ANDRESSA ROCHA SOARES

Reatividade de ésteres derivados de lofina: Hidrólise em meio neutro e alcalino

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência para obtenção do grau de Bacharel em Química, ao Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC – Santo André

Orientador: Prof. Dr. Fernando Heering Bartoloni

Santo André – SP

2018

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rocha Soares, Andressa
Reatividade de ésteres derivados de lofina : Hidrólise em meio neutro e alcalino / Andressa Rocha Soares. — 2018.

37 fls. : il.

Orientador: Fernando Heering Bartoloni

Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Federal do ABC, Bacharelado em Química, São Bernardo do Campo, 2018.

1. Hidrólise. 2. Éster. 3. Meio neutro. 4. Meio alcalino. 5. Lofina. I. Heering Bartoloni, Fernando. II. Bacharelado em Química, 2018. III. Título.

ANDRESSA ROCHA SOARES

Reatividade de ésteres derivados de lofina:

Hidrólise em meio neutro e alcalino

Monografia apresentada ao curso do Bacharelado em Química do Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC, como requisito à conclusão do curso.

Aprovada em 13 de agosto de 2018

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marco Antonio Bueno Filho

Profa. Dra. Juliana Marchi

Prof. Dr. Fernando Heering Bartoloni

Santo André – SP
2018

Sumário

1. Introdução 2
1.1. Lofinas: propriedades e aplicações 2
1.2. Mecanismos de hidrólise 3
1.2.1 Mecanismos de hidrólise ácida ou alcalina 3
1.2.2 Mecanismos de hidrólise neutra 4
2. Objetivos 6
3. Parte Experimental 7
3.1. Equipamentos 7
3.1.1. Medidas de Absorção de Luz 7
3.1.2. Medidas de Emissão de Luz 7
3.1.3. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear 7
3.1.4. Análise Elementar 7
3.2. Reagentes e Solventes 8
3.2.1. Solventes 8
3.2.2. Reagentes 8
3.3. Preparação dos Intermediários Sintéticos e dos Ésteres derivados de lofina 8
3.3.1. Preparação das lofinas hidroxiladas (4–6) 8
3.3.2. Preparação dos ésteres derivados de lofina (1–3) 10
3.4. Ensaios Cinéticos de Emissão de Luz Empregando KOH 12
3.5. Ensaios Cinéticos de Absorção e Emissão de Luz Empregando H_2O 12
3.6. Tratamento de dados 13
4. Resultados e Discussão 14
4.1. Preparação de LOHs 14
4.2. Preparação de EDLs 15
4.3. Propriedades fotofísicas dos EDLs 1–3 15
4.2. Estudo da hidrólise dos ésteres 19
4.2.1. Estudo da hidrólise dos ésteres em KOH 19
4.2.2. Estudo da hidrólise dos ésteres em H_2O 30
5. Conclusão 33
6. Referências Bibliográficas 34

Resumo

O mecanismo de hidrólise de ésteres tem sido amplamente estudado, desde os anos 1940–50. Entretanto, em algumas condições experimentais e dependendo da estrutura do substrato, o processo pelo qual ocorre a reação torna-se de difícil racionalização. Com a finalidade de elucidar o mecanismo de hidrólise de ésteres derivados de lofina (EDLs) foram sintetizados e estudados três EDLs, 4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenilacetato (**1**; ε_{MeOH} = 30700 ± 80 L $mol^{-1}cm^{-1}$; λ_{abs} = 304 nm; λ_{em} = 378 nm), 3-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenilacetato (**2**; ε_{MeOH} = 25200 ± 40 L mol^{-1} cm^{-1}; λ_{abs} = 305 nm; λ_{em} = 377 nm) e 2-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenilacetato (**3**; ε_{MeOH} = 28500 ± 40 L mol^{-1} cm^{-1}; λ_{abs} = 317 nm; λ_{em} = 429 nm). Particularmente, tentou-se racionalizar suas reatividades em função da proximidade do grupo acetato com o anel heterocíclico imidazólico de sua estrutura. Ensaios cinéticos de emissão de luz foram realizados em condições alcalinas e de pseudoprimeira ordem, utilizando metanol como solvente. A constante de velocidade observada (k_{obs}) foi determinada em diferentes concentrações de KOH, o que permitiu determinar a constante de velocidade bimolecular desta reação, k_{bim} = 5,43 ± 0,04 e 6,09 ± 0,06 L mol^{-1} s^{-1} para **1** e **2**, respectivamente. Pode se concluir que o sistema heterocíclico imidazólico exerce um efeito indutivo sacador de elétron que é mais importante do que efeitos de ressonância. Contudo, para o composto **3**, não foi possível obter o valor de k_{bim}, uma vez que este se mostrou muito reativo frente hidrólise alcalina, impossibilitando a aquisição de dados cinéticos reprodutíveis. A hidrólise neutra foi acompanhada por técnicas de absorção e emissão de luz, utilizando acetonitrila e 1,2-dimetoxietano como solventes; entretanto, nenhum dos três compostos (**1-3**) se apresentou reativo nessas condições.

1. Introdução

1.1. Lofinas: propriedades e aplicações

A lofina (ou 2,4,5-trifenilimidazol, Figura 1) é um composto sintético que foi reportado pela primeira vez por Radziszewski (1877).[1] Desde então, atraiu a atenção de diversos pesquisadores devido ao seu alto potencial quimiluminescente e fluorescente.[2]

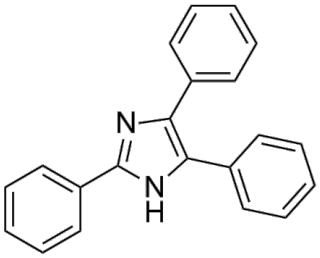


Figura 1: Estrutura da lofina (nome IUPAC: 2,4,5-trifenilimidazol).

Suas propriedades luminescentes tornam viável a detecção espectrofotométrica de lofina e derivados, utilizando ou não técnicas acopladas (cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC, ou análise por injeção em fluxo, FIA), para a determinação e análise de diversas substâncias, tanto orgânicas quanto inorgânicas (*e.g.*, íons metálicos, compostos clorados, aminas, fenóis e ácidos carboxílicos).[2,3] As lofinas e seus derivados também podem ser utilizados como ferramentas bioanalíticas poderosas. Por exemplo, Kuroda et al reportaram o uso de ésteres derivados de lofina (EDLs) em ensaios para determinação de atividade enzimática de lipases, devido às propriedades fluorescentes de tais ésteres.[4]

Outra aplicação importante, que está presente neste trabalho, é a utilização da lofina em estudos cinéticos para a determinação de mecanismos, no qual a formação de produtos ou consumo de reagentes em função do tempo é acompanhada.[2,4] O uso de substratos ou produtos derivados de lofinas facilita a determinação das constantes de velocidade associadas à reação, uma vez que estes podem ser detectados por técnicas combinadas de emissão de luz. À vista disso, a utilização de derivados de EDL para estudo cinético da hidrólise mostra-se interessante, uma vez que as lofinas hidroxiladas (LOHs) formadas como grupos de partida possuem rendimentos quânticos de fluorescência acima de 0,4.[5] A partir deste método, é possível avaliar se haveria variação da velocidade de reação com a proximidade do grupo acetato do anel imidazólico da lofina. Tal proximidade permitiria uma espécie de catálise intramolecular, tanto em meio neutro quanto alcalino. Mas, se realmente observada em meio neutro, este pode vir a ser relevante como modelo de sistemas enzimáticos baseados em resíduos de histidina, que operam em condições brandas no meio fisiológico.[2,4,]

1.2. Mecanismos de hidrólise

Reações de hidrólise de ésteres vêm sendo exaustivamente estudadas há décadas, entretanto, ainda existem certos aspectos mecanísticos não completamente elucidados. Isto porque, dependendo das condições experimentais e da estrutura dos substratos empregados, o mecanismo desta reação não segue necessariamente os processos clássicos propostos para a transformação. Principalmente, quando se faz uso de reagentes que possuem bons grupos de partida, é necessário um estudo cinético adequado, de maneira a racionalizar qual é o mecanismo atuando na formação dos produtos de hidrólise.[7] A hidrólise pode ocorrer em condições brandas, em que uma molécula de água age como nucleófilo, atacando o grupo carboxílico eletrofílico do éster. Entretanto, as catálises ácida ou básica, de maneira geral ou específica, são mais comuns, nas quais há um aumento apreciável na velocidade observada de reação com o aumento das $[H^+]$ ou $[HO^-]$, respectivamente.[8]

1.2.1 Mecanismos de hidrólise ácida ou alcalina

Geralmente, a hidrólise catalisada de ésteres é descrita como ocorrendo pelo mecanismo de adição/eliminação em carbonilas, no qual há a formação de um intermediário tetraédrico (Figura 2). Em condições ácidas, a protonação do grupo carbonílico aumenta a eletrofilicidade do carbono sp^2, tornando-o mais susceptível ao ataque nucleofílico. Em meio alcalino, o próprio nucleófilo (i.e., HO^-) é mais reativo, devido à presença de carga total negativa neste.

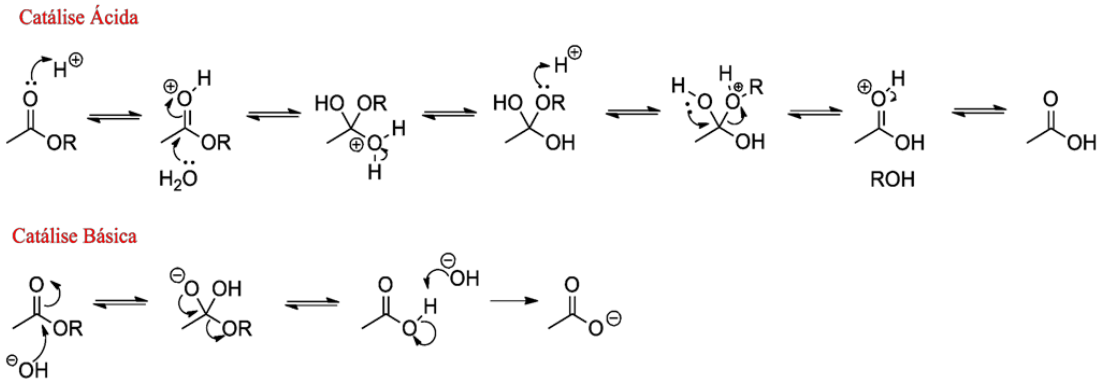


Figura 2: Mecanismo de adição/eliminação para hidrólise dos ésteres catalisada por ácido e base. Adaptado da referência 9 (p. 290 e 291)

1.2.2 Mecanismos de hidrólise neutra

A hidrólise de ésteres em condições brandas foi amplamente discutida por Poliana et al,[10] sendo realizado um estudo teórico de três possíveis processos pelo qual ocorreria essa transformação. O primeiro (Figura 3) é um mecanismo de catálise bifuncional, proposto por Brown et al,[11] envolvendo diretamente duas ou três águas no estado de transição. No primeiro estado de transição (ET_1) há a aproximação do hidrogênio da água à carbonila, que ocorre simultaneamente a uma aproximação do hidrogênio da água nucleofílica à primeira molécula de H_2O, o que favorece o ataque nucleofílico à carbonila. Tal transformação gera um intermediário tetraédrico e uma água como grupo de partida. No segundo estado de transição (ET_2) também há o envolvimento de uma água que contribui na geração de um grupo de partida estável. Há a aproximação de um dos hidrogênios da água ao grupo OR_1, formando um álcool como grupo de partida, R_1OH, ao mesmo tempo em que há um afastamento do hidrogênio de uma das hidroxilas, o que permite a reformação da ligação dupla, C=O. Entretanto, foi encontrado um valor extremamente elevado de energia de ativação para que tal processo fosse viável.[10]

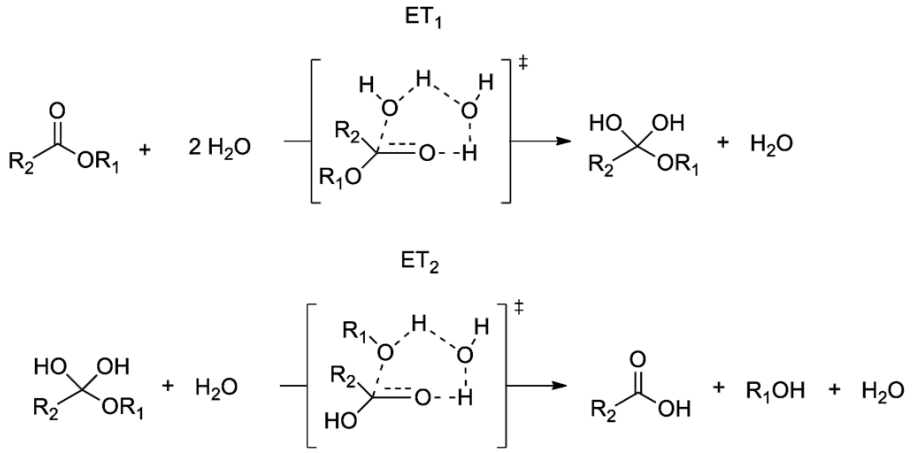


Figura 3: Mecanismo de catálise bifuncional. Adaptado referência 10.

O segundo processo, proposto por Gunaydin e Houk (Figura 4)[12] é o mecanismo de autoionização da água envolvendo iniciação ácida (denominado $W_{AI}A$ - *Water Autoionization Mechanism: Acid Initiation Pathway*). A primeira etapa seria a autoionização da água na qual há a formação de um hidrônio e de uma hidroxila, seguido por uma protonação do éster e posterior reação com a hidroxila gerando um intermediário tetraédrico. Após a reformação da ligação dupla, C=O, que ocorre simultaneamente à saída do grupo de partida alcoxilato, há a desprotonação da carbonila gerando o produto de hidrólise e um álcool R_1OH.[10]

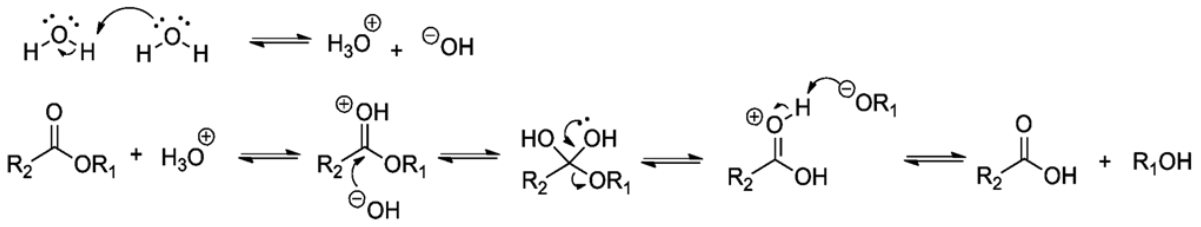


Figura 4: Mecanismo de autoionização da água: Iniciação ácida ($W_{AI}A$). Adaptado da referência 10.

Finalmente, o último mecanismo é o de catálise básica geral (denominado $W_{AI}B$ - *Water Autoionization Mechanism: Base Initiation Pathway*), proposto por Jencks e Carriuolo (Figura 5),[13] no qual há duas águas no estado de transição. Deste modo, uma das moléculas de água é o nucleófilo que tem um próton atraído por uma segunda molécula de água, esta agindo como base.[10]

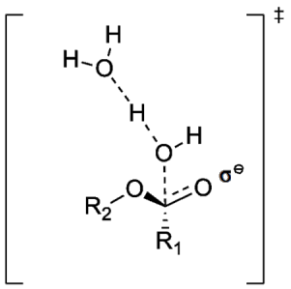
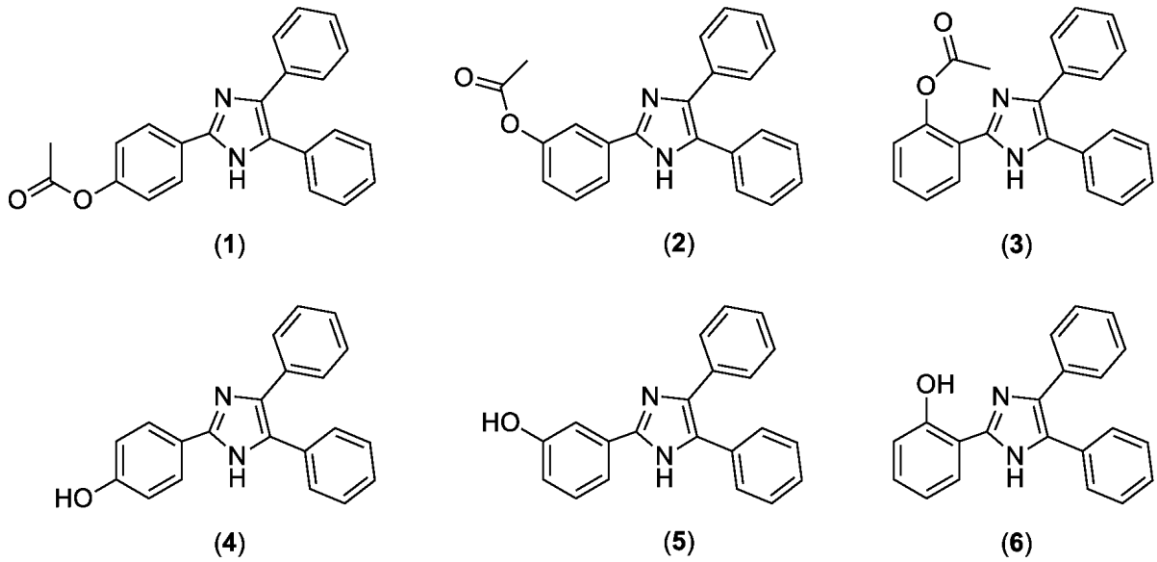


Figura 5: Mecanismo de catálise básica geral, denominado mecanismo de autoionização da água: Iniciação básica ($W_{AI}B$). Adaptado da referência 10.

2. Objetivos

Pretendendo avaliar se ésteres derivados de lofinas podem vir a ser explorados como sistemas modelo de lipase, tendo como principais critérios suas propriedades fotofísicas e a cinética da reação de hidrólise, desejou-se:

i) Realizar a preparação e caracterização dos ésteres derivados de lofina (EDLs): 4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenilacetato (**1**), 3-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenilacetato (**2**) e 2-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenilacetato (**3**) a partir dos respectivos intermediários sintéticos, as lofinas hidroxiladas (LOHs) 4,5-difenil-2-*p*-hidroxifenil imidazol (**4**), 4,5-difenil-2-*m*-hidroxifenil imidazol (**5**) e 4,5-difenil-2-*o*-hidroxifenil imidazol (**6**);



ii) Determinar parâmetros fotofísicos dos compostos **1-6**;

iii) Realizar a hidrólise dos ésteres em meio básico e em condições brandas, acompanhando a reação por técnicas de absorção e emissão de luz;

iv) Investigar os efeitos da proximidade do grupo acetila com o anel imidazólico na cinética da reação de hidrólise e nos parâmetros fotofísicos dos ésteres;

3. Parte Experimental

3.1. Equipamentos

3.1.1. Medidas de Absorção de Luz

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível foram realizados no espectrofotômetro Agilent Cary 60 UV-Vis (Santa Clara, CA, EUA), equipado com *multicell holder* termostatizado por um banho Varian Cary PCB 1500 acoplado a um computador para armazenamento de dados. Foram utilizadas cubetas de quartzo para absorção com volume máximo de 3,0 mL e caminho óptico de 1,0 cm.

3.1.2. Medidas de Emissão de Luz

Espectros de fluorescência e cinética de emissão de luz foram obtidos em um espectrofotômetro de fluorescência Agilent Cary Eclipse (Santa Clara, CA, EUA), equipado com *single cell holder* termostatizado por um banho Varian Cary PCB 1500, acoplado a um computador para armazenamento de dados. A sensibilidade do equipamento à quantidade de luz produzida foi regulada ajustando-se a potência da fotomultiplicadora (PMT) e as fendas de excitação e emissão. Foram utilizadas cubetas de quartzo para fluorescência com volume máximo de 3,0 mL e caminho óptico de 1,0 cm.

3.1.3. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram registrados em um espectrômetro Varian (500 MHz), localizado na Central Experimental Multiusuário da UFABC. Os deslocamentos químicos (δ) dos espectros obtidos foram reportados em partes por milhão (ppm), determinados com relação ao sinal do solvente residual.

3.1.4. Análise Elementar

A composição percentual das amostras foi determinada em um aparelho Thermo Scientific Flash EA 1112, localizado na Central Experimental Multiusuário da UFABC

3.2. Reagentes e Solventes

3.2.1. Solventes

Hexano (Hex, Synth, grau P.A.), acetato de etila (AcOEt, Synth, grau P.A), diclorometano (DCM, Sigma-Aldrich, ≥99,8%), etanol (EtOH, Merck, 96%), acetona (Synth, grau P.A.) foram utilizados como recebidos. A água deionizada foi obtida pelo sistema de purificação Milli-Q Millipore (condutividade igual à 18,2 MΩ cm). Para os ensaios cinéticos e soluções estoque utilizou-se metanol (MeOH Sigma-Aldrich, 99,5%), acetonitrila (ACN, Sigma-Aldrich, 99,8%) e 1,2 dimetoxietano (DME, Sigma-Aldrich, 99,8%)

3.2.2. Reagentes

1,2-difeniletanodiona (Benzil, Sigma-Aldrich, ≥99%), acetato de amônio (Sigma-Aldrich, ≥99%), 4-hidroxibenzaldeído (Sigma-Aldrich, ≥99%), 3-hidroxibenzaldeído (Sigma-Aldrich, ≥99%), 2-hidroxibenzaldeído (Sigma-Aldrich, ≥99%), anidrido acético (Sigma-Aldrich, ≥99%), hidróxido de potássio (KOH, Synth, grau analitico), sulfato de magnésio anidro (MgSO4, Synth,), piridina (Py, Sigma-Aldrich, ≥99%), ácido acético (HOAc, Sigma-Aldrich, Reagent Plus, ≥99%).

3.3. Preparação dos Intermediários Sintéticos e dos Ésteres derivados de lofina

3.3.1. Preparação das lofinas hidroxiladas (4–6)

3.3.1.1. 4,5-difenil-2-*p*-hidroxifenil imidazol (4)

As LOHs foram sintetizadas baseando-se em procedimentos descritos por Benisvy et al.[14] Assim, em balão de fundo redondo foram adicionados 1,81 g de benzil (1,00 eq., 8,60 mmol), 5 g de acetato de amônio (7,44 eq., 64,0 mmol) e 1,08 g de 4-hidroxibenzaldeído (1,02 eq., 8,80 mmol). Os reagentes foram dissolvidos em 30 mL de ácido acético e mantidos sob agitação em refluxo a 140 ºC durante 6 horas (Figura 6).

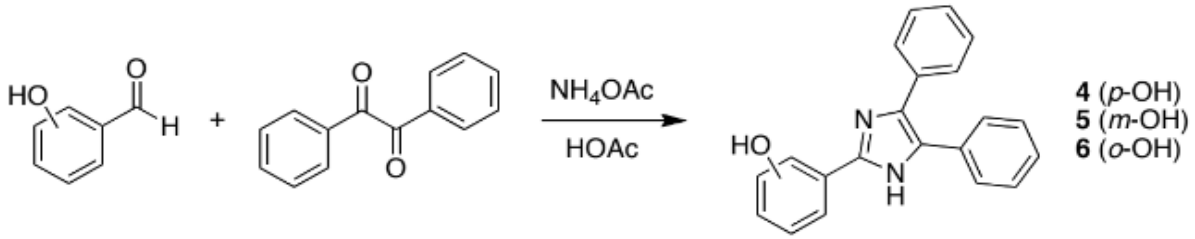


Figura 6: Preparação das LOHs **4**–**6** pela condensação do benzil com um aldeído substituído, em meio de ácido acético e na presença de acetato de amônio.

A mistura foi vertida em béquer com água e gelo, induzindo a precipitação completa do produto. O precipitado foi recolhido por filtração em filtro de vidro sinterizado e lavado com pequenas porções de água deionizada. O sólido foi dissolvido em DME e seco sob sulfato de magnésio. Após filtração simples para remoção do sal, o solvente foi removido no evaporador rotativo e o produto obtido foi seco em uma bomba a vácuo. Obteve-se 1,47 g de um sólido branco (Rf = 0,79) com rendimento de 53%. A formação de todos os produtos (**1-6**) foi monitorada por Cromatografia em Camada Delgada (SiO_2, Hex/AcEt 1:1) revelando-se as manchas na placa de CCD por absorção no UV (254 nm).

Análise Elementar calculada para $C_{21}H_{16}N_2O$: C, 80.75; H, 5.16; N, 8.97; O, 5.12 % (Mesmos valores para **4** a **6**). Encontrada: C, 80.80; H, 5.20; N, 9.0%. ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 5.97 (2 H, dt, ArH), 6.30–6.70 (10 H, m, ArH), 7.02 (2 H, dt, ArH), 8.83 (1 H, br s,ArOH), 11.52 (1 H, br s, NH). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 18.5, 56.0, 115.4, 121.6, 126.3, 126.8, 127.0, 127.3, 127.5, 128.1, 128.3, 128.6, 131.3, 135.4, 136.6, 146.0, 157.8.

3.3.1.2. 4,5-difenil-2-*m*-hidroxifenil imidazol (5)

Para a preparação do composto **5**, foi seguido o mesmo procedimento e quantidades de reagentes utilizados na preparação de **4**, sendo empregados 1,08 g de 3-hidroxibenzaldeído (1,02 eq., 8,80 mmol). Obteve-se 0,4 g de um sólido branco (Rf = 0,70) com rendimento de 20%.

Análise Elementar encontrada: C 82.84; H 5.50; N 9.12 %. ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 6.79 (1 H, brs, ArH), 7.18-7.31 (4 H, m, ArH), 7.32-7.45 (3 H, m, ArH), 7.46-7.59 (6 H, m, ArH), 9.58 (1 H, brs, ArOH), 12.62 (1 H, brs, NH). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 112.6, 115.9, 116.5, 126.9, 127.5, 128.2, 128.6, 128.9, 129.1, 130.2, 131.5, 132.0, 135.7, 137.4, 146.2, 158.1.

3.3.1.3. 4,5-difenil-2-*o*-hidroxifenil imidazol (6)

Para a preparação do composto **6**, foi seguido o mesmo procedimento e quantidades de reagentes utilizados na preparação de **4**, sendo empregados 1,08 g de 2-hidroxibenzaldeído (1,02 eq., 8,80 mmol). Obteve-se 1,33 g de um sólido rosado (Rf = 0,86) com rendimento de 35%.

Análise Elementar encontrada: C 80.40; H 5.16; N 8.84 %. ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 6.92-6.99 (2 H, m, ArH), 7.24-7.29 (1 H, m, ArH), 7.34 (2 H, t, ArH), 7.40-7.55 (8 H, m, ArH), 8.04 (1 H, dd ,ArH), 12.92 (1 H, s, ArOH), 13.02 (1 H, s, NH). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 113.4, 117.3, 119.3, 125.4, 127.2, 127.5, 127.8, 128.8, 129.0, 129.2, 130.5, 130.7, 134.1, 134.6, 146.3, 157.2.

3.3.2. Preparação dos ésteres derivados de lofina (1–3)

3.3.2.1. 4-(4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenil acetato (1)

Os ésteres foram preparados baseando-se nos procedimentos descritos por D'Ambrosio.[15] Em balão de fundo redondo munido de condensador de refluxo e tubo secante contendo sílica gel, foram adicionados 0,3 mL de piridina (3,72 eq., 3,72 mmol), 0,24 mL de anidrido acético (2,54 eq., 2,54 mmol) e 0,312 g da LOH **4** (1,00 eq., 1,00 mmol). A mistura foi mantida sob agitação durante 30 horas à temperatura ambiente (Figura 7).

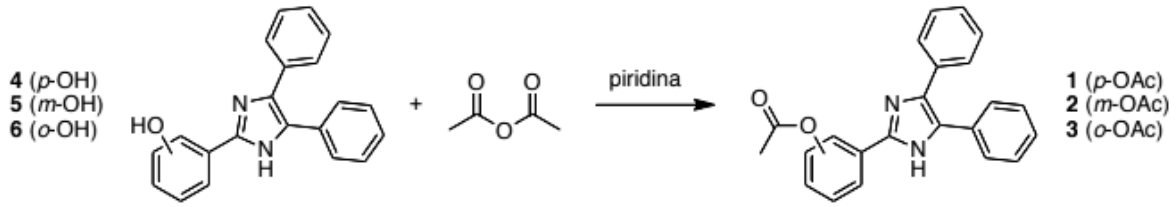


Figura 7: Preparação dos EDLs **1–3** por acetilação das LOHs correspondentes, utilizando anidrido acético e catálise por piridina.

A solução do balão foi diluída com 20 mL de diclorometano e transferida para funil de separação. Em seguida, foi realizada a extração da fase orgânica, a qual foi lavada com uma solução aquosa de NH_4Cl (pH 5 a 6; 3 x 20 mL), seguido de lavagens com H_2O deionizada (3 x 20 mL) e salmoura (3 x 20 ml); a fase orgânica foi seca sob $MgSO_4$. Após

filtração simples para remoção do sal insolúvel, o solvente foi removido por evaporação rotativa e o produto obtido foi seco em uma bomba à vácuo. Obteve-se 0,208 gramas de um sólido branco (Rf = 0,88) com rendimento de 59%.

Análise Elementar calculada para $C_{23}H_{16}N_2O_2$: C, 77.95; H, 5.12; N, 7.90 % (Mesmos valores para **1** a **3**). Encontrada: C 78.20; H 5.30; N 8.10%. ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 2.29 (3H, s, OCH_3), 7.20-7.26 (3 H, m, ArH), 7.28-7.32 (2 H, t, ArH), 7.35-7.39 (1 H, t, ArH), 7.41-7.46 (2 H, t,ArH), 7.48-7.51 (2 H, d, ArH), 7.53-7.56 (2 H, d, ArH), 8.10 (2 H, d, ArH), 12.68 (1 H, s, NH). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 21.3, 122.6, 126.8, 127.0, 127.5, 128.3, 128.4, 128.7, 128.8, 128.9, 129.1, 131.5, 135.5, 137.6, 145.4, 150.9, 169.6.

3.3.2.2. 3-(4,5- difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenil acetato (2)

Para a preparação do composto **2**, foi seguido o mesmo procedimento e quantidades de reagentes utilizados na preparação de **1** , sendo empregado 0,312 g da LOH **5** (1,00 eq., 1,00 mmol). Obteve-se 0,228 g de um sólido branco (Rf = 0,83) com rendimento de 63%.

Análise Elementar encontrada: C 75.37; H 5.21; N 7.54%. ^{1}H RMN (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 2.31 (3H, s, OCH_3), 7.11-7.15 (1 H, m, ArH), 7.19-7.47 (6 H, m, ArH), 7.48-7.59 (5 H, m, ArH), 7.86 (1 H, t, ArH), 7.97-8.01 (1 H, m, ArH), 12.79 (1 H, brs, NH). ^{13}C RMN (125 MHz, DMSO-d_6): δ = 21.3, 119.0, 122.0, 122.9, 127.1, 127.6, 128.3, 128.7, 128.9, 129.1, 130.3, 131.3, 132.2, 137.7, 135.5, 145.0, 151.3, 169.7.

3.3.2.3. 2-(4,5- difenil-1*H*-imidazol-2-il)fenil acetato (3)

Para a preparação do composto **3**, foi seguido o mesmo procedimento e quantidades de reagentes utilizados na preparação de **1**, sendo empregado 0,312 g da LOH **6** (1,00 eq., 1,00 mmol). Obteve-se 0,213 g de um sólido branco (Rf = 0,76) com rendimento de 60%.

Análise Elementar encontrada: C 81.78; H 5.61; N 8.44%. ^{1}H RMN (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.4 (3H, s, OCH_3), 7.15-7.62 (14 H, m, ArH), 8.11 (1 H, brt, NH).^{13}C RMN (125 MHz, $CDCl_3$): δ = 21.5, 76.8, 77.0, 77.3, 122.3, 123.2, 126.5, 127.5, 127.7, 128.6, 129.0, 129.5, 142.5, 147.2, 169.0.

3.4. Ensaios Cinéticos de Emissão de Luz Empregando KOH

Preparou-se três soluções estoque de cada um dos ésteres (**1**, **2** e **3**) na concentração de 1×10^{-3} mol L^{-1} e duas soluções de KOH nas concentrações de 200×10^{-3} mol L^{-1} e 3×10^{-3} mol L^{-1} respectivamente, todas em metanol. As soluções foram preparadas no momento do experimento.

Para os ensaios cinéticos utilizou-se uma cubeta de quartzo com 3,0 mL de solvente (metanol) e com uma microseringa transferiu-se o volume necessário das soluções de KOH para obter as concentrações desejadas. Todos os ensaios cinéticos para uma mesma condição experimental foram realizados em três réplicas, sendo determinada média ± desvio padrão. A variação máxima de volume na cubeta, após a adição de todos os reagentes, foi de até 2%.

3.5. Ensaios Cinéticos de Absorção e Emissão de Luz Empregando H_2O

Preparou-se três soluções estoque de cada um dos ésteres (**1, 2 e 3**) na concentração de 1×10^{-3} mol L^{-1} em acetonitrila (ACN), assim como uma solução de H_2O na concentração de 45×10^{-3} mol L^{-1} em acetonitrila. Todas as soluções foram preparadas no momento do experimento.

Para os ensaios de absorção e emissão utilizou-se cubetas de quartzo com 3,0 mL de solvente, acetonitrila ou 1,2 dimetoxietano (DME) e com duas microseringas distintas transferiu-se os volumes necessários das soluções de éster e de H_2O para obter as concentrações desejadas. Os ensaios dos ésteres **1** e **2** foram realizados com concentração final de éster de $1{,}67 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} e concentração final de H_2O igual a 3×10^{-3} mol L^{-1}. O ensaio com o éster **3** foi realizado com concentração final de éster de 3×10^{-5} mol L^{-1} e concentração final de H_2O igual a 3×10^{-3} mol L^{-1}. As soluções preparadas foram armazenadas em frascos e tampadas hermeticamente para que as mudanças nos espectros de emissão e absorção pudessem ser acompanhadas durante, pelo menos, três dias. Todos os ensaios para uma mesma condição experimental foram realizados em três réplicas, sendo determinada média ± desvio padrão. A variação máxima de volume na cubeta após a adição de todos os reagentes foi de até 3%.

3.6. Tratamento de dados

Os perfis cinéticos obtidos por ensaios de emissão de luz foram ajustados matematicamente empregando-se o software de tratamento de dados OriginPro 8.5 (OriginLab).

4. Resultados e Discussão

4.1. Preparação de LOHs

As lofinas hidroxiladas (LOHs) foram preparadas através da reação de hidroxibenzaldeído e benzil em meio ácido, na presença de acetato de amônio. A proposta mecanística para tal transformação (Figura 8) sugere que, primeiramente, o acetato de amônio submetido a aquecimento gera amônia que atua como nucleófilo (e-1). O nucleófilo ataca a cabonila que encontra-se protonada no meio ácido (e-2) e, em seguida, ocorre desidratação e formação de uma ligação dupla C=N (e-3). O intermediário formado também é eletrofílico, o que permite o ataque de uma segunda molécula de amônia formando um intermediário tetraédrico diaminometilfenol (e-4). A diamina formada em e-4 atua como nucleófilo, atacando a cabonila do benzil, que também encontra-se protonada (e-5), levando novamente à desidratação e formação de uma ligação dupla C=N (e-6). O par de elétrons não ligantes do outro nitrogênio da diamina formada (e-4) ataca a segunda carbonila do benzil, formando um composto cíclico (e-7). Por fim há, outra desidratação (e-8) e eliminação de um próton (e-9) o que leva à formação da LOH.

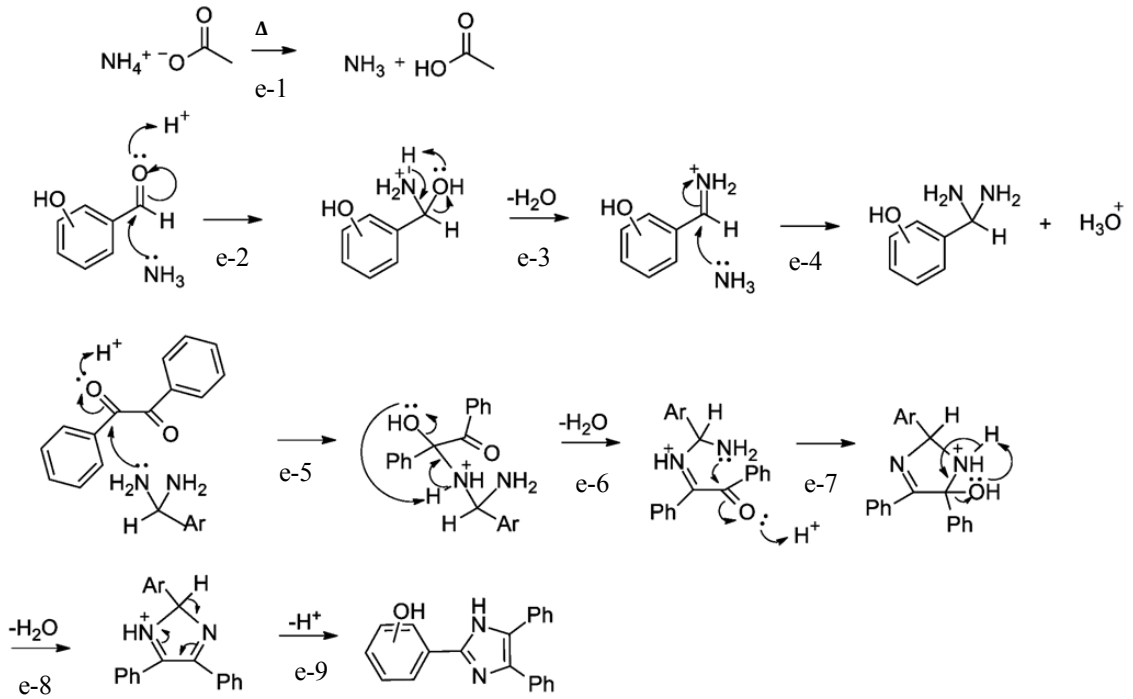


Figura 8: Proposta mecanistica para a formação das lofinas hidroxiladas (**4-6**).

4.2. Preparação de EDLs

Os ésteres derivados de lofina (EDLs) foram sintetizados a partir de uma catálise nucleofílica, sendo o catalisador a piridina. A proposta mecanistica para tal transformação (Figura 9) sugere que, primeiramente, os elétrons não ligantes do nitrogênio da piridina, que não estão envolvidos na aromaticidade da molécula, atacam a carbonila do anidrido acético, formando um intermediário tetraédrico (e-1). Em seguida, haveria a reformação da ligação dupla C=O, e eliminação de acetato como grupo de partida (e-2). O intermediário gerado em e-2 é eletrofílico, o que permite a ocorrência de um ataque nucleofílico realizado pela LOH (e-3). Após a formação de um intermediário tetraédrico em e-3, pode ocorrer uma transferência de próton (e-4). A etapa seguinte consiste na regeneração do catalisador e formação do éster (e-5), espécies estas envolvidas em um equilíbrio ácido-base final (e-6).

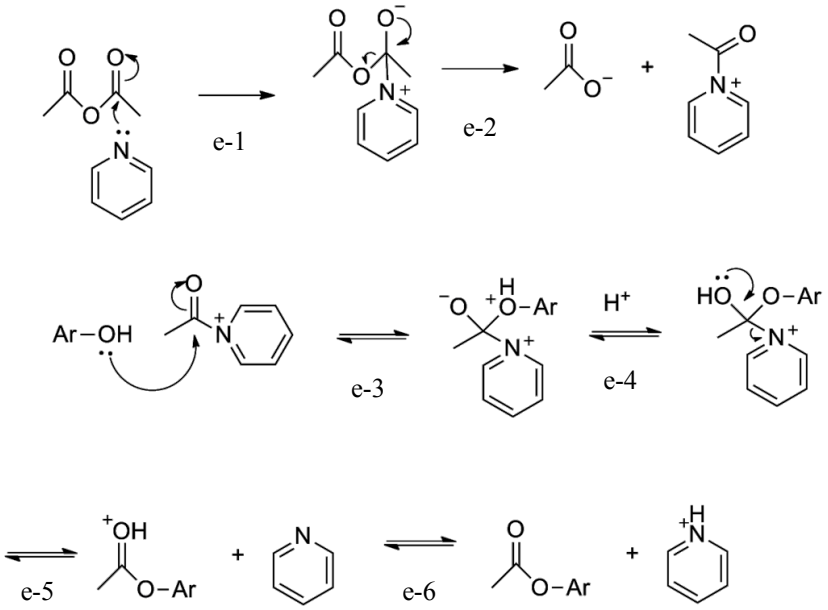


Figura 9: Proposta mecanistica para a formação dos ésteres derivados de lofina (**1-3**).

4.3. Propriedades fotofísicas dos EDLs 1–3

Os coeficientes de extinção molar (ε) de **1** a **3** foram determinados em diferentes solventes polares apróticos e próticos. Em três cubetas com 3,0 mL de solvente adicionou-se **1**, **2** e **3** (inicialmente; 6,67× 10^{-6} mol L^{-1} em acetonitrila e DME; em metanol 3,3 × 10^{-7} mol L^{-1}). O espectro de absorção foi obtido entre 250 e 400 nm. Dos coeficientes angulares da correlação linear entre absorbância em λ_{abs} e concentração de éster foram obtidos os valores dos coeficientes de extinção molar para cada solvente (Tabela 1).

Tabela 1: Determinação do coeficiente de extinção molar (ε) nos comprimentos de onda indicados na tabela (λ_{abs}) dos compostos **1**, **2** e **3** em diferentes solventes.

Solvente	EDL	λ_{abs} (nm)	ε (L mol⁻ cm⁻)
MeOH	1	304	30700 ±80
MeOH	2	305	25200 ±40
MeOH	3	317	28500 ±40
ACN	1	310	28000 ± 50
ACN	2	309	27000 ± 50
ACN	3	305	26300 ± 70
DME	1	311	28900 ± 200
DME	2	311	27000 ± 100
DME	3	306	27000 ± 70

Os valores de **ε** obtidos no comprimento de máxima absorção, nas condições citadas acima, foram valores elevados (ordem de 10^4), indicando uma provável transição π/π^* com alto nível de similaridade geométrica entre o estado fundamental e excitado.[16] Ocorre deslocamento da banda de absorção em função da natureza do solvente, uma vez que os estados envolvidos nas transições podem ser estabilizados ou desestabilizados pelo meio de solvatação, refletindo na diferença de energia HOMO–LUMO.[17]

A banda de absorção de **1** e **2** no sistema em metanol (solvente polar prótico) tem o menor valor de λ_{abs}, comparado com os valores obtidos em ACN e DME (solventes polares apróticos). Já o éster **3** possui o maior λ_{abs} em metanol do que nos outros solventes. Entretanto, entre os solventes polares apróticos, não foi observado uma grande variação nos valores de λ_{abs}. Os dados obtidos para ésteres **1** e **2** indicam que o metanol tem alto poder de estabilização do estado fundamental, levando a um aumento na diferença de energia entre os dois estados; já os solventes polares apróticos estabilizam melhor o estado excitado. Os dados obtidos para o éster **3** indicam que seu estado excitado é mais polarizado e, consequentemente, melhor estabilizado por metanol, levando a uma diminuição na diferença de energia entre o estado fundamental e excitado; já nos solventes polares apróticos o oposto ocorre.

Outra propriedade importante que difere entre os ésteres é o perfil do espectro de absorção (Figura 10). Enquanto os perfis dos ésteres **1** e **2** são extremamente similares, apresentando apenas um pico (transição π/π^*), o éster **3** não possui tal similaridade. Observou-se que no espectro correspondente ao EDL **3** são evidenciados dois picos, um de maior energia (λ = 290 nm) com caráter de transição n/π^* e um segundo pico de menor energia (λ = 317 nm) correspondente à transição π/π^*.

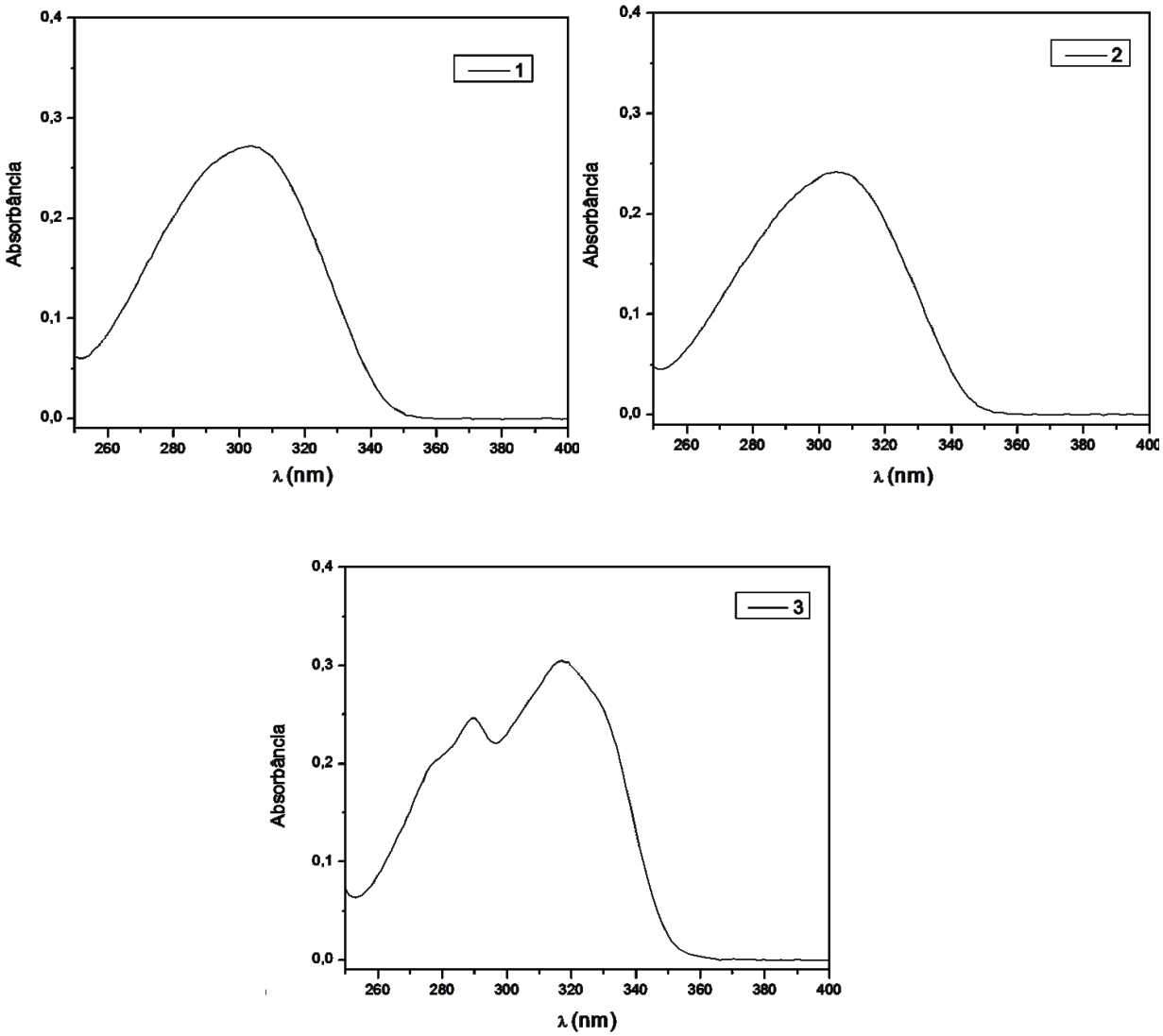


Figura 10: Determinação do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{abs}) de **1, 2 e 3** medidos entre 250-400 nm, concentração de 1×10^{-5} mol L^{-1} em metanol.

A excitação de elétrons do estado fundamental (S_0) para o primeiro estado excitado (HOMO → LUMO) é observada em todos os espectros de absorção, mas a excitação $S_0 \rightarrow S_2$ (HOMO → LUMO + 1) é bem observada apenas para o EDL **3**. Entretanto, sabe-se que a transição também ocorre para **1** e **2**, já que é uma característica de lofinas.[16] A observação de dois picos apenas no espectro do éster **3** pode ser decorrente a um aumento na densidade de carga no anel heterogêneo causado pela aproximação do grupo acetato ao imidazol, tornando a excitação $S_0 \rightarrow S_2$ bastante aparente.

Os comprimentos de onda de máxima emissão (**1**, 378 nm; **2**, 377 nm; **3**, 429 nm) correspondentes ao decaimento radiativo de $S_1 \rightarrow S_0$ são observados nos espectros de fluorescência respectivos (Figura 11). O espectro de emissão do éster **3** possui uma elevação

na intensidade entre os comprimentos de onda de 350-400 nm, referente ao decaimento de $S_2 \rightarrow S_0$, que é muito menos intenso do que o decaimento $S_1 \rightarrow S_0$, haja vista que a via de desativação $S_2 \rightarrow S_1$ é muito rápida.[18] A presença do sinal de fluorescência entre 350-400 nm também pode ter origem em algum equilíbrio conformacional, perturbado no estado excitado. Contudo, geralmente isso é evidente apenas em estruturas nas quais o sistema heterocíclico participa de ligações de hidrogênio intramolecular.[16]

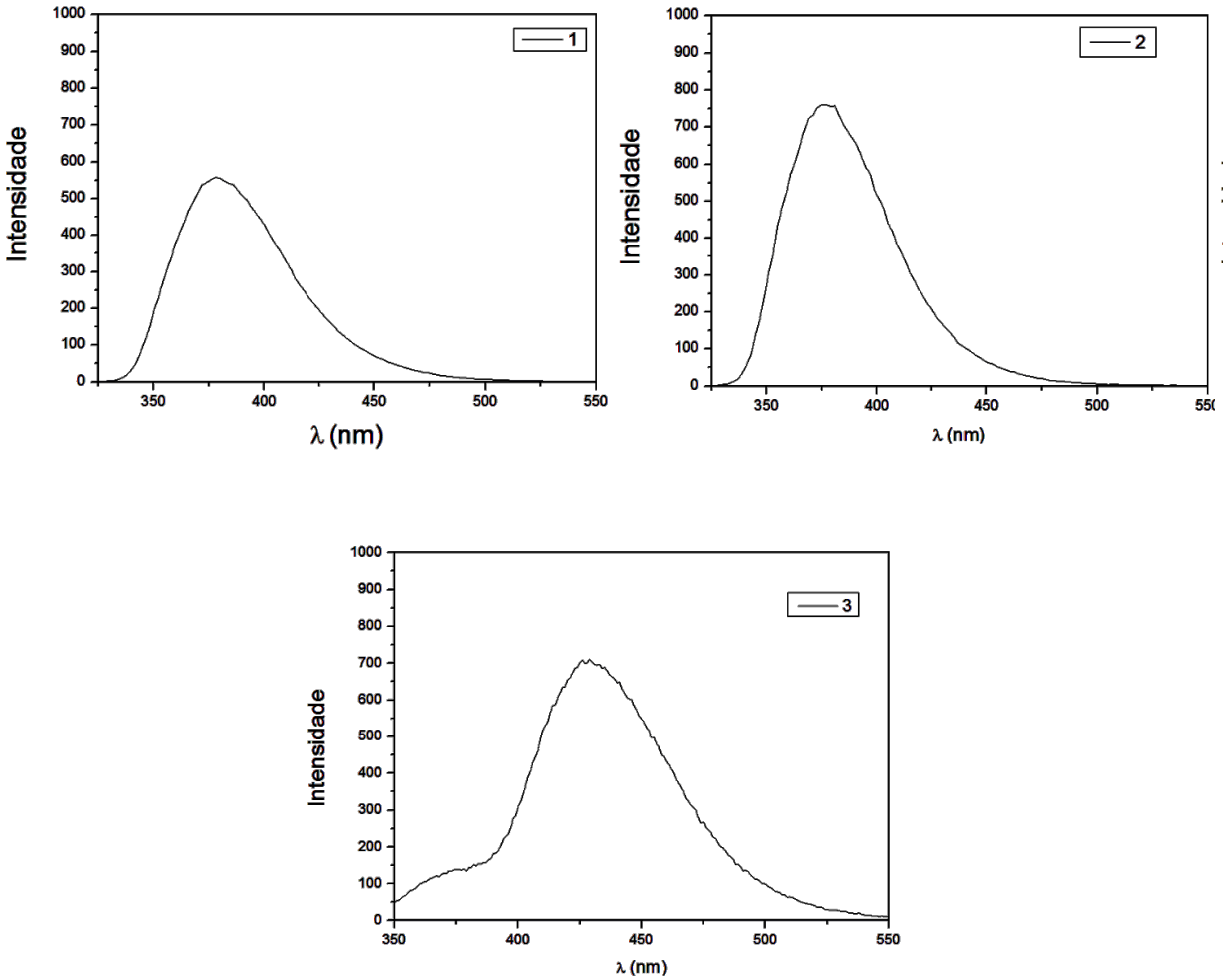


Figura 11: Determinação do comprimento de onda de máxima emissão em metanol ($\lambda_{máx}$) de **1, 2 e 3** ([**1**], [**2**] e [**3**] = 3×10^{-5} mol L^{-}). Condições experimentais: **1**, λ_{ex} = 310 nm; **2**, λ_{ex} = 305 nm; **3**, λ_{ex} = 315 nm; em todos os casos, fenda de emissão e de excitação = 2,5 nm, e PMT 600 V.

Os espectros de emissão dos ésteres **1** e **2** para os outros solventes (ACN e DME) são semelhantes ao encontrado em metanol (Figura 12). Entretanto, o espectro de emissão do éster **3** apresentou deslocamento batocrômico em relação às bandas de emissão nos outros

solventes (Figura 12). Tal fato evidencia o efeito de estabilização do estado excitado de **3** em metanol, devido sua maior separação de carga,[18] conforme já discutido anteriormente.

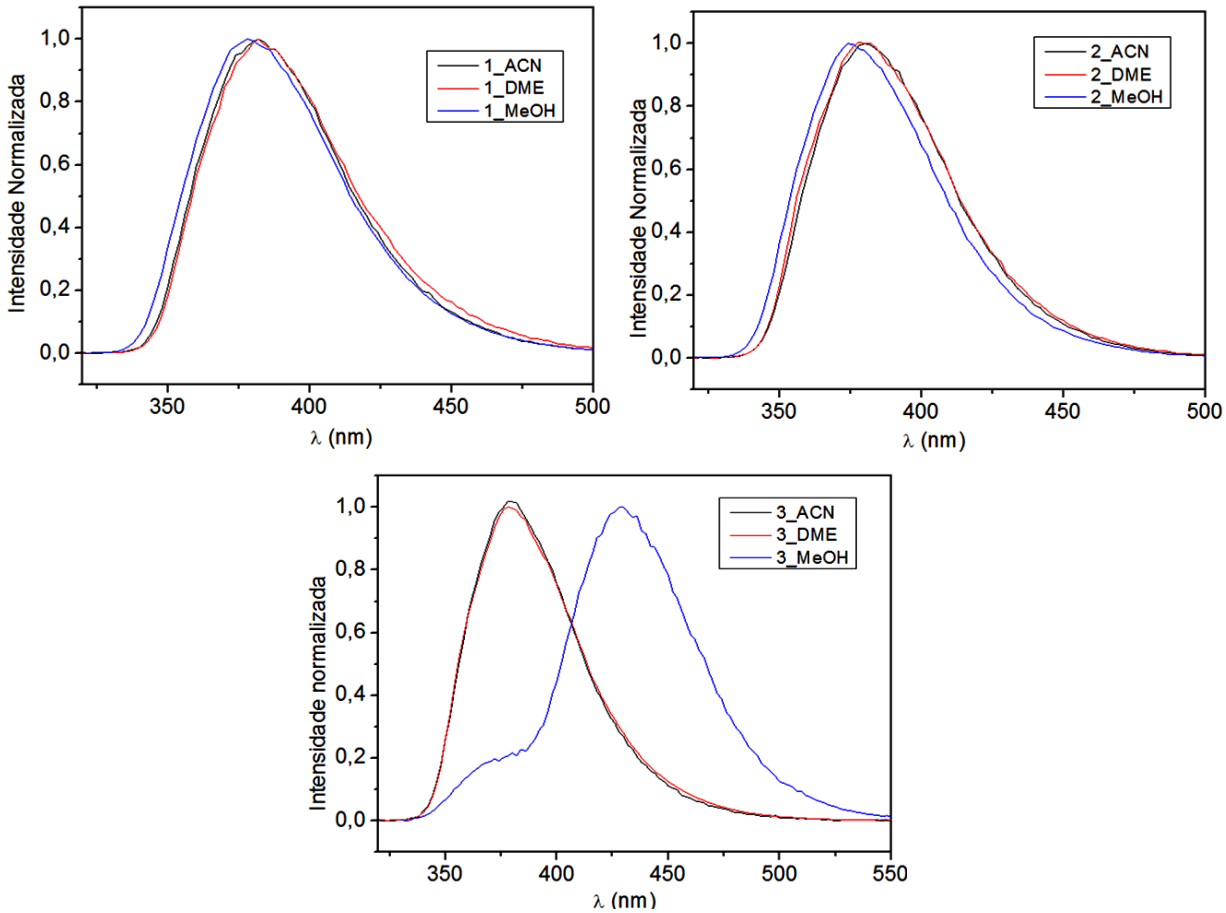


Figura 12: Espectros de emissão normalizados para os compostos **1**, **2** e **3** respectivamente ([**1**] e [**2**] =1 × 10^{-5} e do [**3**] = 3 × 10^{-5} mol L^{-1}) em MeOH, ACN e DME . As condições foram: sistema em *para*, MeOH λ_{ex}= 345 nm; ACN λ_{ex}= 310 nm, DME λ_{ex}= 311nm; em *meta*, MeOH λ_{ex}= 310 nm, ACN λ_{ex}= 309 nm, DME λ_{ex}= 311nm ; em *orto*, MeOH λ_{ex} = 360 nm, ACN λ_{ex}= 305 nm, DME λ_{ex}= 306 nm; fendas de emissão 2,5 e excitação 2,5 nm; PMT 600 V.

4.2. Estudo da hidrólise dos ésteres

4.2.1. Estudo da hidrólise dos ésteres em KOH

A reatividade dos ésteres **1–3** foi testada primeiramente em meio alcalino (adição de KOH), com a decomposição destes gerando seu respectivo precursor sintético (**4–6**) ou, dependendo da basicidade do meio, o respectivo fenolato (**4**$^-$, **5**$^-$ ou **6**$^-$, Figura 13). O mecanismo que melhor descreve a reação provavelmente é o $B_{AC}2$ (processo bimolecular com catálise básica e clivagem da ligação acila).[19]

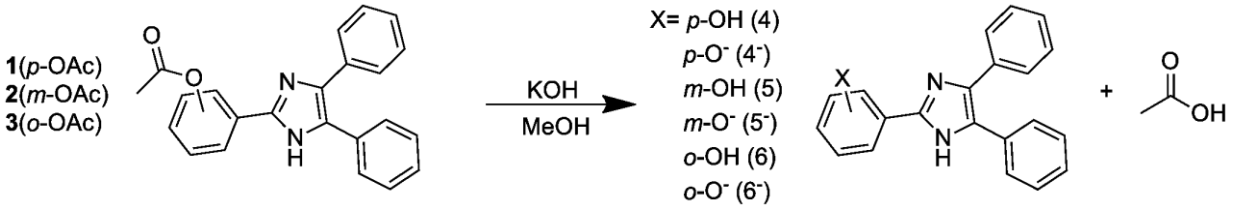


Figura 13: Reação de hidrólise dos ésteres **1** a **3** em metanol na presença de KOH, liberando o fenol/fenolato correspondente e um ácido acético. Baseado na referência 19.

A reação foi acompanhada no UV-Visível durante três horas (Figura 14). Os espectros dos ésteres **1** e **2** revelaram deslocamentos nas bandas de absorção: entre o instante que não havia base no meio, após a adição de base (t = 0) e depois de uma hora da adição (t = 1 hora).

O espectro obtido para o EDL **3** demonstrou um deslocamento da banda de absorção apenas após a adição de base (t = 0), não havendo mais mudanças no decorrer do tempo. Acredita-se que o comportamento observado para o EDL **3** seja derivado de sua extrema reatividade em meio básico. Deste modo, a decomposição do éster e formação do fenol/fenolato ocorrem instantaneamente após a adição de KOH.

Os espectros de decomposição dos ésteres (Figura 14) mostram que não houve um deslocamento significativo no máximo de absorção entre os ELDs **1** a **3** e seu respectivo produto (fenol/fenolato). Entretanto, há regiões nas quais há uma diferença significativa na absorção das duas espécies, estes comprimentos de onda foram identificados e aventou-se a possibilidade de utilizá-los para acompanhar a formação do produto por técnicas de emissão de luz. Para os EDLs **1** e **3,** há uma região na qual apenas o fenol/fenolato absorve (**1**, $\lambda_{máx_dif}$ = 340-360, e **3**, $\lambda_{máx_dif}$ = 355-370 nm), porém, para o EDL **2,** as duas espécies absorvem em comprimentos de onde muito semelhantes ($\lambda_{máx_dif}$ = 305-317 nm), mesmo com uma diferença significativa na absorbância.

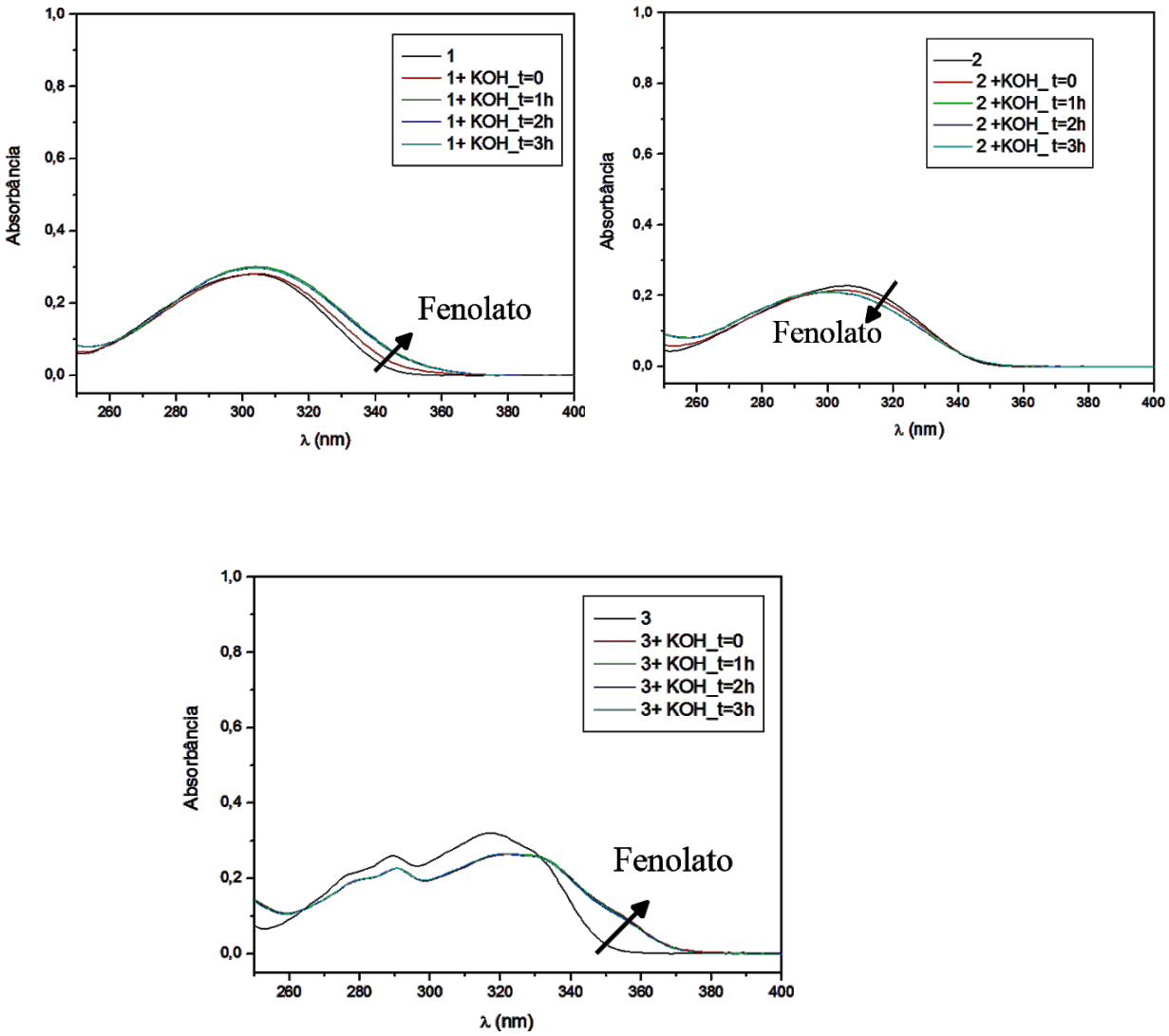


Figura 14: Espectros de absorção de **1**, **2** e **3** em metanol; concentrações dos ésteres 1×10^{-3} mol L^{-1} antes da adição de base e depois da adição de base (0, 1, 2 e 3 horas após a adição); [$^{-}$OH] = 0,78 mol L^{-1}.

Com a finalidade de verificar se o produto gerado seria o fenol ou fenolato correspondente, comparou-se os espectros de absorção (Figura 15) e emissão (Figura 16) dos ésteres (**1** a **3**) e respectivos produtos de decomposição (éster+KOH), sobrepostos com os espectros de sua LOH precursora (fenol; **4** a **6**) e LOH + KOH (fenolato; **4**$^{-}$ a **6**$^{-}$).

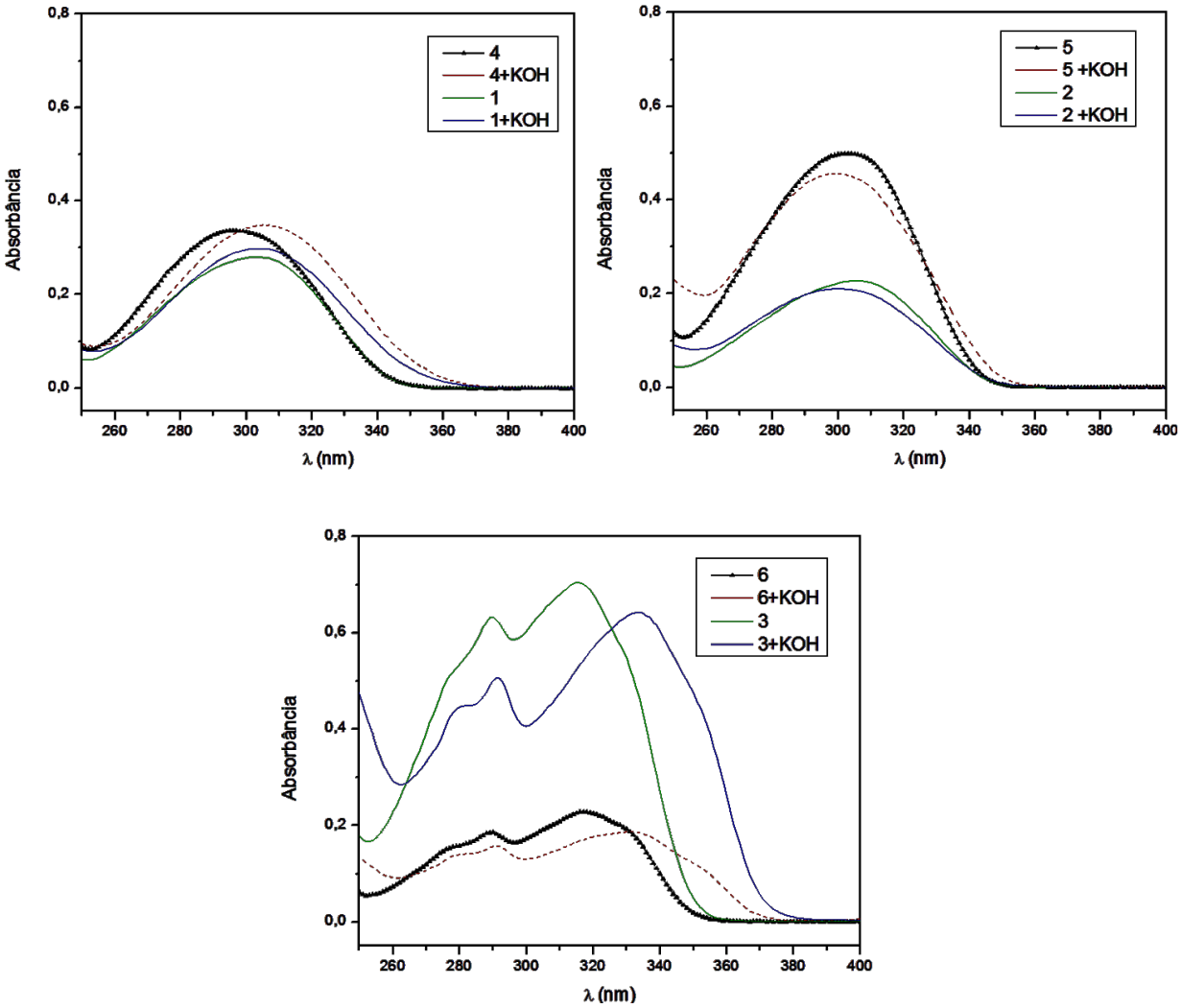


Figura 15: Espectros de absorção, em verde nos três gráficos, os ésteres **1**, **2** e **3** respectivamente ([**1**] e [**2**] =1 × 10^{-5} e do [**3**] = 3 × 10^{-5} mol L^{-1}); em azul em todos os gráficos são os ésteres depois da adição de base (**1** e **2,** [$^{-}$OH]= 78 × 10^{-5} mol L^{-1}; **3**, [$^{-}$OH]= 330 × 10^{-5} mol L^{-1}); em preto são as LOHs **4**, **5** e **6** respectivamente (concentração das LOHs é 3 × 10^{-5} mol L^{-1}); em vermelho tracejado são as LOHs após adição de base ([$^{-}$OH]= 39 × 10^{-5} mol L^{-1}). Todas as soluções estoque foram preparadas e as medidas realizadas em metanol.

Deste modo, foi possível verificar que, na concentração de base utilizada, o equilíbrio foi totalmente deslocado para formação do fenolato (Figuras 15 e 16). Esta afirmação pôde ser corroborada ao comparar os espectros dos ésteres + KOH com os espectros das LOH + KOH, pois valores obtidos de λ_{abs} e λ_{em} (Tabelas 3) foram idênticos para o mesmo grupo (*para*, *meta* ou *orto*).

Tabela 3: Comprimentos de onda de máxima absorção e emissão para os ésteres **1** a **3** + base, e LOHs **4** a **6** + base.

EDL	LOH	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)
1	-	306	465
-	4	306	465
2	-	300	380
-	5	300	380
3	-	334	438
-	6	334	438

As regiões de emissão para acompanhamento mais adequado da reação de hidrólise dos ésteres foram determinadas utilizando o espectro de fluorescência dos três grupos estudados (Figura 16), excitando no comprimento de onda de máxima diferença, encontrado na Figura 14. Definiu-se que o λ_{em} mais apropriado seria aquele onde há apenas uma espécie emissora, ou que a intensidade de emissão de uma delas seja expressivamente superior à da outra.

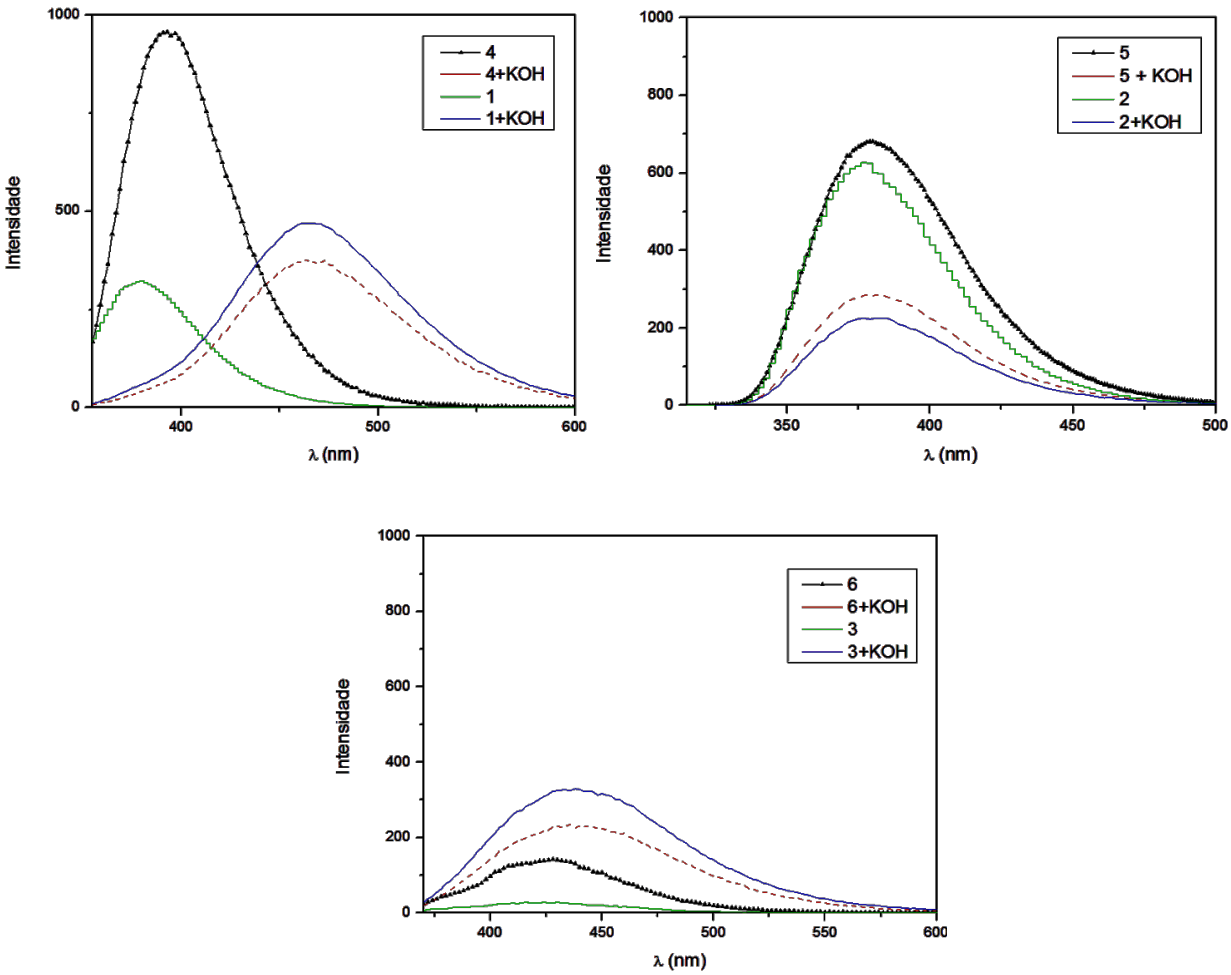


Figura 16: Espectros de emissão, em verde nos três gráficos, os ésteres **1**, **2 e 3** respectivamente (concentração dos ésteres é 3×10^{-5} mol L^{-1}); em azul em todos os gráficos são os ésteres depois da adição de base ([$^{-}$OH]= 39×10^{-5} mol L^{-1}); em preto são as LOHs **4**, **5** e **6** respectivamente (concentração das LOHs é 3×10^{-5} mol L^{-1}); em vermelho tracejado são as LOHs após adição de base ([$^{-}$OH]= 39×10^{-5} mol L^{-1}), todos os espectros e soluções estoque em metanol a 25 ºC. As condições foram: sistema em *para*, λ_{ex}= 345 nm; em *meta*, λ_{ex}= 310 nm; em *orto*, λ_{ex} = 360 nm; fendas de emissão 2,5 e excitação 5 nm; PMT 600 V.

Dentre os espectros examinados, o único que apresentou um deslocamento batocrômico significativo (*ca*. 86 nm), após a decomposição do éster, foi o composto **1** (Figura 16). Tal deslocamento permite que haja uma região (470-500 nm) na qual a emissão do éster seja próxima a zero e a intensidade de emissão do fenolato seja apreciavelmente superior. Para os outros dois ésteres, não foi observado uma mudança significativa no λ_{em}. Entretanto, o éster **3** possui uma intensidade de emissão extremamente baixa nas condições do experimento, permitindo também que essa região de comprimento de onda seja utilizada no acompanhamento cinético da reação (470-500 nm). Já o composto **2** possui uma elevada intensidade de emissão, assim como o fenolato, não sendo possível encontrar uma região na qual a intensidade de alguma das espécies chegue próximo a zero; há apenas um intervalo

(400-420 nm) no qual a intensidade de emissão do éster é expressivamente superior a do fenolato.

4.2.1.1. Ensaio cinético de emissão de luz: hidrólise dos ésteres em KOH

A decomposição dos ésteres, conforme proposta de mecanismo ($B_{AC}2$), seria um processo bimolecular entre o éster (**1** a **3**) e o ^{-}OH, com uma constante de velocidade k_{bim} (Equação 1). Tal proposta é corroborada por Reis,[19] que verificou que não há reações laterais que acarretaram no consumo do éster **1** em MeOH, indicando que, no meio estudado, o mecanismo mais adequado seria o bimolecular com catálise básica e clivagem da ligação acila. A influência da concentração dos reagentes envolvidos na reação (éster ou base) pode ser verificada diretamente da intensidade de emissão de fluorescência, uma vez que a intensidade é diretamente proporcional à quantidade da espécie emissora. Mudanças na intensidade de emissão em função do tempo, portanto, são reflexos diretos de variações nas concentrações do ponto de vista cinético, que estão relacionadas ao mecanismo de reação operante. Logo, a determinação dos valores de k_{bim} pode ser feita diretamente de medidas de fluorescência em função do tempo.

Os ensaios cinéticos dos compostos de **1** a **3** foram realizados em condição de pseudoprimeira ordem, na qual pode-se assumir que a [^{-}OH] é constante e que o éster é o reagente limitante da reação (Equação 2). Deste modo, o ajuste do perfil cinético encontrado fornece a constante de velocidade observada (k_{obs}), que é linearmente dependente da concentração de KOH (Equação 3). O coeficiente angular da variação linear de k_{obs} com [^{-}OH] (Figuras 17 e 18) fornece o valor de k_{bim}, a constante de velocidade bimolecular para a hidrólise alcalina dos ésteres.

$$v = k_{bim}\,[\text{éster}][^{-}OH] \qquad \textbf{Equação 1}$$

$$v = k_{obs}\,[\text{éster}] \qquad \textbf{Equação 2}$$

$$k_{obs} = k_{bim}\,[^{-}OH] \qquad \textbf{Equação 3}$$

Os ensaios cinéticos de emissão de luz dos compostos **1** (Figura 17) e **3** foram realizados acompanhando a formação do fenolato, sendo o perfil cinético ajustado por equação de crescimento exponencial de primeira ordem (Equação 4), a qual forneceu k_{obs}. Uma vez que cinéticas de primeira ordem, ou em condições de pseudoprimeira ordem, seguem comportamento exponencial como o descrito pela Equação 4, valores de k_{obs} podem

ser obtidos diretamente. O perfil cinético de formação do produto foi observado, pois nas condições do experimento (**1**, λ_{Ex} = 350 nm e λ_{Em} = 475 nm; **3**, λ_{Ex} = 360 nm e λ_{Em} = 500 nm), no tempo inicial, apenas o éster estava presente na cubeta, o qual apresenta uma intensidade de emissão de fluorescência próxima a zero e, à medida que ocorre a decomposição dos compostos **1** e **3,** houve um aumento de sinal decorrente da formação do fenolato. O oposto ocorre para o composto **2**, uma vez que, nas condições utilizadas (**2**, λ_{Ex} = 310 nm e λ_{Em} = 400 nm), o reagente de partida é mais florescente que o produto formado. Consequentemente, o acompanhamento da hidrólise sucedeu pela observação do consumo do éster (Figura 18). O perfil cinético foi ajustado por uma equação de decaimento exponencial de primeira ordem (Equação 5), a qual também forneceu k_{obs}.

$$\boldsymbol{I_{(t)} = I_0 + I_1\ (1 - e^{-k_{obs}\,t})} \qquad \textbf{Equação 4}$$

$$\boldsymbol{I_{(t)} = I_0 + I_1\ e^{-k_{obs}\,t}} \qquad \textbf{Equação 5}$$

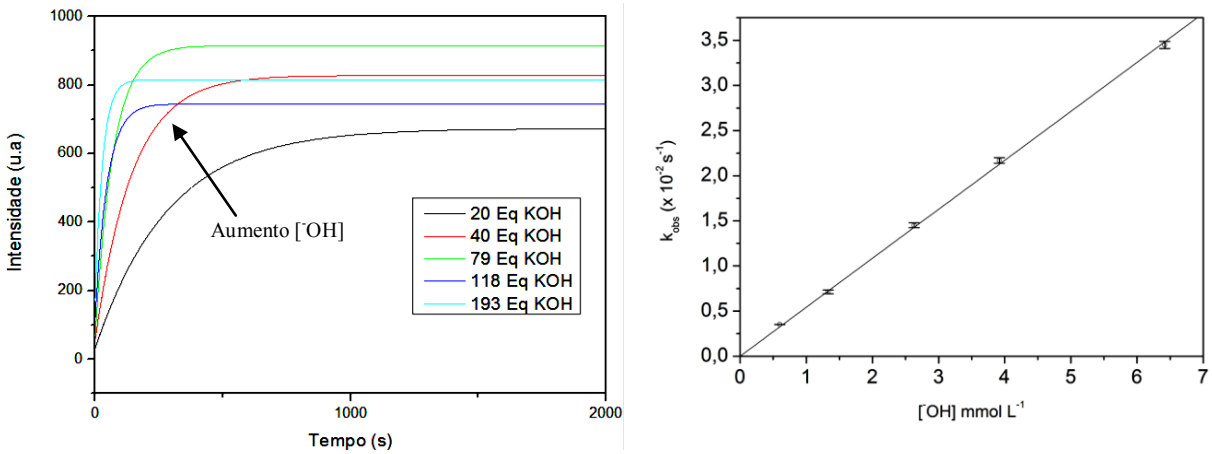


Figura 17: Perfil cinético para a formação do fenolato (**4⁻**) em diferentes concentrações de ⁻OH (esquerda); Dependência linear entre o k_{obs} e a [⁻OH] (direita). Dados e condições experimentais constam na Tabela 4.

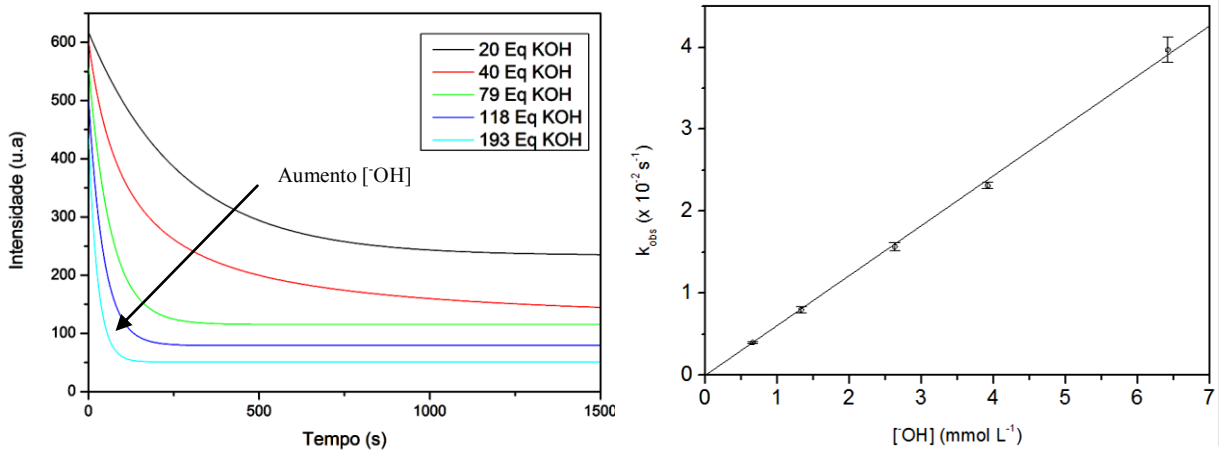


Figura 18: Perfil cinético para a formação do fenolato (**5**⁻) em diferentes concentrações de ⁻OH (esquerda); Dependência linear entre o k_{obs} e a [⁻OH] (direita). Dados e condições experimentais constam na Tabela 4.

Tabela 4: Constantes de velocidade observada obtidas pelo ajuste dos perfis cinéticos das formações dos fenolatos **4**⁻ (esquerda) e **5**⁻ (direita) nas respectivas concentrações de KOH (20, 40, 79, 118, 193 equivalentes de base).

[⁻OH] (mmol L^{-1})	k_{obs} (x 10^{-2} s^{-1})
0,66	0,351 ± 0,001
1,33	0,712 ± 0,021
2,63	1,45 ± 0,03
3,92	2,17 ± 0,03
6,42	3,45 ± 0,04

[⁻OH] (mmol L⁻¹)	k_{obs} (x 10^{-2} s^{-1})
0,66	0,402 ± 0,012
1,33	0,800 ± 0,042
2,63	1,57 ± 0,05
3,92	2,32 ± 0,04
6,42	3,97 ± 0,15

Ambos experimentos realizados em MeOH a 25ºC; [**1**] e [**2**] = 3,33 × 10^{-5} mol L^{-1}. Condições de acompanhamento: **1**, λ_{Ex} = 350 nm e λ_{Em} = 475 nm; fendas de emissão 2,5 nm e excitação 5 nm; **2**, λ_{Ex} = 310 nm e λ_{Em} = 400 nm; fendas de emissão 2,5 nm e excitação 1,5 nm; ambos PMT 600 V.

A obtenção do perfil cinético para o éster **3**, bem como os valores de k_{obs} associados, não foram de fácil obtenção, uma vez que a formação do fenolato foi observada quase instantaneamente à injeção da base, o que dificultou a aquisição de dados reprodutíveis. Deste modo, não foi possível adquirir valores de k_{obs} e determinar k_{bim} nas mesmas condições de concentração dos outros ésteres, já que, na tentativa de aumentar o tempo de reação, a concentração de **3** foi reduzida (10^{-6} mol L^{-1}), assim como a proporção de base na cubeta (1 a 10 equivalentes de base).

Outro fato que constata a reatividade elevada do composto **3** é que, para três equivalentes de base, já foi observado a formação de fenolato, fato não observado para os outros ésteres. Eventualmente, para oito equivalentes de base em relação ao éster **3,** foi possível obter uma duplicata do perfil cinético com k_{obs} de 8,67 × 10^{-2} s^{-1} , valor que é mais que o dobro dos k_{obs} obtidos para **1** e **2** empregando-se *ca*. 190 equivalentes de base.

Os valores de k_{bim} obtidos para **1** e **2** (5,43 ± 0,04 e 6,09 ± 0,06 L mol^{-1} s^{-1}, respectivamente) mostram que o composto **2** possui maior velocidade de reação do que o **1**, não se comportando conforme o esperado. A suposição de que a hidrólise do EDL em *meta* seria a mais lenta foi decorrente da proposta de que o grupo de partida (fenolato) do composto **2** seria o menos estável,[7] posto que não tem a carga deslocalizada por ressonância por toda a molécula (Figura 19), como é o caso de **1** e **3** (Figura 20 e 21). Entretanto, o dado experimental não corrobora tal afirmação, sendo provável que haja outro efeito que explique os valores de k_{bim} encontrados para os três EDLs.

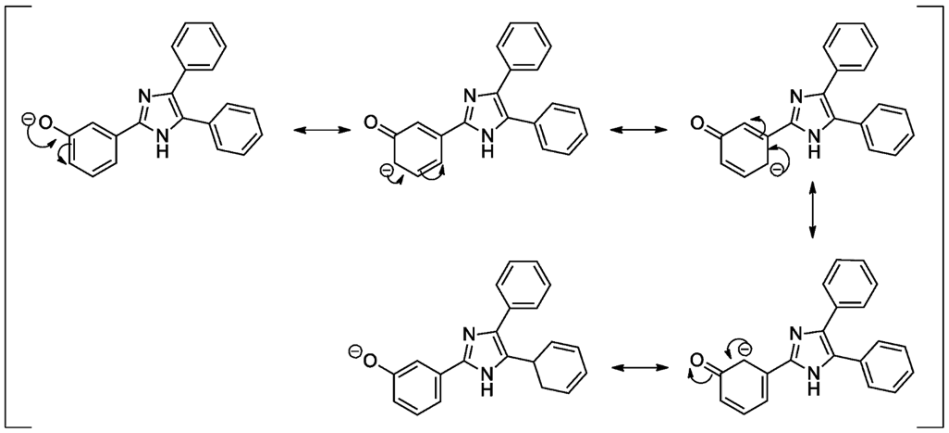


Figura 19: Híbridos de ressonância do composto **4**$^{-}$, formado como grupo de partida na decomposição do éster **1**.

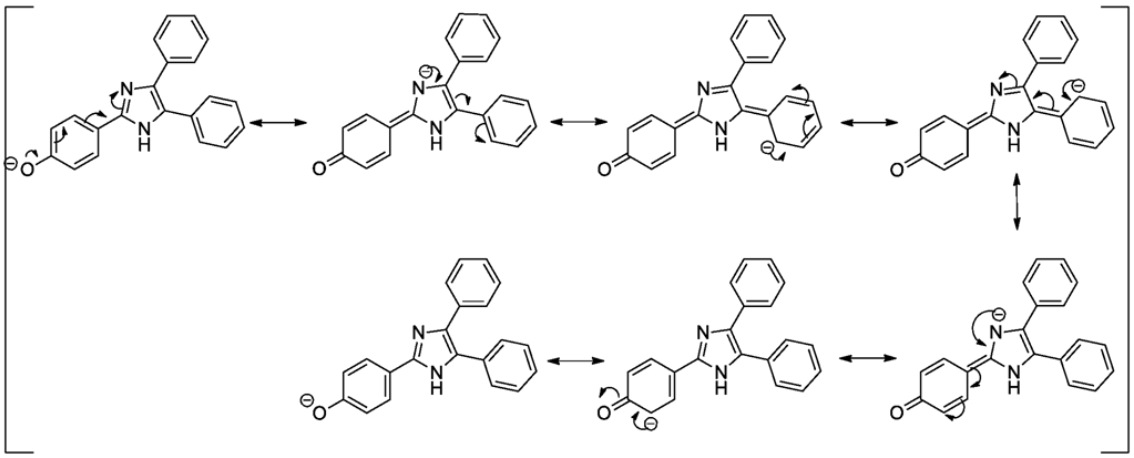


Figura 20: Híbridos de ressonância do composto **5**$^{-}$, formado como grupo de partida na decomposição do éster **2**.

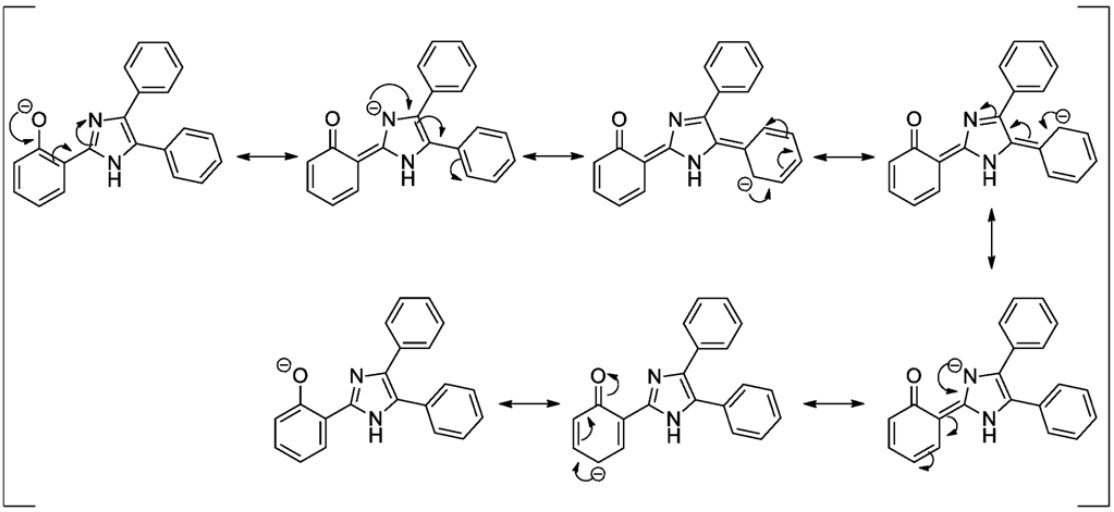


Figura 21: Híbridos de ressonância do composto **6**$^-$, formado como grupo de partida na decomposição do éster **3**.

Deste modo, a explicação que mais se adequa para justificar os valores de k_{bim} semelhantes é que o efeito indutivo sacador de elétron do grupo heterocíclico imidazólico é mais significativo do que a estabilização pelo efeito mesomérico. Assim, como o grupo acetato em **2** está mais próximo do anel heterocíclico do que o mesmo grupo em **1** (Figura 22), seu grupo de partida (**5**$^-$) seria mais estabilizado, além de que isso torna o centro reacional carbonílico mais eletrofílico.

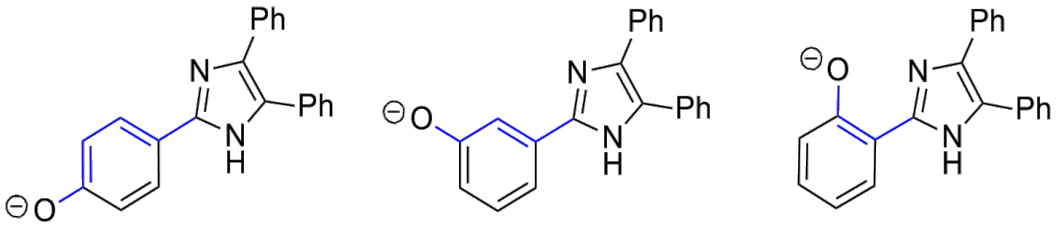


Figura 22: Representação da proximidade do fenolato ao anel heterocíclico imidazolico para os compostos **4**$^-$, **5**$^-$,e **6**$^-$ respectivamente.

Tal explicação é válida para EDL em *orto*, explicando sua extrema reatividade, já que em **3** o grupo acetato possui uma proximidade ainda maior com o anel imidazólico, fazendo com que o efeito indutivo sacador de elétrons seja ainda mais relevante (Figura 22). Um segundo fator que favorece ainda mais a reação é a provável ocorrência de uma catálise intramolecular, na qual o par de elétrons não ligantes do nitrogênio direciona o ataque nucleofílico da hidroxila, aproximando o nucleófilo do centro de reação carbonílico (Figura 23), a exemplo do que se postula para alguns sistemas enzimáticos.[20]

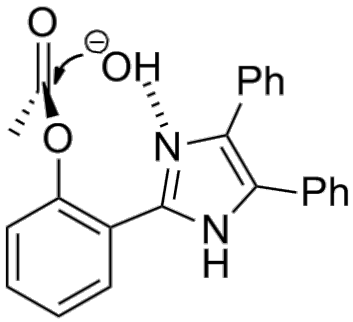


Figura 23: Proposta de catalise intramolecular para a hidrolise do éster **3**.

A mesma catálise não ocorre nas outras posições, uma vez que a proximidade é um fator determinante para a catálise intramolecular, relação observada por diversos pesquisadores.[21-23] Isto está de acordo com a teoria Espaço-Temporal, que diz que a velocidade de reação entre duas moléculas é proporcional ao tempo que permanecem a uma distância crítica para a reação ocorrer.[20,24]

4.2.1.2. Propostas de mecanismos de reação hidrólise com 1–3

A decomposição dos ésteres **1** a **3** catalisada por base segue o mecanismo $B_{AC}2$, como já mencionado anteriormente. O ataque nucleofílico à carbonila e formação do intermediário tetraédrico é a etapa limitante de velocidade (EDL), a qual gera como produto ácido acético e como grupo de partida o fenolato correspondente (Figura 24).

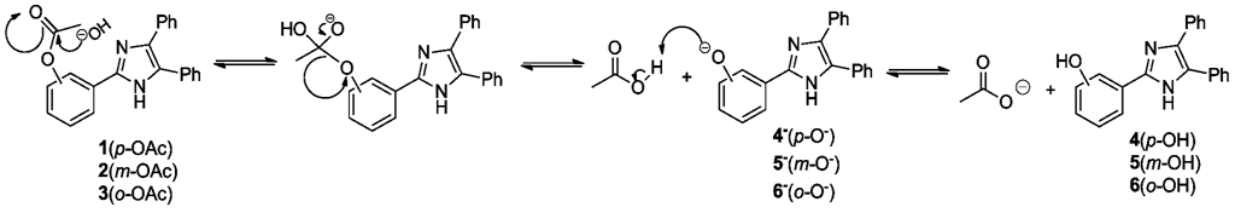


Figura 24: Proposta de mecanismo da reação de hidrólise dos ésteres **1**, **2** e **3** na presença de KOH.

4.2.2. Estudo da hidrólise dos ésteres em H_2O

A reatividade dos ésteres **1** a **3** foi estudada também em meio neutro, conforme procedimento descrito no item **3.5**. Nenhum dos espectros de emissão ou absorção apresentou mudanças significativas que pudessem ser caracterizadas como indício de reação (Anexo, Figuras A_1, A_2, A_4 e A_5). Exceto pelos últimos espectros (obtidos com quase 380 horas, *i.e.*,

16 dias), obtidos em ambos os solventes para o EDL **3** (Figuras A_3 e A_6), que apresentaram deformações atribuídas a possíveis contaminações devido ao elevado tempo de armazenamento.

A reação de hidrólise em condições brandas poderia ocorrer por três rotas distintas (Figuras 3, 4 e 5), abordadas por Poliana et al.[10] O $W_{AI}A$ não explica reações ocorrendo em solventes orgânicos (*e.g.* ACN e DME). Além disso, uma etapa necessária no mecanismo é a protonação da carbonila, que é extremamente desfavorecida para ésteres ativados.[10] Utilizou-se um meio de reação orgânico para estudar a reatividade dos ésteres e, além disso, os EDLs empregados são compostos ativados, motivos estes que fazem com que o mecanismo de iniciação ácida não seja relevante para essa classe de compostos.

O $W_{AI}B$ foi considerado para descrever a hidrólise dos ELDs, haja vista que ocorre somente para ésteres ativados. Entretanto, o processo pelo qual a reação ocorre não seria exatamente o descrito no artigo, uma vez que, na forma como este foi postulado, o solvente seria necessariamente a água.[10] Para o presente trabalho, uma proposta mecanística semelhante ao $W_{AI}B$ pode ser postulado (Figura 25), sugerindo há também uma catálise básica geral mas, ao invés de utilizar outra água como base, os elétrons não ligantes do nitrogênio imidazólico podem abstrair o hidrogênio da água, que age como nucleófilo, realizando uma catálise intramolecular; novamente, tal mecanismo pode ocorrer apenas com o composto **3**, devido à posição do centro carbonílico.

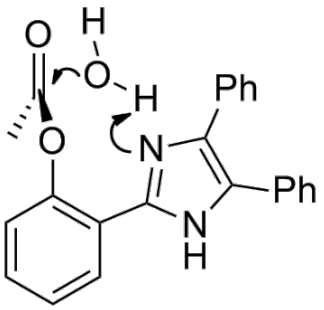


Figura 25: Proposta mecanistica para a hidrólise do éster **3** em meio neutro, baseada no mecanismo $W_{AI}B$ proposto por Jencks e Carriuolo.

O mecanismo de catálise bifuncional também poderia ocorrer, já que foi observada por Venkatasubban et al[25] na hidrólise neutra do *p*-nitrofenil trifluoroacetato, éster extremamente eletrofílico, em meio orgânico (ACN). Teoricamente, os dois mecanismos poderiam ocorrer: o de catálise bifuncional, para **1** e **2**, e o de catálise básica geral intramolecular para **3**. Entretanto, nenhuma dessas vias foi evidenciada, uma vez que a reação

de hidrólise em meio neutro para **1** a **3** não ocorre no tempo de acompanhamento. A razão mais provável que impediria a hidrólise pela via da catálise bifuncional é a elevada demanda de energia para a organização espacial das moléculas envolvidas na reação (o éster e pelo menos duas águas). Além disso, os compostos **1** e **2** têm uma menor influência do efeito indutivo do imidazol, o que faz com que sejam muito menos eletrofílicos do que o composto reportado por Venkatasubban et al.[25] A catálise básica geral intramolecular pode não ocorrer, pois os elétrons do nitrogênio não estariam disponíveis o suficiente para este atuar como base, apenas contribuindo para orientar o nucleófilo na melhor posição para ocorrer o ataque nucleofílico, como ocorre na hidrólise em meio alcalino.

5. Conclusão

A síntese e caracterização dos compostos **1–6** foram realizadas com sucesso. A caracterização fotofísica e ensaios cinéticos de emissão de luz dos EDLs **1**, **2** e **3** possibilitou verificar que a proximidade do grupo acetato ao anel imidazólico afeta a reatividade dos ésteres. Os ésteres **1** e **2** apresentam semelhanças em termos de propriedades fotofísicas e reatividade; por sua vez, o éster **3** apresentou diferentes propriedades fotofísicas e se mostrou extremamente reativo em meio básico, sendo consumido instantaneamente após adição de base. A reatividade excessivamente elevada do éster **3** foi atribuída a uma espécie de catálise intramolecular que direcionaria o ataque da hidroxila, além da estabilização do grupo de partida pelo efeito indutivo. A reatividade dos ésteres em meio neutro não foi passível de comparação, uma vez que não ocorreu a reação de hidrólise durante o tempo acompanhado. Teria sido relevante se EDL **3** fosse reativo em alguma condição equivalente a meio neutro, para que este fosse utilizado como modelo de sistemas enzimáticos baseados em resíduos de histidina.

6. Referências Bibliográficas

(1) Radziszewski, B. R. *Ber*., Estudos sobre a hidrobenzamida, amarina e lofina, *Chem. Ges*, **1877**, 10, 70.

(2) Nakashima, K., Lophine derivatives as versatile analytical tools, *Biomed. Chromatogr*. **2003**, 17, 83.

(3) Nakashima, K.; Fukuzaki, Y., Nomura; R., Shimoda, R.; Nakamura, Y.; Kuroda, N.; Akiyama, S.; Irgum, K., Fluorescence and Chemiluminescence Properties of Newly Developed Lophine Analogues, *Dyes and Pigments*. **1998**, 38, 227.

(4) Kuroda, N.; Takatani, M.; Nakashima, K.; Akiyama, S., Ohkura; Y., Preparation and Evaluation of Fatty Acid Esters od 2-(4-Hydroxyphenyl)-4,5-diphenylimidazole as Fluorescent Substrates for Measurement of Lipase Activity, *Biol. Pharm. Bull*. **1993**, 16(3), 220.

(5) Alves, J.; Boaro, A.; da Silva, J. S.; Ferreira, T. L.; Keslarek, V. B.; Cabral, C. A.; Orfão Jr., R. B.; Ciscato, L. F. M. L.; Bartoloni, F. H., Lophine derivatives as activators in peroxyoxalate chemiluminescence, *Photochem. Photobiol. Sci*. **2015**, 14, 320.

(6) Hoyos, P.; Fernández, M.; Sinisterra, J. V.; Alcántara, A. R., Dynamic Kinetic Resolution of Benzoins by Lipase-Metal Combo Catalysis, *J. Org. Chem*. **2006**, 71, 7632.

(7) Stefanidis, D.; Jencks, W. P. J., General Base Catalysis of Ester Hydrolysis, *Am. Chem. Soc*. **1993**, 115, 6045.

(8) Anslyn, E.V.; Dougherty, D. A.; Modern Physical Organic Chemistry, University Science Books, **2006**.

(9) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S., Organic Chemistry, 2nd ed., Oxford University Press, **2012**.

(10) da Silva, P. L.; Guimarães, L.; Pliego, Jr., J. R., Revisiting the Mechanism of Neutral Hydrolysis of Ester: Water Autoionization Mechanism with Acid or Base Initiation Pathways, *J. Phys. Chem*. **2013**, 117, 6487.

(11) Slebocka-Tilk, H.; Sauriol, F.; Monette, M.; Brown, R. S., Aspects of the Hydrolysis of Formamide: Revisitation of the Water Reaction and Determination of the Solvent Deuterium Kinetic Isotope Effect in Base, *Can. J. Chem*. **2002**, 80, 1343−1350.

(12) Gunaydin, H.; Houk, K. N., Molecular Dynamics Prediction of the Mechanism of Ester Hydrolysis in Water, *J. Am. Chem. Soc*. **2008**, 130, 15232.

(13)Jencks, W. P.; Carriuolo, J, General Base Catalysis of Ester Hydrolysis 1, *J. Am. Chem. Soc*. **1961**, 83, 1743.

(14) Benisvy, L.; Blake, A. J.; Collison, D.; Davies, E. S.; Garner, C. D.; McInnes, E. J. L.; McMaster, J.; Whittaker, G.; Wilson, C., A Phenol-Imidazole Pro-Ligand That Can Exist as a Phenoxyl Radical, Alone and When Complexed To copper(II) and Zinc(II), *Dalton Trans*. **2003**, 1975.

(15) D'Ambrosio, M., Performances of CN-columns for the analysis of γ-oryzanol and its p-coumarate and caffeate derivatives by normal phase HPLC and a validated method of quantitation, *Food Chem*. **2013**, 138, 2079.

(16) de Carvalho, F.; Coutinho Neto, M. D.; Bartoloni, F. H.; Homem-de-Mello; P. Density Functional Theory Applied to Excited State Intramolecular Proton Transfer in Imidazole-, Oxazole-, and Thiazole-Based Systems *Molecules* **, 2018**, *23*(5), 1231.

(17) Pavia, D. L.; Lampam.G. M., Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R. Introdução à espectroscopia, 4 ed., Cengage Learning, s.d.

(18) Lakowicz, J. R., Principles of fluorescence spectroscopy. Springer Science & Business Media, **2013**.

(19) dos Reis R. A., (Tese de mestrado). “Fluorescência e quimiluminescência para a determinação de mecanismos de reação na decomposição de ésteres.” Universidade federal do ABC, **2018**.

(20) Gesser, J. C.; Yunes, S.; Clementin, R. M., Nome, F., Reações Intramoleculares como Modelos não Miméticos de Catálise Enzimática**,** *Quím. Nova,* **1997**, vol.20, n.6.

(21) Benesi, A. J., Theory of elementary bimolecular reactions in liquid solutions. 1. Time spacing of recollisions between nonreactive molecules in liquid solutions, *J. Phys. Chem.* **1982**, 86, 4926.

(22) Benesi, A. J. *J. Phys. Chem.,* Theory of elementary bimolecular reactions in liquid solutions. 2. Prediction of bimolecular reaction rates from fundamental molecular parameters, 1984**, 88, 4729.**

(23) Paquette, L. A.; Kesselmayer, M. A.; Rogers, R. D., Quantitation of proximity effects on rate. A case study involving dyotropic hydrogen migration within syn-sesquinorbornene disulfones carrying central substituents having different spatial demands, *J. A. Chem. Soc.* **1990**, 112, 284.

(24) Menger,F. M., On the Source of Intramolecular and Enzymatic Reactivity, *Acc. Chem. Res.* **1985**, 18, 128.

(25) Venkatasubban, K.S.; Davis, K. R.; Hogg, J. L. Transition-state Structure for the Neutral Water-Catalyzed Hydrolysis of Ethyl Trifluorothiolacetate. *J. A. Chem. Soc.* **1978**, 100, 6125.

Anexos

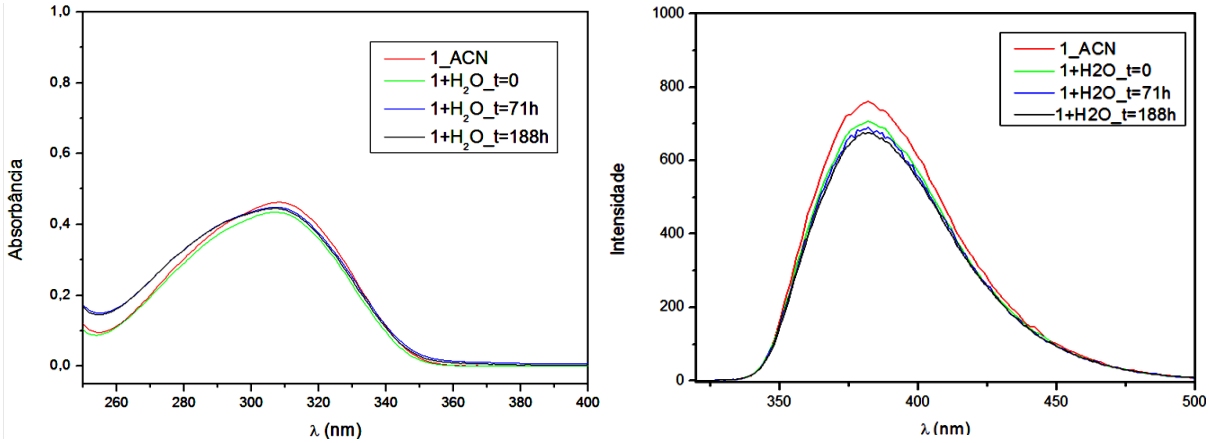


Figura A$_1$: Espectros de absorção e emissão do éster **1** ([**1**] = 2 x 10^{-5}) em ACN, antes e após a adição de água ([H_2O] = 300 x 10^{-5}). Condições experimento: λex = 310 nm; fenda emissão e excitação = 2,5 nm; PMT 600 V.

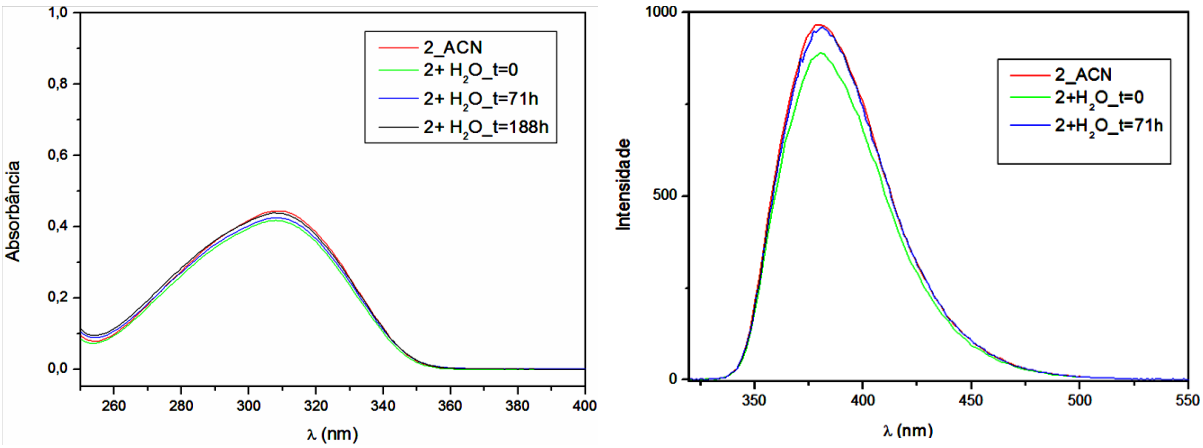


Figura A$_2$: Espectros de absorção e emissão do éster **2** ([**2**] = 2 x 10^{-5}) em ACN, antes e após a adição de água ([H_2O] = 300 x 10^{-5}). Condições experimento: λex = 309 nm; fenda emissão e excitação = 2,5 nm; PMT 600 V.

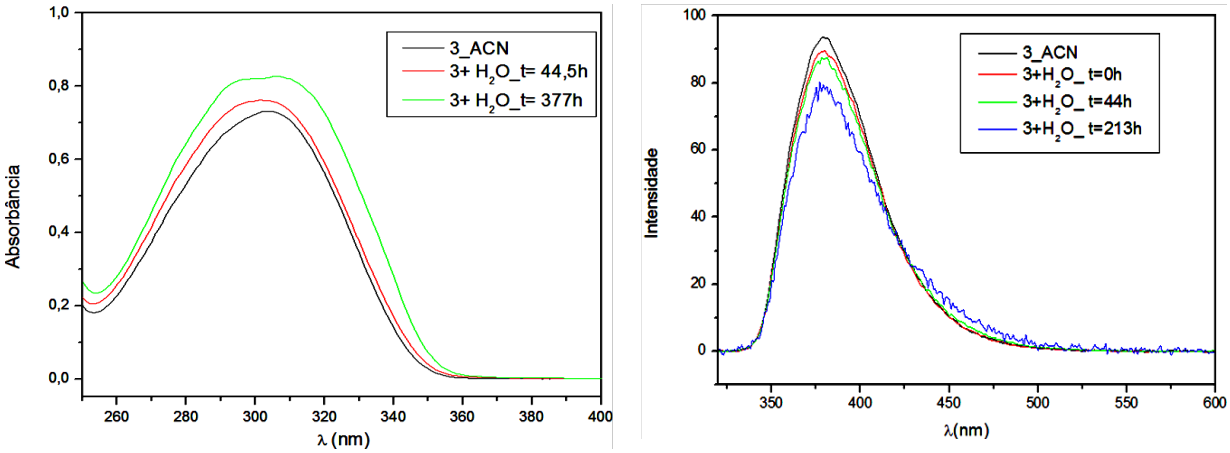


Figura A$_3$: Espectros de absorção e emissão do éster **3** ([**3**] = 3 x 10^{-5}) em ACN, antes e após a adição de água ([H_2O] = 300 x 10^{-5}). Condições experimento: λex = 305 nm; fenda emissão e excitação = 2,5 nm; PMT 600 V.

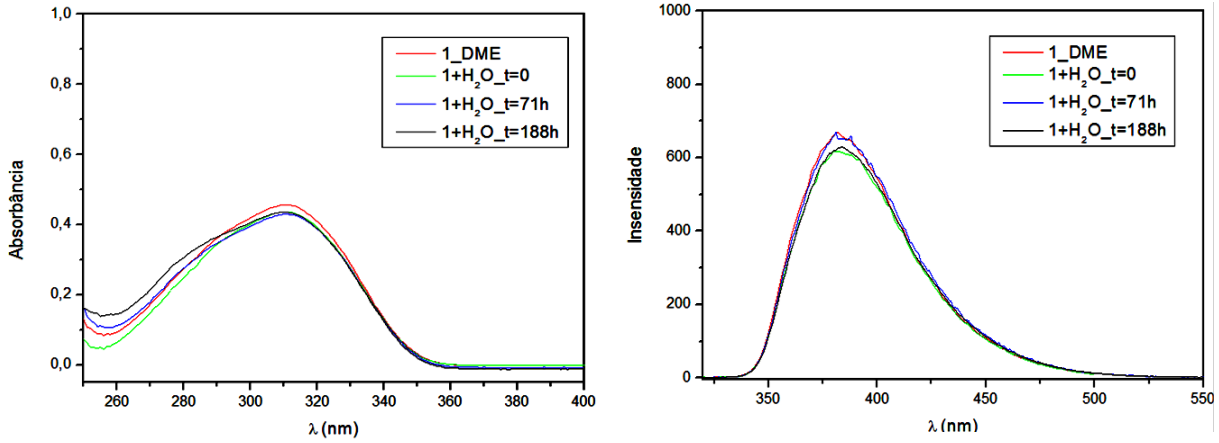


Figura A$_4$: Espectros de absorção e emissão do éster **1** ([**1**] = 2 x 10^{-5}) em DME, antes e após a adição de água ([H_2O] = 300 x 10^{-5}). Condições experimento: λex = 311 nm; fenda emissão e excitação = 2,5 nm; PMT 600 V.

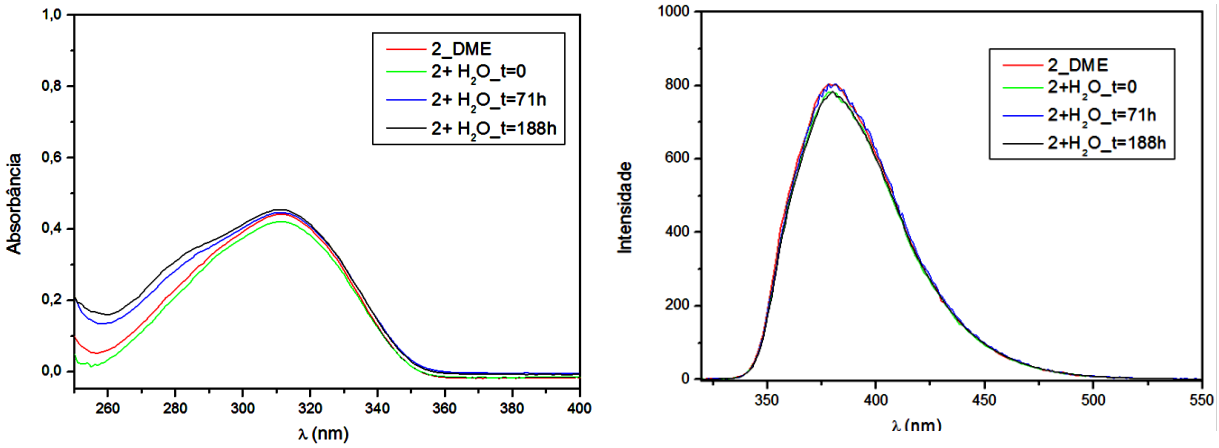


Figura A$_5$: Espectros de absorção e emissão do éster **2** ([**2**] = 2 x 10^{-5}) em DME, antes e após a adição de água ([H_2O] = 300 x 10^{-5}). Condições experimento: λex = 311 nm; fenda emissão e excitação = 2,5 nm; PMT 600 V.

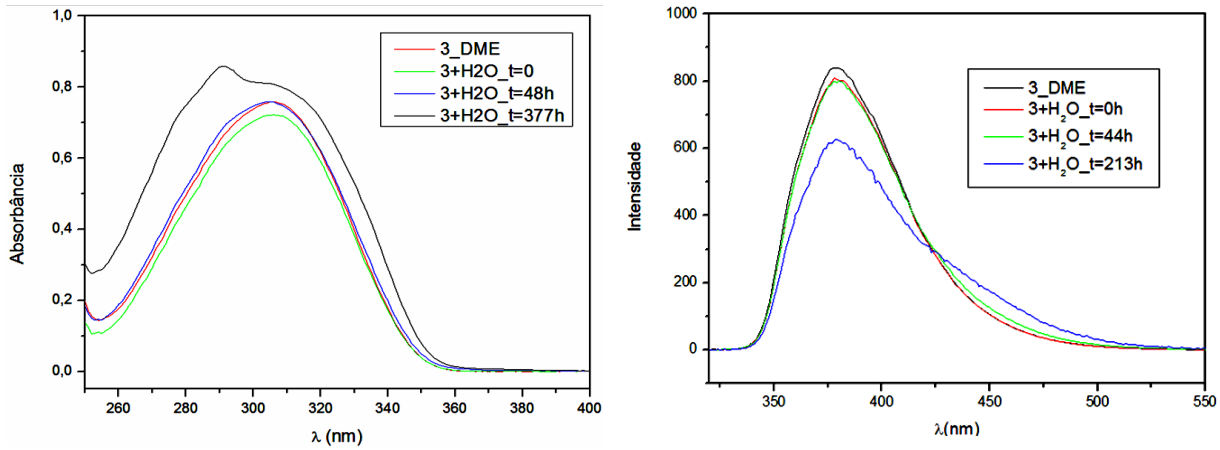


Figura A$_6$: Espectros de absorção e emissão do éster **3** ([**3**] = 3 x 10^{-5}) em DME, antes e após a adição de água ([H_2O] = 300 x 10^{-5}). Condições experimento: λex = 306 nm; fenda emissão e excitação = 2,5 nm; PMT 600 V.