis. Com a adição do titulante, a banda em $\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ nm}$ (relativa ao composto **4**) teve a sua absorvância diminuída e concomitantemente a banda referente à formação do derivado alquilado **4b** em $\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$ aumentou a absorvância enquanto um ponto isobéptico foi observado em 395 nm (**Figura 65a**). Com os valores medidos de absorvância em relação à concentração do agente alquilante foi possível a elaboração de um gráfico (**Figura 65b**) para a determinação da sensibilidade do sistema de detecção estudado. Com os dados gerados a partir da equação da reta e aplicando-se as **Equações 4 e 5** foram obtidos $LD = 2,17 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 7,23 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 65. (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto 4 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$ com adições de MeI. (B) Curva de variação da absorbância em 470 nm , referente à formação do composto 4b, com a adição de quantidades crescentes de MeI.





5.2.2 Influência da adição do íon metálico prata aos dispositivos cromogênicos de detecção para agentes alquilantes

A reação de detecção entre o dispositivo que apresentou valores mais promissores de LQ e LD , composto **4**, e o agente alquilante iodeto de metila foi estudado frente a adição de um sal de prata. Escolheu-se o íon prata por apresentar características conhecidas classicamente como promover o aceleração de reações nucleofílicas envolvendo haletos de alquila (Kornblum, Blackwood et al. 1955) e, em especial na forma de $AgNO_3$ onde a solubilidade é ligeiramente maior, tornando a catálise homogênea (Silva, Martins et al. 2004).

Os ensaios cinéticos monitorados por UV-vis foram conduzidos em condições de pseudo-primeira ordem, com a concentração do MeI sendo mantida em excesso, permitindo assim a determinação das constantes observadas de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) para cada sistema avaliado. Os valores de k_{obs} foram calculados pelo ajuste da curva cinética obtida através da variação da absorbância no λ_{max} de 470 nm, correspondente à formação do produto **4b**, em função do tempo. Com os dados coletados, a **Equação 6** foi aplicada.

O efeito da adição de AgNO_3 na velocidade do sistema estudado pode ser observado na **Figura 66**. A constante observada para a formação do produto de detecção **4b** sem adição do sal de prata foi de $5,66 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Com adição de quantidades crescentes de AgNO_3 ao sistema foi observado um incremento na velocidade da reação, atingindo um patamar catalítico quando a concentração do sal de prata foi igual a concentração do corante **4** apresentando um k_{obs} de $1,22 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. A constante de velocidade observada se manteve em concentrações maiores do sal de prata, indicando uma saturação do sítio catalítico. Esse valor representa uma aceleração na velocidade da reação de detecção em 2,2 vezes em relação ao sistema sem adição do sal de prata. Em vista dos resultados obtidos no acréscimo na velocidade da reação com adição de prata e de estudos reportados na literatura, pode-se preconizar a interação da prata no sistema avaliado (**Figura 67**). De acordo com a teoria de Pearson, dos ácidos e bases duros e macios (HSAB), (Atkins, Overton et al. 2006) prata e iodeto são espécies macias, portanto com afinidade maior, e tendem a interagir, deixando o carbono do grupo alquil mais eletrofílico, facilitando dessa forma o ataque nucleofílico do centro piridínico e, por consequência, aumentando a velocidade da detecção (Vona and Steigman 1959).

Figura 66. Influência da adição de AgNO_3 na velocidade da reação entre o composto 4 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e MeI ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$.

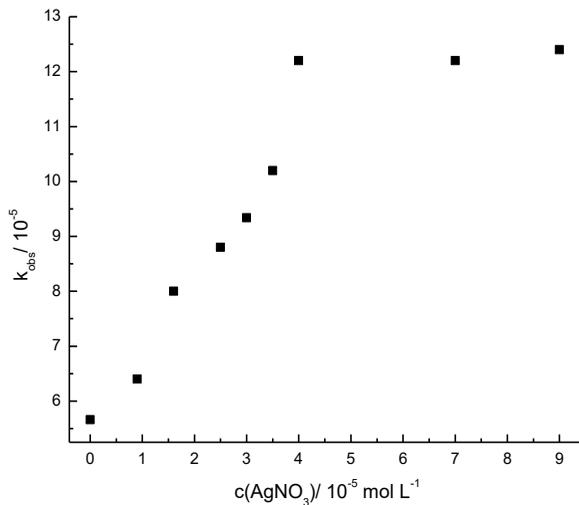
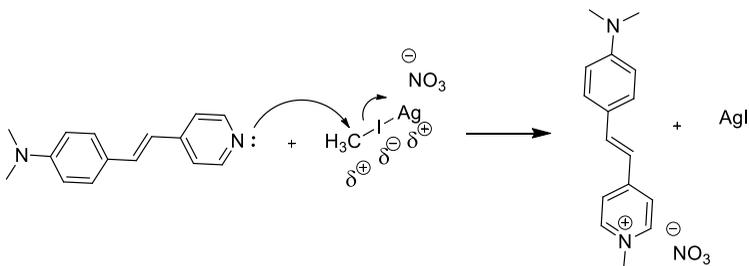


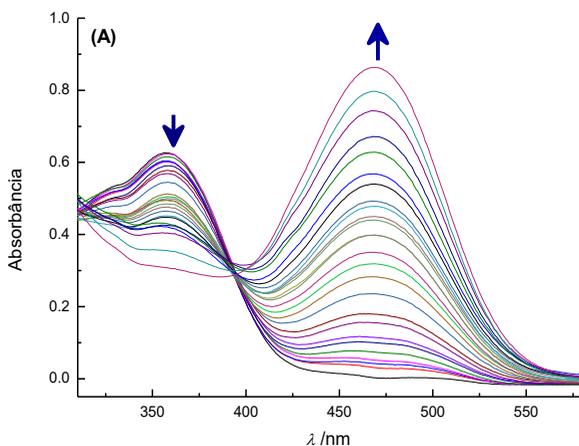
Figura 67. Possível influência do nitrato de prata na reação de detecção do agente alquilante.

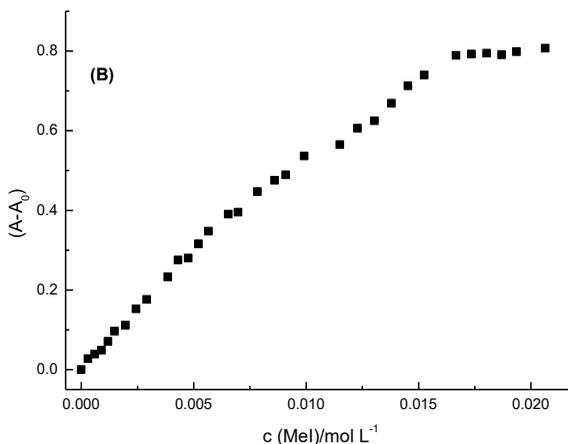


Como foi demonstrado que a adição do AgNO_3 em uma concentração de equivalência com o corante foi capaz de promover o

aceleramento da reação de detecção com iodeto de metila, realizou-se uma nova titulação para o corante **4**, agora na presença de prata. A **Figura 68** mostra a curva de titulação obtida sob influência do sal catalítico. A titulação foi realizada em CH_3CN e o experimento foi acompanhado pela técnica de UV-vis. A adição de quantidades crescentes de MeI resultou na diminuição da banda de absorção em $\lambda_{\text{max}} = 360$ nm, relativa ao composto **4**, e simultaneamente no aumento da banda correspondente ao produto **4b** em $\lambda_{\text{max}} = 470$ nm. Com os dados de absorbância coletados em 470 nm foi construído um gráfico para a determinação da sensibilidade do sistema de detecção estudado. Com os dados gerados a partir da equação da reta e aplicando-se as **Equações 4** e **5** foram gerados valores de $\text{LD} = 1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e de $\text{LQ} = 5,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os valores encontrados experimentalmente para o sistema de detecção com adição do sal de prata mostram um melhoramento em relação ao sistema sem a presença da prata.

Figura 68. (A) Espectros de UV-vis resultantes para a titulação do composto **4** ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), AgNO_3 ($4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em CH_3CN a $25,0^\circ\text{C}$ com adições de MeI. (B) Curva de variação da absorbância em 470 nm, referente à formação do composto **4b**, com a adição de quantidades crescentes de MeI.

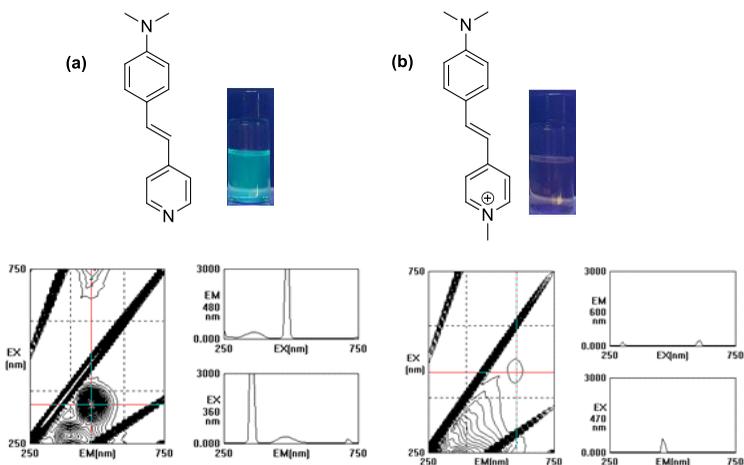




5.2.3 Um quimiodosímetro cromogênico/fluorogênico para a detecção de agentes alquilantes

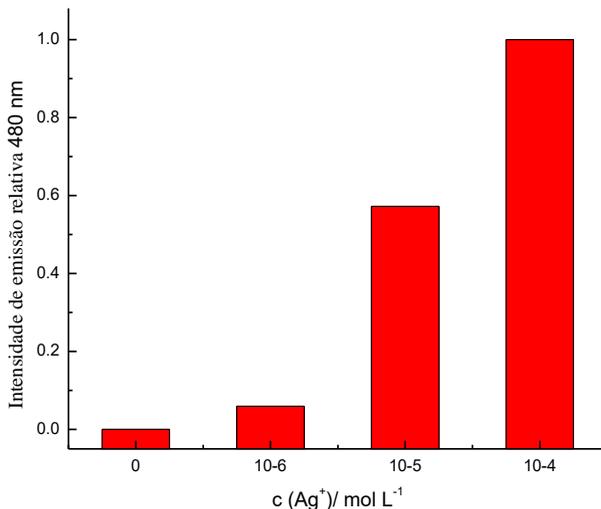
Dentre os compostos estudados para aplicação como dispositivo de detecção para agentes alquilantes o composto **4** mostrou ser fluorescente. O emprego da técnica de fluorescência é atrativa em dispositivos de detecção, pois usualmente permite uma maior sensibilidade ao sistema. Na **Figura 69a** pode-se observar a diferença visual da emissão de fluorescência do composto **4** e do seu análogo metilado **4b** e os espectros da varredura tridimensional. O corante **4** quando exposto à radiação ultravioleta (360 nm) apresenta fluorescência pronunciada em um máximo da sua intensidade com excitação em 360 nm e emissão em 480 nm. Comparativamente, o produto metilado **4b** exibe discreta fluorescência, mostrando assim para o dispositivo de detecção um mecanismo do tipo liga/desliga (*on/off*) quando a detecção é monitorada pela técnica de fluorescência.

Figura 69. Soluções dos compostos (a) **4** e (b) **4b** em acetonitrila expostas à lâmpada em $\lambda = 360$ nm e seu respectivo espectro de varredura tridimensional (fenda de excitação de 5 nm e de emissão de 10 nm). As concentrações dos compostos foram iguais a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.



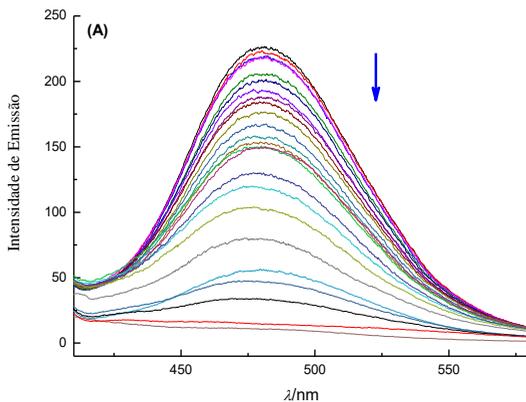
A influência do sal de prata sobre as propriedades fotoquímicas do quimiodosímetro **4** também foi avaliada frente à técnica de fluorescência (**Figura 70**). O espectro de emissão para o composto **4** ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ em CH₃CN) mostra que com a adição do sal de prata (AgNO₃) na mesma concentração que o composto a intensidade de emissão teve um pequeno acréscimo. À medida que a adição do sal de prata foi aumentada a intensidade da emissão foi realçada, $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de prata resultou em um aumento de 10 vezes em relação à adição anterior. Para uma concentração do sal de prata de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ o sistema teve um acréscimo de 1,8 vezes na intensidade de emissão comparado à concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com deslocamento de 480 nm para ambas concentrações. No entanto, quando adicionada uma concentração muito superior de sal de prata, $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹, a banda de emissão foi deslocada para $\lambda_{\text{max}} = 517$ nm.

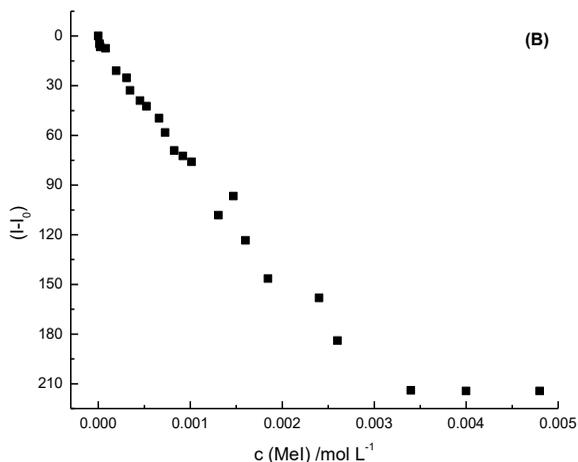
Figura 70. Gráfico de emissão de fluorescência do composto 4 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, CH₃CN) na ausência e em diferentes concentrações de AgNO₃ a 25,0 °C.



Com a concentração de prata selecionada ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) o quimiiosímetro **3** foi titulado, sendo os espectros monitorados pela supressão da fluorescência do mesmo (**Figura 71**). Com o acréscimo da adição do titulante a banda em $\lambda_{\max} = 480$ nm (relativa a **4**) teve a sua intensidade diminuída. Com os valores medidos de intensidade de emissão de fluorescência em relação à concentração do agente alquilante foi possível a elaboração de um gráfico (**Figura 71b**) para a determinação da sensibilidade do sistema de detecção estudado. Com os dados gerados a partir da equação da reta do segmento linear e aplicando-se as **Equações 4** e **5** foram obtidos $LD = 7,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $LQ = 2,6 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

Figura 71. (A) Espectros de emissão de fluorescência resultantes para a titulação do composto 4 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹), na presença de AgNO₃ ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹), em CH₃CN e a 25,0 °C, com adições de MeI. (B) Curva de variação de intensidade de emissão em 480 nm do composto 4 com a adição de quantidades crescentes de MeI.





Realizadas as titulações para o composto **4** com MeI na presença e na ausência do sal de prata pode-se verificar que a sensibilidade do sistema teve um pequeno acréscimo de $LD = 2,17 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 7,23 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para $LD = 1,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e de $LQ = 5,54 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, quando acompanhadas pela técnica de UV-vis. Além disso, a adição do íon metálico proporcionou um aceleração da reação em 2 vezes. Quando o sistema de detecção foi estudado pela técnica de fluorescência a sensibilidade do composto **4** com MeI na presença de AgNO_3 foi de $LD = 7,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Esses valores demonstram a potencialidade do sistema desenvolvido em atuar de forma eficiente viável no reconhecimento de agentes alquilantes e abrem precedentes para novos estudos no campo de reconhecimento de analitos eletricamente neutros.

5.3 CONCLUSÕES

Foi possível a obtenção dos precursores e dos compostos finais através das rotas sintéticas utilizadas. Além disso, os compostos obtidos foram caracterizados com as técnicas necessárias para a elucidação de suas estruturas e para verificação da pureza. Ademais, os compostos sintetizados contendo o núcleo piridínico apresentaram potencial para aplicação como quimiossímios na detecção de agentes alquilantes. Após a purificação e devida caracterização dos compostos, passou-se para a etapa de testar os compostos como dispositivos moleculares para a detecção de agentes alquilantes.

Os compostos sintetizados (**2-4**) apresentaram coloração distinta dos seus derivados metilados (**2b-4b**) assim como deslocamento da banda de absorção no UV-vis distintos. As titulações espectrofotométricas mostram que o composto **4** apresenta maior potencialidade frente a detecção do agente alquilante modelo iodeto de metila. Esse sistema foi aprimorado com a adição de AgNO_3 que possibilitou a detecção de forma mais rápida aumentando a constante observada da reação de $5,66 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ para k_{obs} de $1,22 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. O sal de prata ainda possibilitou o aumento dos limites de detecção e quantificação.

A detecção de iodeto de metila pelo composto **4** pôde ser estudada pela técnica de fluorescência em uma abordagem de quimiossímios do tipo liga-desliga (*on/off*), visto que a metilação gerou o produto metilado **4b**, com propriedades fotofísicas diferentes. Através da supressão da fluorescência do composto **4** foi realizado um experimento de titulação que permitiu uma sensibilidade de de $LD = 7,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $LQ = 2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

6 CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

Uma estratégia do tipo quimiodosímetro foi empregada para a detecção de espécies aniônicas e eletricamente neutras através da utilização de classes de compostos distintas.

Para a detecção aniônica foi sintetizado um derivado do ácido de Meldrum contendo o grupo pirenil, o qual apresentou resposta visual e espectral quando posto em meio orgânico e orgânico-aquoso contendo ânions CN^- e sulfeto. A seletividade para CN^- foi alcançada em solução em meio orgânico-aquoso com a utilização de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, removendo o sulfeto através da formação de PbS como precipitado.

Uma perspectiva interessante para esse sistema seria a síntese de outros derivados do ácido de Meldrum contendo outros sistemas altamente conjugados como derivados dos hidrocarbonetos policíclicos antraceno, criseno, naftaleno e fenantreno. Os produtos formados seriam avaliados como dispositivos de detecção aniônicos. Em outra vertente interessante, os mesmos sistemas poderiam ser empregados como sondas fluorescentes para a avaliação do conteúdo de água em solventes orgânicos.

Para a detecção de agentes alquilantes foram sintetizados três compostos derivados da merocianina de Brooker, contendo o grupo piridínico livre. Os compostos sintetizados apresentaram mudança visual e espectral comparado aos seus produtos de detecção. Em estudos de titulação espectrofotométrica o derivado **4** se mostrou mais promissor e foi levado adiante por meio de tentativas para melhorar a performance do sistema. A adição de sal de prata operou como um catalisador, aumentando a velocidade do sistema, bem como a sua sensibilidade.

Os resultados aqui obtidos para esse sistema abrem perspectiva para a síntese de novos composto modulados a partir do composto **4**, entre eles sistemas mais rígidos com o grupo amino impedido estericamente. Além disso, podem ser realizados estudos desses sistemas com agentes neoplásicos de referência a fim de se verificar o potencial dos compostos para atuarem em ensaios de detecção deste tipo de analitos.

7 REFERÊNCIAS

Abbaspour, N., R. Hurrell and R. Kelishad (2014). "Review on iron and its importance for human health." Journal of research in medical sciences **19**(2): 164–174.

ABNT (1999). "NBR-12642-Água - Determinação de cianeto total - Métodos colorimétrico e titulométrico." ABNT-Associação Brasileira de Normas Técnicas.

Agency, U. S. E. P. and U. S. EPA) (1994). Integrated Risk Information System (IRIS): Bis(chloroethyl) ether (BCEE) (CASRN 111-44-4).

Almerindo, G. I., A. P. A. Gaborim, L. M. Nicolazi, M. Idrees, F. Nome, H. D. Fiedler and R. A. Nome (2017). "Confocal Fluorescence Microscopy and Kinetics of the Cr 3+-Chromate Ion Oxidation Equilibria at the Solid Liquid Interface." J. Braz. Chem. Soc. **28**(9): 1708-1714.

Amendola, V. (2006). "Some guidelines for the design of anion receptors." Coordination Chemistry Reviews **250**(11): 1451-1470.

Amine, A., M. Alafandy, J.-M. Kauffmann and M. N. Pekli (1995). "Cyanide determination using an amperometric biosensor based on cytochrome oxidase inhibition." Analytical Chemistry **67**(17): 2822-2827.

Anslyn, E. (2007). "Supramolecular Analytical Chemistry." Journal Organic Chemistry **72**(3): 687-699.

Anslyn, E. and D. A. Dougherty (2006). Modern Physical Organic Chemistry, University science books.

Anslyn, E. V. (2010). "Supramolecular and Chemical Cascade Approaches to Molecular Sensing." Journal of the American Chemical Society **132**(45): 15833–15835.

Ariga, K., H. Ito, J. P. Hill and H. Tsukube (2012). "Molecular recognition: from solution science to nano/materials technology." Chemical Society Reviews **41**: 5800–5835.

Atkins, P., T. Overton, J. Rourke, M. Weller and F. Armstrong, Eds. (2006). Shriver & Atkins inorganic chemistry, Oxford: Oxford University Press.

Attar, A., L. Cubillana-Aguilera, I. Naranjo-Rodríguez, J. L. H.-H. Cisneros, J. M. Palacios-Santander and A. Amine (2015). "Amperometric inhibition biosensors based on horseradish peroxidase and gold sononanoparticles immobilized onto different electrodes for cyanide measurements." Bioelectrochemistry **101**: 84-91.

Baker, M. E. J. and R. Narayanaswamy (1994). "Development of an optical formaldehyde sensor based on the use of immobilized pararosaniline." Analyst **119**(5): 959-961.

Beer, P. D. and P. A. Gale (2001). "Anion recognition and sensing: the state of the art and future perspectives." Angewandte Chemie International Edition **40**(3): 486-516.

Blackledge, W. C., A. Griesel, S. Mahon, M. Brenner, R. B. Pilz and G. R. Boss (2010). "New Facile Method to Measure Cyanide in Blood." Analytical Chemistry **82**(10): 4216-4221.

Boiocchi, M., L. D. Boca, D. E. Gomez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli and E. Monzani (2004). "Nature of Urea-Fluoride Interaction: Incipient and Definitive Proton Transfer." journal of the American Chemical Society **126**(50): 16507-16514.

Chae, M.-Y. and A. W. Czarnik (1992). "Fluorometric chemodosimetry. Mercury(II) and silver(I) indication in water via enhanced fluorescence signaling." Journal of the American Chemical Society **114**(24): 9704–9705.

Cheng, F., X. Wu, M. Liu, Y. Lon, G. Chen and R. Zeng (2016). "A porphyrin based near infrared fluorescent sensor for sulfur ion detection and its application in living cells." Sensors and Actuators B: Chemical **228**: 673-678.

Cheng, X., Y. Zhou, J. Qin and Z. Li (2012). "Reaction-Based Colorimetric Cyanide Chemosensors: Rapid Naked-Eye Detection and High Selectivity." ACS Applied Materials & Interfaces **4**(4): 2133-2138.

Crane BC, Barwell NP, Gopal P, Gopichand M, Higgs T, James TD, Jones CM, Mackenzie A, Mulavisala KP and P. W. (2015). "The Development of a Continuous Intravascular Glucose Monitoring Sensor." Journal of Diabetes Science and Technology **9**(4): 751-761.

Cui, M.-L., J.-M. Liu, X.-X. Wang, L.-P. Lin, L. Jiao, Z.-Y. Zheng, L.-H. Zhang and S.-L. Jiang (2013). "A promising gold nanocluster fluorescent sensor for the highly sensitive and selective detection of S²⁻." Sensors and Actuators B: Chemical **188**: 53-58.

Davidson, D. and S. A. Bernhard (1948). "The structure of Meldrum's supposed β -lactonic acid." Journal of the American Chemical Society **70**(10): 3426-3428.

De Rosa, M. I. and C. D. Litton (1991). "Hydrogen cyanide and smoke particle characteristics during combustion of polyurethane foams and other nitrogen-containing materials: development of a test parameter." US Department of the Interior, Bureau of Mines.

Donato, D. B., O. Nichols, H. Possingham, M. Moore, P. F. Ricci and B. N. Noller (2007). "A critical review of the effects of gold cyanide-bearing tailings solutions on wildlife." Environment International **33**(7): 974-984.

Draguta, S., M. S. Fonari, E. Leonova and T. V. Timofeeva (2015). "New organic binary solids with phenolic cofomers for NLO applications." Journal of Molecular Structure **1098**: 206 - 215.

Eto, K., T. Asada, K. Arima, T. Makifuchi and H. Kimura (2002). "Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease. ." Biochemical and Biophysical Research Communications **295**(5): 1485-1488.

Ferrando-Climent, L., S. Rodriguez-Mozaz and D. Barceló (2013). "Development of a UPLC-MS/MS method for the determination of ten anticancer drugs in hospital and urban wastewaters, and its application for the screening of human metabolites assisted by information-dependent acquisition tool (IDA) in sewage samples." Analytical and Bioanalytical Chemistry **405**(5937-5952).

Gale, P. A. (2000). "Supramolecular chemistry: from complexes to complexity." Philosophical Transactions of the Royal Society of London A **358**: 431-454.

Gale, P. A. and C. Caltagirone (2018). "Fluorescent and colorimetric sensors for anionic species." Coordination Chemistry Reviews **354**: 2-27.

Gale, P. A. and R. Quesada (2006). "Anion coordination and anion-templated assembly: Highlights from 2002 to 2004." Coordination Chemistry Reviews **250**(3).

Grueso, E., R. Prado-Gotor, M. López, C. Gómez-Herrera and F. Sánchez (2005). "Effects upon the reaction between acetonitrile pentacyanoferrate (II) and ruthenium pentammine pyrazine: Kinetic and thermodynamic evidence of the interaction of DNA with anionic species." Chemical Physics **314**(1-3): 101-107.

Guerra, J. P. T. A., A. Lindner, C. R. Nicoletti, V. G. Marini, M. Silva and V. G. Machado (2015). "Synthesis of anionic chemodosimeters based on silylated pyridinium N-phenolate betaine dyes." Tetrahedron Letters **56**(33).

Hamel, J. (2011). "A review of acute cyanide poisoning with a treatment update." Critical care nurse **31**(1): 72-82.

Harvey, R. A. and D. R. Ferrier, Eds. (2010). Biochemistry, Lippincott Williams & Wilkin.

Helleday, T., E. Petermann, C. Lundin, B. Hodgson and R. A. Sharma (2008). "DNA repair pathways as targets for cancer therapy." Nature **8**: 193-204.

Hoefelschweiger, B. K., A. Duerkop and O. S. Wolfbeis (2005). "Novel type of general protein assay using a chromogenic and fuorogenic amine-reactive probe." Analytical Biochemistry **344**: 122–129.

Huang, F., Z. University and E. V. Anslyn (2015). "Introduction: Supramolecular Chemistry." Chemical Reviews **115**: 6999–7000.

Inouye, M., Kei-ichi Hashimoto and K. Isagawa (1994). "Nondestructive Detection of Acetylcholine in Protic Media: Artificial-Signaling Acetylcholine Receptors " Journal of the American Chemical Society **116**: 5517-5518.

Jiménez, D., R. Martínez-Máñez, F. Sancenón, J. V. Ros-Lis, A. Benito and J. Soto (2003). "A New Chromo-chemodosimeter Selective for Sulfide Anion." Journal of the American Chemical Society **125**(30): 9000–9001.

Kaur, K., R. Saini, A. Kumar, V. Luxami, N. Kaur, P. Singh and S. Kumar (2012). "Chemodosimeters: An approach for detection and estimation of biologically and medically relevant metal ions, anions and thiols." Coordination Chemistry Reviews **256**: 1992-2028.

Kennedy, R., D. Groepper, M. Tagen, R. Christensen, F. Navid, A. Gajjar and C. F. Stewart (2010). "Stability of Cyclophosphamide in Extemporaneous Oral Suspensions." Annals of Pharmacotherapy **44**(2): 295–301.

Kolesnichenko, I. V. and E. V. Anslyn (2017). "Practical applications of supramolecular chemistry." Chemical Society Reviews **46**: 2385--2390.

Kolluru, G. K., X. Shen, S. C. Bir and C. G. Kevil (2013). "Hydrogen sulfide chemical biology: Pathophysiological roles and detection." Nitric Oxide **35**: 5-20.

Kornblum, N., R. K. Blackwood, R. A. Smiley and D. Iffland (1955). "The Mechanism of the Reaction of Silver Nitrite with Alkyl Halides. The Contrasting Reactions of Silver and Alkali Metal Salts with Alkyl Halides. The Alkylation of Ambident Anions^{1,2}." Journal of the American Chemical Society **77**(23).

Kukovetz, W. R., S. Holzmann and C. Romanin (1987). "Mechanism of vasodilation by nitrates: role of cyclic GMP." Cardiology. **74**: 12-19.

Kuyucak, N. and A. Akcil (2013). "Cyanide and removal options from effluents in gold mining and metallurgical processes." Minerals Engineering **50**: 13-29.

Lamoureux, G. and C. Agüero (2009). "A comparison of several modern alkylating agents " Arkivoc: 251-264.

Lawrence, N. S., J. N. Davis and R. G. Compton (2000). "Analytical strategies for the detection of sulfide: a review." Talanta **52**(5): 771-784.

Leavesley, H. B., L. Li, K. Prabhakaran, J. L. Borowitz and G. E. Isom (2008). "Interaction of Cyanide and Nitric Oxide with Cytochrome c Oxidase: Implications for Acute Cyanide Toxicity." Toxicological Sciences **101**(1): 100-111.

Lehn, J.-M. (1990). "Perspectives in Supramolecular Chemistry-From Molecular Recognition towards Molecular Information Processing and Self-organization " Angewandte Chemie International Edition in English **29**: 1304-1319

Lehn, J.-M. (1995). Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives, John Wiley & Sons.

Lehninger, A. and M. Cox (2014). Lehninger - Princípios de Bioquímica, Artmed.

Lekskulchai, V. (2016). "Quantitation of anticancer drugs- Cyclophosphamide and ifosfamide in urine and water sewage samples by gas chromatography-mass spectrometry." International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health **29**(5): 815 – 822.

Lewis, R. J. and G. B. Copley (2014). "Chronic low-level hydrogen sulfide exposure and potential effects on human health: A review of the epidemiological evidence." Critical Reviews in Toxicology **45**(2): 93–123.

Li, D., N. Shao, X. Sun, G. Zhang, S. Li, H. Zhou, J. Wu and Y. Tian (2014). "Self-assembly of Terbium(III)-based metal–organic complexes with two-photon absorbing active." Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **133**: 134-140.

Li, J., C. Yin and F. Huo (2015). "Chromogenic and fluorogenic chemosensors for hydrogen sulfide: review of detection mechanisms since the year 2009. ." Rsc Advances **5**(3): 2191-2206.

Li, Q. and J. R. Lancaster (2013). "Chemical foundations of hydrogen sulfide biology." Nitric Oxide **35**: 21–34.

LM, G., L. RJ, F. JG and B. HM (1983). " Evidence of chloroethylene oxide being the reactive metabolite of vinyl chloride towards DNA: comparative studies with 2,2'-dichloro-diethylether." Carcinogenesis **4**: 1483-1486.

Ma, J. and P. K. Dasgupta (2010). "Recent developments in cyanide detection: a review." Analytica chimica acta **673**(2): 117-125.

Malothu, N., U. K. Veldandi and R. K. Devarakonda (2009). "Development of rapid and simple HPLC method for the determination of cyclophosphamide in human serum." Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research **2**(3): 34-38.

Manna, A. K. (2015). "Supramolecular Chemistry-Concepts and Applications." International Journal of Science and Research **4**(4): 892-899.

Mishina, Y., E. M. Duguid and C. He (2006). "Direct Reversal of DNA Alkylation Damage." Chemical Reviews **106**(2): 215–232.

Mohammadi, A., Z. Dehghan, M. Rassa and N. Chaibakhsh (2016). "Colorimetric probes based on bioactive organic dyes for selective sensing of cyanide and fluoride ions." Sensors and Actuators B **230**: 388-397.

Mohr, G. J. (2004). "Chromo- and Fluororeactands: Indicators for Detection of Neutral Analytes by Using Reversible Covalent-Bond Chemistry." Chemistry: A European Journal **10**: 1082 -1090.

Morley, J. O., R. M. Morley and A. L. Fitton (1998). "Spectroscopic Studies on Brooker's Merocyanine." J. Am. Chem. Soc **120**(44): 11479–11488.

Nandi, L. G. (2015). "Utilização de corantes solvatocrômicos no planejamento de dispositivos solvatocrômicos e de sistemas ópticos de detecção de analitos ânionicos baseados em polímeros funcionais." Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina: 183

Nandi, L. G., C. R. Nicoleti, I. C. Bellettini and V. G. Machado (2014). "Optical Chemosensor for the Detection of Cyanide in Water Based On Ethyl(hydroxyethyl)cellulose Functionalized with Brooker's Merocyanine." Anal Chem. **86**(10): 4653-4656.

Nandi, L. G., C. R. Nicoleti, V. G. Marini, I. C. Bellettini, S. R. Valandro, C. C. S. Cavalheiro and V. G. Machado (2017). "Optical devices for the detection of cyanide in water based on ethyl(hydroxyethyl)cellulose functionalized with perichromic dyes." Carbohydrate Polymers **157**: 1548-1556.

Nguyen, B. T. and E. V. Anslyn (2006). "Indicator-displacement assays." Coordination Chemistry Reviews **205**: 3118-3127.

Nicoleti, C. R., L. G. Nandi, G. Ciancaleoni and V. G. Machado (2016). "Spectrometric and kinetics studies involving anionic chromogenic chemodosimeters based on silylated imines in acetonitrile or acetonitrile-water mixtures " RSC Advances **6**: 101853-101861.

Nicolini, J., J. Venturini, J. Andreaus, C. Machado and V. G. Machado (2009). "Interaction of Cyclodextrins with Brooker's Merocyanine in Aqueous Solution." Spectroscopy Letters **42**: 35-41.

Organization, W. H. (2003). "Guidelines for Drinking-water Quality." Retrieved 20, november, 2018.

Ozsvath, D. L. (2009). "Fluoride and environmental health: a review." Reviews in Environmental Science and Biotechnology **8**: 59–79.

Paul , B. D. and S. H. Snyder (2012). "H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond." Nature Reviews Molecular Cell Biology **13**: 499–507.

Pedersen, C. J. (1988). "The Discovery of Crown Ethers (Noble Lecture)." Angewandte Chemie International Edition in English **27**(8): 1021-1027.

Persch, E., O. Dumele and F. Diederich (2015). "Molecular Recognition in Chemical and Biological Systems." Angewandte Chemie International Edition in English **54**: 3290 – 3327.

Postal, K., D. F. Maluf, G. Valdameri, A. L. Rudiger, D. L. Hughes, E. L. d. Sa, R. R. Ribeiro, E. M. d. Souza, J. F. Soares and G. G. Nunes (2016). "Chemoprotective activity of mixed valence polyoxovanadates against diethylsulphate in E. coli cultures: insights from solution speciation studies." RSC Advances **6**: 114955–114968.

Quang, D. T. and J. S. Kim (2010). "Fluoro- and Chromogenic Chemodosimeters for Heavy Metal Ion Detection in Solution and Biospecimens." Chemical Reviews **110**(10): 6280–6630.

Reichard, C. (1994). "Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators " Chemical Reviews **94**: 2319-2358.

Royo, S., A. M. Costero, M. Parra, S. Gil, R. Matinez-Manez and F. Sancenón (2011). "Chromogenic, Specific Detection of the

Nerve-Agent Mimic DCNP (a Tabun Mimic)." Chem. Eur. J. **17**: 6931 – 6934.

Said, R., Z. Hassan, M. Hassan and M. Abdel-Rehim (2008). "Rapid and Sensitive Method for Determination of Cyclophosphamide in Patients Plasma Samples Utilizing Microextraction by Packed Sorbent Online with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (MEPS-LC-MS/MS)." Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies **31**: 683–694.

Sanson, A. L., S. C. R. Silva, M. C. G. Martins, A. Giusti-Paiva, P. P. Maia and I. Martins (2011). "Liquid-liquid extraction combined with high performance liquid chromatography-diode array-ultra-violet for simultaneous determination of antineoplastic drugs in plasma." Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences **47**(2): 363-371.

Sarkar, A., S. Bhattacharyya and A. Mukherjee (2016). "Colorimetric detection of fluoride ions by anthraimidazoledione based sensors in the presence of Cu(II) ions." Dalton Transactions **45**: 1166–1175.

Schmidtchem, F. P. (2006). "Reflections on the construction of anion receptors: Is there a sign to resign from design?" Coordination Chemistry Reviews **250**(23): 2918-2928.

Schmidtchem, F. P. (2010). "Hosting anions. The energetic perspective." Chemical Society Reviews **39**(10): 3916-3935.

Schramm, A. D. d. S. (2017). "Síntese de dispositivos moleculares e supramoleculares cromogênicos para aplicação em

sistemas de detecção de analitos aniônicos em meio orgânico e aquoso." Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis: 221.

Siddappa, K., P. C. Hanamshetty, S. B. Mane and N. M.M (2013). "Development and validation of spectrophotometric method for the determination of cyclophosphamide in bulk drug and its pharmaceutical dosage form." International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences **5**(4): 597-600.

Silva, L. A., C. R. Martins and J. B. Andrade (2004). "POR QUE TODOS OS NITRATOS SÃO SOLÚVEIS?" Quim. Nova **27**(6): 1016-1020.

Suksai, C. and T. Tuntulani (2003). "Chromogenic anion sensors." Chemical Society Reviews **32**: 192–202.

Suksai, C. and T. Tuntulani (2003). "Chromogenic anion sensors." Chemical Society Reviews **32**(4): 192-202.

Titova, T. V., N. S. Borisova and N. F. Zakharchuk (2009). "Determination of sub-micromolar amounts of sulfide by standard free anodic stripping voltammetry and anodic stripping voltammetric titration." Analytica Chimica Acta **653**(27): 154-160.

Tomasulo, M., S. Sortino, A. J. P. White and F. M. Raymo (2005). "Chromogenic Oxazines for Cyanide Detection." Journal organic chemistry **71**: 744-753.

Tony D. James, K. R. A. Samankumara Sandanayake and S. Shinka (1994). "A Glucose-Selective Molecular Fluorescence

Sensor." *Angewandte Chemie International Edition in English* 33(21): 2207-2209.

Vona, J. A. and J. Steigman (1959). "Reactions of Alkyl Halides with Silver Nitrate in Pyridine." *J. Am. Chem. Soc.* 81(5): 1095–1099

Wang , J.-F., Y. Li, J.-N. Song and H.-G. Pang (2014). "Role of hydrogen sulfide in secondary neuronal injury." *Neurochemistry International* 64: 37-47.

Westheimer, F. H. (1987). "Why Nature Chose Phosphates." *Science* 235: 1173-1177.

Wetzel, B. K., S. M. Yarmoluk, D. B. Craig and O. S. Wolfbeis (2004). "Chameleon Labels for Staining and Quantifying Proteins." *Angewandte Chemie International Edition in English* 43: 5400 – 5402.

Wlskur, S. L., Hassan Ait-Haddou, J. J. Lavigne and E. V. Anslyn (2001). "Teaching Old Indicators New Trick." *Accounts of Chemical Research* 34(12): 963-972.

Wong, W.-Y. and W.-T. Wong (1999). "Synthesis, structural characterization and solvatochromic studies of a series of Schiff base-containing trisium alkyldiyne carbonyl clusters." *Journal of Organometallic Chemistry* 584: 48-57.

Zaman, J. and A. Chakma (1995). "Production of hydrogen and sulfur from hydrogen sulfide." *Fuel Processing Technology* 41(2): 159–198.

Zimmermann-Dimer, I. M. and V. G. Machado (2008). "Quimiossensores cromogênicos e fluorogênicos para a detecção de analitos aniônicos." *Química nova* 31(8): 2134-2146.

Zimmermann-Dimer, L. M. and V. G. Machado (2009). "Chromogenic anionic chemosensors based on protonated merocyanine solvatochromic dyes: Influence of the medium on the quantitative and naked-eye selective detection of anionic species." *Dyes and Pigments* 82: 187–195.

Zimmermann-Dimer, L. M., D. C. Reis, C. Machado and V. G. Machado (2009). "Chromogenic anionic chemosensors based on protonated merocyanine solvatochromic dyes in trichloromethane and in trichloromethane–water biphasic system." *Tetrahedron* 21: 4239-4248.

8 ANEXOS

Figura S1. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da MB.

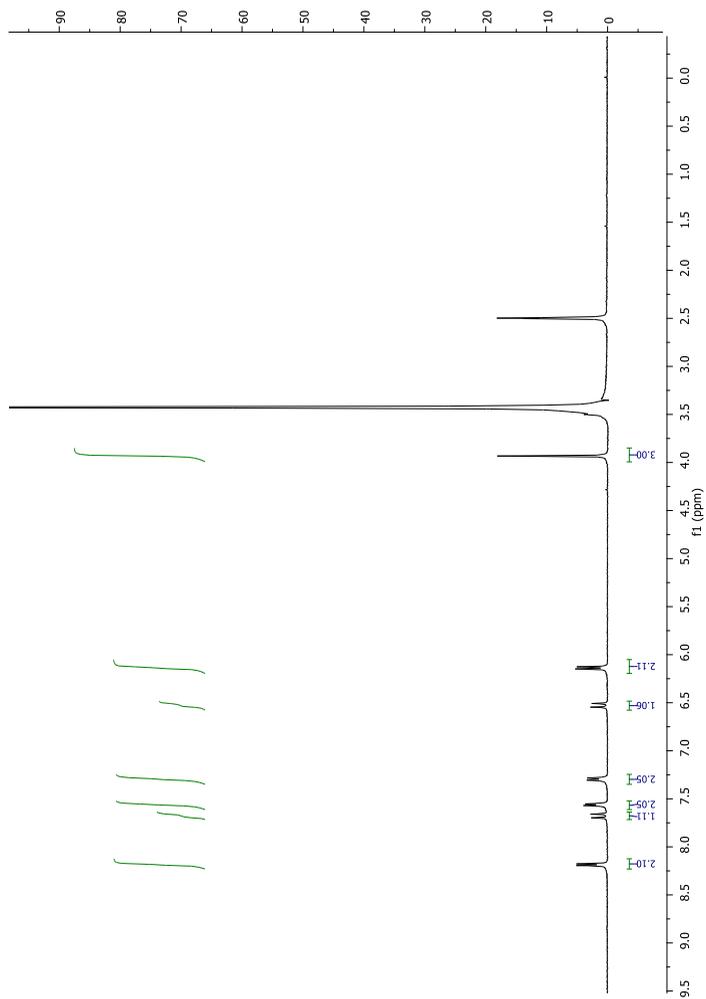


Figura S 2. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) da MB.

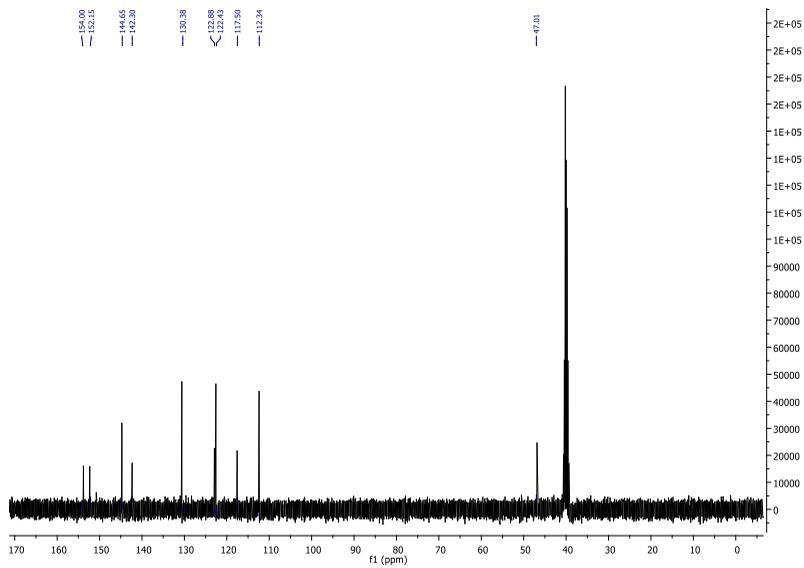


Figura S 3. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 2.

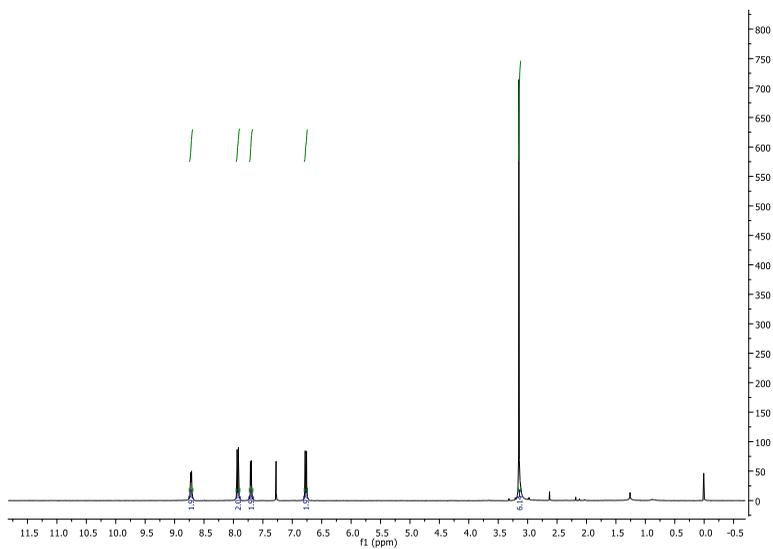


Figura S 4. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) para o composto 2.

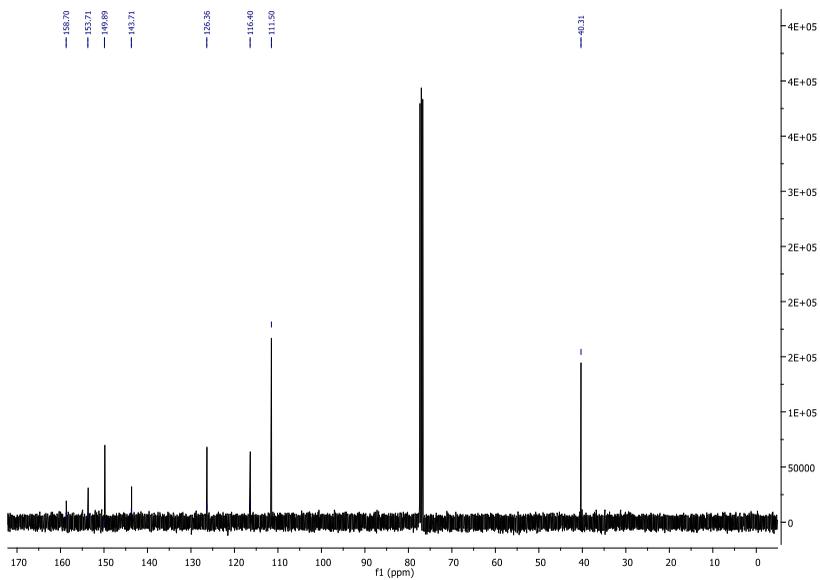


Figura S 5. Espectro de massas do composto 2, utilizando fonte ESI (+).

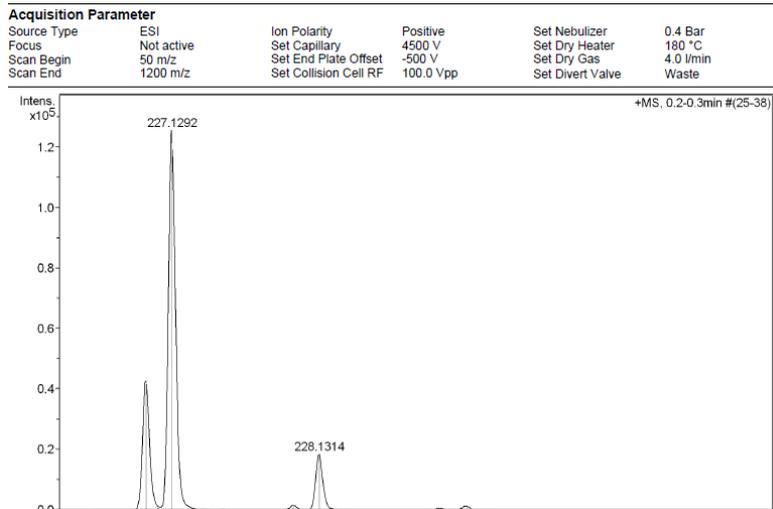


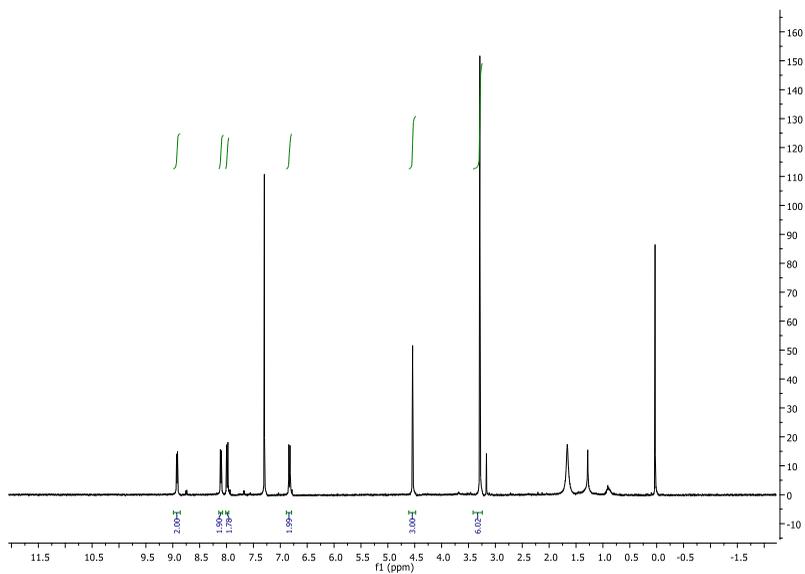
Figura S 6. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 2b.

Figura S 7. Espectro de massas do composto 2b, utilizando fonte ESI (+).

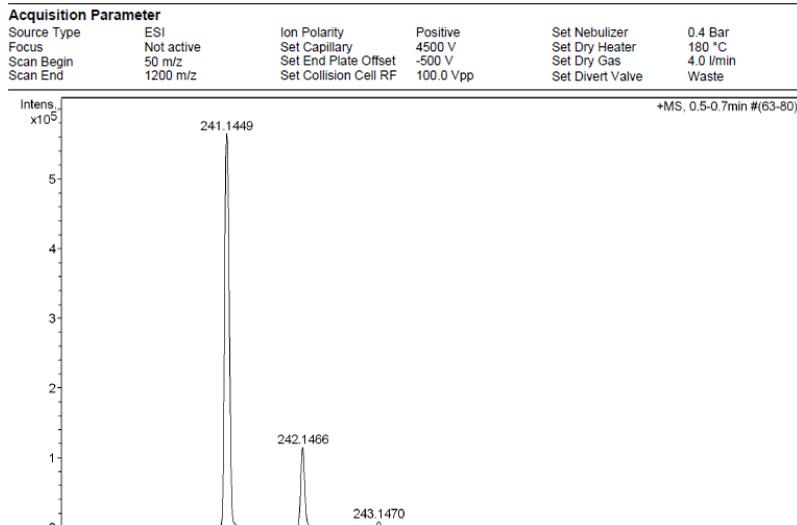


Figura S 8. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 3.

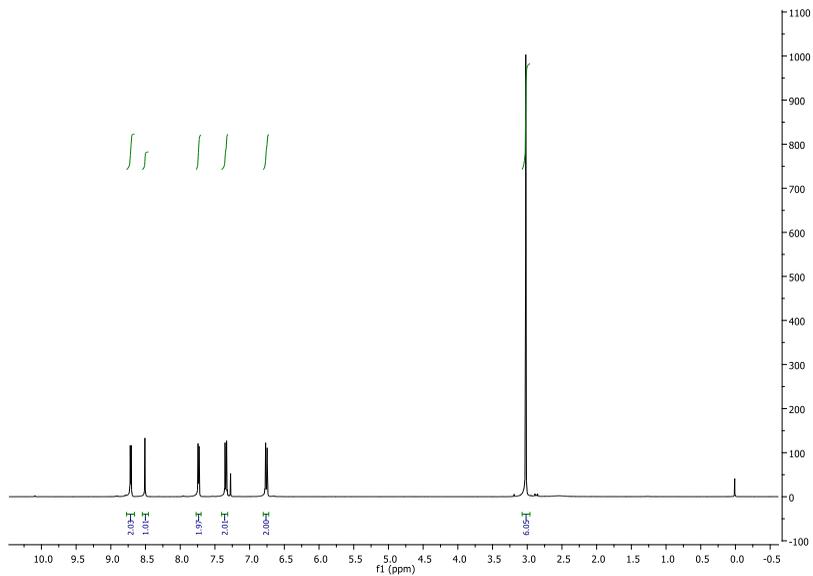


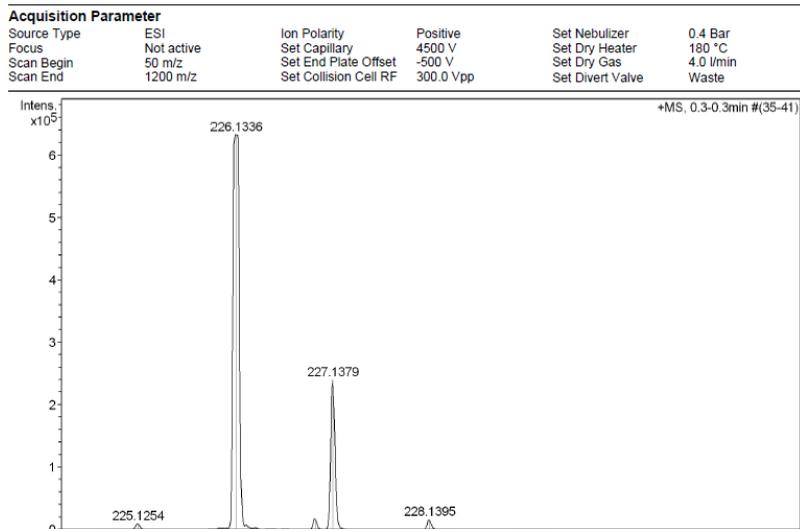
Figura S 10. Espectro de massas do composto 3, utilizando fonte ESI (+).

Figura S 11. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, acetona- d_6) do composto 3b.

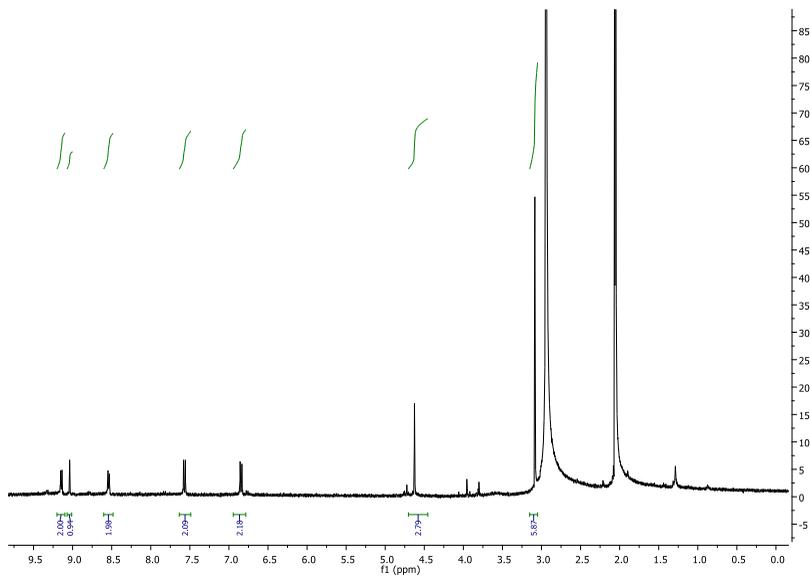


Figura S 12. Espectro de massas do composto 3b, utilizando fonte ESI (+).

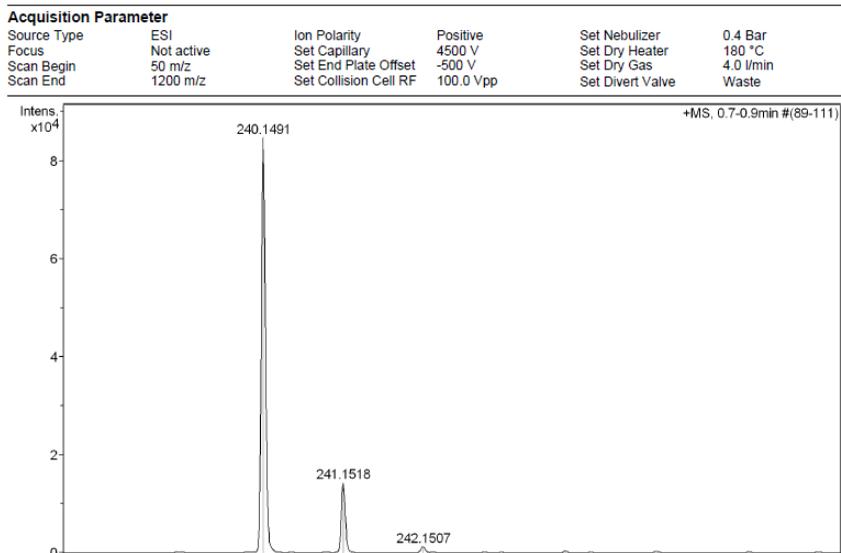


Figura S 13. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do composto 4

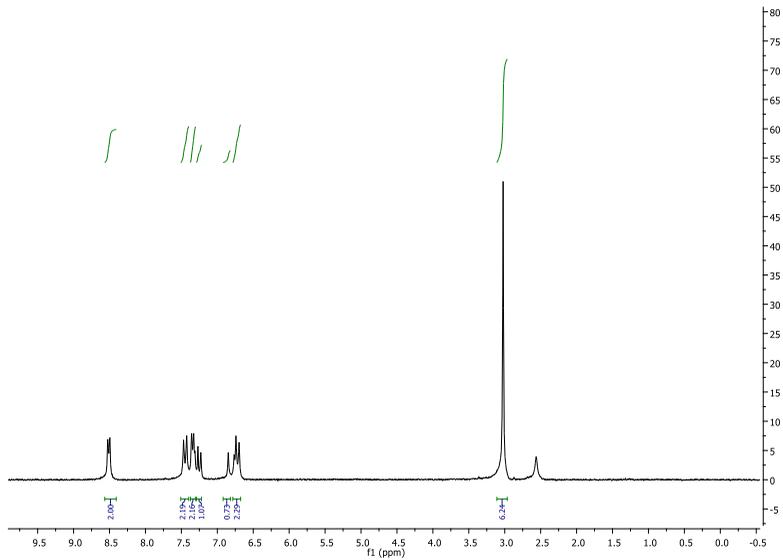


Figura S 14. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 4.

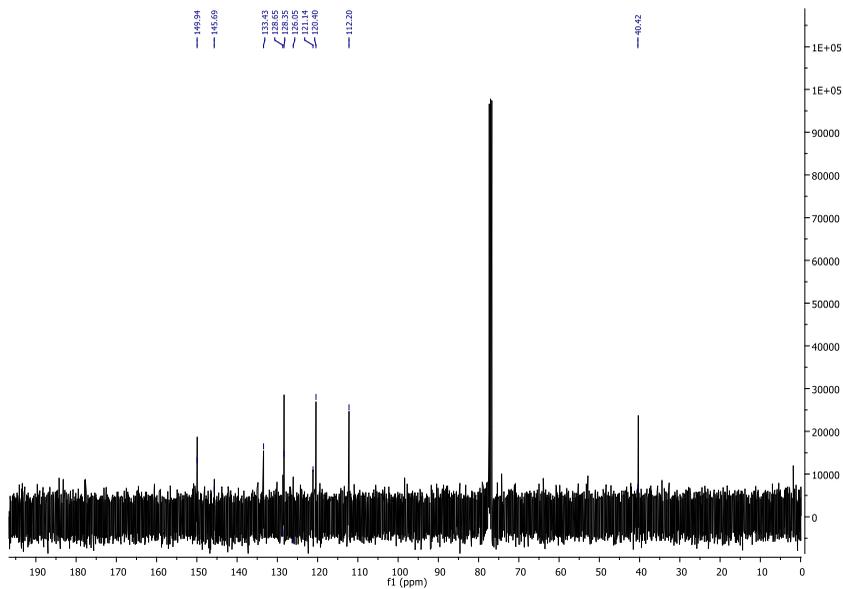


Figura S 15. Espectro de massas do composto 4, utilizando fonte ESI (+).

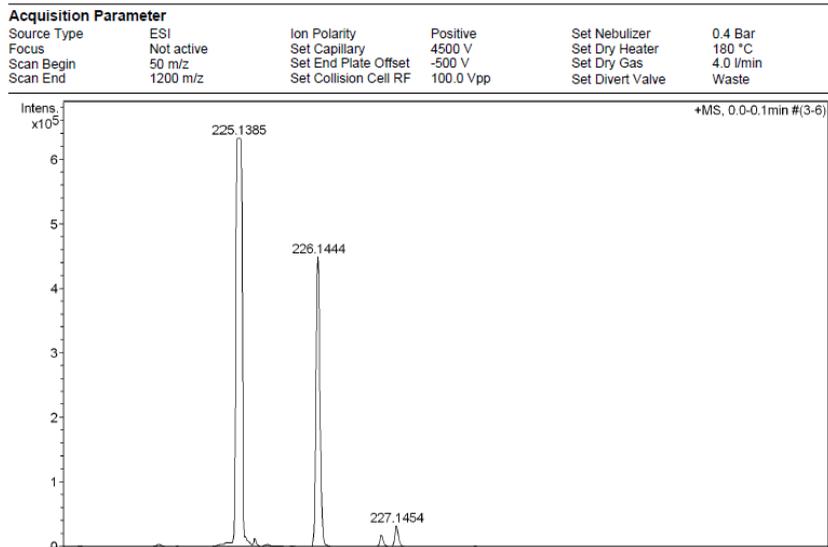


Figura S 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) do composto 4b.

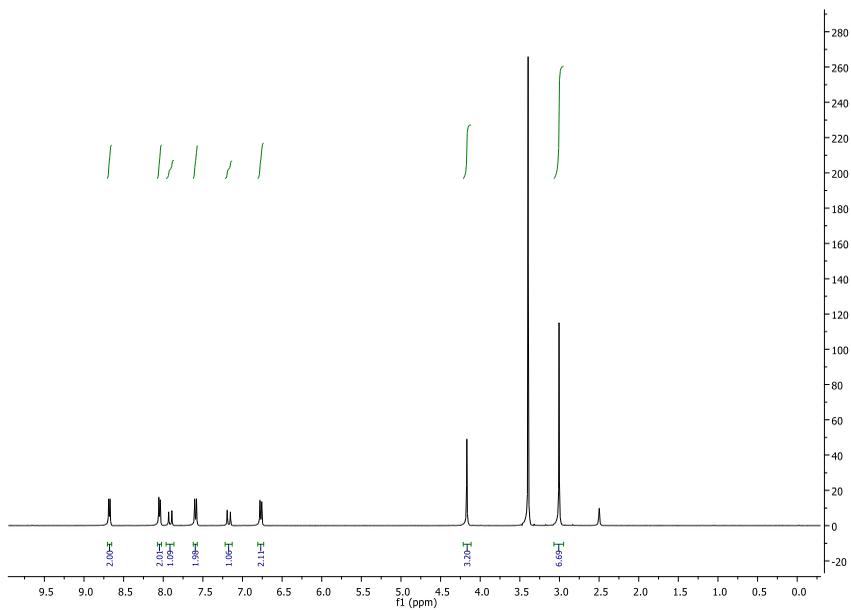


Figura S 17. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto 4b.

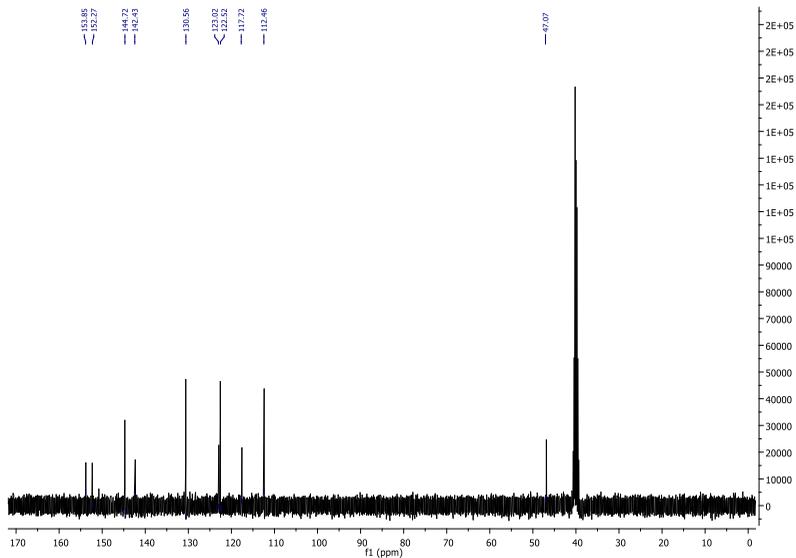


Figura S18. Espectro de massas do composto 4b, utilizando fonte ESI (+).

