



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**SÍNTESE DE QUIMIOSENSORES
FLUORESCENTES DERIVADOS DO CLORETO DE
5-(N,N-DIMETILAMINO)NAFTALENO-1-SULFONILA PARA
SINALIZAÇÃO DE ÍONS**

JONAS MIGUEL PRIEBE

Florianópolis
novembro/2010

Jonas Miguel Priebe

**SÍNTESE DE QUIMIOSENSORES
FLUORESCENTES DERIVADOS DO CLORETO DE
5-(*N,N*-DIMETILAMINO)NAFTALENO-1-SULFONILA PARA
SINALIZAÇÃO DE ÍONS**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Orientador

Florianópolis
02/2010

Jonas Miguel Priebe

**SÍNTESE DE QUIMIOSENSORES
FLUORESCENTES DERIVADOS DO CLORETO DE
5-(*N,N*-DIMETILAMINO)NAFTALENO-1-SULFONILA PARA
SINALIZAÇÃO DE ÍONS**

Profa. Dra. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera
Orientador

Prof. Dr. Josiel Barbosa Domingos

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Florianópolis
novembro/2010

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus.

A família pelo apoio em todos os momentos, pelas lições de vida, o amor e o carinho que sempre demonstraram.

Ao Professor Faruk Nome pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa, também pela orientação e amizade.

A Professora Haidi Fiedler pela colaboração e apoio na realização deste estudo.

Aos meus colegas de laboratório, pelas valorosas contribuições a esse trabalho e pelos momentos agradáveis de convivência.

Aos amigos pelos momentos inesquecíveis que passamos durante esse período, além da alegria que sempre tiveram e que me motivaram a passar pelas dificuldades.

A todos os professores do departamento de química que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Aos membros da banca, Josiel Barbosa Domingos, Vanderlei Gageiro Machado e Inês Maria Costa Brighente pela contribuição.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Santa Catarina.

E a todos aqueles que de alguma forma, contribuíram na realização desse trabalho.

RESUMO

Durante os últimos anos a pesquisa no desenvolvimento de novos compostos com propriedades específicas para atuarem como quimiossensores fluorogênicos tem atraído o interesse pelo aumento na aplicabilidade que esse tipo de substâncias têm mostrado nas pesquisas científicas e no desenvolvimento de metodologias para a identificação de diferentes analitos.

O permanente desenvolvimento de técnicas dentro da síntese orgânica amplia cada vez mais as possibilidades para o planejamento e obtenção de moléculas até então desconhecidas. Impulsionados pela curiosidade e o desejo de novos conhecimentos que podem ser obtidos através dessas estruturas, este trabalho descreve a preparação de compostos derivados do cloreto de dansila que podem atuar como sensores fluorescentes, dentre eles os compostos DMSID, DMSAS e DMSAF que foram preparados com diferentes metodologias.

As sondas preparadas permitem a realização de estudos utilizando a fluorescência, comprovada através dos dados obtidos utilizando o DMSAS, indicando uma forte interação desse composto com cátions e baixa afinidade para ânions. A sonda apresenta uma boa sensibilidade para Fe(III) comprovada pela constante de associação, o que possibilitou determinar a estequiometria de complexação entre as duas espécies, revelando uma relação de que para cada ligante um íon está presente. Também mostrou indicativo de sofrer forte influência do pH do meio, o qual promove significativas mudanças espectrais.

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 01. Representação do modelo de um quimiossensores..... | 9 |
| Figura 02. Diagrama de Jablonski ilustrando os processos envolvidos na criação de um estado singlete excitado por absorção óptica e posterior emissão de fluorescência..... | 11 |
| Figura 03. Gráfico do espectro de emissão ($\lambda_{\text{excitação}}$ 330 nm) e excitação ($\lambda_{\text{emissão}}$ 560 nm) da sonda DMSAS [$5,0 \times 10^{-5}$] mol/L..... | 25 |
| Figura 04. Gráfico da emissão de fluorescência do DMSAS (5×10^{-5} mol/L) em relação à variação do pH da solução em meio aquoso ($\lambda_{\text{excitação}}$ 350 nm)..... | 26 |
| Figura 05. Representação do conjunto dos espectros de Emissão do DMSAS ($1, \times 10^4$ mol/L) pela variação de Fe(III) em pH 5,0 tamponado com Acetato de Sódio 0,1mol/L..... | 27 |
| Figura 06. Gráfico de Stern-Volmer para Supressão de fluorescência do DMSAS pelo Fe(III), em pH=5,0; $\lambda_{\text{excitação}}$ 350 nm e $\lambda_{\text{emissão}}$ 560 nm..... | 28 |
| Figura 07. Influência da concentração de ferro(III) na supressão da fluorescência do DMSAS em pH=5,0 (tampão acetato 0,07 mol/L)..... | 29 |
| Figura 08. Gráfico que representa a variação da intensidade da fluorescência, (observada em $\lambda_{\text{emissão}}$ 560 nm) pela razão das concentrações entre o metal e a sonda, baseado no método da razão molar. $X= 0.944$ | 30 |

SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

| | |
|----------------|--|
| UV | Ultravioleta |
| S ₀ | Nível vibracional no estado fundamental |
| S ₁ | Primeiro nível vibracional no estado excitado |
| EDTA | Ácido etilenodiaminotetracético |
| CD | Cloreto de Dansila |
| mmol | Milimol |
| TEA | Trietilamina |
| λ | Comprimento de onda |
| DNSID | Ácido 2-(2-(5-(<i>N,N</i> -dimetilamino)naftaleno-1-sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético |
| DMSAS | Ácido 5-(<i>N,N</i> -dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico |
| DMSAF | 5-(<i>N,N</i> -dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilftalato |
| CG-MS | Cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa |
| IV | Infravermelho |
| RMN | Ressonância magnética nuclear |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1- INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA..... | 8 |
| 2- REVISÃO DA LITERATURA..... | 9 |
| 2.1 Quimiossensores fluorescentes..... | 9 |
| 2.2 Síntese orgânica..... | 13 |
| 3- OBJETIVOS..... | 16 |
| 4- MATERIAIS E MÉTODOS..... | 17 |
| 4.1 Equipamentos e programas computacionais..... | 17 |
| 4.2 Reagentes..... | 18 |
| 4.3 Preparação dos compostos | 18 |
| 4.3.1 <i>Síntese do ácido 2-(2-(5-(N,N-dimetilamino)naftaleno-1-sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético.....</i> | 19 |
| 4.3.2 <i>Síntese do ácido 5-(N,N-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico.....</i> | 20 |
| 4.3.3 <i>Síntese do 5-(N,N-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilftalato</i> | 23 |
| 4.3.4 Estudos de fluorescência..... | 24 |
| 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 24 |
| 5.1 Síntese dos compostos..... | 24 |
| 5.2 Estudos de fluorescência da sonda DMSAS..... | 26 |
| 6- CONCLUSÃO..... | 31 |
| 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 32 |

1- INTRODUÇÃO

A necessidade de desenvolver novas alternativas que facilitem a análise quantitativa e/ou qualitativa de substâncias têm se tornado um desafio para os pesquisadores nas últimas décadas, principalmente pelo aumento da diversidade e a quantidade de substâncias tóxicas lançadas ao meio ambiente proveniente de esgoto doméstico e os dejetos industriais sem tratamento prévio, assim como a emissão de gases nocivos e materiais particulados.

A síntese de compostos que propiciam estudos em meios biológicos e ambientais tem sido de grande interesse nos últimos anos, por abrir um campo amplo nesse contexto, relacionado ao planejamento de novas moléculas que complexam seletivamente diferentes espécies. Quando essas substâncias apresentam características fluorescentes, ainda se destacam dentro dessa finalidade por demonstrar ampla utilidade nos estudos em organismos vivos, com diversos trabalhos nessa área evidenciando a importância dessas pesquisas.

A utilização de técnicas como a espectrofotometria de fluorescência, que permite desprezar um tratamento prévio para a análise de contaminantes presentes nas amostras, tem estimulado as pesquisas no desenvolvimento de novas metodologias que possam ser aplicadas a esse tipo de equipamento, por ser uma técnica simples, de baixo custo, curto tempo de resposta, eficaz, além de permitir a análise em meios biológicos e ambientais com maior facilidade.

O trabalho desenvolvido neste projeto está baseado na síntese de compostos que atuam como quimiossensores na detecção de cátions e ânions, como resultado da mudança no espectro de fluorescência da molécula. Essas moléculas apresentam uma grande aplicabilidade em diversas áreas como medicina, química, bioquímica e oceanografia, demonstrando a importância em ampliar os conhecimentos nessa direção para o desenvolvimento de novas alternativas que contribuam no avanço dos métodos analíticos.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - QUIMIOSENSORES FLUORESCENTES

Os compostos que têm a capacidade de interagir com a matéria ou energia e sinalizar sua presença por meio de sinais que possam ser medidos, são chamados de sensores. Os quimiossensores são sensores capazes de detectar quantitativamente ou qualitativamente a presença de uma substância química específica.^{1,2}

Uma das técnicas para o desenvolvimento de quimiossensores está baseada no planejamento e construção de uma molécula que contenha um sítio receptor ao qual é responsável por interagir com o analito, e um grupo sinalizador que traduza essa interação receptor-analito, geralmente grupos cromóforos ou fluoróforos, que modifica de forma significativa as propriedades espectrais do sinalizador ao interagir com a substância alvo, possibilitando o seu reconhecimento,^{2,3} como mostrado na Figura 1.

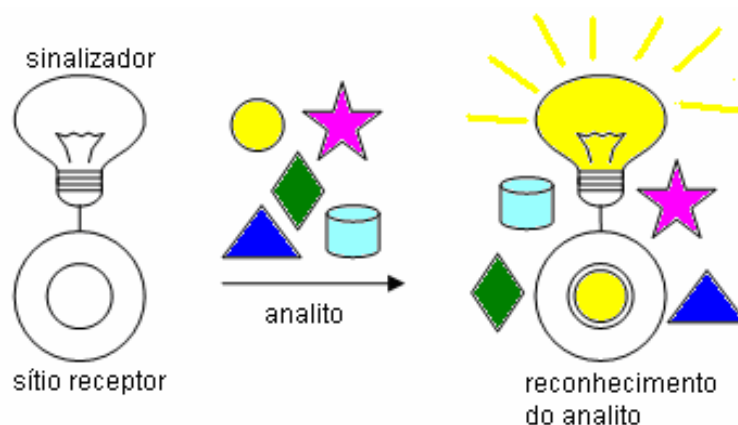


Figura 1. Representação do modelo de um quimiossensor.⁴

Apesar de todos os compostos absorverem radiação em alguma extensão do espectro, grande parte dos compostos orgânicos não apresenta coloração por absorverem na região do UV. Por isso essas moléculas têm sido estudadas para o desenvolvimento de compostos, que quando excitados demonstram características fluorescentes.⁵

A fluorescência e a fosforescência são fenômenos da luminescência, que corresponde à absorção de fótons pelas moléculas, elevando o seu nível de energia

do estado fundamental para um estado eletrônico excitado e uma quantidade de menor energia é emitida quando retorna ao estado fundamental.^{5,6}

No estado fundamental as moléculas encontram-se no estado eletrônico de menor nível de energia vibracional, onde a transição eletrônica consiste na promoção de um elétron, provocada pela absorção de um fóton, do orbital molecular no estado fundamental para um orbital desocupado num estado excitado em qualquer um dos vários níveis vibracionais.^{6,7}

Uma vez no estado excitado, existem dois processos principais pela qual a molécula pode perder a energia absorvida e voltar a seu estado inicial. O primeiro processo está relacionado à perda de energia por processos não-radiantes, onde se pode citar a relaxação vibracional que corresponde à perda de energia através da interação com o solvente ou por repetidas colisões com moléculas próximas, dissipando a energia na forma de calor, e também pode sofrer uma conversão interna que está associada à conversão entre dois estados eletrônicos de mesmo spin. Já o segundo corresponde à emissão da energia por um processo radiante resultando nos fenômenos luminescentes.^{7,8,9}

Mas isso permite concluir que nem todas as moléculas inicialmente excitadas pela absorção de fótons retornam ao estado fundamental pela emissão de radiação. O mecanismo que terá preferência na desativação da molécula do estado excitado ao fundamental será aquele que minimize o tempo de vida do estado mais energético, sendo assim, aquele que ocorrerá mais rapidamente.^{7,10}

A fluorescência corresponde à energia emitida pela molécula através da promoção de um elétron do mais baixo nível vibracional no estado excitado (S_1) para o nível de energia no estado fundamental (S_0). Porém a absorção de energia pode promover a molécula para níveis vibracionais no estado excitado superior à (S_1), onde essa energia será parcialmente dissipada pelos processos não-radioativos descritos anteriormente, levando ao primeiro nível do estado excitado de onde a perda energética por radiação resulta na fluorescência. Assim, o comprimento de onda emitido independe da energia absorvida pela molécula como resultado da excitação.⁶

Devido à perda de energia durante o estado excitado, o espectro mostra uma banda de emissão com maior comprimento de onda em relação ao comprimento de onda absorvido. Essa diferença entre os comprimentos de onda de absorção e de emissão é chamada de deslocamento de Stokes.^{6,7,10}

A Figura 2 representa de forma simplificada o processo da fluorescência, onde os estágios 1, 2 e 3 correspondem às etapas que ela envolve. O estágio 1 corresponde à excitação, o estágio 2 é o tempo de vida no estágio excitado e o estágio 3 indica a energia emitida pelo fluoróforo, deixando mais evidente o efeito resultante do deslocamento de Stokes.

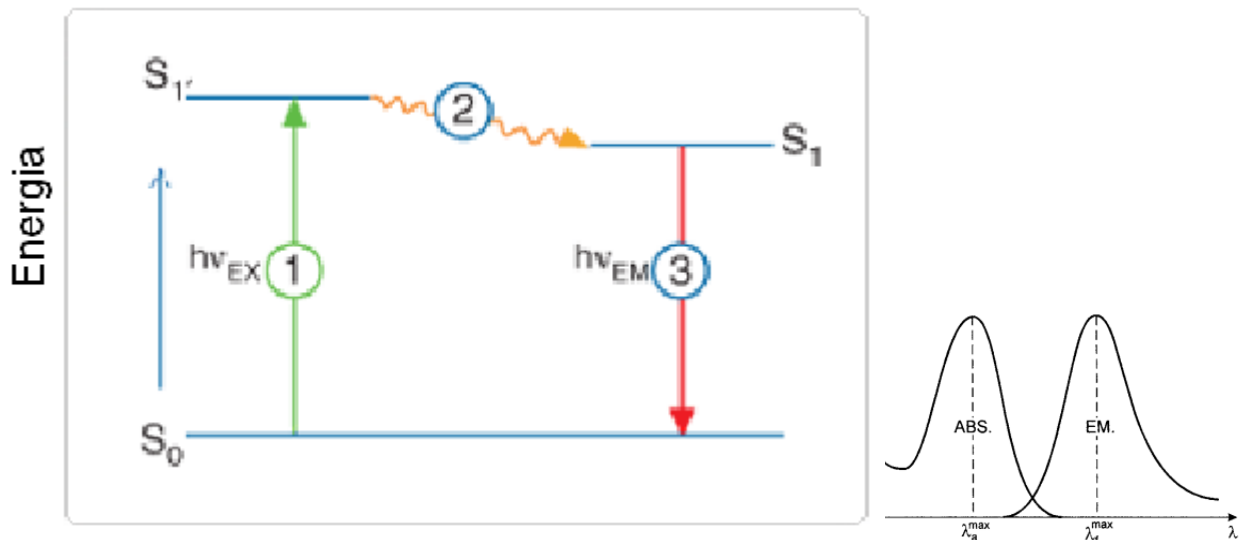


Figura 2. Diagrama de Jablonski ilustrando os processos envolvidos na criação de um estado singlete excitado por absorção óptica e posterior emissão de fluorescência.

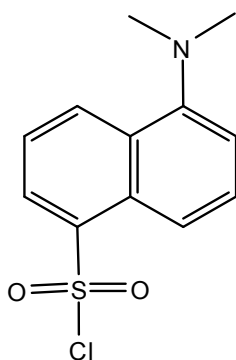
Para a utilização dessa técnica, um quimiossensor fluorogênico, além de ser capaz de transformar uma informação química em um sinal analiticamente útil, é necessário que apresente seletividade, sensibilidade, uma alta absorvidade molar e alto rendimento quântico, ao qual é definido como a razão entre o número de fótons emitidos e o número de fótons absorvidos. Isso sugere que quanto maior o rendimento quântico, maior será o número de moléculas que uma vez excitada emite uma parte da energia por processo radiante.^{3,6,11,12}

A fluorescência de um composto depende de sua estrutura, por estar quase sempre associada ao sistema eletrônico. Substâncias que possuem estruturas rígidas com duplas ligações conjugadas, como os anéis aromáticos, apresentam uma maior fluorescência que as estruturas alifáticas. Em geral, a excitação, em compostos que apresentem duplas ligações conjugadas, consiste na promoção de um elétron do orbital π (ligante) para π^* (anti-ligante), com mais facilidade por esses elétrons estarem mais livres que nas ligações σ .^{5,6,7,13}

Os elétrons que estão envolvidos em uma ligação σ estão mais fortemente ligados à molécula, sendo necessária uma maior quantidade de energia para promover a excitação dos elétrons. Isso não implica em dizer que esse tipo de estrutura não apresente fluorescência, mas que essas moléculas são raramente encontradas com essa propriedade por possuírem um baixo rendimento quântico, relacionadas a dois fatores, uma menor absorvidade molar e uma maior competição com outros modos de desativação dessa energia, o que promove a supressão da fluorescência.⁷

Para as moléculas que apresentam um grupo substituinte doador de elétrons ligado ao anel (OH, NH₂), em que os elétrons não doadores participam das estruturas ressonantes, é observada uma maior intensidade de fluorescência.⁶

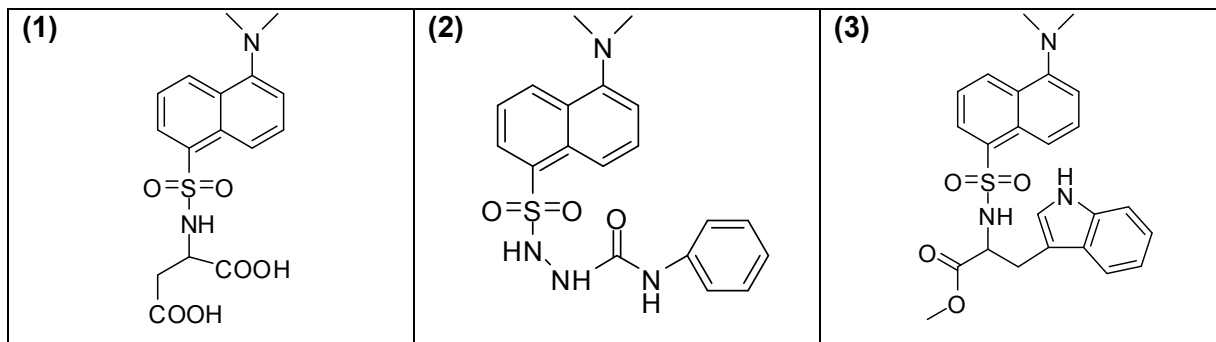
Com a finalidade de se obter um fluoróforo que sofra modificações nas propriedades espectrais quando o receptor apresenta algum tipo de interação, diversos compostos utilizando o cloreto de 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonila têm sido sintetizados nos últimos anos, para utilizá-los como agentes sinalizantes em diferentes estudos de fluorescência na determinação de metais pesados.



Cloreto de dansila (CD)

O resultado desses estudos mostraram que o ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-2-aminossuccínico **(1)** apresentou máxima absorção em 334 nm, em solução metanol/água (1:1 v/v). Na presença de Fe³⁺, Hg²⁺, Cu²⁺ e outros cátions analisados, houve mudanças significativas no espectro e na intensidade da fluorescência.^{12,14} De forma semelhante, a 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-2-fenilsemicarbazida **(2)** interage com lantanídeos e o efeito observado foi a extinção da fluorescência em 435 nm na presença de diferentes concentrações de Er³⁺, Dy³⁺, Gd³⁺, Tb³⁺ e La³⁺.¹⁵ O 2-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonamida)-3-(1H-indo-3-il)propanoato de metila **(3)** comporta-se diferentemente dos outros, aumentando sua emissão de fluorescência

e deslocando o espectro de 550 nm para comprimentos de onda menores, com o aumento na concentração de mercúrio (II).^{16,17}

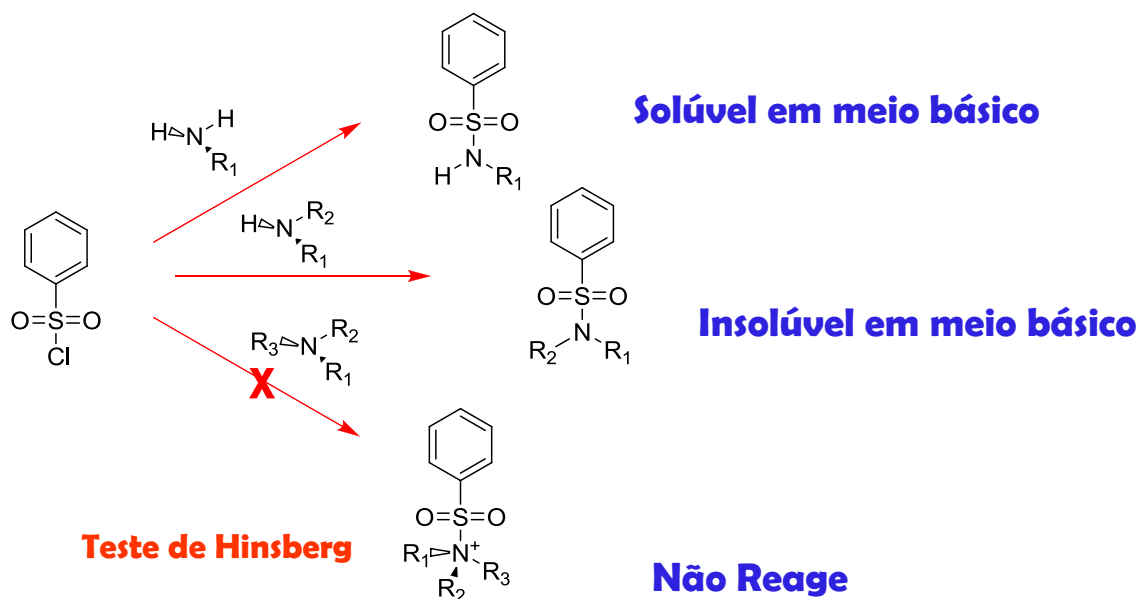


Outros pesquisadores buscando formas de avaliar as concentrações de metais que têm um papel importante dentro do metabolismo, mas que em elevadas concentrações se tornam um problema ambiental, vêem a necessidade de uma análise sistemática para um controle desses contaminantes no meio ambiente, e como alternativa encontrada está à elaboração de compostos para exercer o papel de sonda fluorescente. O estudo realizado por JISHA et al. utilizando o cloreto de dansila como grupo sinalizador ligado à naftalimida por diferentes comprimentos de cadeia alifática, mostrou seletividade ao cobre (II). Na mesma direção WU, H. et al., ao combinar o grupo dansil com derivados de carboxihidrazonas obtiveram seletividade com cromo (III).^{18,19}

Cabe destacar que um importante fator para a determinação de uma substância-alvo dentre uma gama de compostos é o uso de receptores apropriados para o analito desejado. Diversos estudos demonstram que átomos como o oxigênio e nitrogênio são excelentes agentes quelantes para cátions e ânions em determinação por fluorescência. Há vários exemplos descritos na literatura, como os derivados de EDTA, éteres-coroa e muitas outras moléculas que apresentam na estrutura diversos grupos coordenantes.^{6,11,20}

2.2 – SÍNTESE ORGÂNICA

As sulfonamidas são uma importante categoria de compostos farmacêuticos com ampla utilização em atividades biológicas como antibacterianos, diuréticos, hipoglicêmicos e anticonvulsantes.²¹ As sulfonamidas obtidas a partir das reações com cloreto de sulfonila são amplamente aplicadas para a determinação de aminas primárias, secundárias e terciárias, baseado no *teste de Hinsberg*.²²



Esquema 1. Representa a formação de sulfonamidas a partir de aminas primárias secundárias e terciárias, distinguindo-as através do teste de Hinsberg.

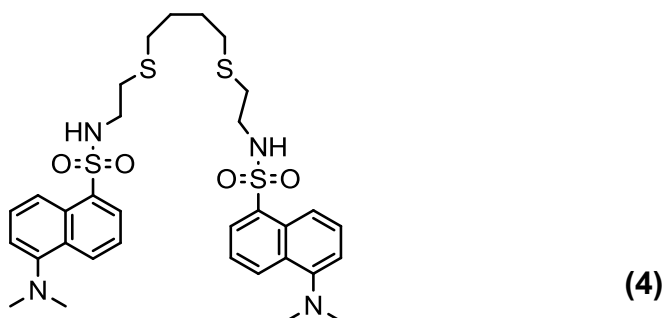
Essas reações são promovidas pelo ataque nucleofílico do átomo de nitrogênio sobre o grupo sulfonila, levando à eliminação do íon cloreto. Como produto dessa reação, o nitrogênio perde um próton inicialmente ligado, para uma segunda molécula da mesma espécie ou outra base presente na solução. Dessa forma, as aminas primárias e secundárias apresentam um comportamento reacional semelhante, para a formação da sulfonamida correspondente, enquanto que as aminas terciárias apesar de serem nucleofílicas, não demonstram a mesma reatividade dentro dessa reação, por não apresentar um hidrogênio ou outro grupo que possa ser transferido após o ataque do nitrogênio.

Com isso, podemos concluir que o teste de Hinsberg baseia-se nessas distinções para identificar as diferentes aminas, isso é, enquanto que as aminas terciárias são conhecidas por não reagirem, as aminas primárias e secundárias podem ser distinguidas pelas diferentes solubilidades em meio básico, conforme mostrado no Esquema 1.

Diversas metodologias sintéticas vêm sendo descritas na literatura para a obtenção de sulfonamidas utilizando o cloreto de dansila com o principal objetivo de aplicá-las como quimiossensores.

Na busca de ampliar a aplicabilidade de grupos fluorescentes em ambientes celulares foi proposta a síntese de derivados de dansila com diferentes aminoácidos, como prolina, histidina, serina, alanina e glicina, entre outros. A metodologia utiliza a reação das amins com o cloreto de 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonila, na presença de uma quantidade equivalente de base, em solventes como acetonitrila ou diclorometano, mantendo sob agitação à temperatura ambiente.²³

O composto **(4)** foi obtido pela reação da 2-[4-(2-aminoetil)butiltio]etanamida com o cloreto de 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonila solubilizados em tetrahidrofurano seco na presença de carbonato de potássio, mantido em atmosfera de argônio e agitação por 12 horas.²⁴ Já o ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-2-aminossuccínico **(1)** foi preparado em fase sólida com o ácido aminossuccínico introduzido em uma resina, adicionando uma solução de dimetilformamida (DMF) contendo cloreto de dansila e trietilamina. A reação é completada em 2 horas, à temperatura ambiente.¹²



Na busca de novas alternativas para substituir os solventes orgânicos, Xiaohu propôs uma reação entre cloretos de arilsulfonatos e derivados de ácido aminobenzóico em solução aquosa, mantendo o pH controlado entre 8,0 a 9,0 com carbonato de sódio. Pois em pHs menores que 7,0 observou-se baixa reatividade, enquanto que em pH maiores que 10, há um aumento significativo da reação competitiva de hidrólise. Mesmo assim, o método se mostrou pouco eficiente para reação com anilinas e aminoácidos.²⁵ Um método simples e rápido de preparação de sulfonamidas é descrita pelas reações entre amins com ácidos sulfônicos misturados com hidróxido de sódio em tetrahidrofurano, mantidas a 50 °C por exposição à radiação em microondas durante 10 minutos. O produto é facilmente purificado por filtração em celite, lavado com solução saturada de cloreto de sódio, ácido clorídrico diluído e solução de carbonato de sódio.²⁶

3 – OBJETIVOS

3.1- Objetivos Gerais

O principal objetivo deste trabalho é a preparação de compostos que atuem como quimiossensores fluorogênicos para a determinação de cátions e ânions, quer seja pelo aumento ou pela diminuição da intensidade de fluorescência da molécula.

3.2- Objetivos Específicos

1. Sintetizar compostos a partir do cloreto de dansila que tenham características fluorescentes para estudos com íons.
2. Caracterizar os produtos da reação baseado nas técnicas conhecidas e disponíveis, como infravermelho, ressonância magnética nuclear e cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa.
3. Determinar os comprimentos de onda de emissão e excitação para os produtos das sínteses.
4. Avaliar através da técnica de fluorescência a presença de metais na solução utilizando os quimiossensores sintetizados e devidamente purificados, com o intuito de verificar uma possível sensibilidade e seletividade.

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Equipamentos e programas computacionais

As medidas de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN modelo MERCURY PLUS 400 MHz e tratados com o *software* MestRe-C 2.3C. Foi utilizado tetrametilsilano (TMS, Cambridge Isotope Laboratories, 99,9 %) como referência interna para as análises de ^1H RMN em solvente orgânico e aquoso.

Os fragmentogramas foram obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM). Foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu, modelo CG-17A, equipado com sistema de injeção direta (ID), interfaciado a uma estação de trabalho com sistema de aquisição e tratamento de dados GCMSsolution versão 1.20 (LabSolution, 2004). Também é equipado com detector de massa quadrupolo (Shimadzu), modelo QP5050A, cuja fonte de íons de 70 eV opera em modo de impacto de eletros (EI). O método de aquisição por injeção direta (ID) foi programada mantendo as temperaturas do injetor e da interface em 280 e 310 °C, respectivamente. A temperatura do porta-amostra iniciou em 30 °C e foi elevada numa taxa constante de 80 °C/min. até atingir 100 °C, e mantida por 1 min., depois novamente foi elevada numa taxa constante de 10 °C/min. até atingir 300 °C, e mantida por 10 min. Já o espectrometro de massas (EM), foi programado para escanear fragmentos com carga positiva e massa entre 30 e 600 m/z.

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro VARIAN modelo 3100 FT-IR, série Excalibur, e para a preparação das pastilhas foi utilizado brometo de potássio (Merck 99,5%).

O pHmetro Metrohm 713 foi utilizado para as determinações de pH das soluções, sendo calibrado à temperatura ambiente com soluções padrões de pH 4,00, 7,00 e 10,00 (Carlo Erba). A água utilizada para preparação das amostras foi obtida por um sistema de desionização Milli-Q NANOpure, modelo D 4744 (Millipore®). As regressões lineares e não-lineares foram realizadas com o programa ORIGIN versão 8.0 (OriginLab,203).

A determinação dos comprimentos de onda de emissão e absorção, bem como as medidas de fluorescência foram realizadas em um espectrôfluorimetro Varian, modelo Cary Eclipse, operando com lâmpada de xenônio e detector de 80 pontos por segundo. Também está conectado a um sistema de aquisição e

tratamento de dados Cary Eclipse versão 1.1(132) (Varian, 2002). Para a obtenção dos espectros, foram utilizadas celas de caminho ótico de 1,0 cm e 3,0 mL de capacidade.

4.2 – Reagentes

Os reagentes contidos na tabela 01, Cloreto de dansila (Sigma, 99%), ácido 5-aminoftálico (Aldrich, 97%), ácido 5-aminosalicílico (Sigma, 99%), ácido-iminodiacético (Sigma-Aldrich, 98%) e trietilamina (Vetec, 99%) foram utilizados sem tratamento prévio. A água deuterada (D₂O, 99,9%) foi adquirida da Cambridge Isotope Laboratories, o NaOD (Sigma, ≥99%) foram utilizados como recebidos.

Tabela 01 – Dados dos reagentes utilizados na síntese dos quimiossensores.

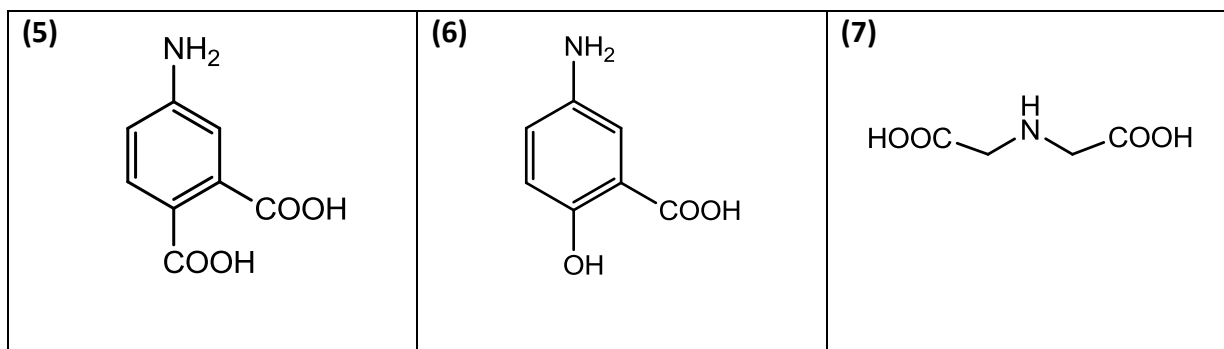
| | Cloreto de Dansila | Ácido 4-aminoftálico | Ácido 5-aminoSalicílico | Ácido-iminodiacético | Trietilamina |
|---------------------|--|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|--|
| Solubilidade | Etanol, Etil éter, H ₂ O, benzeno | Etanol, H ₂ O | Etanol, H ₂ O | Etanol, H ₂ O, Etil éter | Etanol, H ₂ O, Etil éter, acetona |
| P. de Fusão | 70 °C | 360 °C | 280 °C | 247,5 °C | -114,7 °C |
| pKa | - | 1,41, 3,41 | 2,0, 3,68, 13,7 | 1,87, 2,60, 9,31 | 10,62 |
| M. Molar | 269,75 g mol ⁻¹ | 181,15 g mol ⁻¹ | 153,14 g mol ⁻¹ | 133,12 g mol ⁻¹ | 101,19 g mol ⁻¹ |

Dados referenciados no Nist, Handbook

Os demais reagentes, solventes eram de qualidade P.A., foram adquiridos comercialmente e purificados quando necessário conforme a literatura.²⁷

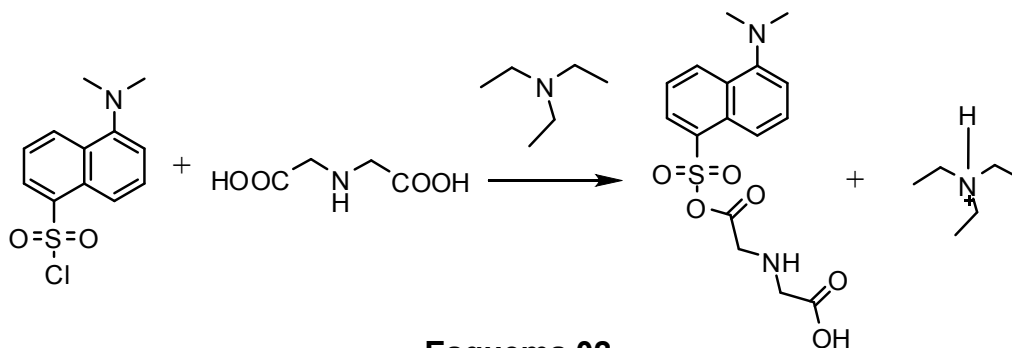
4.3 – Preparação dos compostos

O procedimento sintético para a preparação dos produtos de interesse está baseado na reação do cloreto de dansila (CD) com as aminas ácido 4-aminoftálico (**5**), ácido 5-aminosalicílico (**6**) e ácido iminodiacético (**7**), gerando uma sulfonamida correspondente. As metodologias que foram utilizadas serão descrita no decorrer desse trabalho, bem como, os processos de purificação e as análises preliminares das sondas.



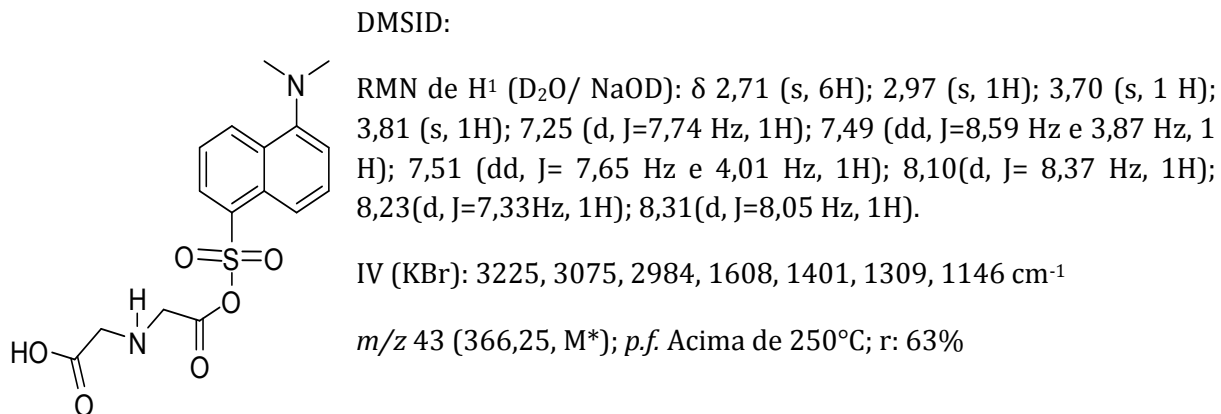
4.3.1- Síntese do Ácido 2-(2-(5-(*N,N*-Dimetilamino)Naftaleno-1-Sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético (DMSID)

O **Esquema 02** mostra o procedimento para a obtenção do DMSID, cuja síntese inicia-se com a solubilização de 1,57 mmol de CD em 12 mL de clorofórmio (destilado e mantido sob peneira molecular), posteriormente sob agitação foram adicionados 1,94 mmol de ácido iminodiacético e lentamente 6,28 mmol de trietilamina (TEA), (destilada sob hidróxido de potássio). Uma vez misturados os reagentes, a reação foi mantida sob agitação magnética, atmosfera de argônio e à temperatura ambiente por 10 dias. O acompanhamento da reação foi feito por placa de cromatografia de camada delgada (CCD) até o desaparecimento do CD.



A purificação foi feita em coluna cromatográfica, utilizando como fase estacionária sílica gel, com o uso de diferentes eluentes como hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, nessa ordem de eluição. As frações provenientes dessa separação, o solvente foi removido à pressão reduzida em evaporador rotatório. Após a identificar a presença do produto na fração eluída em acetato de etila, foi realizado um segundo procedimento de purificação para a retirada de resíduos de trietilamônio. Assim o DMSID foi solubilizado em acetato de etila e as extrações feitas com duas alíquotas de 40 ml de solução alcalina preparadas com 20 mL de solução de hidróxido de sódio (6 molar) e 20 mL de

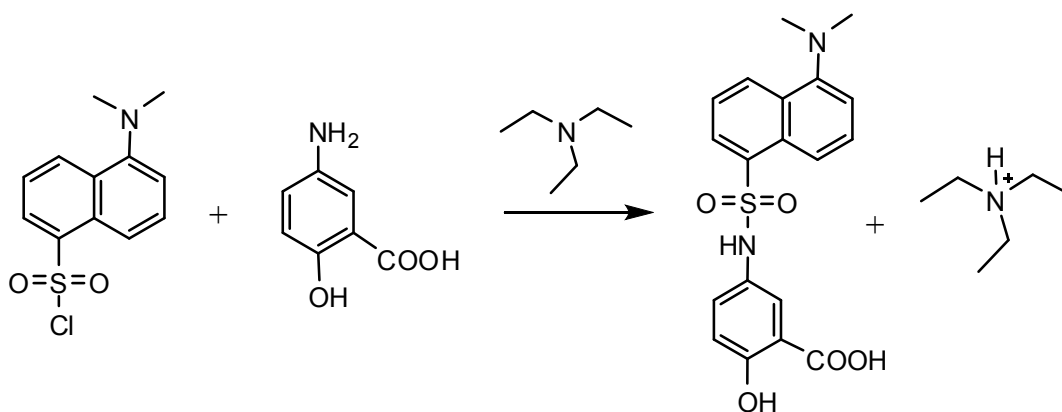
solução saturada de cloreto de sódio. A fase aquosa foi separada e acidificada, obtendo o produto por precipitação sendo esse caracterizado pelas metodologias anteriormente descritas.



4.3.2- Síntese do ácido 5-(N,N-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico (DMSAS)

Procedimento 01- Síntese Branda

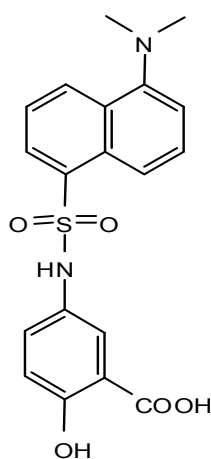
Nesse procedimento, a síntese do produto alvo mostrado no **Esquema 03** foi realizada através da solubilização inicial de 1,05 mmol do ácido 5-aminosalicílico em clorofórmio destilado. Posteriormente, foram adicionados 2,16 mmol de TEA e 1,08 mmol de CD de forma lenta e com agitação. Após a solubilização dos produtos, a reação foi mantida sob agitação e em atmosfera de argônio à temperatura ambiente com uma duração de 15 dias. O desaparecimento dos reagentes e o aparecimento dos produtos foram acompanhados por cromatografia de camada delgada, até o final da reação. Os produtos da reação foram separados por coluna cromatográfica.



Esquema 03

Procedimento 02- Síntese com refluxo

Para a preparação do DMSAS (**Esquema 03**), a síntese foi realizada através da solubilização de 2,02 mmol de ácido 5-aminosalicílico em clorofórmio previamente destilado, e sobre essa solução foram adicionados 4,18 mmol de TEA e 2,13 mmol de CD lentamente sob agitação. A reação foi mantida sob agitação magnética e refluxo por quatro dias e a purificação segue o procedimento padrão descrito na purificação do DMSID.



DMSAS:

RMN de ^1H ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$): δ 2,66 (s, 6H); 6,45 (d, $J=8,68$ Hz, 1H); 6,75 (dd, J 8,65Hz, 1H); 7,05 (d, $J=2,89$ Hz, 1H); 7,15 (d, $J=7,63$ Hz, 1H); 7,51 (dd, $J=8,61$ Hz e 7,37 Hz, 1 H); 7,56 (dd, $J=8,71$ Hz e 7,67 Hz, 1H); 8,10(d, $J=7,34$ Hz, 1H); 8,20(d, $J=8,62$ Hz, 1H); 8,65(d, $J=8,70$ Hz, 1H).

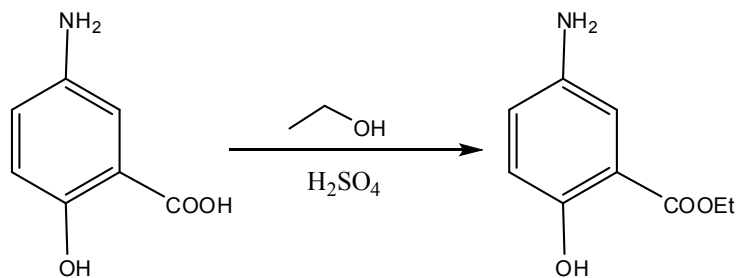
RMN de ^{13}C – ($\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$): δ 45,0; 115,3; 118,4; 121,5; 124,0; 127,1; 127,5; 128,15; 128,8; 130,1; 135,5; 140,1; 150,0; 156,5; 177,5 ppm.

IV (KBr): 3439, 3010, 2964, 1674, 1492, 1312, 1240, 1154 cm^{-1}

m/z (386.20, M^*); $p.f.$ 227,5- 227,9°C; r: 20 e 30% respectivamente

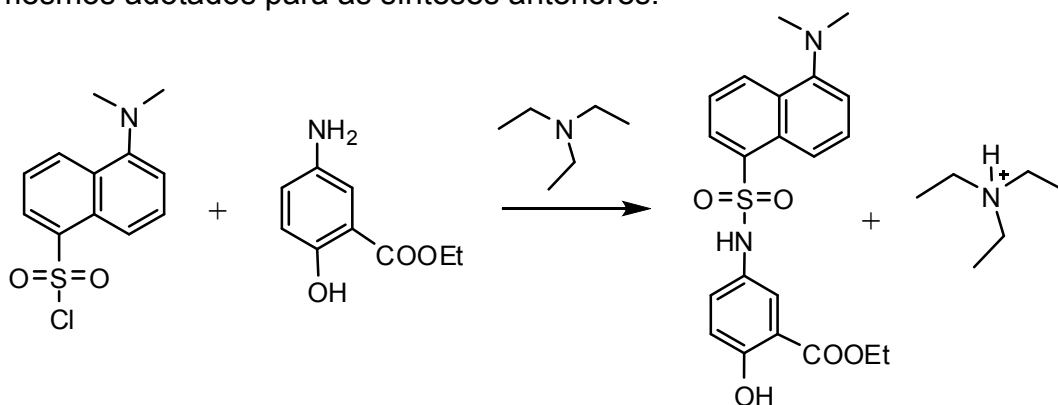
Procedimento 03- Síntese com esterificação

Como forma alternativa da síntese dos procedimentos 01 e 02, e com o intuito de verificar se um melhor rendimento pode ser atingido, esse método baseia-se na esterificação do grupo ácido como forma de evitar uma suposta reação competitiva promovida pelo ataque nucleofílico do oxigênio do carboxilato sobre átomo de enxofre. Assim, esse procedimento de esterificação do grupo ácido (**Esquema 04**) foi realizado pelo método de Fischer com a solubilização de 3,3 mmol de ácido 5-aminosalicílico em etanol, na presença de 2,55 mmol de ácido sulfúrico como catalisador. A reação foi mantida por 5 dias em um sistema com agitação e refluxo. Na seqüência, o meio foi neutralizado e o solvente rotaevaporado. O produto obtido foi solubilizado em diclorometano e foi feito duas extrações com 40 mL de uma solução aquosa de brine e bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e rotaevaporado.

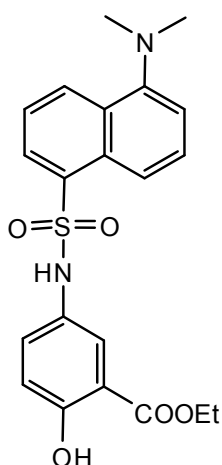


Esquema 04

Na etapa seguinte (**Esquema 5**), uma quantidade de 2,22 mmol do ester formado anteriormente (5-Amino-2-hidroxibenzoato de etila) foi solubilizado em clorofórmio, adicionando sobre uma solução de 2,66 mmol de TEA e 2,44 mmol de CD, e deixada reagir por 7 dias sob refluxo. O procedimento para purificação segue os mesmos adotados para as sínteses anteriores.



Esquema 05



DMSAS:

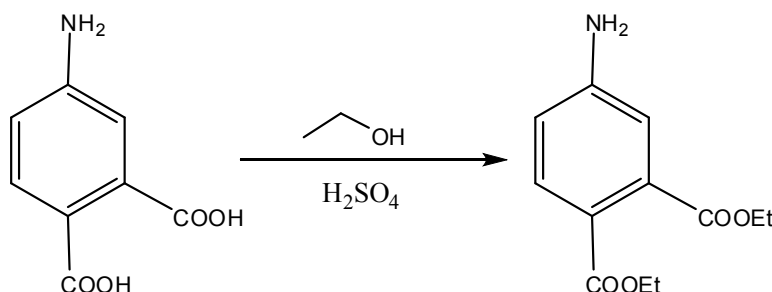
RMN de H¹ (D₂O/ NaOD): δ 1,00 (t, J= 7,24 Hz, 3H); 2,50 (q, J=7,22 Hz, 2H); 2,85 (s, 6H); 6,50 (d, J= 8,72 Hz, 1H); 6,73 (dd, J=8,69 Hz e 2,87 Hz, 1H); 7,05 (d, J= 2,70 Hz, 1 H); 7,36 (dd, J= 7,61 Hz e 0,72 Hz, 1H); 7,56 (dd, J= 8,62 Hz e J=7,35, 1H); 7,64 (dd, J=8,64 Hz e J= 7,64 Hz, 1H); 8,08 (dd, J=7,32 Hz e J=1,17 Hz, 1H), 8,30 (d, J= 8,64 Hz, 1H), 8,62(d, J=8,69 Hz, 1H)

IV (KBr): 3277, 3,076, 2,982, 1676, 1481, 1319, 1208, 1153 cm⁻¹

m/z 134,0(414,20 M*); r: 82%

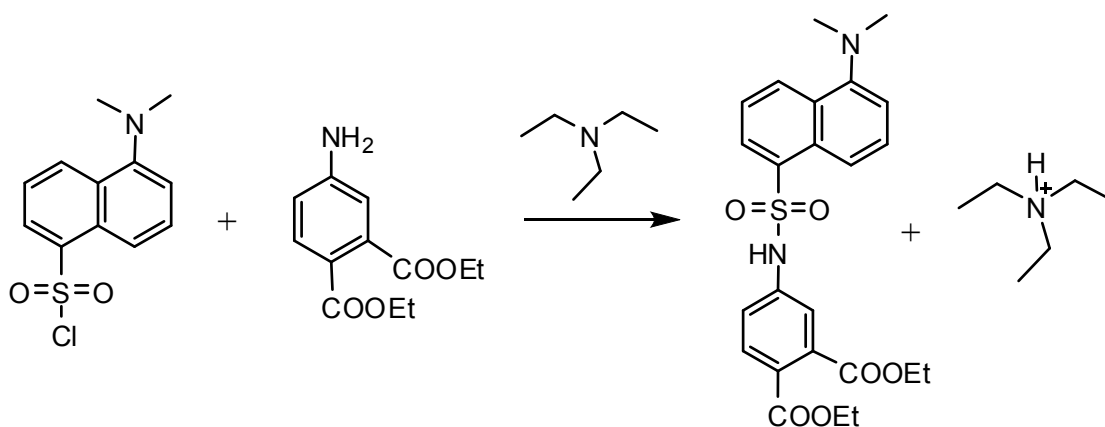
4.3.3 - 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilftalato (DMSAF)

A síntese para do DMSAF (**Esquema 06**) iniciou-se com a esterificação dos grupos ácidos presentes, seguindo a metodologia de esterificação de Fischer. Assim, foi solubilizado 3,31 mmol do ácido 4-aminoftálico em etanol (destilado) e adicionou-se lentamente e sob agitação, 4,68 mmol de ácido sulfúrico. A reação foi mantida sobre refluxo e cessada após 8 dias. Finalizada a reação, se neutralizou o meio e retirou-se o solvente. A separação dos componentes foi obtida por extração líquido-líquido, onde o produto foi solubilizado em acetato de etila e lavado com uma solução salina de cloreto de sódio e bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca e rotaevaporada.

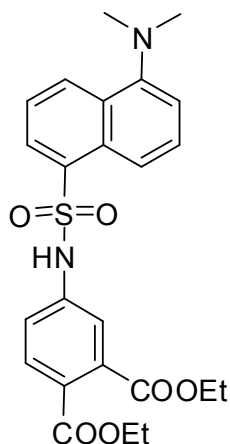


Esquema 06

Para a síntese do 5-(*N,N*-Dimetilamino)-1-naftalenosulfonil)-4-amino-dietilftalato (**Esquema 07**), foi solubilizado 1,31 mmol 4-aminoftalato de dietila em clorofórmio com a adição de 1,57 mmol de TEA e 1,45 mmol de CD, mantendo sobre refluxo e agitação por 5 dias. Os produtos foram novamente separados purificados por coluna cromatográfica como descrito no procedimento de purificação do DMSID.



Esquema 07



DMSAF:

RMN de H^1 ($CDCl_3$): δ 1,29 (t, $J=7,29$, 6H); 1,56 (s, 1H); 2,91 (s, 6H); 4,26 (m, 4H); 7,10 (dd, $J=8,87$ Hz e $J=6,39$ Hz, 1H); 7,48 (dd, $J=8,50$ Hz e $J=7,48$, 1H); 7,57 (d, $J=8,65$ Hz, 1 H); 7,55 (d, $J=8,37$ Hz, 1H); 7,62 (d, $J=8,64$ Hz, 1H); 7,83(d, $J=8,35$ Hz, 1H); 8,36(d, $J=7,34$ Hz, 1H); 8,65 (d, $J=8,14$ Hz, 1H); 8,70 (d, $J=8,14$ Hz, 1H).

IV (KBr): 3461, 3272,3034, 2972, 1723, 1368, 1290, 1151 cm^{-1}

m/z 168,0 (470.30, M^*); *p.f.* Acima de 250°C; r: 65%

4.3.4 - Estudos de Fluorescência

Esses experimentos foram realizados utilizando como sonda o DMSAS, a partir de uma solução padrão cuja concentração é $1,0 \times 10^{-2}$ mol/L solubilizado em Dimetilformamida (DMF). As soluções foram preparadas com a adição de 0,05 mL desse padrão de DMSAS para um volume de 10 mL. Na avaliação do pH, esse foi ajustado com ácido clorídrico na faixa ácida, sendo adicionado pequenas alíquotas de uma solução padronizada de hidróxido de sódio para elevação à faixas alcalinas.

Para os experimentos que foram avaliados o efeito da adição dos íons sobre o espectro de fluorescência, as soluções foram preparadas a partir de soluções padrão de cada íon, compradas comercialmente e mantida sob ácido nítrico concentrado. Nesses experimentos foram preparadas duas soluções, ambas contendo o fluoróforo e tamponadas em pH=5 utilizando um padrão de acetato de sódio com concentração 0,07 mol/L, mas uma na ausência e outro na presença desses íons. A variação da concentração é produto das diluições entre essas duas soluções.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Síntese dos compostos

Considerando que todos os produtos propostos para serem sintetizados nesse trabalho são ainda inéditos na literatura, e com o objetivo de buscar informações que pudessem confirmar a sua estrutura, passaram a ser analisadas por técnicas de caracterizações, as quais os resultados estão apresentados no anexo deste trabalho. Cada uma dessas técnicas utilizadas contribui com

informações valiosas que podem nos indicar se a obtenção do produto alvo foi realmente alcançada.

A obtenção do íon molecular no CG-MS para todos os compostos avaliados propõe um forte indício na direção esperada. Considerando que as moléculas apresentam uma quantidade relevante de grupos polares, tornando inviável a análise através da coluna, optando assim pela injeção direta das amostras.

Assim como a semelhança na forma espectral obtida pelo IV nas amostras e o aparecimento de bandas características de grupos funcionais antes não existentes e que são desejáveis indicativos, podem contribuir para conclusão desse estudo. Nesse sentido podemos citar uma banda intensa na região entre $1730-1600\text{ cm}^{-1}$ correspondente ao grupo carbonila, também na região de $1260-1000\text{ cm}^{-1}$ que corresponde ao estiramento da ligação C-O, uma banda larga na região de $3400-2400\text{ cm}^{-1}$ geralmente associado à ligação O-H como as duas bandas assimétricas em 1400 cm^{-1} e 1300 cm^{-1} para estiramento S=O.

Os espectros de RMN além de informar a quantidade das espécies em análise, que para esse caso específico foi de hidrogênio, também agrega informações que possibilita identificar a qual tipo de agrupamento cada espécie está interligada, através do deslocamento químico e a constante de acoplamentos. Essas informações foram fornecidas na seção experimental sendo retirada através do tratamento dos dados do espectro mostrados em anexo.

Importante enfatizar que os resultados obtidos revelam sinais na região de aromáticos (δ 8,0-6,5 ppm), com a relação obtida através da integração das áreas dos picos condizente com os valores esperados para os produtos, também na região próxima a δ 3 ppm um singleto correspondente aos hidrogênios do grupo dimetilamina ligado ao anel naftaleno. Para os produtos que foram esterificados observa-se um tripleto com deslocamento próximo a 1 ppm correspondente ao CH_3 , e um quarteto na região de δ 4 ppm indicando um CH_2 , ambos associados ao grupo etil presente nessas estruturas.

O baixo rendimento na síntese do DMSAS no primeiro procedimento é um fator preocupante para a viabilidade da síntese, e a busca de alternativas que pudessem melhorar as expectativas a esse respeito foi alvo de nossa atenção. A realização da mesma reação em um sistema utilizando condições mais severas, como o caso de um sistema em refluxo, demonstrou melhores resultados comparado ao obtido anteriormente, mas não significativos.

A utilização de uma via alternativa para esse procedimento foi a de promover a esterificação dos grupos carboxílicos, para inibir possíveis reações competitivas dentro do processo, observada anteriormente na síntese do DMSID, comprovada pela presença de um desdobramento do pico na região de δ 4,2 ppm correspondente aos grupos alquila (α carbonila), indicando que o resultado dessa reação foi a formação de um produto promovido pelo ataque átomo de oxigênio do grupo carboxilato, pois isso não seria esperado para o produto proveniente do ataque pelo átomo de nitrogênio. Assim como as fragmentações provenientes das quebras moleculares obtidas no CG-MS dão fortes indicações que o resultado dessa reação gerou o produto indicado. E apesar de até o momento esse procedimento apresentar excelentes resultados, ainda são inconclusivos, pois obtivemos apenas um intermediário dessa rota sintética.

Com isso, para as sínteses que se seguiram como no caso do DMSAF esse procedimento foi mantido, e um rendimento superior a 50% obtido até o momento sugere que essa escolha foi a mais adequada. A partir dos produtos da esterificação, o próximo passo para a obtenção dos compostos desejados segue uma reação de hidrólise em meio básico, onde esse procedimento é descrito em diversos trabalhos na literatura inclusive com a presença de sulfonamidas na estrutura molecular.

Considerando os valores de pKa dos nucleófilos, apresentados na **Tabela 1**, se fez necessário a utilização de uma base forte, para receber o próton proveniente da amina e que mantenha o nucleófilo ativo para o ataque. Assim, a escolha da TEA baseia-se pela sua alta basicidade e pouca nucleofilicidade, ou seja, não compete com o nucleófilo, devido ao impedimento estérico e do princípio que aminas terciárias não reagem com sulfonatos, como mostra o teste de Hinsberg.

Em algumas sínteses se observou a presença de traços de TEA na amostra, provavelmente na forma de sal de amônio e uma segunda purificação se fez necessário, onde a rota seguida mostrou-se bastante eficiente, comprovado pelas análises que seguiram a ausência dessa impureza.

5.2- Estudos de fluorescência da sonda DMSAS

Com o objetivo de avaliar se os compostos sintetizados neste trabalho podem vir a ser utilizados como quimiossensores fluorescente, alguns estudos preliminares foram feitos utilizando o DMSAS. Dentro dessa finalidade, a determinação do

comprimento de onda de emissão e excitação é um fator importante neste contexto para definir em qual região do espectro serão realizados os estudos, bem como, para a certificação das propriedades fluorescentes dessa espécie.

Partindo do princípio que o comprimento de onda de emissão é independente do comprimento de excitação, descrito através do deslocamento de Stokes, os espectros de emissão e excitação são idênticos, entretanto em regiões diferentes, provocado pela perda de energia no processo. Assim sob as mesmas condições, o espectro de emissão de fluorescência apresenta uma amplitude proporcional à amplitude correspondente à região onde λ de excitação está localizado no espectro.

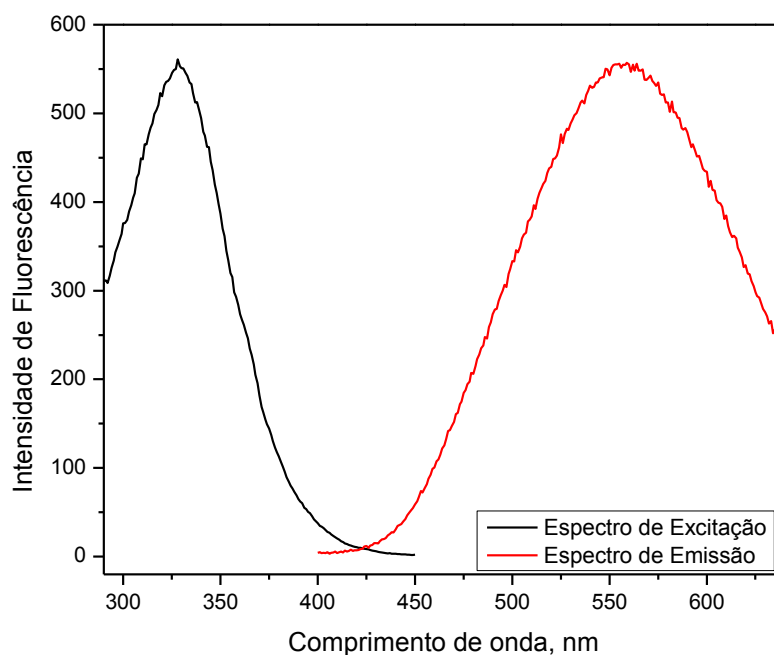


Figura 3. Gráfico do espectro de emissão ($\lambda_{\text{excitação}}$ 330 nm) e excitação ($\lambda_{\text{emissão}}$ 560 nm) da sonda DMSAS [$5,0 \times 10^{-5}$] mol/L.

A fluorescência de um composto é diretamente influenciada por diversos fatores, que em muitos casos são difíceis de serem identificados e geralmente estão relacionados ao meio químico onde esse fluoróforo está aderido, aos quais podemos citar os efeitos provenientes das mudanças na polaridade dos solventes, temperatura e o pH do meio.

O efeito do pH em sistemas onde estão presentes solventes próticos é de fato relevante na fluorescência para moléculas aromáticas contendo grupos funcionais básicos ou ácidos, sendo muito comum observar significativa diferença entre as propriedades luminescentes de moléculas protonadas e não-protonadas. Essas propriedades estão vinculadas à mudança de energia entre os estados de transição

eletrônica, onde a mudança na disponibilidade dos elétrons nesses grupos promove uma diferença na energia entre os orbitais LUMO e HOMO ou mesmo a alteração dos orbitais de transição, provocando mudanças no comprimento de onda resultante da fluorescência.

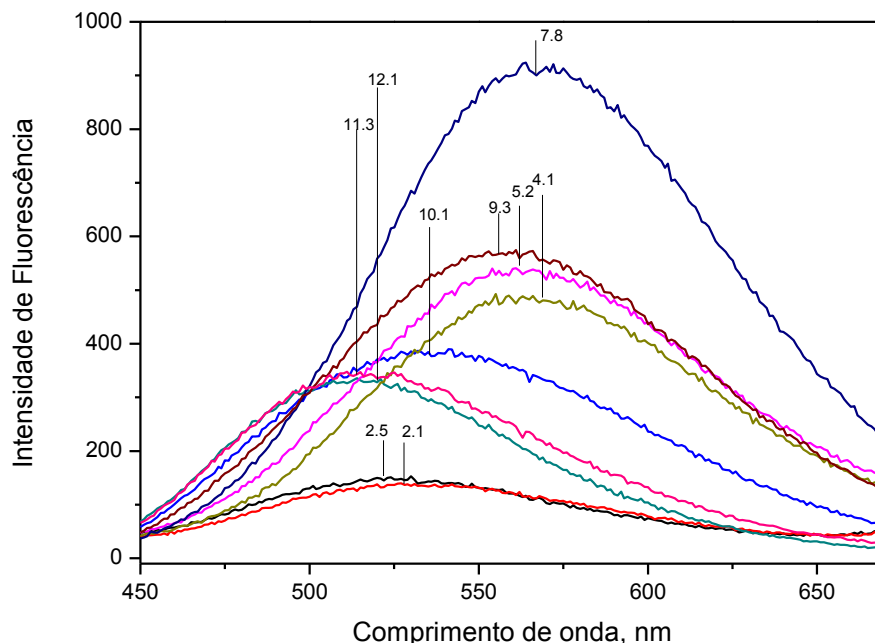


Figura 4. Gráfico da emissão de fluorescência do DMSAS (5×10^{-5} mol/L) em relação à variação do pH da solução em meio aquoso ($\lambda_{\text{excitação}}$ 350 nm).

O gráfico acima mostra que essa sonda sofre forte dependência na fluorescência com a variação do pH no meio, sendo observado que em meio ácido a banda de emissão é suprimida e deslocada para uma região de maior energia em relação a ambientes mais neutros. Isso também é evidenciado com menor intensidade quando a solução está em meios mais alcalinos.

Dessa maneira, fica evidente que a fixação do pH para a obtenção dos próximos resultados se faz necessário e por esse motivo a utilização do tampão acetato de sódio foi empregado num concentração que garantisse a fixação na faixa tamponada, em pH 5,0 evitando a precipitação ocasionados em pHs alcalinos para algumas classes de metais na forma de hidróxidos. Com essa condição pré-fixada se partiu para os estudos relacionados a possíveis interações entre a sonda e espécies iônicas em solução aquosa.

O comportamento da emissão de fluorescência foi observado na presença de vários ânions como Cl^- , NO_3^- , ClO_4^- , $\text{C}_7\text{H}_7\text{SO}_3^-$, e também com algumas espécies de cátions Na^+ , Be^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , Pd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Al^{3+} .

Dentre esses, o que demonstrou melhor resultado foi o ferro, onde o aumento da concentração provocou a supressão na intensidade da fluorescência da sonda DMSAS, com uma variação da concentração de metal entre 0 e 4×10^{-4} mol/L.

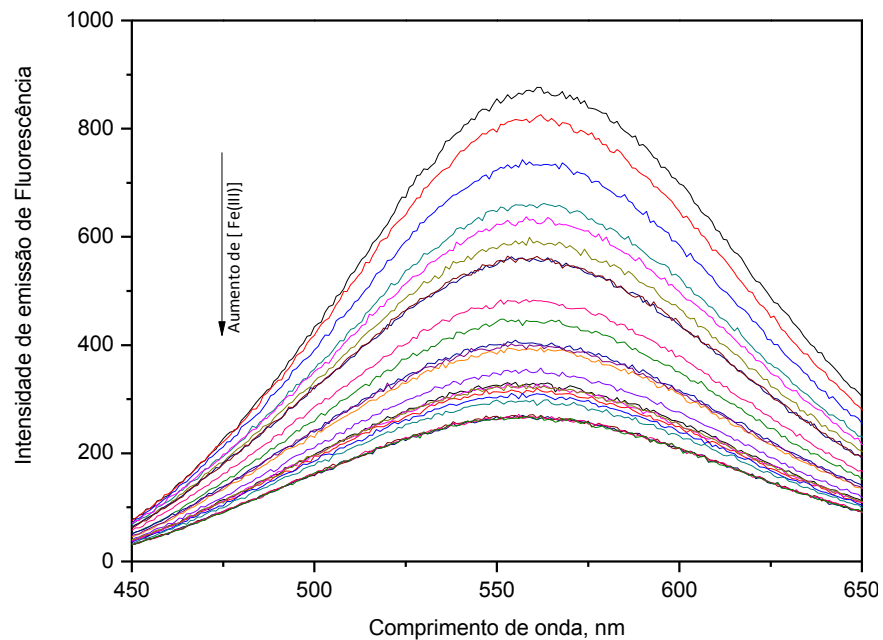


Figura 5. Representação do conjunto dos espectros de emissão do DMSAS ($1, \times 10^{-4}$ mol/L) pela variação de Fe(III) em pH 5,0 tamponado com acetato de sódio 0,1 mol/L

Essa supressão da fluorescência ocorre como resultado de dois processos, a interação através de colisões entre as moléculas no estado excitado ou a formação de um complexo não fluorescente entre a sonda e o supressor, onde esses efeitos promovem a diminuição do rendimento quântico do fluoróforo.

A equação que melhor demonstra esse efeito de supressão é descrito por Stern-Volmer,²⁸ que relaciona a dependência entre a intensidade da fluorescência na presença e na ausência de supressor (F_0/F), nesse caso o metal, pela concentração desse íon [Q].

Equação 1

Esses dados quando apresentados em um gráfico de F_0/F versus [Q], deve sugerir uma relação linear com um coeficiente linear igual a um e o coeficiente angular corresponde à constante de Stern-Volmer (K_s).

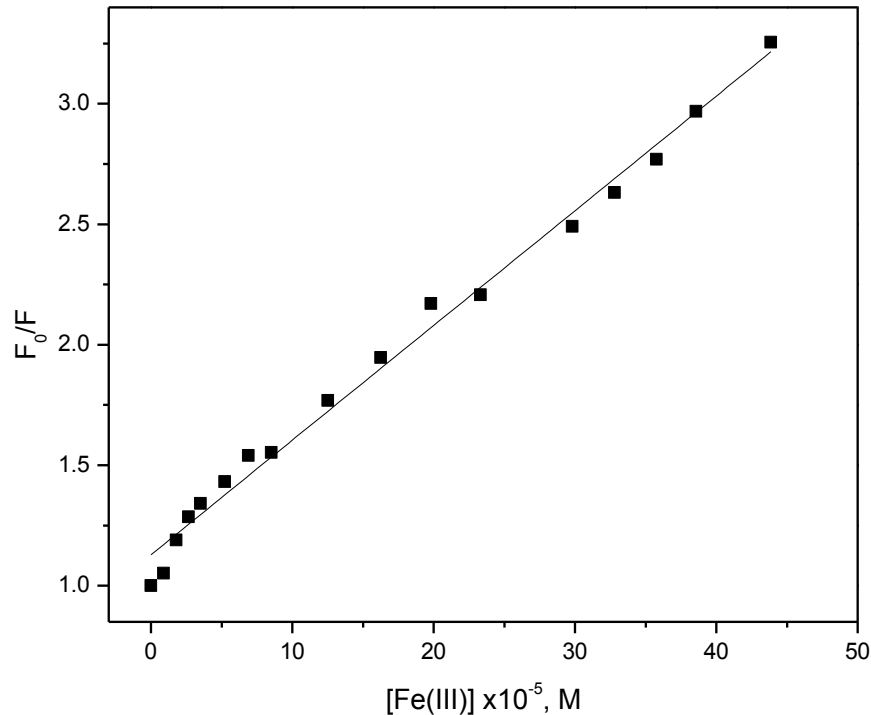


Figura 6. Gráfico de Stern-Volmer para supressão de fluorescência do DMSAS pelo Fe(III), em pH=5,0 ($\lambda_{\text{excitação}}=350$ nm e $\lambda_{\text{emissão}}=560$ nm).

A **Figura 6** mostra que em soluções diluídas dos íons metálicos, a supressão segue o comportamento descrito por Stern-Volmer e a constante de associação obtida pelo perfil do gráfico é dado por $(4,8 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, indicando através da magnitude do valor obtido a forte interação entre o DMSAS e o supressor, o que nos permite determinar a presença desse íon em concentrações relativamente baixa.

Essa constante de ligação também apresentou magnitude na mesma ordem de grandeza, quando obtida através do gráfico que relaciona intensidade da fluorescência com a variação da concentração de ferro(III), ao qual a curva foi ajustada pela Equação 2.²⁹

$$I = \frac{I_0 + I_F \cdot K[\text{Fe}^{3+}]}{1 + K[\text{Fe}^{3+}]} \quad \text{Equação 2}$$

Onde I_0 e I_F referem-se as intensidades de fluorescência inicial e final respectivamente e K é a constante de ligação, obtida através da equação ao qual mostrou se ajustar aos dados obtidos experimentalmente. O valor da constante de ligação fornecido é de $(1,1 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$, isso é, a supressão da fluorescência

está diretamente relacionado à intensidade com que a sonda(S) e o supressor(L) interagem de acordo com seguinte equilíbrio: $S + L \rightleftharpoons SL$, onde as constantes obtidas até o momento indicam grandeza da formação do complexo SL.

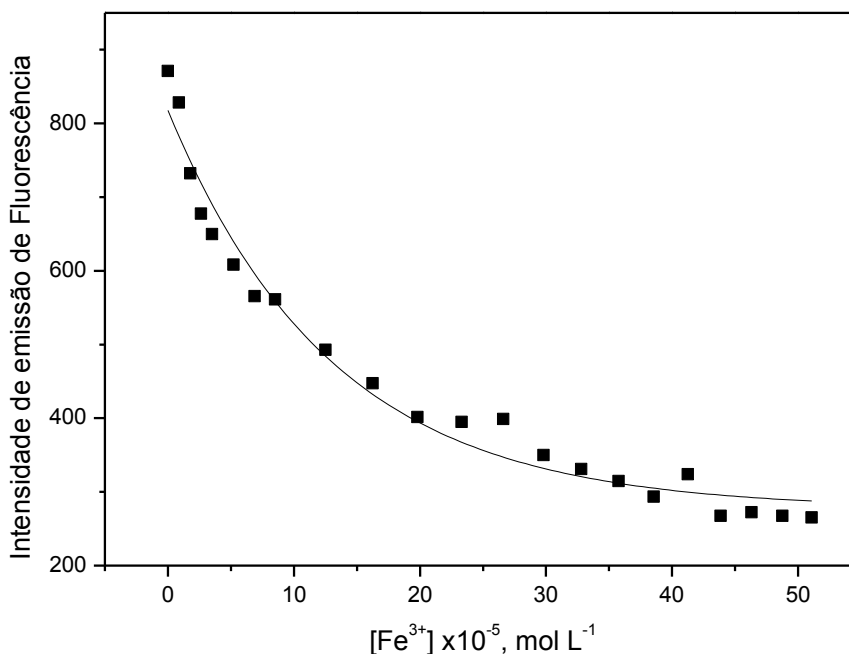


Figura 7. Influência da concentração de ferro(III) na supressão da fluorescência do DMSAS em pH=5,0 (tampão acetato 0,07 mol/L)

Essa relação de equilíbrio nem sempre segue a estequiometria de que cada sonda apenas complexa com um ligante, essa relação é obtida experimentalmente e uma das formas de identificar qual é essa proporção também pode ser obtida através pela curva descrita na figura acima. Baseado no perfil da equação de ajuste dos dados, podemos obter informações valiosas, ao qual uma delas está relacionada a estequiometria de complexação, sendo esse perfil demonstrado pela equação 2 característico para uma relação estequiométrica (1:1).

Outra metodologia pode ser aplicada com intuito de confirmar a veracidade dessa informação, uma das alternativas é utilizar o método da razão molar, que relaciona a intensidade de fluorescência pela razão entre as concentrações do metal e da sonda. O plot adequado dessa relação gera uma mudança significativa ou uma descontinuidade na inclinação dos pontos, o que corresponde a estequiometria do complexo.

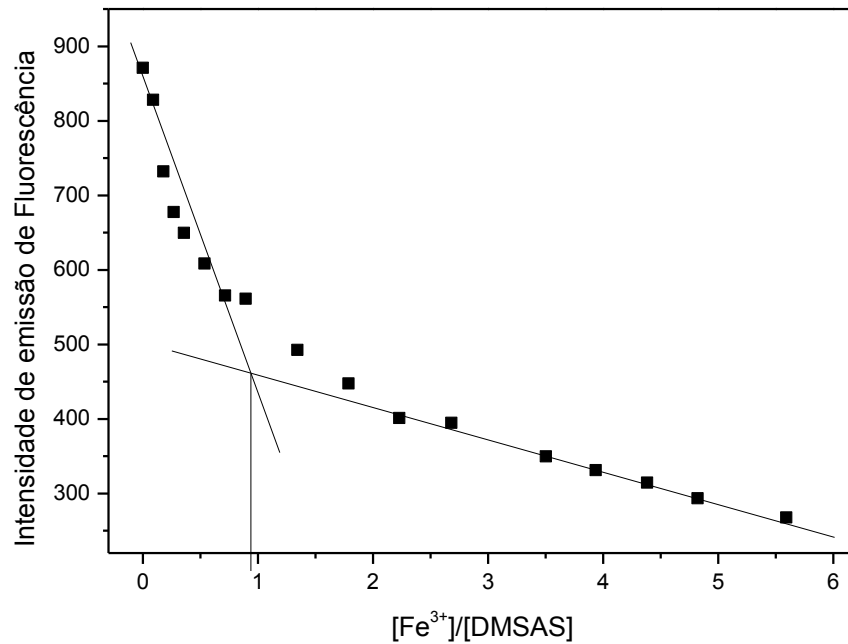


Figura 8. Gráfico que representa a variação da intensidade de emissão da fluorescência, (observada em $\lambda_{\text{emissão}} 560 \text{ nm}$) pela razão das concentrações entre o metal e a sonda, baseado no método da razão molar. $X = 0,944$

Com isso, os dados fornecidos pelo gráfico sugerem uma relação de proporcionalidade unitária para a interação entre a sonda e o ferro(III). Esses dados apresentam incertezas com relação à determinação estequiométrica do complexo causado pela quantidade insuficiente de pontos nesse experimento e para confirmar essa relação, outros experimentos são necessários serem realizados.

Os dados referentes aos gráficos da fluorescência se encontram em anexo no apêndice .

6-CONCLUSÕES

Entre os compostos que realizamos a síntese, apenas o DMSAS foi obtido na forma desejada através de uma das metodologias seguidas para esse composto. As outras estruturas estão em processo inconcluso como o caso do DMSAF e o DMSAS que seguiram uma rota através da esterificação, ou o produto obtido não condiz com o desejado, mas que não se descarta a possibilidade de utilização desse composto como um sensor. Sendo todos os compostos caracterizados pelas técnicas pretendidas inicialmente, sugerindo a obtenção desses produtos como resultado dos processos de síntese.

Os resultados proveniente dos estudos de fluorescência para o DMSAS fornece uma constante de associação desse composto com ferro(III) de $(4,8 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ retirada através da Stern-Volmer e $(1,1 \pm 0,1) \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ obtida pelo coeficiente da equação de ajuste que relaciona a concentração da espécie supressora com a intensidade da fluorescência, o que nos leva a concluir pela magnitude dos resultados que o íon interage fortemente com a sonda. Também foi obtido a relação com que essas espécies interagem, resultando em uma estequiometria (1:1), baseado nas metodologias aplicadas.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CZARNIK, A. W. Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition. Washington: ed. ACS Symposium, American Chemical Society, 1993. Series 538.
2. FAN, L-J.; ZHANG, Y.; MURPHY, C. B.; ANGELL, S. E.; PARKER, M. F. L.; FLYNN, B. R.; JONES Jr, W. E. Fluorescent conjugated polymer molecular wire Chemosensors for Transition Metal Ion Recognition and Signaling. *Coordination Chemistry Reviews*, 253, p 410-422, 2009.
3. ZIMMERMANN-DIMER, L. M.; MACHADO, V. G. Quimiossensores Cromogênicos e Fluorogênicos para Detecção de Analitos Aniônicos. *Química Nova*, 31, p. 2134-2146, 2008
4. ZIMMERMANN-DIMER, L. M.; Desenvolvimento de Quimiossensores Cromogênicos Aniônicos Altamente seletivos para o Cianeto. Dissertação- Universidade Regional de Blumenau. Blumenau. 2008.
5. ROHATGI-MUKHERJEE, K.K. Fundamentals Photochemistry. University Jadavpur, Calcutta: ed. One World, 1978.
6. VALEUR, B. Molecular Fluorescence: Principles and Applications. Weinheim: ed. WILEY-VCH, 2002.
7. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos da Química Analítica. 8 edição. Unicamp, São Paulo: ed. Cengage learning, 2008.p 999.
8. BARROW, G. M.; Estruturas de Las Moléculas. Editora Reverté-SA, USA, 1967.
9. MACCARTHY, A.; Methods of Analysis and Detection. Cambridge University Press, Inglaterra, 2001.
10. BEDENDO, G. C. Estudo de Sondas Fluorescentes para Determinação de Cátions. 2007. P 91. Dissertação- Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2007.

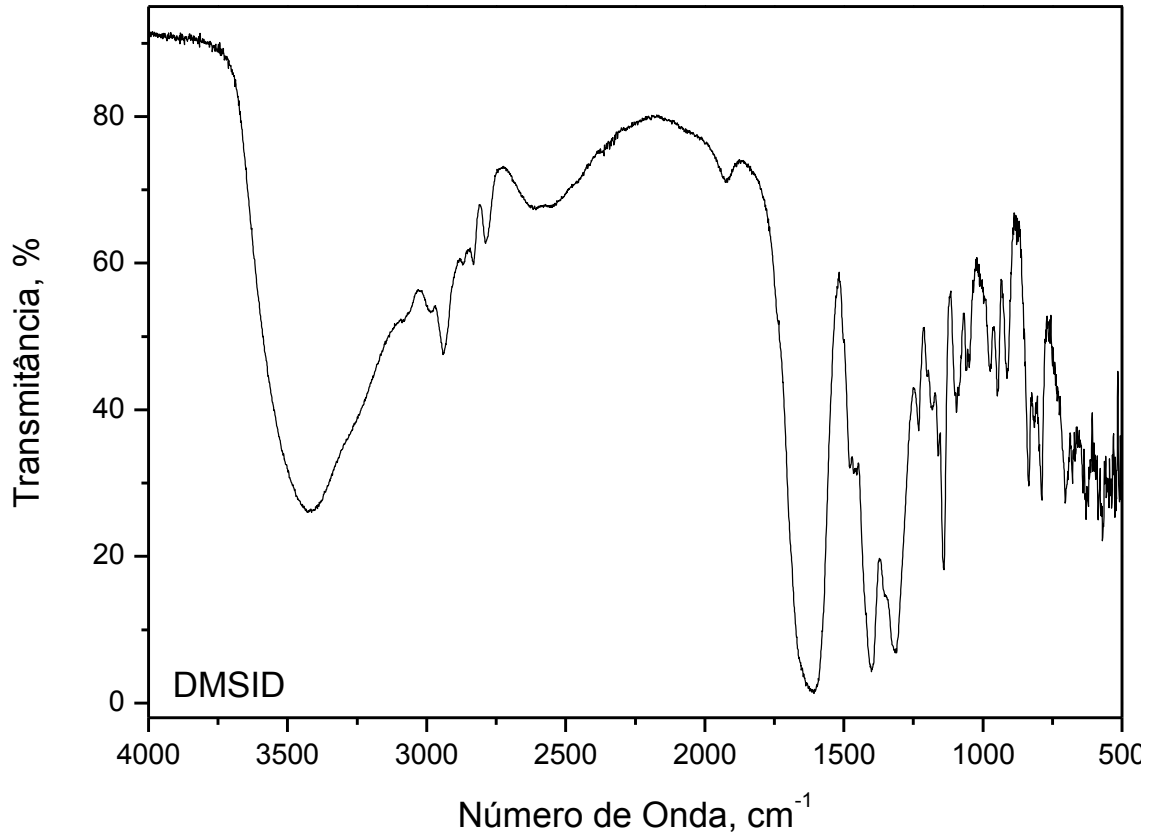
11. PRODI, L. Luminescent Chemosensors: From Molecules to Nanoparticles. *New Journal Chemistry*, 29, p. 20-31, 2005.
12. LOHANI, C. R.; LEE, K. The Effect of Absorbance of Fe^{3+} on the Detection of Fe^{3+} by Fluorescent Chemical Sensors. *Sensors and Actuators B: chemical*, 143, p. 649-654, 2010
13. SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. *Química Inorgânica*. 3 edição. São Paulo. Bookman, 2003.p. 816.
14. LI, H.-W.; WANG, B.; DANG, Y.-Q.; LI, L.; WU, Y. A Highly Selective Fluorescent Sensor for Mercury Ions in Aqueous Solution: Detection Based on Target-Induced Aggregation. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 148, p. 49-53, 2010.
15. RIAHI, S.; GANJALI, M. R.; HARIRI, M.; ABDOLAHZADEH, S.; NOROUZI, P. Determination of the Formation Constant for the Inclusion Complex between Lanthanide Ions and Dansyl Chloride Derivate by Fluorescence Spectroscopy: Theoretical and Experimental Investigation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 74, p. 253-258, 2009.
16. LI, H.-W.; LI, Y.; DANG, Y.-Q.; MA, L.-J.; WU, Y.; HOU, G.; WU, L. An Easily Prepared Hypersensitive Water-Soluble Fluorescent Probe for Mercury(II) Ions. *Chemical Communications*, p. 4453-4455, 2009.
17. GANJALI, M. R.; HOSSEINI, M.; HARIRI, M.; FARIDBOD, F.; NOROUZI, P. Novel Erbium(III)-selective Fluorimetric Bulk Optode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 142, p. 90-96, 2009.
18. JISHA, V.S.; THOMAS, A. J.; RAMAIAH, D. Fluorescence Ratiometric Selective Recognition of Cu^{2+} Ions by Dansyl-Naphthalimide Dyads. *Journal of Organic Chemistry*, p. 6667-6673, 2009.
19. WU, H.; ZHOU, P.; WANG, J.; ZHAO, L.; DUAN, C. Dansyl-based Fluorescent Chemosensors for Selective Response of Cr (III). *New Journal of Chemistry*, 33, p. 653-658, 2009.
20. LÖHR, H.-G.; VÖGTLE, F. Chromo- and Fluoroionophores. A New Class of Dye Reagents. *Accounts of Chemical Research*, 18, p. 65-72, 1985.
21. PELCZAR Jr, M.J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N.R. *Microbiologia: Conceitos e Aplicações*, vol.2, 2 Edição. São Paulo: ed. Makron Book, 1996.

22. SMITH, M. B.; MARCH, J. *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*. 5 edition. New York: ed A Wiley-Interscience Publication, 2001. p. 2083.
23. WANG, F.; SCHWABACHER, A. W. Tuning of Binding Selectivity: Metal Control of Organic Guest Binding and Allosteric Perturbation of Fluorescent Metal Sensor. *Journal of Organic Chemistry*, 64, p. 8922-8928, 1999.
24. WANICHACHEVA, N.; WATPATHOMSUB, S.; LEE, V. S.; GRUDPAN, K. Synthesis of a Novel Fluorescent Sensor Bearing Dansyl Fluorophores for the Highly Selective Detection of Mercury (II) Ions. *Molecules*, 15, p. 1798-1810, 2010.
25. DENG, X.; MANI, N. S. A Facile, Environmentally Benign Sulfonamide Synthesis in Water. *Green Chemistry*, 8, p. 835-838, 2006.
26. DE LUCA, L. GIACOMELLI, G.; An Easy Microwave-Assisted Synthesis of Sulfonamides Directly from Sulfonic Acids. *Journal of Organic Chemistry*, 73, p. 3967-3969, 2008.
27. PERRIN, D. D. *Purification of Laboratory Chemicals*. 4 edition. *Australian National University, Canberra, AUT*: ed Butterworth Heinemann, 1998.
28. LAKOWICZ, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3 edition. University of Maryland School of Medicine Baltimore, USA: ed Springer, 2006.
29. CONNORS, K.A. *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*. University of Wisconsin-Madison, USA: A Wiley-Interscience Publication, 1987.

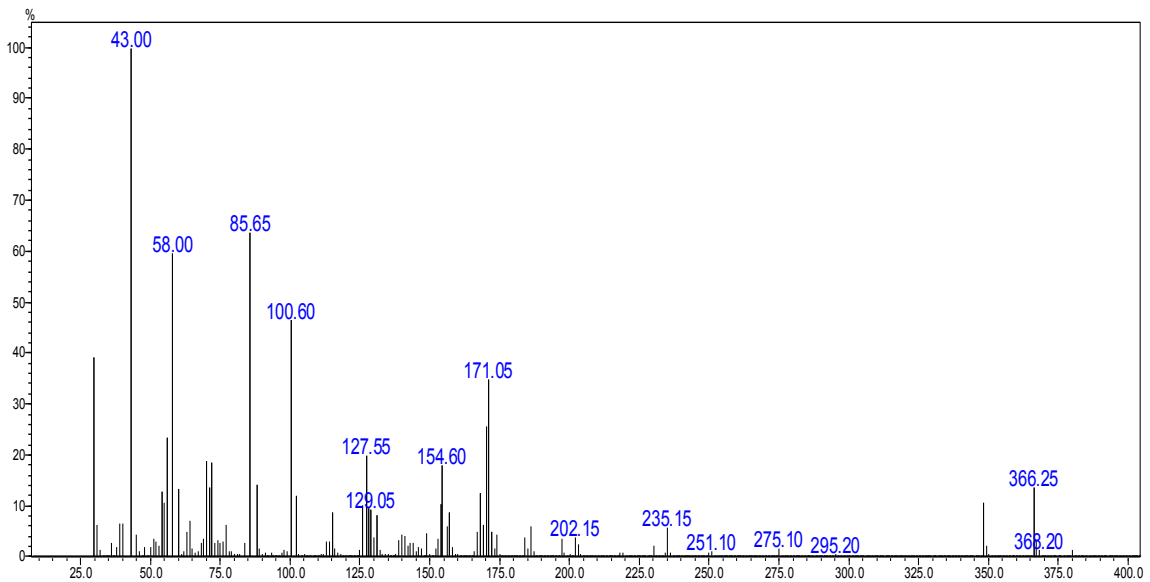
ANEXOS

Ácido 2-(2-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético (DMSID)

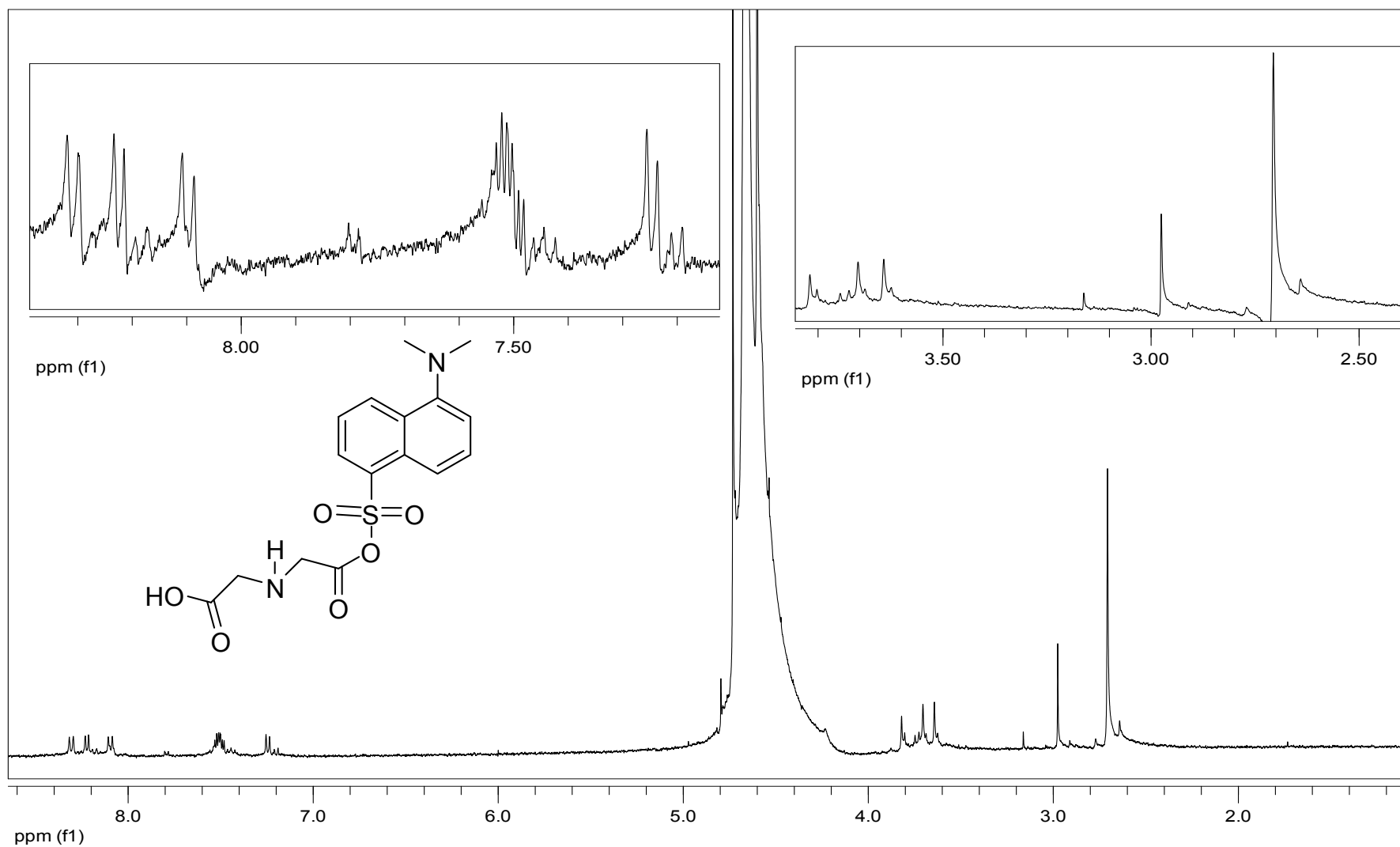
Apêndice A. Espectro de IV do ácido 2-(2-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético com KBr.



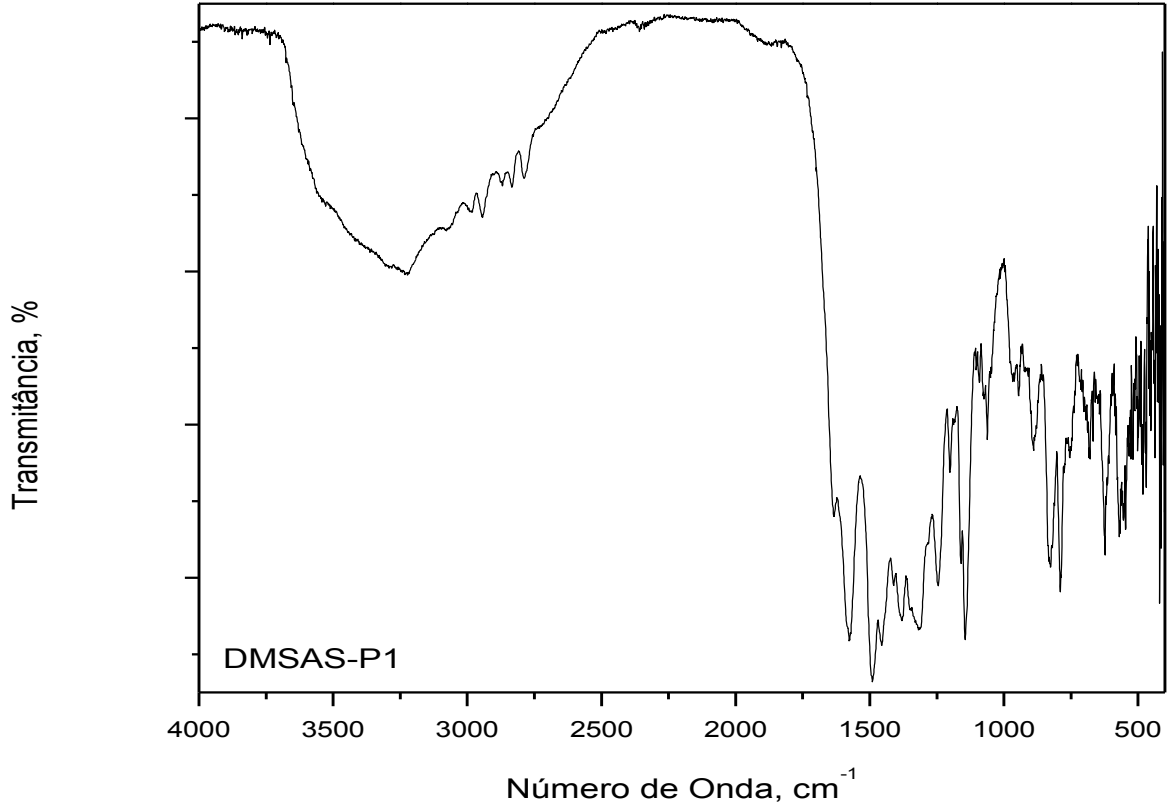
Apêndice B. Fragmentograma de CG-MS do ácido-2-(2-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético.



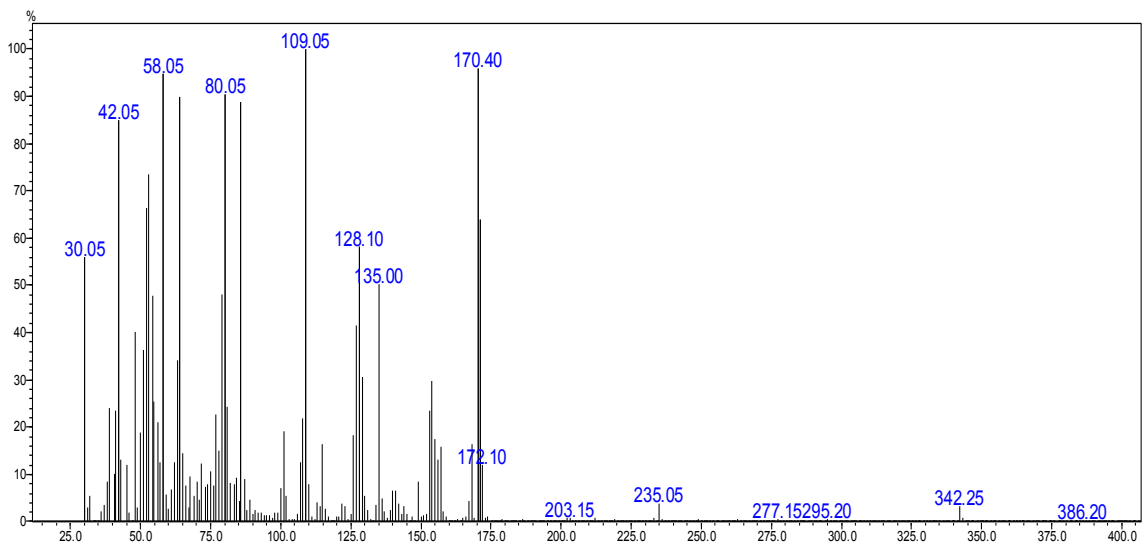
Apêndice C. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ do ácido-2-(2-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfoniloxi)-2-oxoetilamino)acético.



DMSAS – Ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico(P1)
Apêndice D. Espectro de IV do ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico com KBr.

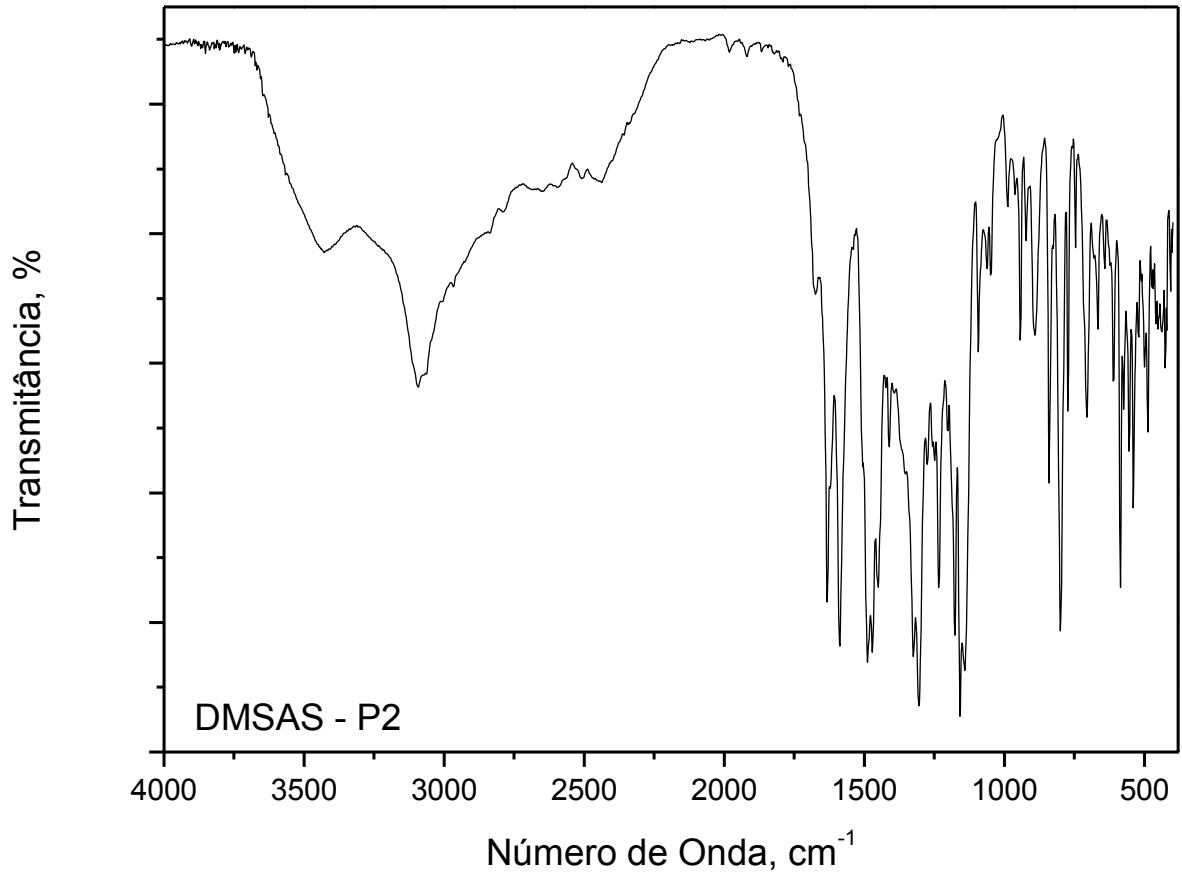


Apêndice E. Fragmentograma de CG-MS do ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico.

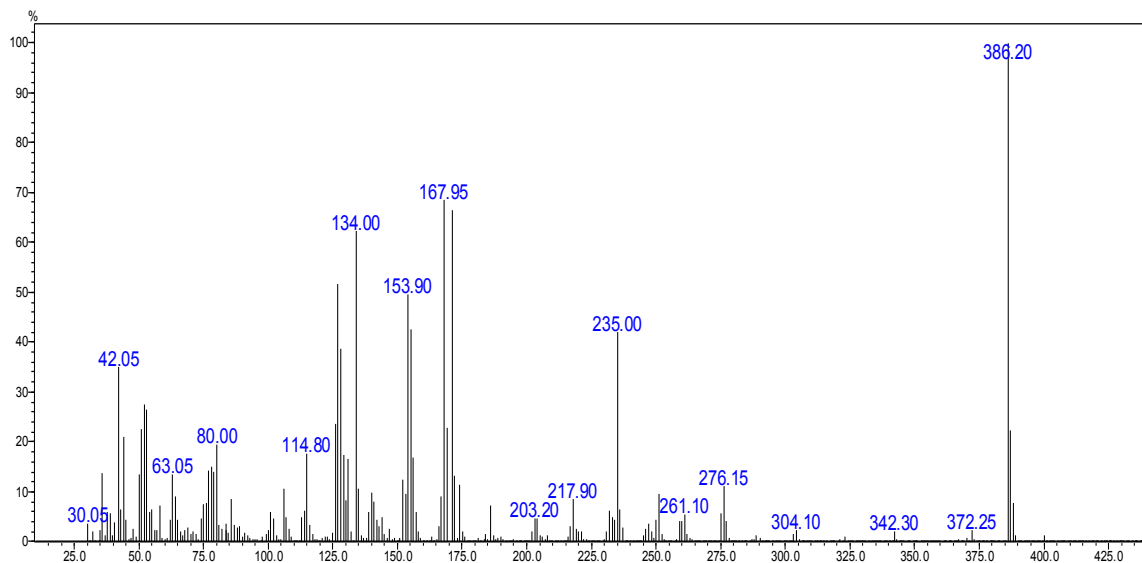


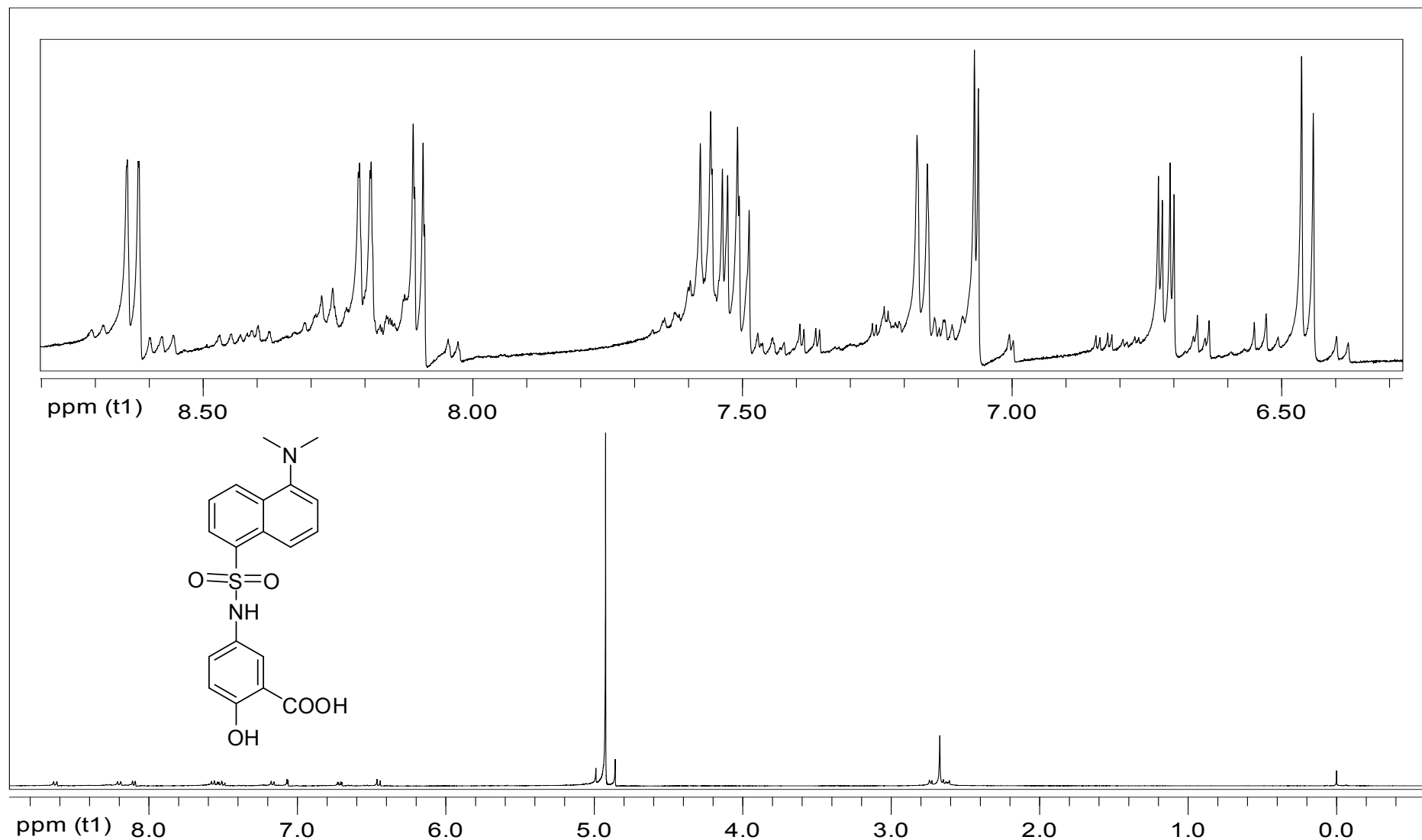
DMSAS – Ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminofáltico (P2)

Apêndice F. Espectro de IV do ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico com KBr.

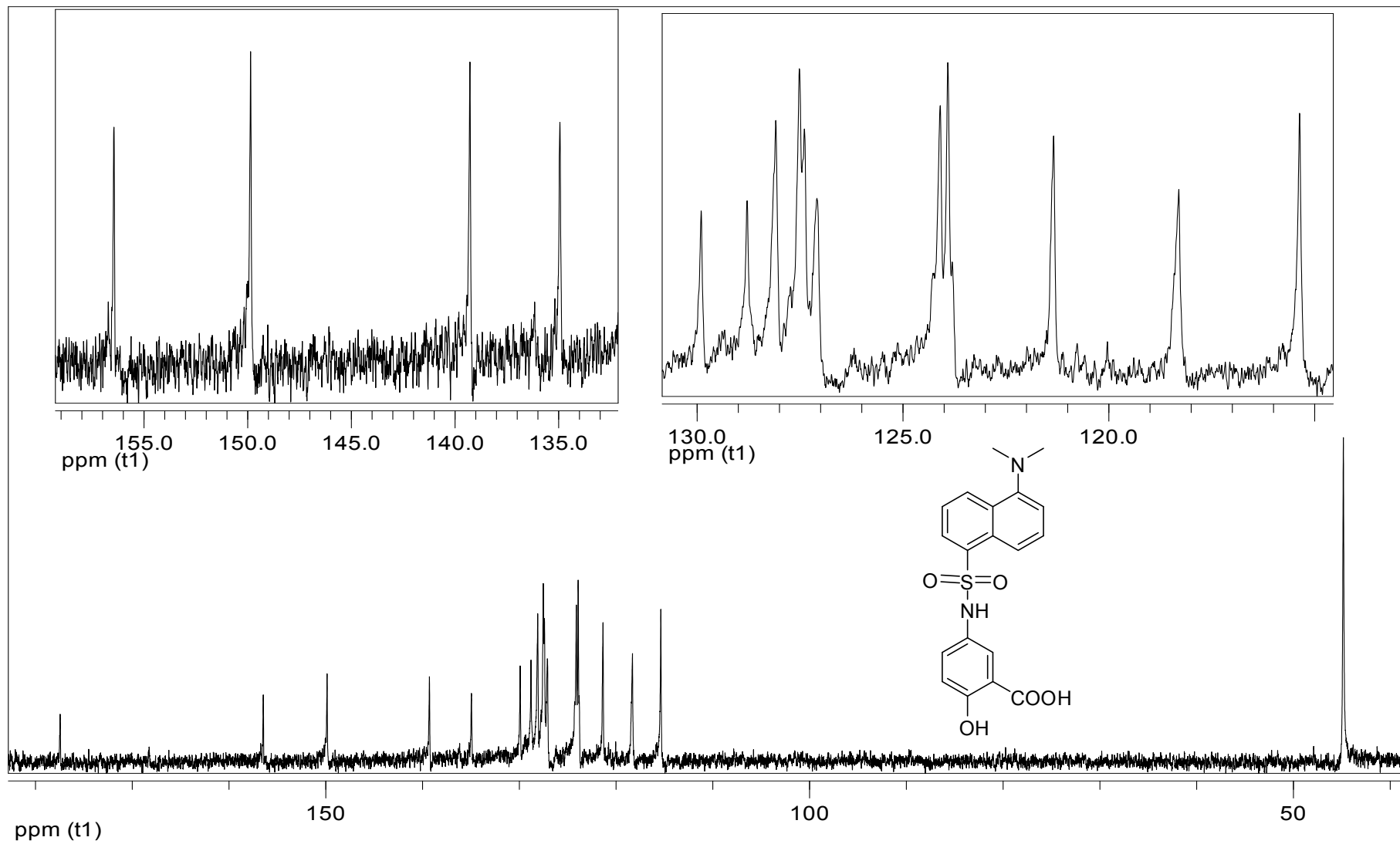


Apêndice G. Fragmentograma de CG-MS do ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico.



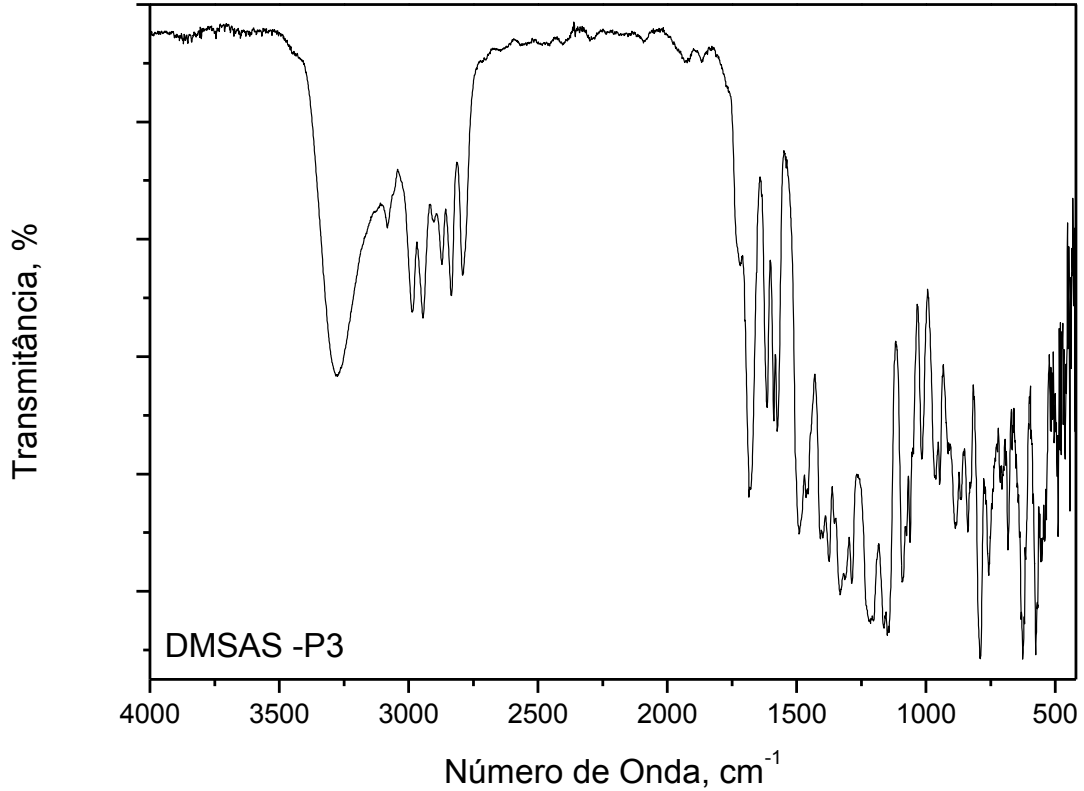
Apêndice H. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ do ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico

Apêndice H. Espectro de RMN de ^{13}C em $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ do ácido 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil-5-aminosalicílico.

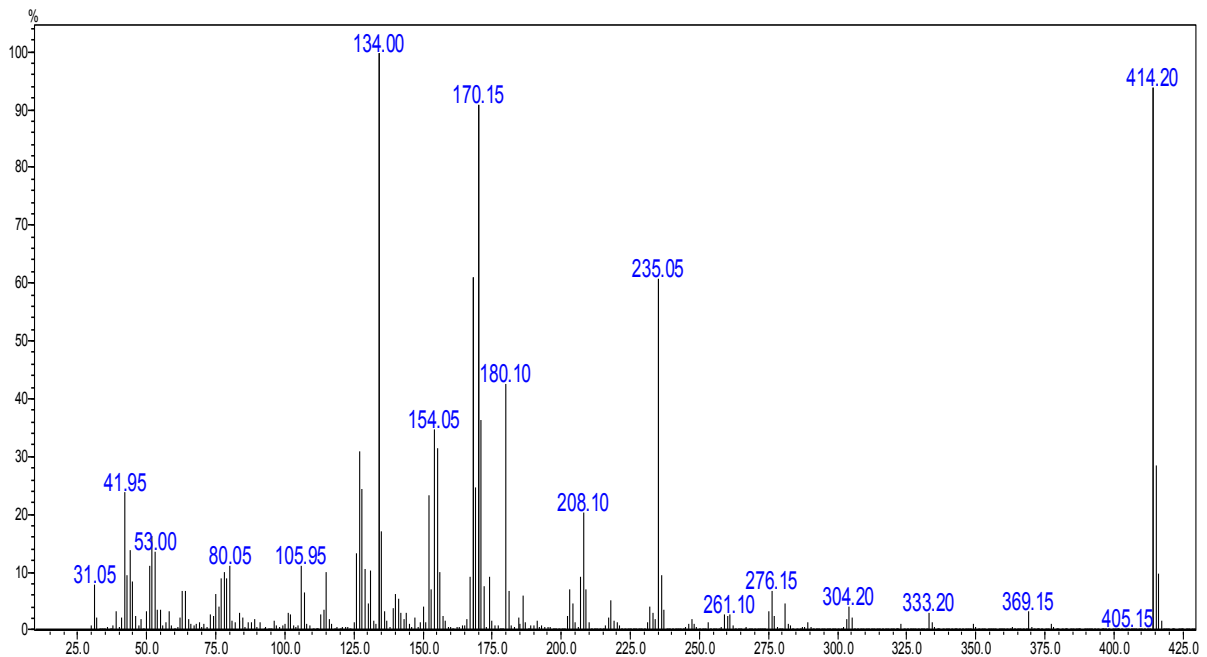


Etil- (5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-5-amino-hidroxibenzoato (P3)

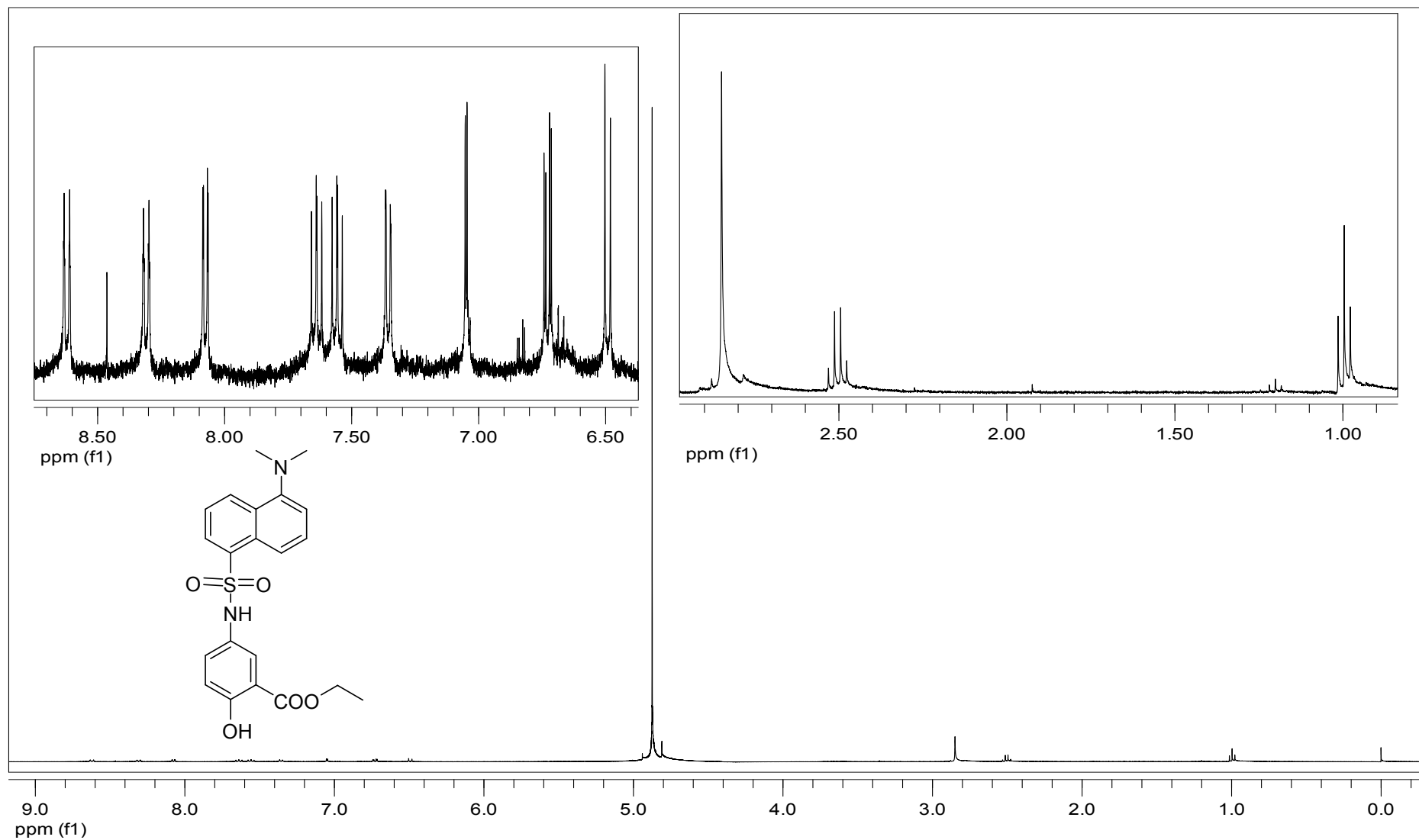
Apêndice I. Espectro de IV do etil-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-5-amino-hidroxibenzoato com KBr.



Apêndice J. Fragmentograma de CG-MS do etil-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-5-amino-hidroxibenzoato

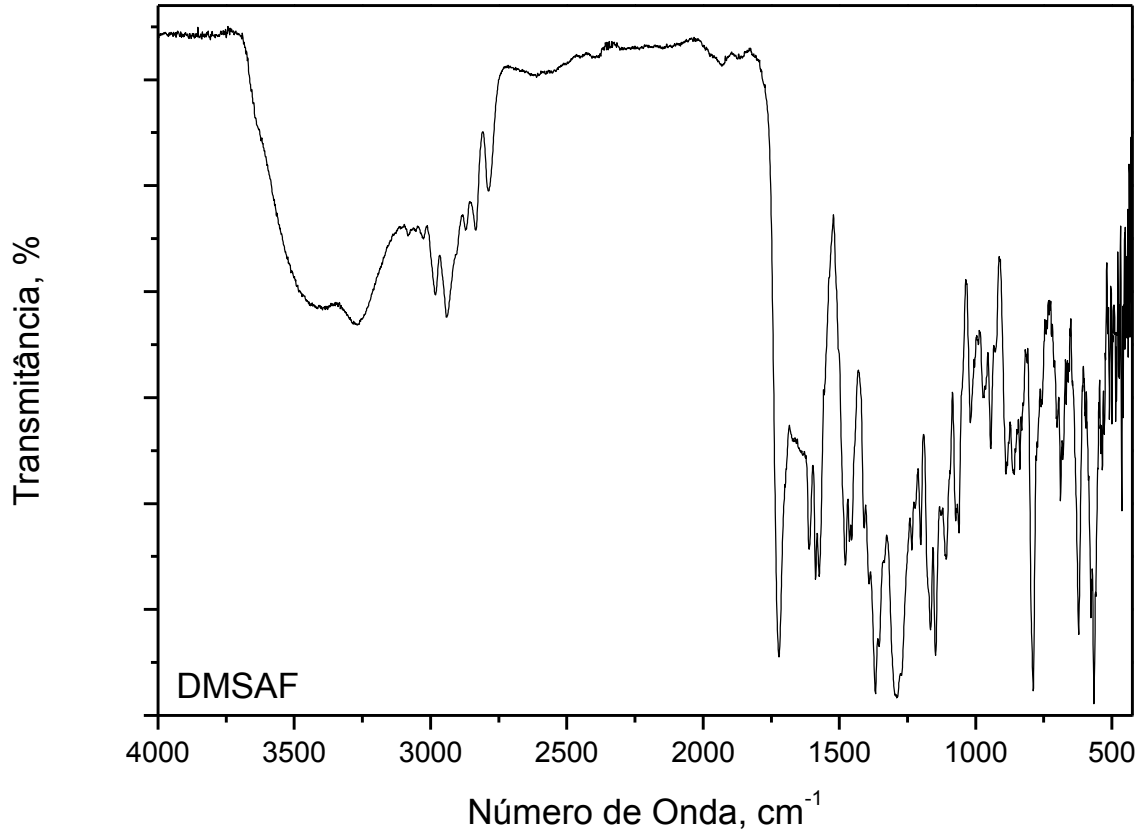


Apêndice K. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ do etil-(5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-5-amino-hidroxibenzoato

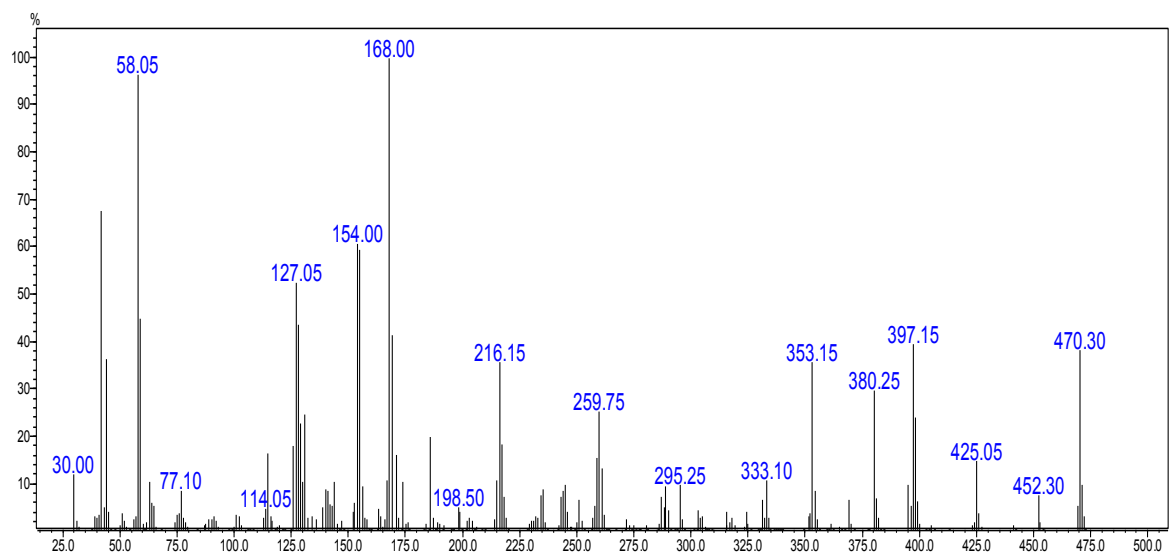


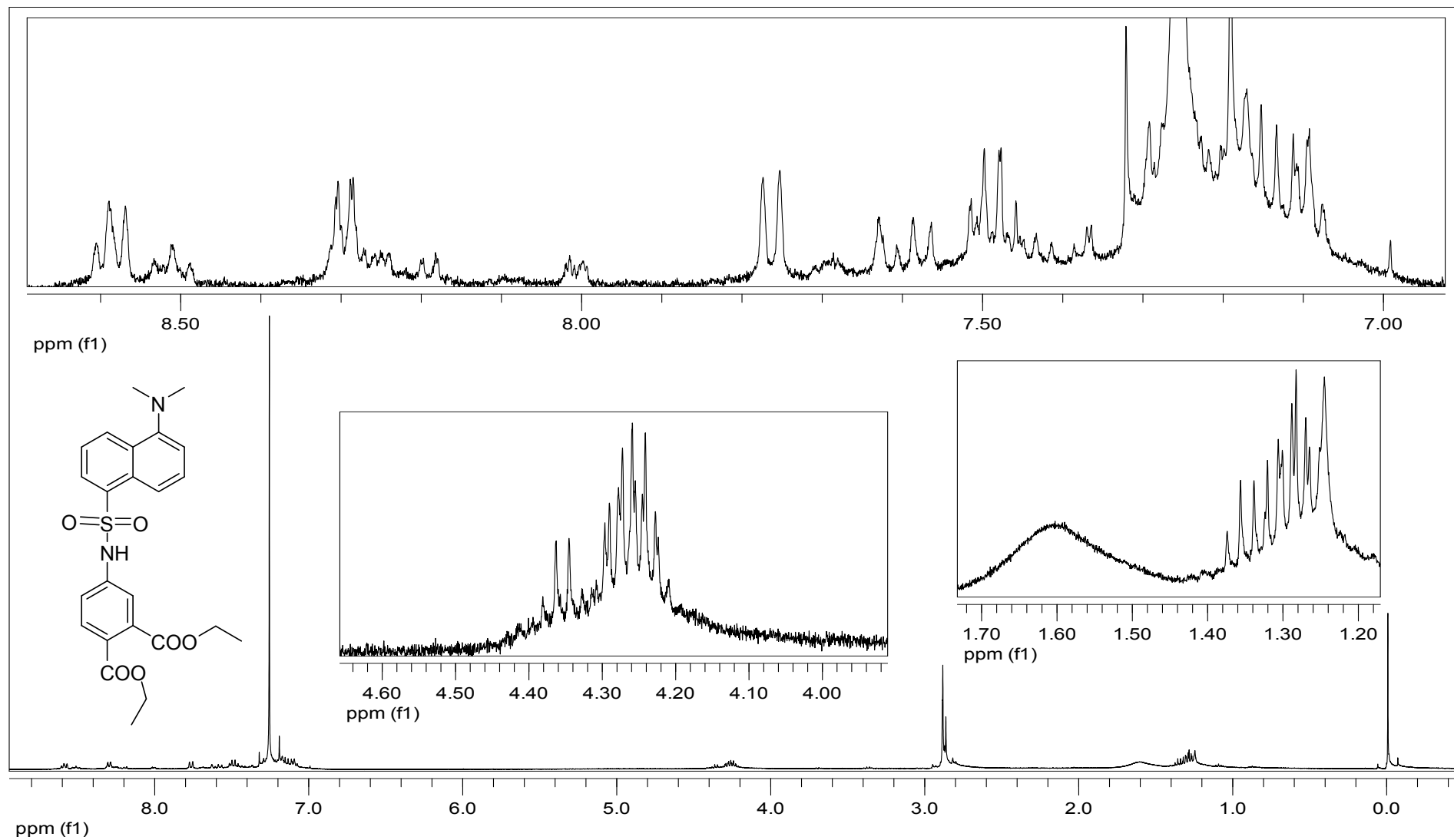
DMSAF - 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilftalato

Apêndice L. Espectro de IV do 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilftalato com KBr.



Apêndice M. Fragmentograma de CG-MS do 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilftalato.



Apêndice N. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ do 5-(*N,N*-dimetilamino)naftaleno-1-sulfonil)-4-amino-dietilfitalato.

Apêndice M. Dados extraídos dos estudos de fluorescência, concentração inicial de DMSAS $1,0 \times 10^{-4}$ mol/L.

| [Fe(III)], mol/L | F | F ₀ /F | [Fe(III)] / [Sonda] |
|------------------------|--------|-------------------|---------------------|
| 0 | 871,24 | 1 | 0 |
| 8.89×10^{-6} | 828,33 | 1,0518 | 0,0889 |
| 1.77×10^{-5} | 732,05 | 1,19014 | 0,177 |
| 2.64×10^{-5} | 677,42 | 1,28611 | 0,264 |
| 3.501×10^{-5} | 649,77 | 1,34084 | 0,35006 |
| 5.208×10^{-5} | 608,29 | 1,43228 | 0,5208 |
| 6.877×10^{-5} | 565,4 | 1,54093 | 0,6877 |
| 8.51×10^{-5} | 561,18 | 1,55251 | 0,851 |
| 1.25×10^{-4} | 492,65 | 1,76848 | 1,25 |
| 1.625×10^{-4} | 447,37 | 1,94747 | 1,625 |
| 1.98×10^{-4} | 401,31 | 2,17099 | 1,98 |
| 2.33×10^{-4} | 394,73 | 2,20718 | 2,33 |
| 2.98×10^{-4} | 349,76 | 2,49097 | 2,98 |
| 3.28×10^{-4} | 330,98 | 2,6323 | 3,28 |
| 3.576×10^{-4} | 314,55 | 2,7698 | 3,576 |
| 3.856×10^{-4} | 293,43 | 2,96916 | 3,856 |
| 4.386×10^{-4} | 267,6 | 3,25575 | 4,386 |

Obtidos dos espectros de emissão de fluorescência, coletando-se os valores de F para $\lambda_{\max} = 560$ nm ($\lambda_{\text{exc}} = 330$ nm).