

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA
LABORATÓRIO DE FOTOQUÍMICA DAVID ERNEST NICODEM

LORENA DE OLIVEIRA MIRANDA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO FOTOFÍSICO DE SENSOR
FLUORESCENTE SELETIVO PARA Zn^{2+}

Rio de Janeiro

2024

LORENA DE OLIVEIRA MIRANDA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO FOTOFÍSICO DE SENSOR
FLUORESCENTE SELETIVO PARA Zn^{2+}**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade
Federal do Rio de Janeiro, como parte dos
requisitos necessários à obtenção do grau de
Químico.

Orientador: Prof. Josué Sebastián Bello Forero

Rio de Janeiro

2024

Ficha catalográfica

--

LORENA DE OLIVEIRA MIRANDA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO FOTOFÍSICO DE SENSOR
FLUORESCENTE SELETIVO PARA Zn^{2+}**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade
Federal do Rio de Janeiro, como parte dos
requisitos necessários à obtenção do grau de
Químico.

Rio de Janeiro, 17 de julho de 2024.

Prof. Dr. Josué Sebastián Bello Forero -IQ-UFRJ
Orientador

João Victor Lopes da Silva Néto -IQ-UFRJ
Membro interno

Prof. Dr. Tiago Lima da Silva- IQ-UFRJ (Macaé)
Membro externo

Dedico este trabalho aos meus filhos do coração, Theodora e João Guilherme, para que lembrem que não há vitória sem luta e que o amor que sinto por vocês é combustível para tudo que vier.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meu pais Alex e Cintia, por me ensinarem através do exemplo sobre dedicação, compromisso e responsabilidade. Eles que, com 19 e 20 anos, aceitaram a missão de criar e educar uma criança para que se tornasse um adulto forte, curioso, independente e honesto.

Ao meu pai, pelo apoio incondicional para seguir as decisões do meu coração. Com ele aprendi que não há empecilho quando se tem um sonho, mesmo que envolva acordar às 3h, trabalhar a kms de distância e não ter hora para voltar.

A minha mãe por ser referência de amor e cuidado, além de ser a minha fã número um. Com ela, aprendo a ser gentil comigo mesma e acreditar no meu potencial. “Você é federal!”. E não é que sou mesmo?!

A minha vó Nilce que nunca deixou de rezar por mim e que detém o melhor colo do mundo. Se eu tivesse outra avó, eu ia bater nela e iria atrás de você! Quem me dera se por um descuido de Deus, você fosse eterna.

Agradeço a minha filha de 4 patas Manuela por ter me escolhido para ser sua tutora. Manuzinha, você é o meu coração fora do peito. Choramos, crescemos e aprendemos juntas. Não há dia triste que se prolongue quando estou com você. Você faz parte da minha vida e eu sou toda a sua história. Estaremos juntas até depois do fim.

Ao meu companheiro de vida Wesley que trouxe o verdadeiro significado de parceria para o meu dicionário. No auge da ansiedade, no ápice da depressão, lá estava você me acolhendo e me mostrando que desistir nunca foi uma opção. O nosso encontro é de outras vidas e a nossa conexão é eterna. Sempre serei grata pelo amor puro e cuidadoso que recebo de você todos os dias.

Aos melhores amigos que alguém poderia ter, João e Julia. Agradeço ao João pela escuta sem julgamento, pelo carinho e preocupação sinceros. Agradeço a Julia por toda a sua delicadeza, empatia e amor. Não é à toa que você carrega luz no nome. Sem vocês, nada disso teria saído do papel. Revezamos o banheiro, compartilhamos tristezas e celebramos vitórias. Quando Maresias foi trevas, vocês foram luz. De todo meu coração, agradeço.

Aos meus compadres, Alessandra e Guilherme, por me acolherem em sua casa e terem me escolhido como família. Gostaria que soubessem que eu também os escolhi e que nessa vida estaremos juntos. Quando tudo dá errado, tenho vocês. E quando tudo dá certo também.

Por fim, mas não menos importante, ao meu Orientador professor Sebastian por ter me aceitado como sua orientanda e ter me apresentado o mundo da pesquisa. Com ele, aprendi que

errar faz parte e que de forma alguma isso reflete no meu potencial. Obrigada, professor, pela paciência, pela didática sem igual e por sempre se mostrar orgulhoso do meu trabalho. É muito bom ser a filha preferida.

“Rapunzel: E o que fazer quando você consegue realizar o seu maior sonho?

Flynn: Bom, essa é a melhor parte. Você tem que encontrar um novo”

— Zeneida, Encantados, 2014.

RESUMO

O sensoriamento de analitos é de extrema importância em diversas áreas da ciência devido à sua capacidade de detectar e quantificar substâncias químicas específicas de maneira rápida, precisa e seletiva. No monitoramento ambiental, destaca-se o acompanhamento de poluentes ambientais, incluindo metais pesados, pesticidas, e outros contaminantes químicos. Na indústria alimentícia, os sensores são úteis na detecção de contaminantes e aditivos indesejáveis, garantindo a segurança dos alimentos consumidos e na medicina, destaca-se a detecção de biomarcadores específicos que são associados a diversas doenças.

O desenvolvimento de sensores fluorescentes é de suma importância visto a detecção rápida e muitas vezes em tempo real dos analitos, sem a necessidade de procedimentos invasivos ou de preparação complexa das amostras. Soma-se a isso, podem ser projetados para serem altamente específicos para determinados íons ou moléculas, minimizando a interferência de outras substâncias.

Neste trabalho, foi desenvolvido a síntese, caracterização e estudo fotofísico de um sensor, contendo o núcleo quinolínico, capaz de detectar a presença do íon Zn^{2+} com alta seletividade. O sensor (LRN2) foi sintetizado em duas etapas, a partir da ciclocondensação da 2-aminoacetofenona, seguido pela condensação do produto com 2-hidroxi-1-nafatlenocarboxaldeído, obtendo-se um sólido amarelo com rendimento de 82%. O produto, LRN2, foi caracterizado através de técnicas de análises instrumentais como IR, NMR (1H e ^{13}C) e HRMS. Os espectros de UV-vis e de fluorescência foram realizados na presença e ausência de diversos íons metálicos utilizando acetonitrila (ACN) como solvente. Quando dissolvido em ACN, o ligante LRN2 não se mostrou emissivo, mas na presença de Zn^{2+} , observou-se uma significativa emissão em 540 nm, sendo atribuída à formação de um complexo 1:1 entre o íon Zn^{2+} com os centros nucleofílicos do ligante LRN2.

O ligante LRN2 mostrou-se sensível a baixíssimas concentrações de Zn^{2+} (0.2 equiv. – 6.1×10^{-9} mol), permitindo identificar a presença do íon na ordem de nmol. Experimentos de competição foram feitos com outros íons metálicos e, a emissão de fluorescência causada pela mistura contendo Zn^{2+} foram similares a emissão causada quando há apenas o Zn^{2+} em solução. Na presença dos íons Cu^{2+} , Cr^{3+} e Fe^{3+} , observou-se uma significativa diminuição da intensidade de emissão em 540 nm, o que sugere que esses cátions metálicos estão causando o fenômeno de supressão devido ao efeito do átomo pesado. Estudos por RMN evidenciaram que a complexação envolveu a hidroxila fenólica, onde observou-se uma diminuição da área integrada do sinal OH conforme a concentração de Zn^{2+} aumentou na solução.

Foi possível sintetizar e cristalizar o complexo formado entre LRN2 e Zn^{2+} , o qual foi caracterizado por DRX de monocrystal, apresentando uma geometria bipiramidal trigonal, tendo o íon nitrato como ligante auxiliar. Os resultados mostraram que o LRN2 atua como ligante tridentado e que a hidroxila participa do processo de complexação, conforme já havia sido observado pelos resultados obtidos por RMN.

Por fim, usando a técnica de fluorescência com variação de temperatura, foi possível determinar que a formação do complexo ocorre de forma espontânea, com variação de entalpia igual a -40,79 kJ/mol.

LRN2 também foi testado em amostras reais cujos rótulos da embalagem indicavam a presença do micronutriente. As amostras consistem em pastilha de Vitamina C + zinco, suco de caixinha e leite integral. Com a adição do ligante LRN2, foi possível observar a emissão característica do complexo $LRN2:Zn^{2+}$, indicando que o sensor é capaz de detectar o íon em diferentes matrizes.

Palavras-chave: sensores, fluorescência, íon zinco, complexo, seletividade

ABSTRACT

The sensing of analytes is of utmost importance in various fields of science due to its ability to detect and quantify specific chemical substances quickly, accurately, and selectively. In environmental monitoring, it stands out in the tracking of environmental pollutants, including heavy metals, pesticides, and other chemical contaminants. In the food industry, sensors are useful for detecting contaminants and undesirable additives, ensuring the safety of consumed foods, and in medicine, they are notable for the detection of specific biomarkers associated with various diseases.

The development of fluorescent sensors is of great importance due to the rapid and often real-time detection of analytes, without the need for invasive procedures or complex sample preparation. Additionally, they can be designed to be highly specific for certain ions or molecules, minimizing interference from other substances.

In this work, the synthesis, characterization, and photophysical study of a sensor containing a quinoline core capable of detecting the presence of the Zn^{2+} ion with high selectivity was developed. The sensor (LRN2) was synthesized in two steps, starting from the cyclocondensation of 2-aminoacetophenone, followed by the condensation of the product with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde, obtaining a yellow solid with a yield of 82%. The product, LRN2, was characterized through instrumental analysis techniques such as IR, NMR (1H and ^{13}C), and HRMS. UV-vis and fluorescence spectra were recorded in the presence and absence of various metal ions using acetonitrile (ACN) as the solvent. When dissolved in ACN, the ligand LRN2 was non-emissive, but in the presence of Zn^{2+} , significant emission at 540 nm was observed, attributed to the formation of a 1:1 complex between the Zn^{2+} ion and the nucleophilic centers of the LRN2 ligand.

The LRN2 ligand was sensitive to very low concentrations of Zn^{2+} (0.2 equiv. – 6.1×10^9 mol), allowing the detection of the ion in the nmol range. Competition experiments were conducted with other metal ions, and the fluorescence emission caused by the mixture containing Zn^{2+} was similar to the emission caused when only Zn^{2+} was present in the solution. In the presence of Cu^{2+} , Cr^{3+} , and Fe^{3+} ions, a significant decrease in the emission intensity at 540 nm was observed, suggesting that these metal cations are causing the suppression phenomenon due to the heavy atom effect. NMR studies showed that complexation involved the phenolic hydroxyl group, where a decrease in the integrated area of the OH signal was observed as the Zn^{2+} concentration increased in the solution.

It was possible to synthesize and crystallize the complex formed between LRN2 and Zn^{2+} , which was characterized by single-crystal X-ray diffraction, presenting a trigonal bipyramidal geometry with the nitrate ion as an auxiliary ligand. The results showed that LRN2 acts as a tridentate ligand and that the hydroxyl group participates in the complexation process, as previously observed in the NMR results.

Finally, using the fluorescence technique with temperature variation, it was possible to determine that the formation of the complex occurs spontaneously, with an enthalpy change of -40.79 kJ/mol.

LRN2 was also tested in real samples whose packaging labels indicated the presence of the micronutrient. The samples consisted of Vitamin C + zinc tablets, juice box, and whole milk. With the addition of the LRN2 ligand, the characteristic emission of the LRN2: Zn^{2+} complex was observed, indicating that the sensor can detect the ion in different matrices.

Keywords: sensors, fluorescence, zinc ion, complex, selectivity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Reações de Fenton	13
Figura 2 -	Estrutura da quinolina	14
Figura 3 -	Estratégias sintéticas para a síntese de quinolinas	15
Figura 4 -	Diagrama simplificado de Aleksander Jablonski	17
Figura 5 -	Síntese de LRN1 – primeira etapa da reação	20
Figura 6 -	Síntese de LRN2 – etapa final da reação	20
Figura 7 -	Espectro de massas do composto LRN1	25
Figura 8 -	Espectro de massas do composto LRN2.....	26
Figura 9 -	Espectro no IV do composto LRN2.....	27
Figura 10 -	Espectro de ^1H -RMN de LRN2	27
Figura 11 -	Equilíbrio tautomérico para o ligante LRN2	28
Figura 12 -	Espectro de ^{13}C -RMN de LRN2.....	28
Figura 13 -	Espectro eletrônico de LRN2 em ACN, DMSO, MeOH e TOL	29
Figura 14 -	Sólido LRN2 obtido de coloração amarela	30
Figura 15 -	LRN2 impregnado em papel filtro sob radiação UV	30
Figura 16 -	LRN2 em ACN – ausência de emissão de fluorescência	30
Figura 17 -	LRN2 com ZnCl_2 em ACN – emissão de fluorescência	30
Figura 18 -	À esquerda, cristais de LRN2: Zn^{2+} na luz visível e à direita sob luz UV..	32
Figura 19 -	ORTEP para complexo LRN2: Zn^{2+} obtido por difração de raios X (XRD) usando $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ como fonte de Zn^{2+}	32
Figura 20 -	Emissão de LRN2 na presença de diferentes cátions	33
Figura 21 -	Experimento de competição entre diferentes cátions	34
Figura 22 -	Emissão de LRN2: Zn^{2+} para diferentes concentrações de Zn^{2+}	35
Figura 23 -	Cubeta com soluções de LRN2 contendo diferentes concentrações de Zn^{2+} sob excitação UV	35
Figura 24 -	Emissão de LRN2: Zn^{2+} em ACN	35
Figura 25 -	Espectro eletrônico de LRN2 em ACN com variação de pH	36
Figura 26 -	Espectro eletrônico de LRN2 em ACN com variação de pH na presença de Zn^{2+}	36
Figura 27 -	Espectro de emissão de LRN2 em ACN com variação de pH na presença de Zn^{2+}	37

Figura 28 -	Gráfico Job Plot para LRN2:Zn ²⁺ em ACN	38
Figura 29 -	Método Benesi-Hildebrand para obtenção do valor de Ka	39
Figura 30 -	Espectro de emissão de LRN2 e LRN2:Zn ²⁺ com variação de temperatura	42
Figura 31 -	Determinação da variação da entalpia da complexação	43
Figura 32 -	Espectro de emissão de solução de Aceviton ® em ACN com adições de LRN2	43
Figura 33 -	Da esquerda para direita, Aceviton ® , suco de caixinha e leite integral em ACN sob radiação UV	44
Figura 34 -	Da esquerda para direita, Aceviton ® , suco de caixinha e leite integral em ACN com LRN2 sob radiação UV.....	44

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Esquema simplificado do princípio de funcionamento de um sensor químico	11
Esquema 2	Reação simplificada de formação do complexo LRN2:Zn ²⁺	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Trabalhos publicados nos últimos 5 anos que abordam sensores do tipo OFF-ON.....	12
Tabela 2 -	Concentrações das soluções de LRN2 e Zn^{2+} utilizadas no fluorímetro com variação de temperatura	23
Tabela 3 -	Valores de ϵ de LRN2 em diferentes solventes e comprimentos de onda.	29
Tabela 4 -	Variação da área integrada AMe e AOH com diferentes equivalentes molares de zinco	31
Tabela 5 -	Dados de intensidade de emissão e fração molar do metal utilizados no experimento Job Plot	38
Tabela 6 -	Ka e LoD de sensores seletivos para Zn^{2+} encontrados na literatura	41

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	Lei de Lambert-Beer	16
Equação 2	Benesi–Hildebrand	39
Equação 3	Limites de detecção LoD e quantificação LoQ	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN: Acetonitrila
CCD: cromatografia de camada delgada
COSY: 2D homonuclear correlation spectroscopy
d: doubleto
DMSO: dimetilsulfóxido
Em: emissão
Exc: excitação
HRMS: high resolution mass spectrometry
IV: infravermelho
J: constante de acoplamento spin-spin em Hertz
m: multiplet
PF: ponto de fusão
Rend.: rendimento
RMN: ressonância magnética nuclear
Tol: tolueno
UV: ultravioleta
 ϵ : coeficiente de absorvidade molar
 λ : comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
1.1	FOTOQUÍMICA.....	10
1.2	SENSORES	10
1.3	SENSORES FLUORESCENTES	11
1.4	SENSORES PARA ZINCO	13
1.5	QUINOLINAS COMO SENSORES	14
1.5.1	A química da quinolina e seus derivados	14
1.6	A espectroscopia UV-vis e de fluorescência	15
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	OBJETIVOS GERAIS	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
3.1	SÍNTESE DOS COMPOSTOS LRN1 E LRN2	20
3.2	CARACTERIZAÇÃO	21
3.3	APLICAÇÃO EM AMOSTRA REAL	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL	25
4.1.1	Síntese e caracterização de LRN1	25
4.1.2	Síntese e caracterização de LRN2	25
4.2	CARACTERIZAÇÃO FOTOFÍSICA	29
4.2.1	Espectroscopia na região do UV-Vis	29
4.2.2	Testes preliminares de emissão de fluorescência	30
4.3	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	32
4.4	SENSORIAMENTO DE CÁTIONS	33
4.4.1	Efeito da presença de diferentes cátions metálicos na emissão de fluorescência	33
4.4.2	Efeito da competição entre o Zn²⁺ e demais cátions na emissão de fluorescência	33
4.4.3	Efeito da concentração de Zn²⁺ na emissão de fluorescência	34
4.5	EFEITO DA VARIAÇÃO DO pH	36
4.5.1	Espectroscopia UV-vis	36
4.5.2	Espectroscopia de fluorescência	37

4.6	ESTEQUIOMETRIA DO COMPLEXO LRN2:Zn ²⁺	37
4.7	CONSTANTE DE ASSOCIAÇÃO Ka	39
4.8	LIMITES DE DETECÇÃO LoD E DE QUANTIFICAÇÃO LoQ	40
4.9	CÁLCULO DA VARIAÇÃO DA ENTALPIA DA FORMAÇÃO DO COMPLEXO	42
4.10	APLICAÇÃO EM AMOSTRA REAL	43
5	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS.....	47
	APÊNDICE A – GRÁFICOS	52

1 INTRODUÇÃO

1.1 Fotoquímica

A fotoquímica é o ramo da química que investiga as interações entre a luz e a matéria. Este campo de estudo aborda a compreensão sobre como a energia luminosa, ao ser absorvida pelas moléculas, pode induzir reações químicas que são inacessíveis ou pouco eficientes em condições térmicas, além de obter informações sobre os estados excitados.^[1]

A evolução da fotoquímica pode ser traçada ao longo de várias eras históricas, cada uma contribuindo significativamente para o entendimento atual deste campo. O século XIX marcou avanços significativos com a descoberta da fotossíntese pelo médico holandês Jan Ingenhousz (1730-1799) e cientista inglês Joseph Priestley (1733-1804). A fotossíntese demonstrou como a energia luminosa é convertida em energia química, um processo vital para a vida na Terra.^[2] Um pouco mais tarde, no início do século XX, a teoria quântica desenvolvida por Max Planck, Albert Einstein e Niels Bohr estabeleceu as bases teóricas para a compreensão da absorção de luz. Em 1905, Albert Einstein (1889-1911) explicou o efeito fotoelétrico, fundamentando a ideia de que a luz pode ser quantizada em fótons, o que revolucionou a teoria fotoquímica.

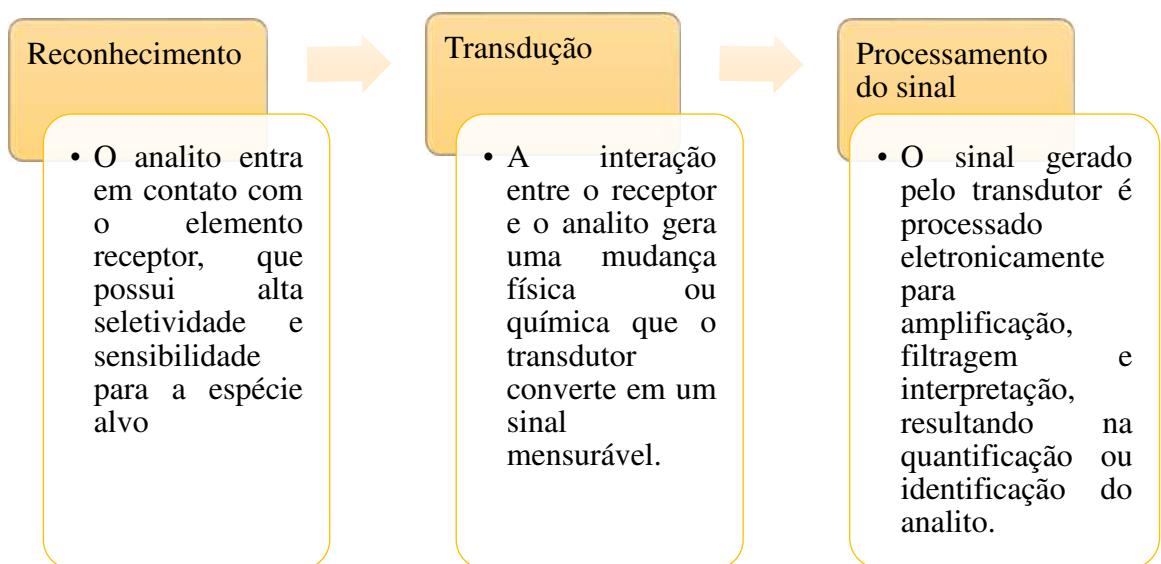
Com o advento da espectroscopia e dos lasers, a pesquisa fotoquímica avançou consideravelmente, permitindo a análise detalhada dos estados excitados e da dinâmica reacional em nível molecular. Este progresso acabou irradiando para outras áreas científicas e tecnológicas, como o desenvolvimento de células solares e na terapia fotodinâmica. No primeiro, destaca-se a importância do estudo de fotocatalisadores que podem produzir combustíveis solares, enquanto no segundo utiliza-se fotossensibilizadores no tratamento de câncer e outras doenças.^[3-8]

A fotoquímica é uma área interdisciplinar que conecta conceitos fundamentais da física e da química para explorar os efeitos da luz na matéria. Sua história rica e sua importância prática em diversos campos científicos e tecnológicos destacam seu papel central no avanço do conhecimento e no desenvolvimento de novas tecnologias.

1.2 Sensores

Sensores químicos são dispositivos projetados para detectar e responder a presença ou concentração de uma substância específica em uma amostra. Este dispositivo deve operar de maneira reversível e contínua, permitindo a medição direta na matriz da amostra sem a

necessidade de etapas adicionais de preparo. Um sensor químico possui dois componentes imprescindíveis, o elemento receptor e o elemento transdutor. O receptor é responsável pela interação específica com a espécie química de interesse (analito) e o transdutor converte esta interação em um sinal mensurável, que pode ser óptico, eletroquímico, elétrico, colorimétrico, magnético e térmico.^[9] O princípio de funcionamento de sensores químicos está representado de maneira simplificada no esquema abaixo.



Esquema 1: Esquema simplificado do princípio de funcionamento de um sensor químico

Os sensores químicos representam uma tecnologia crucial em diversas áreas, possibilitando a detecção precisa e eficiente de uma diversidade de analitos.

1.3 Sensores fluorescentes

Os sensores fluorescentes utilizam o fenômeno da fluorescência para detectar e quantificar a presença do analito. A molécula sensor pode ser orgânica, inorgânica ou um complexo metálico e é chamada de fluoróforo. Os fluoróforos absorvem fótons, causando que um elétron do HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) seja promovido para o orbital molecular mais baixo desocupado (LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Ao retornar ao estado fundamental, a molécula emite luz de um comprimento de onda maior (menor energia) do que a luz absorvida.^[10] Este fenômeno pode ser condicionado pela presença e natureza dos analitos a serem detectados, fazendo com que sensores se tornem emissivos (*Turn-on*).

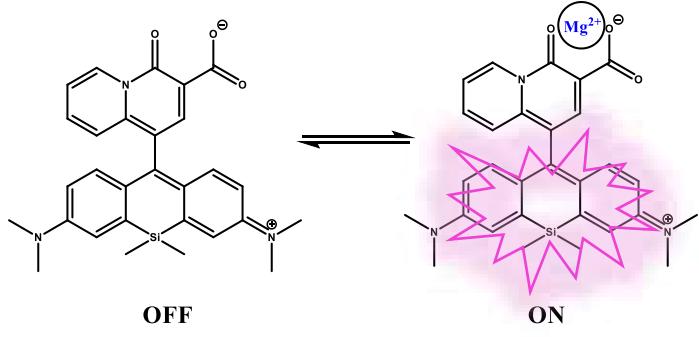
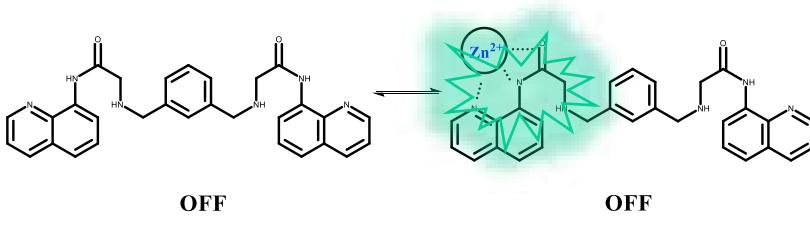
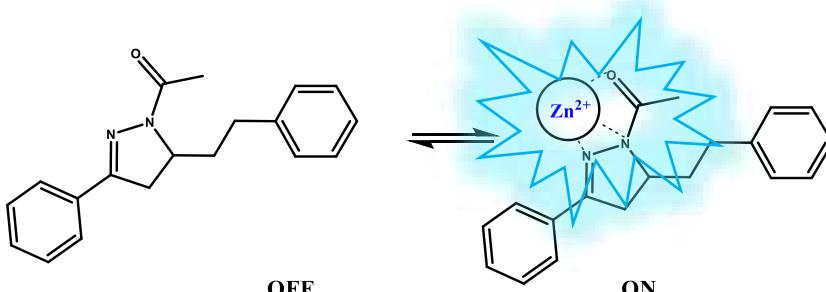
On) ou, caso o sensor seja fluorescente na ausência do analito, ocorra a supressão de sua emissão (*Quenching*).

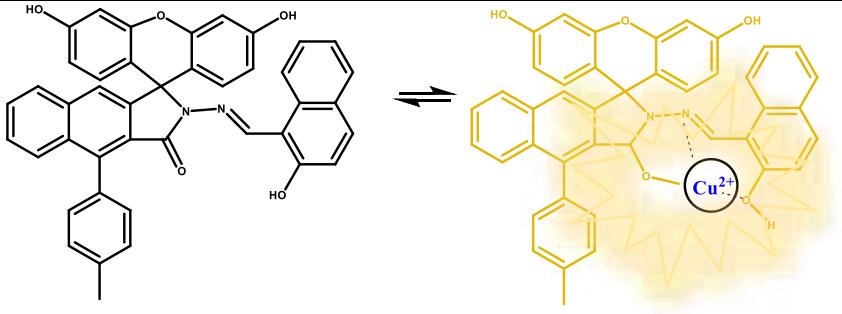
Os sensores fluorescentes são uma excelente escolha quando pensamos na determinação da presença de solventes, substâncias, metais e quaisquer outras espécies que, de alguma maneira, interajam seletivamente com o sensor.

Sensores fluorescentes do tipo *OFF-ON* são conhecidos por representarem compostos que sob determinadas condições e na ausência do analito, não apresentam emissão de luz (modo *OFF*). Entretanto, quando submetido à presença de espécies que irão interagir com ele, passa a ser observado a fluorescência (modo *ON*).

A tabela abaixo mostra alguns trabalhos da literatura que envolvem a síntese e aplicação de sensores fluorescentes do tipo *OFF-ON* que foram publicados nos últimos 5 anos.

Tabela 1: Trabalhos publicados nos últimos 5 anos que abordam sensores do tipo *OFF-ON*

Artigo	Esquema do sensor	Ano de publicação
Trabalho de revisão de sensores fluorescentes utilizados para detecção e geração de imagens de íons metálicos em sistemas biológicos. ^[11]		2023
Determinação do íon Zn^{2+} através de um sensor fluorescente derivado da quinolina. ^[12]		2020
Determinação do íon Zn^{2+} através de um sensor fluorescente derivado da cinamil pirazolina quinolina e sua aplicação na geração de imagens de células vivas. ^[13]		2018

Estudo de sensor fluorescente e colorimétrico derivado da benzo[f]fluoresceína para Cu^{2+} e pH. [14]		2017
---	--	------

1.4 Sensores para zinco

O zinco é o segundo metal mais abundante no corpo humano e o micronutriente com maior concentração traço intracelular [15,16]. O íon metálico está associado a diversos processos biológicos, com destaque para sua atuação indireta nas reações de fotofenton.

As reações de Fenton são um conjunto de reações químicas que envolvem peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o íon Fe^{2+} . Estas reações foram descritas pela primeira vez por H.J.H. Fenton em 1894 e são conhecidas por sua capacidade de gerar radicais livres altamente reativos. [17-22]

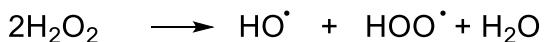


Figura 1: Reações de Fenton

O Zn^{2+} , por sua vez, não participa diretamente da reação de Fenton, mas pode influenciar a disponibilidade de ferro ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$), que é essencial para a geração de radicais livres na reação de Fenton. O íon Zn^{2+} pode competir com o Fe^{2+} por locais de ligação em biomoléculas e proteínas. Ao se ligar a essas biomoléculas, o Zn^{2+} impede que o Fe^{2+} se ligue e participe da reação de Fenton, reduzindo a produção de radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$). [23-26]

Outrossim, Zn^{2+} é um cofator para várias enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), que converte o radical superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), diminuindo a quantidade de superóxido disponível para a reação de Fenton e, consequentemente, a produção de radicais hidroxila. [27-32]

Dessa forma, o íon metálico pode atuar como um agente antioxidante de maneira indireta nas reações de Fenton, diminuindo a formação de radicais hidroxila.

Com base na alta relevância do Zn^{2+} no metabolismo humano e as possíveis complicações resultantes da sua baixa concentração, é necessário que o cátion seja monitorado e quantificado através de técnicas adequadas para detectá-lo em concentração traço.

Uma boa estratégia é o uso de sensores fluorescentes seletivos visto a capacidade de fornecer informações precisas e sensíveis sobre a presença e a concentração do analito. A espectroscopia de fluorescência é uma valiosa ferramenta para avaliar os sinais ópticos gerados pela fluorescência. A sua alta sensibilidade está relacionada com algumas características intrínsecas da técnica, sendo elas: alta relação sinal-ruído, amplificação do sinal e baixo ruído de fundo. Em conjunto, esses fatores contribuem para a alta sensibilidade da espectroscopia de fluorescência, que é especialmente útil quando se deseja detectar e quantificar substâncias em concentrações muito baixas. ^[33]

1.5 Quinolinas como sensores

1.5.1 A química da quinolina e seus derivados

A quinolina é um composto heterocíclico aromático de fórmula molecular C_9H_7N e foi extraída pela primeira vez em 1834 a partir do alcatrão – mistura complexa de HPAs que advém do processo de coqueificação do carvão. ^[34]



Figura 2: Estrutura da quinolina

A quinolina é uma base fraca ($pK_a (BH^+) = 4,85$ em água) devido à presença do átomo de nitrogênio na estrutura piridínica, que pode aceitar um próton. As reações químicas típicas da quinolina incluem a alquilação, acilação, nitração e halogenação. A quinolina também pode ser hidrogenada para formar derivados diidros e tetraidros. ^[35,36]

Os derivados de quinolina são amplamente utilizados como sensores fluorescentes devido a capacidade de formar complexos estáveis com metais e sua alta fluorescência. Estes sensores são especialmente úteis na detecção de íons metálicos e pequenas moléculas em soluções aquosas. A formação de complexos com íons metálicos, como Zn^{2+} , Cd^{2+} , e Hg^{2+} , resulta em mudanças na intensidade ou no deslocamento do comprimento de onda da

fluorescência. Isso ocorre porque a interação com o íon metálico pode alterar o estado eletrônico do fluoróforo quinolínico.^[37-41]

A presença do núcleo pi na estrutura da quinolina e de seus derivados promovem transições eletrônicas quando excitados pela radiação UV e UV-vis. A transição é comum em sistemas aromáticos como a quinolina, onde os elétrons π podem ser excitados de um orbital ligante para um orbital antiligante de maior energia. Soma-se a isso, também é possível a transição $n-\pi^*$ envolvendo a excitação de um elétron de um orbital não ligante (n) associado ao átomo de nitrogênio para um orbital π^* antiligante.^[42]

A síntese de quinolinas pode ser realizada através de duas reações de condensação: formação de base de *Schiff* seguida por uma reação aldólica intramolecular (Figura 3).

Nas duas etapas é utilizado um solvente “verde”, o etanol. Esse tipo de solvente é uma alternativa sustentável aos solventes tradicionais em reações químicas pois visam minimizar o impacto ambiental e os riscos à saúde. No caso do etanol, ele é derivado de fontes renováveis, como a cana-de-açúcar, milho, ou outros materiais vegetais, o que reduz a dependência de combustíveis fósseis não renováveis. Além disso, o uso desses solventes pode melhorar a segurança no ambiente de trabalho e reduzir custos relacionados ao manejo de resíduos e conformidade com regulamentos ambientais.

A rota pode ser considerada, portanto, como ecologicamente amigável pois além da utilização de álcoois comuns, o processo não utiliza catalisadores metálicos, evitando uma possível contaminação do produto e a geração de resíduos tóxicos.^[43,44]

Neste trabalho, o núcleo quinolínico foi preparado pela ciclocondensação de duas unidades de 2-aminoacetofenona (Figura 3, reação à direita)

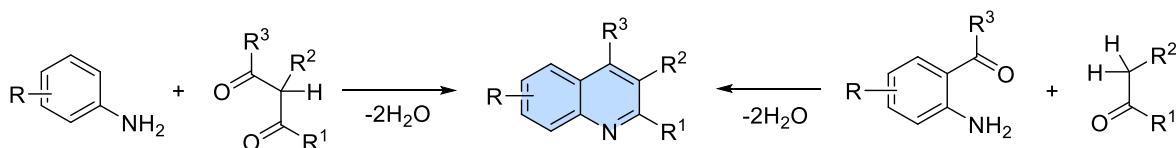


Figura 3: Estratégias sintéticas para a síntese de quinolinas

1.6 A espectroscopia UV-vis e de fluorescência

A espectroscopia UV-vis (Ultravioleta-Visível) é uma técnica analítica que permite a medição da absorção da radiação eletromagnética pelas substâncias. Esta técnica é baseada na

interação da luz com os elétrons de moléculas ou átomos, resultando em transições eletrônicas. As transições possuem energia e comprimento de onda específicos e podem ser quantificadas para fornecer informações detalhadas sobre a concentração e estrutura das substâncias analisadas. [45]

A intensidade da absorção de radiação está diretamente relacionada a concentração da substância em que está sendo analisada. Essa associação está prevista na Lei de Lambert-Beer, conforme apresentado abaixo:

$$A = \varepsilon lc$$

Equação 1: Lei de Lambert-Beer

Onde:

A = Absorvância

ε = Coeficiente de absorvidade molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

l = Comprimento do caminho ótico percorrido pela luz (cm)

c = Concentração da substância

A relação linear se mantém preciso apenas para valores de absorvância relativamente baixos. Ao ultrapassar o valor de 1, ocorrem desvios da linearidade devido a fatores como, por exemplo, o ruído instrumental. Com o aumento da absorvância, a quantidade de luz transmitida que chega ao detector diminui exponencialmente. Com menos luz chegando ao detector, o sinal se aproxima dos níveis de ruído instrumental, o que reduz a precisão e a exatidão das medições, resultando em dados menos confiáveis por diminuir a sensibilidade e desvios de linearidade. Outrossim, em altas concentrações, pode ocorrer dispersão da luz pela amostra, afetando a medição. Nessas condições, também há possibilidade de agregação e associação das moléculas, o que provoca um desvio da proporcionalidade direta entre absorvância e concentração, previsto pela lei. [46]

A sensibilidade e precisão, capacidade de detectar concentrações muito baixas, rapidez e facilidade de uso, e a natureza não destrutiva da análise, que permite múltiplas medições na mesma amostra fazem com que a espectroscopia UV-Vis se destaque em diversas áreas como bioquímica, a indústria farmacêutica e ciência dos materiais. [47-49]

A espectroscopia de fluorescência abrange as transições eletrônicas que ocorrem em átomos, íons e moléculas que estão em seu estado de mais baixa energia e a partir da excitação advinda da radiação UV-vis, esses elétrons atingem níveis energéticos de maior energia. Ao retornarem para o estado fundamental, a energia extra adquirida pela excitação precisa ser

liberada e uma das maneiras que pode ocorrer esse decaimento é através da fluorescência (mechanismo radiativo).

O diagrama de Perrin-Jablonski é uma representação gráfica fundamental na fotoquímica, ilustrando os estados eletrônicos de uma molécula e as transições entre esses estados devido à absorção e emissão de luz. Este diagrama, desenvolvido pelo químico Aleksander Jablonski, utilizando conceitos de fluorescência previamente propostos por Perrin, mapeia os estados fundamentais e excitados, tanto singletos quanto triplets, e as diversas transições que ocorrem, como absorção, relaxação vibracional, fluorescência, cruzamento intersistemas e fosforescência. ^[50]

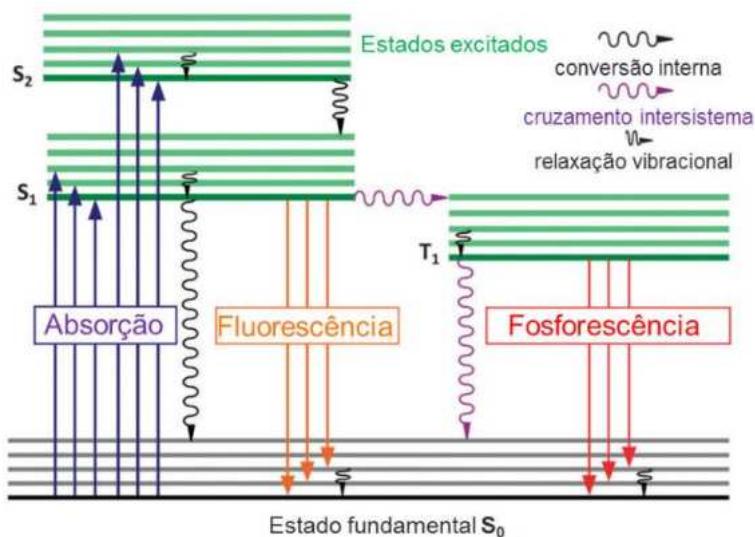


Figura 4: Diagrama simplificado de Aleksander Jablonski

MARTINS, VINICIUS; RONCONI, C. M. Redes de coordenação: planejamento, síntese, topologia e propriedades fotofísicas. *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 3, p. 1318-1341, 2017.

Em síntese, a fotoquímica é uma área interdisciplinar que explora a interação da luz com a matéria e seus fenômenos. A fotoquímica está presente no estudo e desenvolvimento de sensores químicos, cuja aplicação abrange diversos campos científicos e tecnológicos. Os sensores químicos, especialmente os sensores fluorescentes, desempenham um papel crucial ao possibilitar a detecção precisa de diversos analitos em baixas concentrações e de forma seletividade. Para as análises dos sensores, é de suma importância as espectroscopias UV-vis e de fluorescência. Essas técnicas contam com equipamentos que possuem alta relação sinal-ruído, amplificação do sinal e baixo ruído de fundo.

Os derivados da quinolina são ótimos candidatos a sensores fluorescentes devido à sua capacidade de formar complexos estáveis. Além disso, as transições eletrônicas que ocorrem em sua estrutura podem ser avaliadas pela espectroscopia UV-Vis e de fluorescência.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O trabalho visa a preparação e o estudo fotofísico de um composto quinolínico capaz de detectar fluorimetricamente o íon zinco.

2.2 Objetivos específicos

1. Síntese do intermediário 2-(4-metilquinolin-2-il)anilina, através da reação de condensação da 2-aminocetofenona.
2. A partir do precursor LRN1, sintetizar a imina LRN2 que será candidata a molécula sensor.
3. Utilizar as técnicas de caracterização como HRMS, RMN ^{13}C e RMN ^1H , IV e DRX para avaliação da estrutura dos compostos preparados. Para o estudo fotofísico serão utilizadas espectroscopia UV-Vis e de fluorescência.
4. Avaliar o comportamento do ligante na presença de outros cátions com auxílio das técnicas de espectroscopia UV-vis e de fluorescência. Também serão realizados experimentos de competição entre Zn^{2+} e outros cátions.
5. Avaliar a relação da concentração do metal com a intensidade de fluorescência, a fim de determinar a constante de associação (K_a) e os limites de detecção (LoD) e de quantificação (LoQ) do sensor.
6. Determinar a estequiometria de complexação através do Job Plot .
7. Estudar como a temperatura afeta a emissão do complexo LRN2: Zn^{2+}
9. Avaliar a utilidade do sensor em amostras reais.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Todos os reagentes utilizados nas etapas de sínteses foram adquiridos da Sigma-Aldrich e foram usados como recebidos. Solventes grau P.A. foram da marca Vetec, enquanto os de grau HPLC foram da marca Tedia.

3.1 Síntese dos compostos LRN1 e LRN2

A síntese da molécula ligante LRN2 foi realizada em duas etapas, sendo a primeira, a síntese do precursor LRN1 (**Figura 6**), contendo o núcleo aminofenil-quinolina.

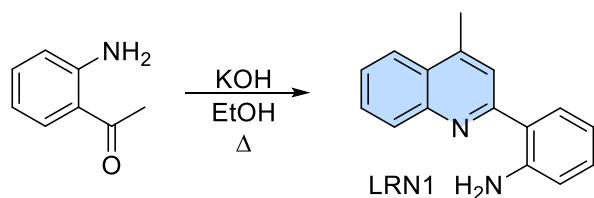


Figura 5: Síntese de LRN1 – primeira etapa da reação

Síntese da 2-(4-metilquinolin-2-il)anilina (LRN1). Em um balão de 25mL (14/20), adicionou-se 7,39 mmol (1,0 g) de 2-aminoacetofenona, 23 mmol (1,29 g) de KOH e 5 mL de etanol. A seguir, a mistura foi aquecida sob refluxo por 3h. O andamento da reação foi acompanhado por CCD, usando placas de sílica e misturas de hexano/acetato de etila como eluentes. Adicionou-se água à mistura reacional e extraiu-se com acetato de etila (3x 20mL), secou-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro e filtrou-se através de uma coluna de sílica. Por fim, evaporou-se o solvente em evaporador rotatório. Obteve-se um sólido amarelo acastanhado com rendimento de 43%.

Na segunda etapa, ocorreu a síntese do LRN2 (Figura 7), molécula candidata a sensor.

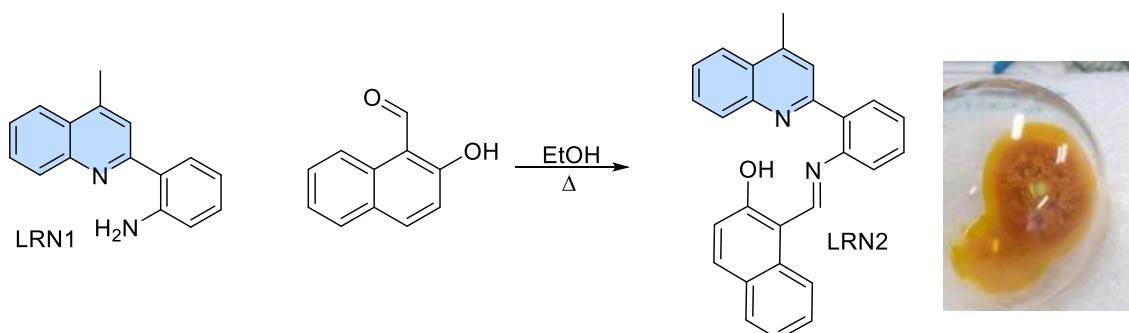
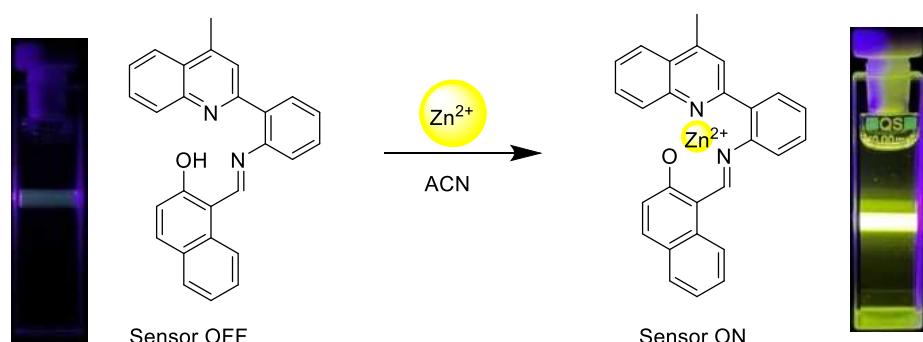


Figura 6: Síntese de LRN2 – etapa final da reação

Síntese do d1-(((2-(4-metilquinolin-2-il)fenil)imino)metil)naftalen-2-ol (LRN2). Em um balão de 25mL (14/20), adicionou-se 1,69 mmol (0,34 g) de LRN1, 1,7 mmol (0,29 g) de 2-hidroxi-1-naftalenocarboxialdeído e 10 mL de etanol. A seguir, a mistura foi aquecida sob refluxo por 2h. O andamento da reação foi acompanhado por CCD, usando placas de sílica e misturas de hexano/acetato de etila como eluentes. Removeu-se o condensador e deixou-se sob aquecimento para retirada de boa parte do solvente (~ 50% do volume). O precipitado obtido foi filtrado em funil sinterizado, lavado com etanol gelado e seco à temperatura ambiente. Obteve-se 0,533g de um sólido amarelo com rendimento de 82% .

A reação de formação do complexo se dá pela interação do íon metálico com o centro coordenante da molécula ligante, conforme representada simplificadamente no **Esquema 2**. A reação pode ser acompanhada através do teste na cubeta. Na cubeta à esquerda, apenas LRN2 em ACN e na cubeta à direta, LRN2 em ACN com adição de $Zn(NO_3)_2$.



Esquema 2: Reação simplificada de formação do complexo LRN2:Zn²⁺

3.2 Caracterização

a) Espectroscopia na região do infravermelho

O equipamento utilizado foi um espectrômetro NICOLET 6700 MAGNA. Para estas medidas utilizou-se pastilha de KBr e a região analisada foi compreendida entre 4000-400cm⁻¹.

b) Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um espectrômetro de massas híbrido Quadrupolo-Orbitrap de alta resolução e exatidão em massas modelo Thermo QExactive (Thermo Scientific) com fonte de ionização por eletronebulização (*electrospray*).

c) Espectroscopia de RMN

Os espectros de RMN ¹³C e de RMN ¹H foram registrados em um aparelho Bruker BioSpin GmBH com frequência 500 MHz para hidrogênio e 125 MHZ para carbono à temperatura de 298K. Cerca de 20 mg de cada amostra foi pesada e solubilizada em 0,6 mL de acetona-d6 (Cambridge Isotope).

d) Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram determinados utilizando um aparelho de ponto de fusão da Fisatom (modelo 431) e não foram corrigidos.

e) Espectroscopia de absorção na região do UV-vis

Os espectros de absorção UV-vis foram obtidos utilizando o espectrofotômetro Shimadzu UV-2450, variando-se os comprimentos de onda de 200- 600nm. As amostras foram acondicionadas em cubetas de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

1. Coeficiente de absorvidade molar (ϵ)

Para cada solvente mencionado em 3.6.1, foram preparadas soluções de **LRN2** de concentração entre 1x 10⁻⁴ mol.L⁻¹ e a partir delas, foi realizada em média 8 diluições para acompanhar a variação da absorvância nas bandas mais intensas em relação a concentração de **LRN2**. Assim, foi possível determinar o ϵ para cada solvente.

2. Comportamento do ligante e do complexo LRN2:Zn²⁺ em diferentes níveis de acidez. Através do preparo de soluções com pH variando de 1 a 12. Foi determinado os espectros de absorção e de fluorescência.

f) Espectroscopia de emissão de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos utilizando o espectrofluorímetro da Edinburgh Instruments, modelo F900, com lâmpada de Xe (Xe900, 450W) e monocromador TMS300, e acondicionando as soluções em cubetas de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

A varredura do espectro ocorreu no intervalo de 462 a 700nm com excitação em $\lambda = 442\text{nm}$ e DO = 0,1 .

g) Espectros de emissão de fluorescência com variação de temperatura

Os espectros foram obtidos no espectrofluorímetro Jasco, modelo FP-8250 com controlador de temperatura Koolance. Foi preparada uma solução contendo LRN2 e outra com LRN2:Zn²⁺ (proporção 1:3), ambas em ACN. Foi acompanhado, então, a variação da emissão de fluorescência de ambas as soluções em um intervalo de temperatura de 0 a 70°C.

Tabela 2: Concentrações das soluções de LRN2 e Zn²⁺ utilizadas no fluorímetro com variação de temperatura

	[LRN2] mol/L em ACN	[Zn ²⁺] mol/L em ACN
Solução 1	$6,5 \times 10^{-6}$	-
Solução 2	$6,3 \times 10^{-6}$	$2,3 \times 10^{-5}$

h) Difração de Raios X

Os dados de difração de raios X foram obtidos no difratômetro D8 venture (Bruker) equipado com um detector CMOS (Complementary metal–oxide–semiconductor) a 286 K. Os cristais foram obtidos pelo método de análise de difração de raios X de monocrystal. O cristal, de alta qualidade e pureza, foi irradiado com feixes de raios X. À medida que o aparato onde está alocado o cristal é girado, os raios difratados são detectados criando um padrão de difração tridimensional. Dessa forma, é produzida a imagem em 3D do cristal, o Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot (ORTEP).

3.3 Aplicação em amostra real

O sensor foi testado, de forma qualitativa, em 3 matrizes diferentes e em todas elas, acompanhou-se a emissão em 540 nm .

1. Vitamina C + Zinco

Em um bêquer contendo 100mL de água, foi adicionado meia patilha efervescente de Aceviton Zinco ®. Após o fim da liberação do gás, foi retirado 100uL da solução e adicionado em uma cubeta contendo 2,5mL de ACN; Em seguida, alíquotas do ligante foram adicionadas na cubeta e os espectros de emissão foram obtidos.

2. Suco Ades ® e leite Integral

Tanto o suco quanto o leite, possuem no rótulo da embalagem a indicação da presença de zinco. Logo, o objetivo é conseguir detectar o íon através do sensor LRN2.

Em um pote de vidro contendo 100uL de LRN2 em 3mL de ACN, foi adicionado 100uL do suco. A solução foi colocada em câmara escura com lâmpada UV $\lambda=400\text{nm}$ de exc. O mesmo procedimento foi realizado para o leite integral.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização estrutural

4.1.1 Síntese e caracterização de LRN1

Na primeira etapa da reação, obteve-se um sólido amarelo acastanhado (LRN1) com rendimento de 43%. O acompanhamento da reação com CCD mostrou que os reagentes foram consumidos, o que restringe a possível explicação do baixo rendimento à formação de subprodutos. Acredita-se que perdas de material durante a etapa de extração podem ter contribuído ao baixo rendimento. O produto foi caracterizado por espectrometria de massas de alta resolução (EMAR), sendo a valor de massa encontrada ($m/z = 235,12308$) coerente com o valor de massa calculada ($m/z = 235,12297$) (**Figura 7**)

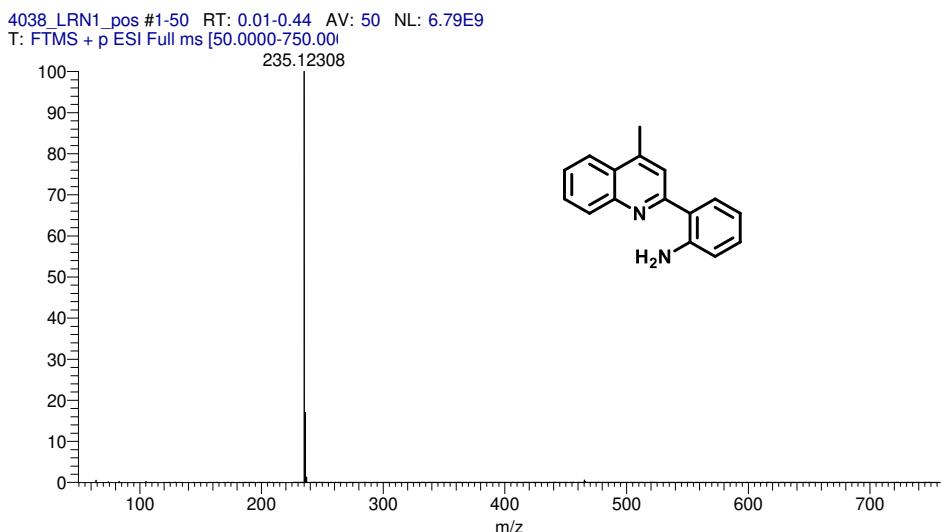


Figura 7: Espectro de massas do composto LRN1

4.1.2 Síntese e caracterização de LRN2

A seguir, na segunda etapa, o composto LRN2 foi sintetizado com 81% de rendimento, o que já era esperado para reações similares realizadas nos artigos de referência (formação de iminas).

Apesar do baixo rendimento na primeira etapa da reação, a síntese da imina na segunda etapa foi muito satisfatória. Ambas as etapas ocorreram com o uso de solventes ecologicamente amigáveis, sob temperaturas brandas e com pouco tempo de reação, além de não terem sido necessárias etapas extras de purificação.

A faixa de temperatura de fusão encontrada para LRN2 foi de 149-150°C, indicando alto grau de pureza do composto preparado. O seu espectro de massas de alta resolução forneceu o íon molecular m/z 389,16442, calculado para C₂₇H₂₁N₂O (Figura 8). O m/z encontrado condiz com a estrutura esperada para o ligante, confirmando, então, a síntese de LRN2.

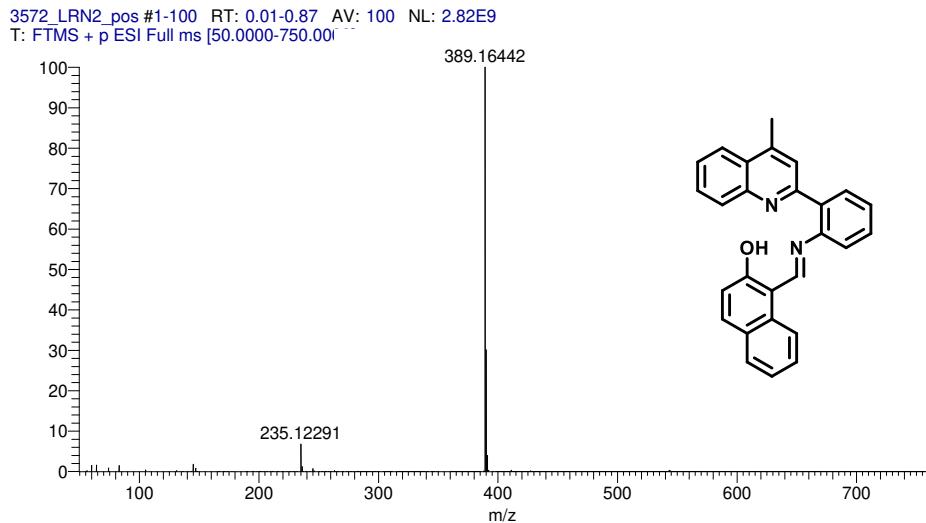


Figura 8: Espectro de massas do composto LRN2

O espectro na região do infravermelho para LRN2 indicou a presença de uma banda larga em 3427 cm⁻¹, atribuída ao estiramento O-H (Figura 9). As bandas características de estiramentos C=N e C=C foram observadas em 1624 cm⁻¹ e 1606 cm⁻¹, respectivamente. A partir dessas informações, pode-se concluir que a molécula LRN2 existe, no estado sólido, na forma enol-imina.

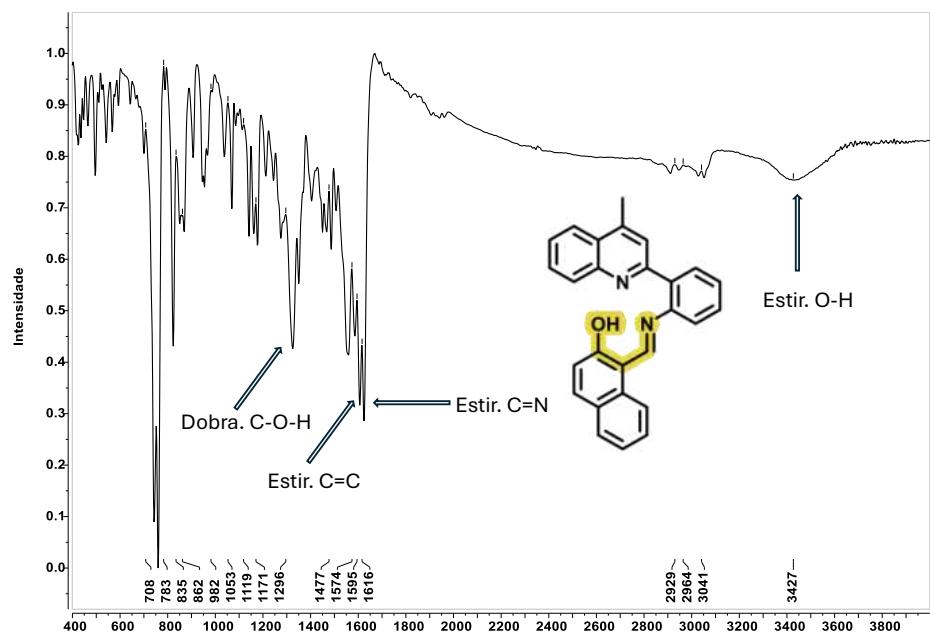


Figura 9: Espectro no IV do composto LRN2

As análises por RMN foram fundamentais para confirmar a estrutura do ligante LRN2.

Na Figura 10, mostra-se o espectro de ^1H -RMN de LRN2, usando acetona como solvente. Nesse espectro, destacam-se os sinais em δ 15,70 e δ 9,68, sendo ambos dubletos com constante de acoplamento de 7,8 Hz. Através do espectro bidimensional de correlação homonuclear H-H, COSY, foi possível identificar que esses dois hidrogênios acoplam entre si, sugerindo que o ligante LRN2 existe na forma ceto-enamina quando dissolvido acetona.

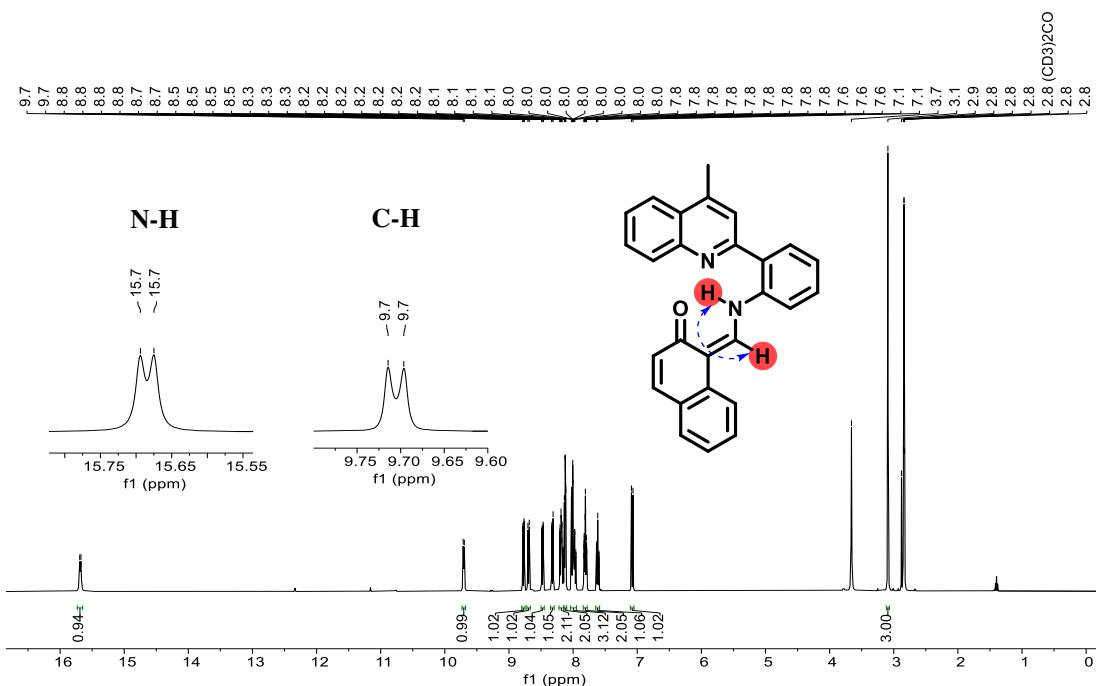


Figura 10: Espectro de 1H -RMN de LRN2

Segundo a literatura^[53], saliciladiminas podem existir como uma mistura de tautômeros enol-imina e ceto-enamina, tendo como estrutura intermediária a forma zwitteriônica (**Figura 11**).

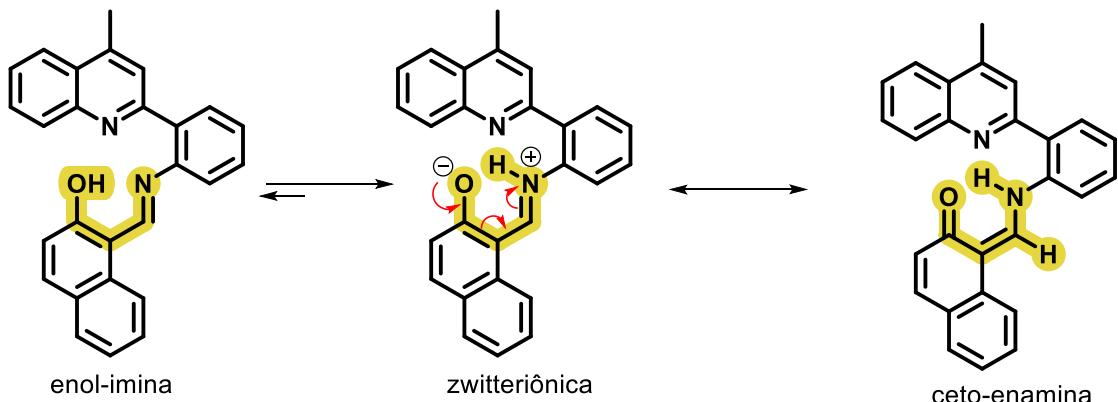


Figura 11: Equilíbrio tautomérico para o ligante LRN2

Conforme esperado, o espectro de RMN de ^{13}C indicou a presença de 27 sinais, enquanto o espectro DEP-135 revelou 17 sinais atribuídos a carbonos C-H. No espectro ^{13}C -RMN, destaca-se o sinal em δ 173,3 atribuído ao carbono carbonílico da forma ceto-enamina (**Figura 12**).

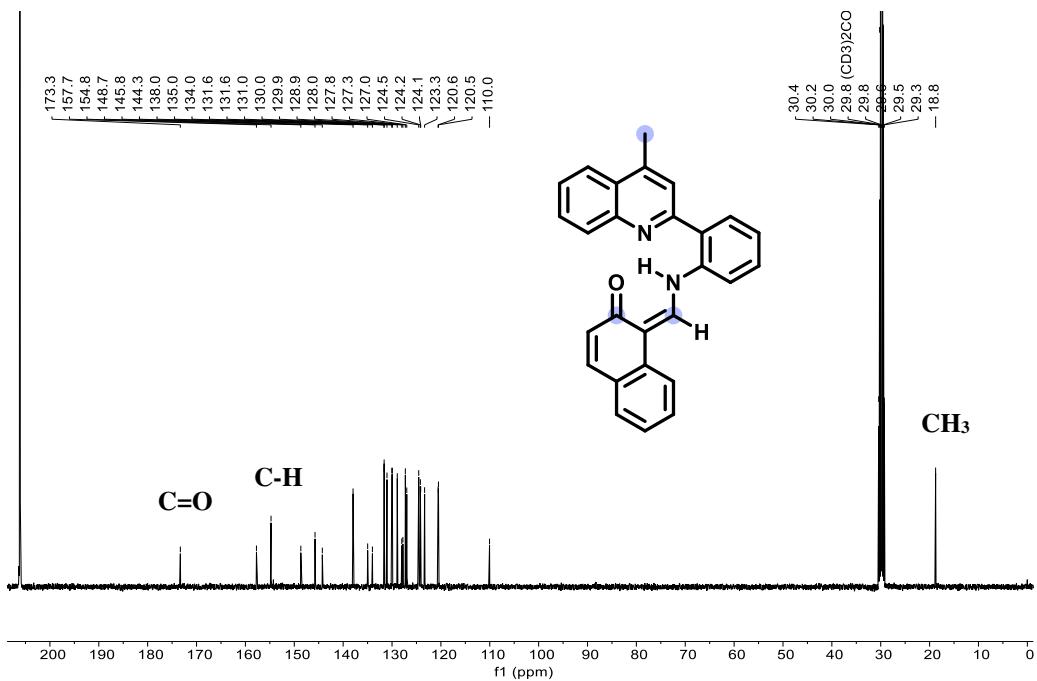


Figura 12: Espectro de ^{13}C -RMN de LRN2

4.2 Caracterização fotofísica

4.2.1 Espectroscopia na região do UV-Vis

A partir da solução estoque do ligante cuja concentração é $2,5 \times 10^{-4}$ mol/L, foram retiradas alíquotas desta e adicionadas em cubeta de quartzo contendo 2mL do solvente. Em seguida, foi obtido o espectro eletrônico no intervalo de 200 a 700nm do ligante em DMSO, ACN, TOL e MeOH. Os espectros mostraram que não houve solvatocromismo com a diferença de polaridade dos solventes. Dessa forma, a coloração da solução de LRN2 se manteve amarela.

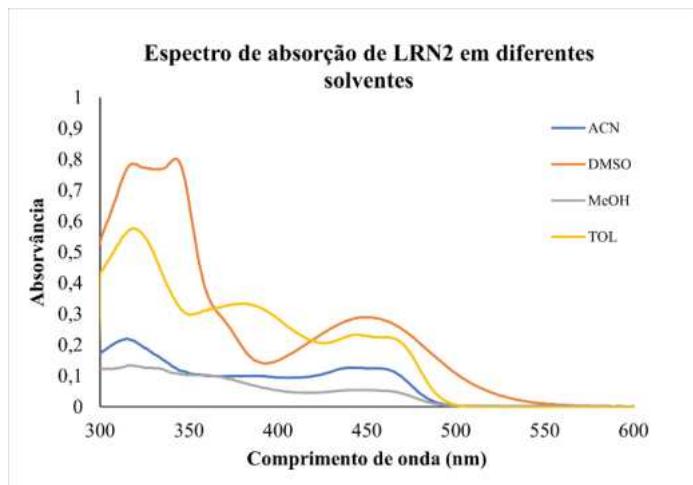


Figura 13: Espectro eletrônico de LRN2 em ACN, DMSO, MeOH e TOL

Ao comparar os 4 solventes em relação aos respectivos coeficientes de absorvidade molar obtidos, verificou-se que no solvente ACN, o ligante LRN2 apresentou o maior valor de ϵ no λ máx. Em todos os casos, os valores de epsilon indicaram transições eletrônicas de natureza π, π^* .

Tabela 3: Valores de ϵ de LRN2 em diferentes solventes e comprimentos de onda

Solvente	MeOH	TOL	DMSO	ACN
$\lambda_{\text{máx}} (\text{nm})$	445	463	450	442
Epsilon	5652,7	7189,6	8191,3	11407
R^2	0,9968	0,9997	0,9989	0,9979

Com base nos valores discriminados na **Tabela 3**, solvente ACN foi escolhido para ser utilizado nos demais experimentos que foram realizados com LRN2 e suas aplicações.

O coeficiente de absortividade molar (ϵ) está diretamente relacionado com a probabilidade de ocorrência de transições eletrônicas dentro de uma molécula. A magnitude de ϵ reflete o quanto provável que uma transição eletrônica específica ocorra quando a molécula absorve luz. Para transições do tipo $\pi-\pi^*$, que ocorrem em sistemas conjugados ou anéis aromáticos, a probabilidade é alta devido à forte interação entre os orbitais π e π^* e às regras de seleção favoráveis, tornando-as permitidas. Assim, essas transições são caracterizadas por altos valores de epsilon, geralmente na faixa de 10000 – 100000 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.^[54]

Por outro lado, as transições do tipo $n-\pi^*$ são classificadas como proibidas e, portanto, apresentam valores de ϵ mais baixos, tipicamente na faixa de 100 a 1000 $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

O epsilon é um parâmetro importante para identificar em qual solvente que há maior absorção de luz pela molécula. Relacionando com a Lei de Lambert-Beer, quanto maior o epsilon, melhor será a quantificação da substância na solução. Em ACN, o ligante LRN2 apresentará uma absorvância maior para a mesma concentração e caminho ótico.

4.2.2 Testes preliminares de emissão de fluorescência

No estado sólido, LRN2 apresenta emissão de na região do amarelo quando excitado em 440nm.



Figura 14: Sólido LRN2 obtido de coloração amarela



Figura 15: LRN2 impregnado em papel de filtro sob radiação UV

Em solução, o comportamento do ligante é diferente. Não foi observado emissão de fluorescência em ACN, MeOH, TOL e DMSO. Entretanto, testes qualitativos indicaram que na presença de Zn^{2+} o ligante passa a emitir. A foto da cubeta (**Figura 17**) representa o teste de emissão do ligante LRN2 na presença de cloreto de zinco.



Figura 16: LRN2 em ACN – ausência de emissão de fluorescência



Figura 17: LRN2 com ZnCl_2 em ACN – emissão de fluorescência

A proposta do que pode ter acontecido com o ligante, na presença de Zn^{2+} , está descrita no **Esquema 2**. LRN2, na ausência de Zn^{2+} apresentara-se como uma molécula sensor no estado “OFF”, porém, na presença de Zn^{2+} , foi possível observar emissão de fluorescência o que representaria a molécula no modo “ON”.

A emissão de fluorescência poderia ser explicada pela interação do Zn^{2+} no centro nucleofílico da molécula ligante, resultando na formação de um complexo. Essa interação, por sua vez, pode resultar no Mecanismo RIR-*restriction of intramolecular rotations*, diminuindo os canais de desativação térmica por rotações de ligações e facilitando o processo de emissão.

Em muitas moléculas, partes da estrutura podem girar livremente ao redor de ligações simples, o que pode dissipar a energia de excitação na forma de calor, ao invés de emitir fluorescência. Quando a rotação intramolecular é restringida, a dissociação da energia via movimentos rotacionais é impedida. Consequentemente, a energia excitada é mais propensa a ser liberada via radiativa, através da fluorescência. [55,56]

Em complexos metálicos, a interação do metal com o ligante pode restringir a rotação intramolecular. Isso pode levar a um aumento significativo na eficiência quântica da fluorescência.

Para confirmar a participação da hidroxila no processo de complexação, foram realizados estudos por RMN de LRN2 na presença de proporções diferentes de zinco. Observou-se que, conforme aumentou-se os equivalentes de zinco, o sinal do hidrogênio hidroxílico, em 15,70 ppm, foi diminuindo, sendo praticamente extinto na presença de 2 eq. de zinco (**Tabela 4**)

Tabela 4: Variação da área integrada A_{Me} e A_{OH} com diferentes equivalentes molares de zinco.

Eq. de Zn^{2+}	Área integrada- CH_3 (A_{Me})	Área integrada- OH (A_{OH})	A_{Me}/A_{OH}
0	3	1	3
0,2	3	0,94	3,2
0,5	3	0,86	3,5
1	3	0,68	4,4
2	3	0,13	23,1

4.3 Difração de raios-X

A técnica de difração de raios-x foi extremamente útil para determinar a estrutura do complexo LRN2:Zn²⁺ soma-se a isso, a estequiometria do complexo. O complexo foi formado a partir de uma solução de LRN2 em ACN e Zn(NO₃)₂. A cristalização do complexo ocorreu de maneira espontânea, após a evaporação lenta do solvente. Após algumas semanas da amostra reservada em ambiente fresco e sem contato com a luz, obteve-se, então, cristais amarelos do complexo.

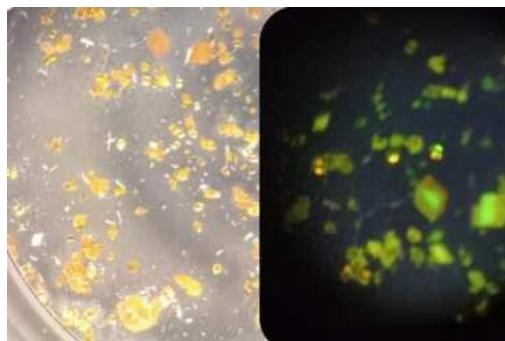


Figura 18: À esquerda, cristais de LRN2:Zn²⁺ na luz visível e à direita sob luz UV.

Como resultado, foi confirmado que o íon metálico complexa com o centro nucleofílico da molécula sensora na proporção prevista pelo Job Plot. O íon nitrato liga-se ao Zn pelos dois oxigênios. O LRN2 atua como ligante tridentado, levando a uma estrutura trigonal bipiramidal. Essa estrutura confirma os resultados obtidos por RMN, indicando que a hidroxila também participa do processo de complexação.

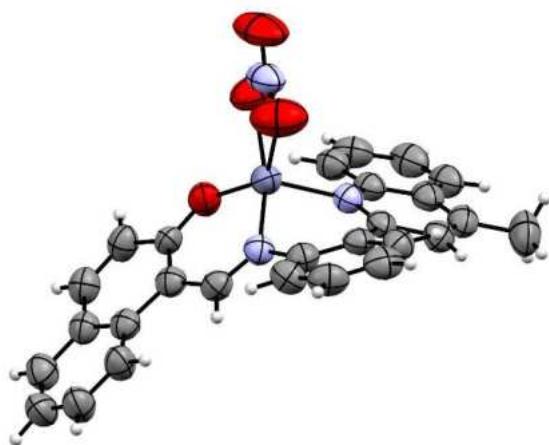


Figura 19: ORTEP para o complexo LRN2:Zn²⁺ obtido por difração de raios X (XRD) usando Zn(NO₃)₂ como fonte de Zn²⁺.

4.4 Sensoriamento de cátions

4.4.1 Efeito da presença de diferentes cátions metálicos na emissão de fluorescência

A fim de determinar a seletividade do ligante para Zn^{2+} , foram analisadas as emissões de fluorescência do ligante na presença de diferentes cátions. O Zn^{2+} foi o único íon cuja presença resultou em emissão de fluorescência significativa em 550nm. A presença do Ni^{2+} gerou uma resposta de emissão inferior a proporcionada pelo Zn^{2+} e em diferente comprimento de onda, o que mostra que ambos são facilmente diferenciados através do máximo de suas respectivas bandas. Soma-se a isso, os demais íons não resultaram na emissão de fluorescência quando estão na presença do ligante LRN2.

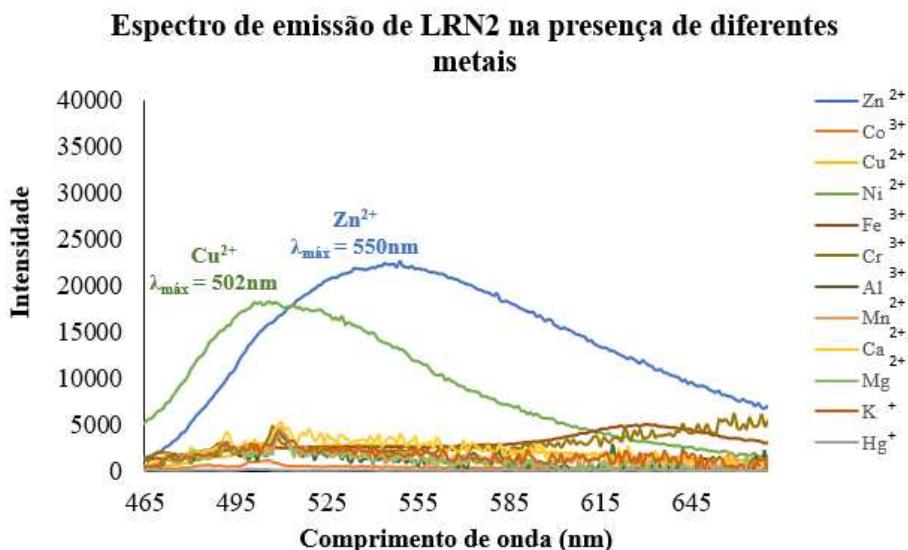


Figura 20: Emissão de LRN2 na presença de diferentes cátions

À princípio, não era possível garantir a seletividade exclusiva do sensor para o Zn^{2+} sem antes realizar o experimento de competição com diferentes íons metálicos e Zn^{2+} .

4.4.2 Efeito da competição entre Zn^{2+} e demais cátions na emissão de fluorescência

O experimento de competição foi realizado através da análise de intensidade de emissão de fluorescência em 550nm para soluções contendo $LRN^{2+}X$ e $LRN^{2+}X+Zn^{2+}$ onde X = íon metálico diferente de Zn^{2+} . O experimento mostrou que não houve emissão de fluorescência significativa para soluções que continham apenas o ligante e outro íon metálico.

Ao adicionar Zn^{2+} na solução contendo $LRN2 + X$ observamos que a emissão de fluorescência é similar à emissão causada apenas pela mistura $LRN2 + Zn^{2+}$. Ou seja, a presença

de outro íon não afeta a emissão de fluorescência provocada pelo Zn^{2+} . Para os íons Fe^{3+} , Cr^{3+} e Hg^{+} a emissão de fluorescência foi suprimida, o que sugere o fenômeno de supressão (quenching) causado pelos metais pesados.^[57-59] No caso do Pb^{2+} , acredita-se que houve emissão pois o sal de chumbo possuía baixa solubilidade em ACN, logo, poucos cátions estavam disponíveis.

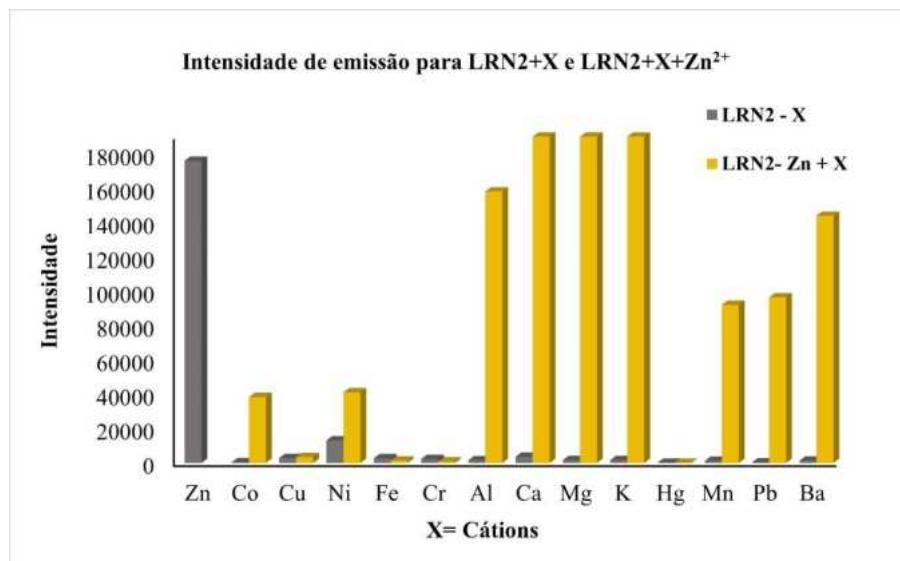


Figura 21: Experimento de competição entre diferentes cátions

Tendo em vista os resultados promissores para o ligante LRN2 em relação à seletividade do sensor para Zn^{2+} , os experimentos em diante tiveram ênfase na deteção do íon metálico em diferentes concentrações.

4.4.3 Efeito da concentração de Zn^{2+} na emissão de fluorescência

As crescentes adições de Zn^{2+} em solução $2,56 \times 10^{-6}$ mol/L de LRN2 em ACN mostraram a formação de uma banda de emissão de fluorescência em 550nm. Essas bandas tiveram sua intensidade aumentada com as adições de equivalentes molares de Zn^{2+} . Pelo espectro, podemos observar que a emissão de fluorescência já é detectada com apenas 0,2 equivalentes molares de Zn^{2+} o que equivale a $5,81 \times 10^{-10}$ moles de Zn^{2+} . Esse resultado demonstra a alta sensibilidade do sensor para o íon de interesse. A partir de 10 equivalentes molares de Zn^{2+} a intensidade de emissão se estabiliza, mostrando que todos os centros nucleofílicos do ligante estão complexados com o íon metálico.

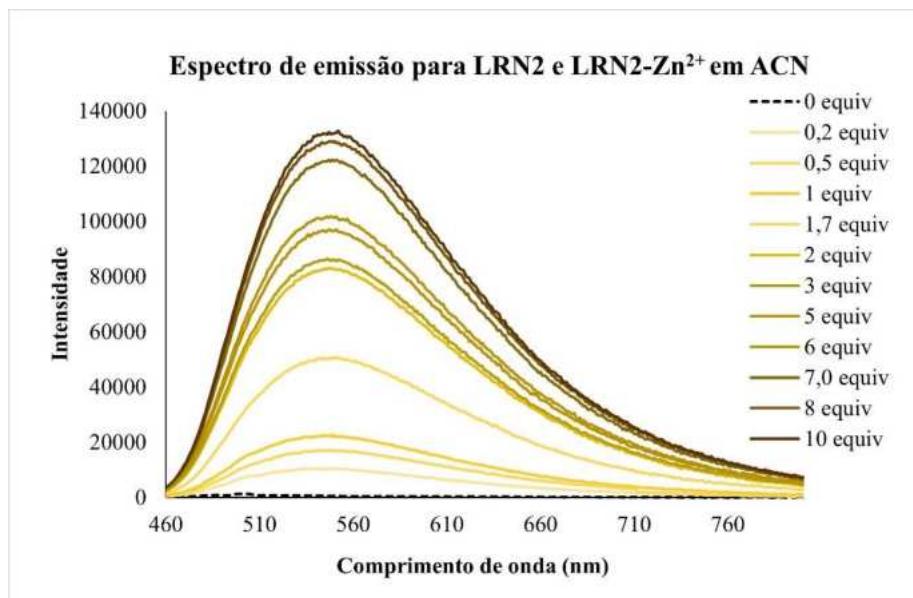


Figura 22: Emissão de LRN2:Zn²⁺ para diferentes concentrações de Zn²⁺

A emissão correspondente a 0,2 equivalentes molares também pode ser observada ao olho nu quando se utiliza apenas uma caneta laser para excitar a amostra (Figura 23).

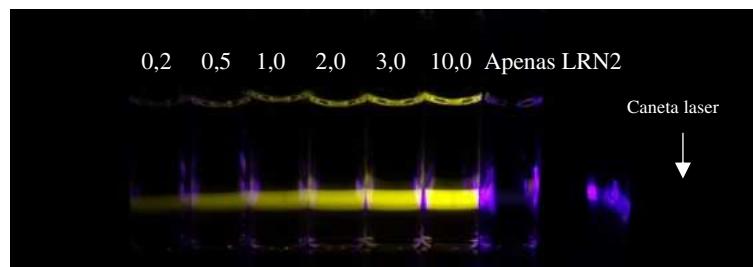


Figura 23: Cubetas com soluções de LRN2 contendo diferentes concentrações de Zn²⁺ sob excitação UV



Figura 24: Emissão de LRN2:Zn²⁺ em ACN

4.5 Efeito da variação do pH

4.5.1 Espectroscopia UV-Vis

A espectroscopia UV-Vis do ligante em diferentes níveis de acidez foi avaliada. Os espectros obtidos mostraram que em baixos valores de pH houve o desaparecimento da banda em 442nm que, inclusive confere a coloração amarela à solução. Portanto, conforme a acidez aumentava, a solução se tornava mais transparente, perdendo a coloração original. o espectro preto tracejado representa o ligante apenas em ACN. os demais espectros mostram o ligante em ACN, mas com variação de pH através de tratamento com HCl e NaOH.

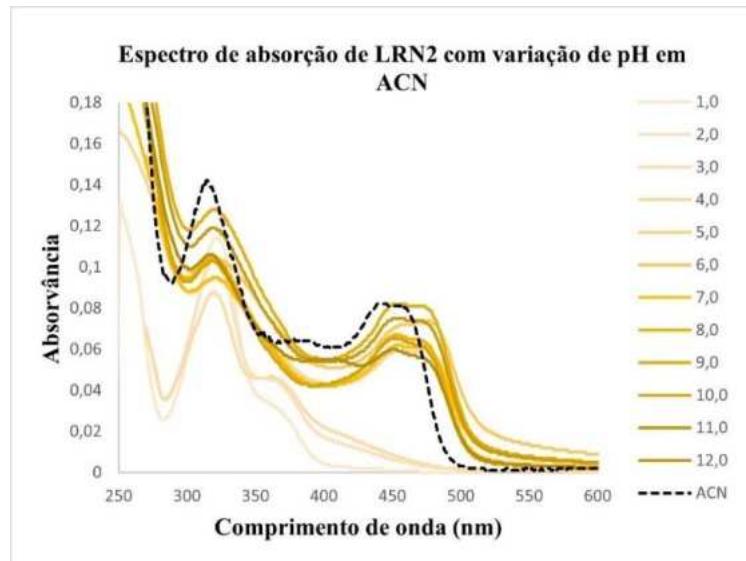


Figura 25: Espectro eletrônico de LRN2 em ACN com variação de pH

Na presença do Zn^{2+} , o comportamento das bandas de absorção não ficou muito diferente quando comparadas a ausência do cátion.

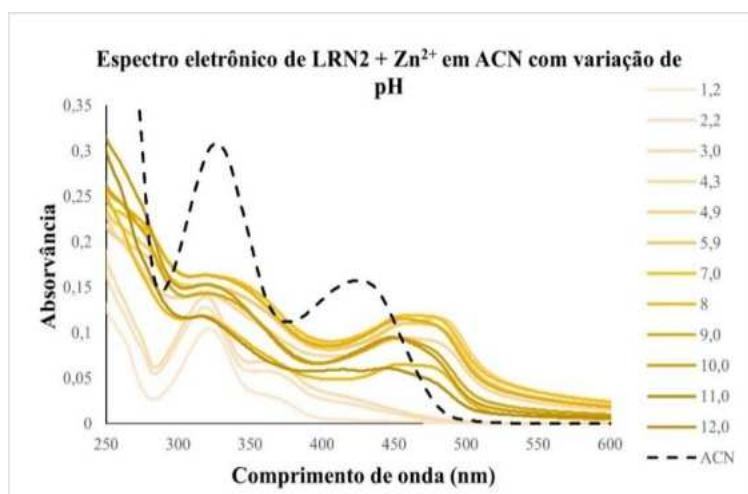


Figura 26: Espectro eletrônico de LRN2 em ACN com variação de pH na presença de Zn^{2+}

Da mesma forma que ocorreu na ausência do cátion, a banda cuja absorção é máxima, desapareceu conforme a acidez do meio aumentava. Esse fato está relacionado com a protonação do centro nucleofílico do ligante, inclusive ganhando a ‘competição’ com o Zn^{2+} .

4.5.2 Espectroscopia de fluorescência

Em elevados níveis de acidez, foi observado a formação de uma banda em 430 nm. Essa banda pode estar relacionada com a protonação do centro nucleofílico da molécula preferencialmente em relação ao Zn^{2+} . Conforme a acidez diminui, a banda característica de emissão do complexo em 550 nm volta a surgir no espectro, retomando à fluorescência causada pela formação do complexo LRN2: Zn^{2+} .

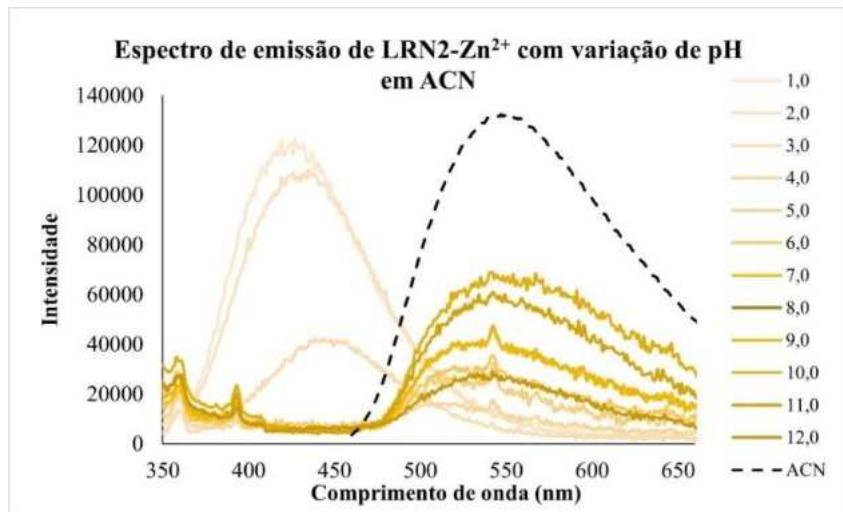


Figura 27: Espectro de emissão de LRN2 em ACN com variação de pH na presença de Zn^{2+}

4.6 Estequiométrica do complexo LRN2: Zn^{2+}

No experimento do Job Plot foi observado a intensidade de emissão de fluorescência do complexo LRN2: Zn^{2+} para diferentes frações molares de Zn^{2+} .

A concentração da solução LRN2 + Zn^{2+} foi fixada em $1,9 \times 10^{-5}$ mol/L em ACN. Dessa forma, foram preparadas 10 soluções com diferentes proporções do ligante e do íon metálico.

Tabela 5: Dados de intensidade de emissão e fração molar do metal utilizados no experimento Job Plot.

Intensidade (I)	I- Io	Fração molar (X) de Zn^{2+}	(I- Io) X
1.770	-	0	-
17.900	16130	0,1	14.517
23.800	22030	0,2	17.624
31.200	29430	0,3	20.601
48.900	47130	0,4	28.278
59.100	57330	0,5	28.665
44.700	42930	0,6	17.172
40.000	38230	0,7	11.469
32.700	30930	0,8	6.186
14.200	12430	0,9	1.243
1.120	-650	-	-

A intensidade de emissão na presença do Zn^{2+} está representada por I e a intensidade de emissão de fluorescência na ausência do íon está representada por Io. X é a fração molar de Zn^{2+} presente na solução. Através dos dados obtidos, é possível observar que o maior valor de intensidade de emissão corresponde a fração 0,5, ou seja, quando há concentrações iguais de ligante e metal. Este resultado está diretamente relacionado com a estequioimetria do complexo que, para LRN2: Zn^{2+} é igual a 1:1.

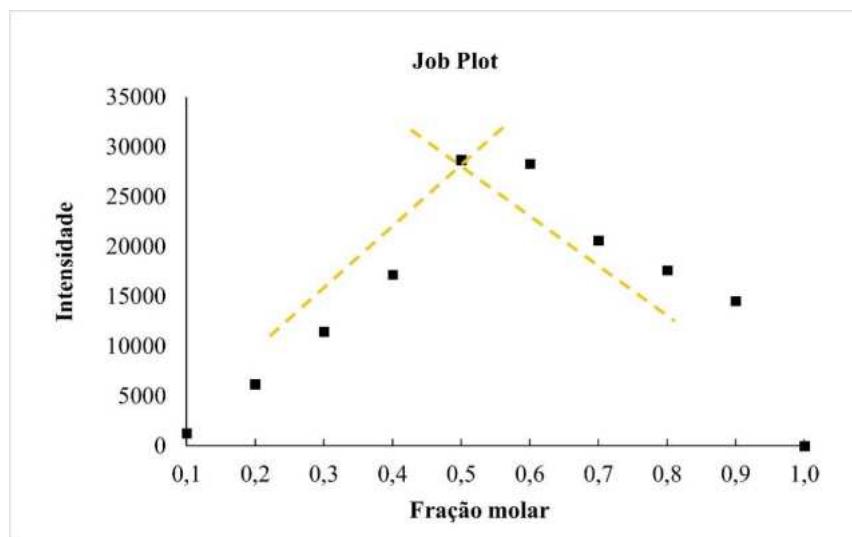


Figura 28: Gráfico Job Plot para LRN2: Zn^{2+} em ACN

4.7 Constante de associação Ka

Com os valores extraídos do gráfico da Figura 22 foi possível determinar a constante de associação Ka do complexo LRN2:Zn²⁺ através do gráfico 1/(I-I₀) vs 1/[Zn²⁺].

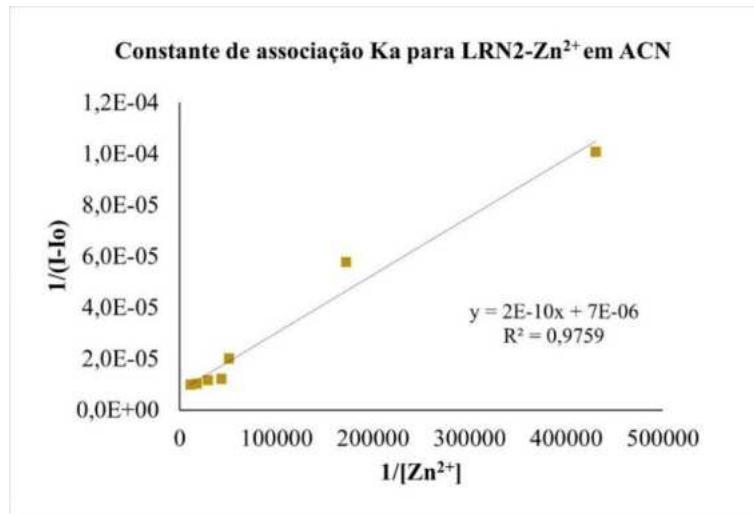


Figura 29: Método Benesi-Hildebrand para obtenção do valor de Ka

Este gráfico é resultante da equação de Benesi-Hildebrand e através dele podemos extrair o valor de Ka pela razão do coeficiente linear pelo coeficiente angular da reta.

O valor de Ka indica a estabilidade do complexo formado e é expresso como a razão entre a concentração do complexo formado e as concentrações dos componentes não ligados no equilíbrio. Complexos metálicos com valores altos de Ka são geralmente considerados muito estáveis e tendem a se formar facilmente e a resistir à dissociação.^[60,61] Para Ka >10⁶, tem-se uma associação muito forte. Entre 10³ e 10⁶ L/mol, os complexos possuem uma associação moderada, resultando em uma estabilidade média.

$$\frac{1}{F - F_0} = \frac{1}{\{Ka \times (F_{max} - F_0) \times [Zn^{2+}]\}} + \frac{1}{F_{max} - F_0}$$

Equação 2: Benesi-Hildebrand

Onde:

F = Intensidade de emissão

F₀ = Intensidade de emissão na ausência do metal

Ka = Constante de associação

F_{max} = Intensidade máxima de emissão do complexo

O valor de Ka do complexo é de $3,5 \times 10^4 \text{ L/mol}$. Para esta ordem da constante, têm-se, portanto, uma afinidade significativa entre o ligante e o Zn^{2+} . [62]

4.8 Limites de detecção LoD e de quantificação LoQ

Os limites de detecção LoD e de quantificação LoQ também foram determinados através dos valores extraídos do gráfico apresentado na **Equação 3**.

$$LoD = \frac{3xSy/x}{S} = 3,56 \mu\text{M} \sim 9 \text{ nmol}$$

$$LoQ = \frac{10xSy/x}{S} = 11,9 \mu\text{M} \sim 29,6 \text{ nmol}$$

Equação 3: Limites de detecção LoD e quantificação LoQ

Onde, Sy é a regressão linear do desvio padrão das intensidades de emissão. O limite de detecção é a menor quantidade de analito que pode ser detectada sem precisão e acurácia suficientes, enquanto o limite de quantificação é a menor quantidade que pode ser detectada com precisão e acurácia suficientes. [63]

Ambos os limites apresentaram valores baixíssimos, da ordem de nmol. Dessa maneira, a sensibilidade prevista nos espectros de emissão de fluorescência pôde ser quantificada.

Comparando os valores de Ka e de LoD com os encontrados na literatura de outros sensores seletivos para Zn^{2+} , é possível observar que a constante de associação de LRN2: Zn^{2+} está na mesma ou muito próxima da ordem de grandeza dos demais para estruturas relativamente parecidas.

LRN2 possui baixo valor de LoD mas quando comparado aos demais sensores, houve uma discrepância.

Tabela 6: *Ka e LoD de sensores seletivos para Zn^{2+} encontrados na literatura*

4.9 Cálculo da variação de entalpia da formação do complexo

A variação da temperatura é um parâmetro de suma importância no comportamento do complexo LRN2:Zn²⁺ visto a sua influência na emissão de fluorescência.

Para a Solução 1, que contém apenas o ligante, não foi observado emissão de fluorescência em 550nm no intervalo de temperatura de 0 – 70°C. O resultado já era esperado visto que o ligante, por si só, não apresenta emissão de fluorescência quando está em solução.

Para a solução 2, que contém o ligante e o Zn²⁺ na proporção 1:3, foi observado a diminuição da emissão de fluorescência com o aumento da temperatura. Esses resultados estão melhor representados na figura X.

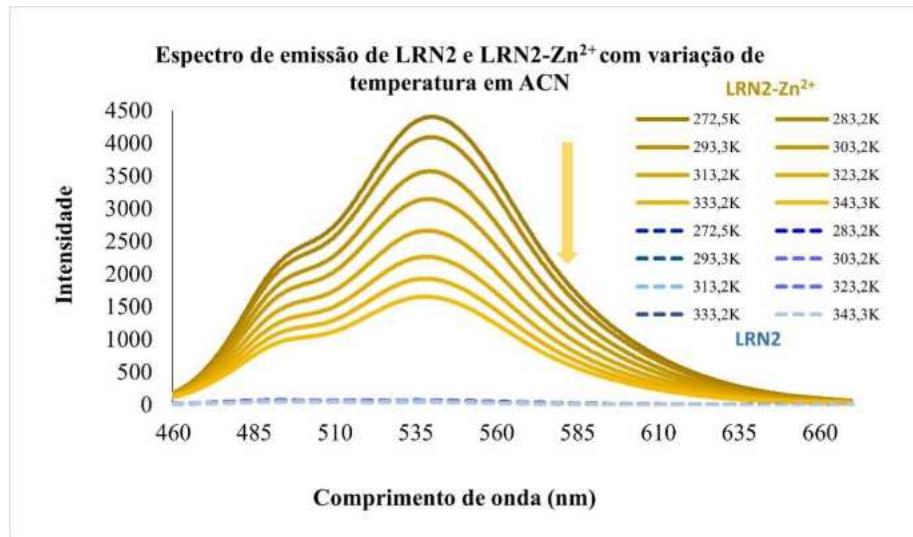


Figura 30: Espectro de emissão de LRN2 e LRN2:Zn²⁺ com variação de temperatura.

Com o aumento da temperatura, temos, como consequência, maior grau de liberdade das ligações presentes do ligante. Em baixas temperaturas, a presença do Zn²⁺ diminui as rotações das ligações presente no ligante favorecendo a desativação do estado excitado por via radiativa. Entretanto, ao aumentar a temperatura do sistema, temos um aumento nos graus de agitação e rotação das ligações, o que faz com que desativações por vias não radiativas também ocorram. Como consequência, é observado uma diminuição da intensidade de fluorescência com o aumento da temperatura. Tal peculiaridade pode ser explicada pelo aumento de colisões entre as moléculas, resultando em um aumento na probabilidade de descomplexação.

Ainda com os dados de intensidade de emissão e temperatura, foi possível determinar a variação da entalpia na formação do complexo.

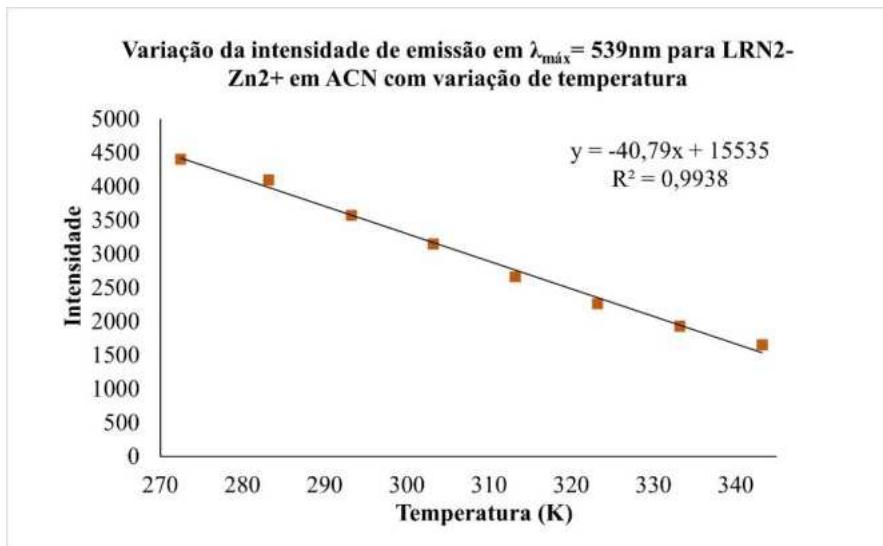


Figura 31: Determinação da variação da entalpia da complexação

Figura 30 apresenta a variação da intensidade de emissão de fluorescência com o aumento da temperatura. A linearidade da curva nos permite aferir a variação da entalpia na formação do complexo LRN2:Zn²⁺. Conforme a temperatura aumenta, a intensidade de emissão diminui, logo, a desativação do sistema está ocorrendo por via não radiativa. Com a curva analítica, e usando a equação de Van't Hoff, determinamos a variação da entalpia igual a 40,79kJ/mol.

4.10 Aplicação em amostra real

a) Vitamina C + Zinco

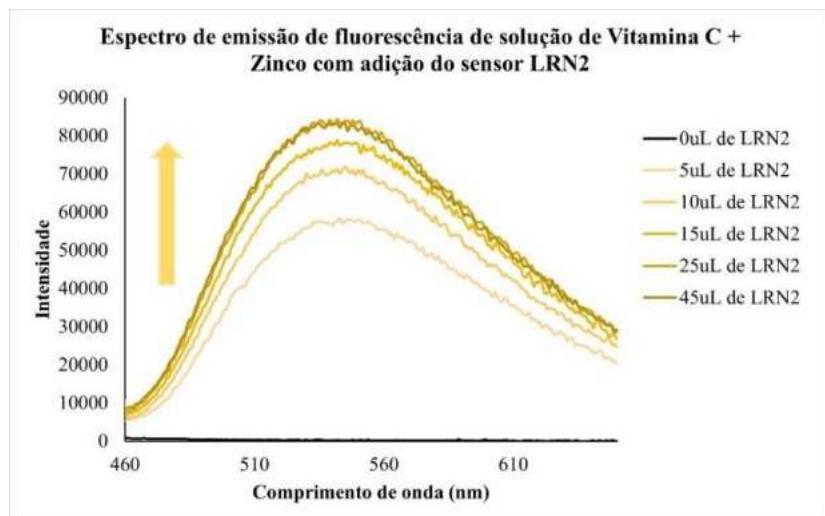


Figura 32: Espectro de emissão de solução de Aceviton® em ACN com adições de LRN2

Com a adição do ligante LRN2 na solução contendo o Aceviton® em ACN, pôde-se observar a formação de uma banda de emissão cujo $\lambda_{\text{máx}} = 550$ nm. Essa emissão ocorre no mesmo comprimento de onda da emissão do complexo LRN2:Zn²⁺. Conforme a molécula sensor era adicionada, a intensidade de emissão aumentava.

b) Suco Ades® e Leite Integral

As amostras foram alocadas em câmara UV e excitadas em $\lambda = 400$ nm. Na presença de LRN2, as amostras passaram a emitir fluorescência de coloração amarelo muito parecida com a emissão de LRN2 na presença de Zn²⁺.

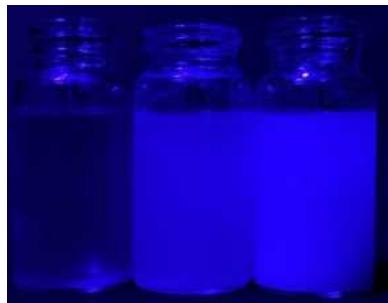


Figura 33: Da esquerda para direita, Aceviton®, Suco de caixinha e leite integral em ACN sob radiação UV.

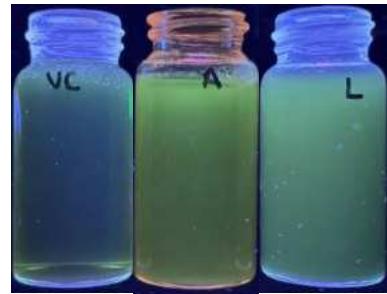


Figura 34: Da esquerda para direita, Aceviton®, Suco de caixinha e leite integral em ACN com o LRN2 sob radiação UV.

5 CONCLUSÃO

A utilização de sensores químicos para a detecção e monitoramento de analitos vem sendo bastante explorada devido à alta sensibilidade e seletividade que estes dispositivos proporcionam. Os sensores não demandam de preparos complexos para a sua utilização e podem ser reutilizados devido a sua reversibilidade. Os sensores fluorescentes, particularmente, possuem a vantagem de serem facilmente monitorados através da espectroscopia de fluorescência, técnica que possui altíssima precisão.

A aplicação de sensores fluorescentes abrange diversas áreas da ciência, incluindo o monitoramento da presença e concentração intracelular de micronutrientes, tal como o Zinco. Este metal, por sua vez, está relacionado com diversos processos biológicos e o seu metabolismo é amplamente estudado devido à sua relação com diversos problemas de saúde – danos no DNA, aumento do risco de apoptose celular, mau desenvolvimento infantil e estresse oxidativo.

A importância do monitoramento do Zinco desperta o interesse em dispositivos que sejam capazes de detectá-lo de maneira eficaz e livre de métodos invasivos. Os sensores fluorescentes são uma excelente escolha para essa tarefa. Neste trabalho, foram realizados a síntese, caracterização e estudo fotofísico de molécula inédita LRN2 como candidata a sensor fluorescente seletivo para o íon Zn^{2+} . A síntese ocorreu em duas etapas, ambas com temperaturas não muito elevadas ($80^{\circ}C$) e utilizando reagentes verdes e de fácil manipulação. O rendimento síntese de LRN2 (segunda etapa) foi de 81%, demonstrando que além de simples, a rota sintética utilizada é também eficiente. LRN2 é um sólido amarelo e foi caracterizado através de técnicas de análises instrumentais como NMR (1H e ^{13}C), HRMS e IV. Como resultado, foi confirmada a fórmula molecular do ligante a sua estrutura. Além disso, foi confirmado a formação do complexo LRN2: Zn^{2+} através dos espectros de RMN que foram obtidos na ausência e na presença de 0,5 e 1,0 equivalentes molares de zinco. Soma-se a isso, a razão de áreas Me/OH diminuiu na presença do íon, reforçando a hipótese de formação de um complexo.

Ainda na caracterização, o DRX confirmou, mais uma vez, a formação do complexo e mostrou que o ligante é tridentado, levando a uma estrutura piramidal quando utilizado $Zn(NO_3)_2$ como fonte de Zn^{2+} . A estequiometria de complexação de 1:1 foi prevista pelo experimento do Job Plot e também foi confirmada com o ORTEP obtido para o complexo.

O estudo fotofísico do ligante e do complexo se baseou na espectroscopia Uv-vis e de fluorescência. Em relação ao LRN2, foi obtido os espectros eletrônicos em quatro solventes

diferentes, sendo o ACN como o escolhido para ser utilizado nos demais experimentos. A escolha é resultado da construção da curva analítica baseada na Lei de Lambert-Beer. Nesse solvente, o ligante apresentou $\epsilon = 11407 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ em $\lambda=442\text{nm}$. O valor obtido está dentro da faixa esperada para transições permitidas do tipo $\pi-\pi^*$, o que faz sentido visto a presença do centro nucleofílico da molécula. A presença de cátions em solução contendo LRN2 não ocasionou em mudanças significativas no espectro eletrônico, exceto pelo Zn^{2+} . Na presença do metal, houve a formação de uma banda de absorção em 442nm que aumenta sua intensidade com o aumento da concentração do metal.

A fluorescência do ligante é restringida ao estado sólido, pois, em solução, não há emissão. Ao adicionar cátions a solução, o comportamento não emissivo se mantém até a adição do íon zinco. Em sua presença, há formação do complexo LRN2: Zn^{2+} cuja emissão é facilmente observada e detectada a partir de 0,2 equivalentes molares do metal. A emissão ocorre em 550nm e é aumentada concomitantemente à crescente concentração de Zn^{2+} .

Através da relação emissão x concentração, foi possível inferir que a constante de associação (K_a) para o complexo é igual a $3,5 \times 10^4$ e os limites de detecção e de quantificação são $3,56 \mu\text{M}$ e $11,9 \mu\text{M}$, respectivamente. O K_a obtido para LRN2 está condizente com os sensores para Zn^{2+} encontrados na literatura de estrutura parecida e o limite de detecção está um pouco acima quando comparado aos demais sensores. Ainda assim, LRN2 é capaz de detectar Zn^{2+} na faixa de nmol.

A utilização do sensor em amostras reais confirmou o alto potencial do ligante LRN2 para detecção do íon Zn^{2+} em outras matrizes, ainda que de maneira qualitativa.

REFERÊNCIAS

- [1] ROHATGI-MUKHERJEE, K. K. **Fundamentals of photochemistry**. New Age International, 1978.
- [2] MARTINS, Nícolas Fernandes. Uma síntese sobre aspectos da fotossíntese. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 2, p. 10-14, 2011.
- [3] DAI, Baoying et al. Piezo-phototronic effect on photocatalysis, solar cells, photodetectors and light-emitting diodes. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 24, p. 13646-13691, 2021.
- [4] WANG, Bing et al. Amorphous inorganic semiconductors for the development of solar cell, photoelectrocatalytic and photocatalytic applications. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 12, p. 6914-6949, 2021.
- [5] CHEN, Tian; XIE, Jiangsheng; GAO, Pingqi. Ultraviolet photocatalytic degradation of perovskite solar cells: Progress, challenges, and strategies. **Advanced Energy and Sustainability Research**, v. 3, n. 6, p. 2100218, 2022.
- [6] CORREIA, José H. et al. Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1332, 2021.
- [7] COUTO, Gabriela Klein et al. Tetra-cationic platinum (II) porphyrins like a candidate photosensitizers to bind, selective and drug delivery for metastatic melanoma. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 202, p. 111725, 2020.
- [8] DE FRANCA, Bruna Martins et al. In vitro Studies of Antitumor Effect, Toxicity/Cytotoxicity and Skin Permeation/Retention of a Green Fluorescence Pyrene-based Dye for PDT Application. **Photochemistry and Photobiology**, v. 97, n. 2, p. 408-415, 2021.
- [9] JANATA, J. Josowicz M. Devaney D M. Chemical sensors. **Anal Chem**, v. 66, p. 207-228, 1994.
- [10] ATKINS, Peter William; DE PAULA, Julio; KEELER, James. **Atkins' physical chemistry**. Oxford university press, 2023
- [11] SHI, Yang et al. Fluorescent Sensors for Detecting and Imaging Metal Ions in Biological Systems: Recent Advances and Future Perspectives. **Chemosensors**, v. 11, n. 4, p. 226, 2023.
- [12] CHAE, Ju Byeong; LEE, Hangyul; KIM, Cheal. Determination of zinc ion by a quinoline-based fluorescence chemosensor. **Journal of Fluorescence**, v. 30, p. 347-356, 2020.
- [13] YANG, Yun-Shang et al. A highly selective “turn-on” fluorescent sensor for zinc ion based on a cinnamyl pyrazoline derivative and its imaging in live cells. **Analytical methods**, v. 10, n. 16, p. 1833-1841, 2018.
- [14] ELMORSI, Taha M. et al. A dual functional colorimetric and fluorescence chemosensor based on benzo [f]fluorescein dye derivatives for copper ions and pH; kinetics and thermodynamic study. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 253, p. 437-450, 2017.

- [15] KLOUBERT, Veronika; RINK, Lothar. Zinc as a micronutrient and its preventive role of oxidative damage in cells. **Food & function**, v. 6, n. 10, p. 3195-3204, 2015.
- [16] BRAY, Tammy M.; BETTGER, William J. The physiological role of zinc as an antioxidant. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 8, n. 3, p. 281-291, 1990.
- [17] PRASAD, Ananda S. Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. **Frontiers in nutrition**, v. 1, p. 14, 2014.
- [18] LAKOWICZ, Joseph R. (Ed.). **Principles of fluorescence spectroscopy**. Boston, MA: springer US, 2006.
- [19] Fenton, H. J. H. (1894). "Oxidation of tartaric acid in presence of iron." **Journal of the Chemical Society, Transactions**, 65, 899-910.
- [20] Winterbourn, C. C. (1995). "Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction." **Toxicology Letters**, 82-83, 969-974.
- [21] TRUONG-TRAN, A. Q. et al. Cellular zinc fluxes and the regulation of apoptosis/gene-directed cell death. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 5, p. 1459S-1466S, 2000.
- [22] ZALEWSKI, Peter D.; FORBES, Ian J.; BETTS, W. H. Correlation of apoptosis with change in intracellular labile Zn (II) using zinquin [(2-methyl-8-p-toluenesulphonamido-6-quinolyloxy) acetic acid, a new specific fluorescent probe for Zn (II). **Biochemical Journal**, v. 296, n. 2, p. 403-408, 1993
- [26] Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1992). "Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update." **FEBS Letters**, 307(1), 108-112.
- [27] Graf, E., & Eaton, J. W. (1990). "Antioxidant functions of phytic acid." **Free Radical Biology and Medicine**, 8(1), 61-69.
- [28] FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.
- [31] CADET, Jean et al. Hydroxyl radicals and DNA base damage. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 424, n. 1-2, p. 9-21, 1999.
- [23] HALLIWELL, Barry et al. Hydroxyl radical is a significant player in oxidative DNA damage in vivo. **Chemical Society Reviews**, v. 50, n. 15, p. 8355-8360, 2021.
- [24] ABOLFATH, Ramin M.; VAN DUIN, A. C. T.; BRABEC, Thomas. Reactive molecular dynamics study on the first steps of DNA damage by free hydroxyl radicals. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 115, n. 40, p. 11045-11049, 2011.

- [25] DIZDAROGLU, Miral. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 10, n. 3-4, p. 225-242, 1991.
- [26] REN, Jian-Guo et al. Hydroxyl radical-induced apoptosis in human tumor cells is associated with telomere shortening but not telomerase inhibition and caspase activation. **FEBS letters**, v. 488, n. 3, p. 123-132, 2001.
- [27] HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford university press, USA, 2015.
- [28] LIANG, Jiashun et al. Biaxial strains mediated oxygen reduction electrocatalysis on fenton reaction resistant L10-PtZn fuel cell cathode. **Advanced Energy Materials**, v. 10, n. 29, p. 2000179, 2020.
- [29] AVERY, Simon V. Molecular targets of oxidative stress. **Biochemical Journal**, v. 434, n. 2, p. 201-210, 2011.
- [30] SOHAIL, Muhammad et al. Zn-doped carbon dots-based versatile bioanalytical probe for precise estimation of antioxidant activity index of multiple samples via fenton chemistry. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 363, p. 131558, 2022.
- [31] YOSHIKAWA, Toshikazu et al. The antioxidant properties of a novel zinc-carnosine chelate compound, N-(3-aminopropionyl)-L-histidinato zinc. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1115, n. 1, p. 15-22, 1991.
- [32] BAO, Bin et al. Zinc supplementation decreases oxidative stress, incidence of infection, and generation of inflammatory cytokines in sickle cell disease patients. **Translational Research**, v. 152, n. 2, p. 67-80, 2008.
- [33] UNIYAL, Arun et al. Recent advances in optical biosensors for sensing applications: a review. **Plasmonics**, v. 18, n. 2, p. 735-750, 2023.
- [34] RUNGE, Friedlieb Ferdinand. Ueber einige produkte der steinkohlendestillation. **Annalen der Physik**, v. 107, n. 5, p. 65-78, 1834.
- [35] JOULE, John A. **Heterocyclic chemistry**. CRC Press, 2020.
- [36] SHAMMA, Maurice (Ed.). **Isoquinoline alkaloids research 1972–1977**. Springer Science & Business Media, 2012.
- [37] PAISUWAN, Waroton et al. Dipicolylamino quinoline derivative as novel dual fluorescent detecting system for Hg²⁺ and Fe³⁺. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 24, p. 100283, 2019.
- [38] MAITY, Dinesh et al. Modulation of fluorescence sensing properties of quinoline-based chemosensor for Zn²⁺: Application in cell imaging studies. **Journal of Luminescence**, v. 210, p. 508-518, 2019.

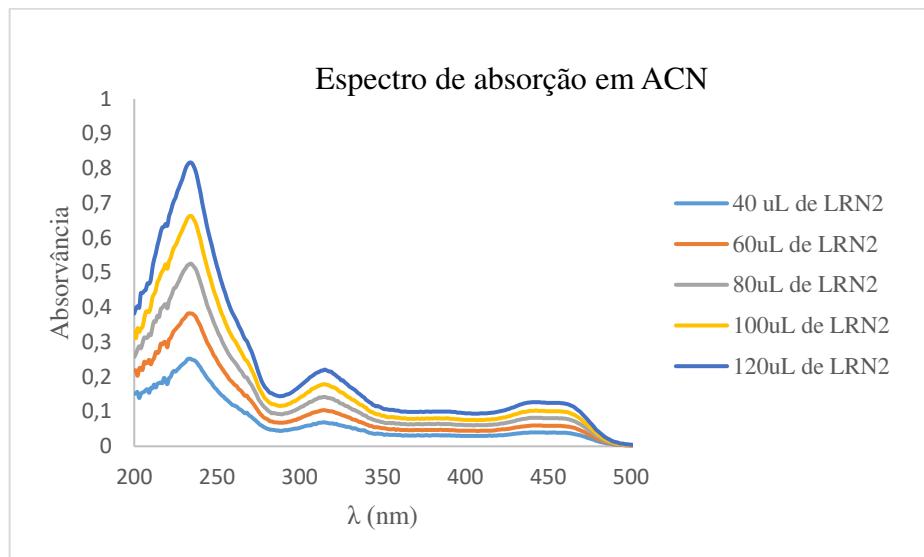
- [39] WANG, Longjie et al. Electronic Structure Modulation in Quinoline Derivatives through Substituent-Mediated Effects: Development of AIE Fluorescent Probes for Fe³⁺ Detection in Water Samples. **Dyes and Pigments**, p. 112248, 2024.
- [40] KUMARASAMY, Keerthika et al. Bodipy-based quinoline derivative as a highly Hg²⁺-selective fluorescent chemosensor and its potential applications. **Methods**, v. 223, p. 35-44, 2024.
- [41] KOLBUS, Anna et al. Pyrazoloquinoline-based fluorescent sensor for the detection of Pb²⁺, Zn²⁺ and the realization of an OR-type optical logic gate. **Dyes and Pigments**, v. 223, p. 111956, 2024.
- [42] SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**, 7th editio John Wiley & Sons. New York, 2005.
- [43] ANAND, Namrata et al. Metal-free aerobic one-pot synthesis of substituted/annulated quinolines from alcohols via indirect Friedländer annulation. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 37, p. 9570-9574, 2015.
- [44] WEYESA, Abdanne; MULUGETA, Endale. Recent advances in the synthesis of biologically and pharmaceutically active quinoline and its analogues: a review. **RSC advances**, v. 10, n. 35, p. 20784-20793, 2020.
- [45] HARRIS, Daniel C. **Quantitative chemical analysis**. Macmillan, 2010.
- [46] VALEUR, Bernard; BERBERAN-SANTOS, Mário Nuno. **Molecular fluorescence: principles and applications**. John Wiley & Sons, 2013.
- [47] MCLAREN, Arthur Douglas; SHUGAR, David. Photochemistry of Proteins and Nucleic Acids: International Series of Monographs on Pure and Applied Biology. **Modern Trends in Physiological Sciences**, Volume 22. 2014.
- [48] WONG, Michael Y.; ZYSMAN-COLMAN, Eli. Purely organic thermally activated delayed fluorescence materials for organic light-emitting diodes. **Advanced Materials**, v. 29, n. 22, p. 1605444, 2017.
- [49] FERRO, A. et al. Antitumor effects of novel co-drugs linking histone deacetylase and ribonucleotide reductase inhibitors in hematological tumors. In: **il Farmaco: dalla Ricerca alla Salute dell'Uomo**. IT, 2011. p. P-11/13
- [50] ROHATGI-MUKHERJEE, K. K. **Fundamentals of photochemistry**. New Age International, 1978.
- [51] Redes de Coordenação: Planejamento, Síntese, Topologia e Propriedades Fotofísicas. Martins, V.; Ronconi, C. M. **Rev. Virtual Quim.**, 2017, 9 (3), no prelo. Data de publicação na Web: 25 de maio de 2017
- [52] TURRO, Nicholas J.; RAMAMURTHY, Vaidyanathan; SCAIANO, Juan C. **Principles of molecular photochemistry: an introduction**. University science books, 2009.

- [53] MEHR, S. Hessam M. et al. Tuning the tautomeric behavior of tris (salicylaldimines). **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 15, n. 39, p. 8418-8424, 2017.
- [54] BANWELL, Colin N.; MCCASH, Elaine M. **Fundamentals of molecular spectroscopy**. Indian Edition, 2017.
- [55] LUO, Mingxin et al. A novel quinoline derivative as a highly selective and sensitive fluorescent sensor for Fe 3+ detection. **RSC advances**, v. 12, n. 36, p. 23215-23220, 2022.
- [56] XIN, Junsheng et al. Restriction of intramolecular rotation for functionalizing metal nanoclusters. **Chemical Science**, v. 14, n. 32, p. 8474-8482, 2023.
- [57] DE ACHA, Nerea et al. Fluorescent sensors for the detection of heavy metal ions in aqueous media. **Sensors**, v. 19, n. 3, p. 599, 2019.
- [58] SEKAR, Anithadevi; YADAV, Rakhi; BASAVARAJ, Nivetha. Fluorescence quenching mechanism and the application of green carbon nanodots in the detection of heavy metal ions: a review. **New Journal of Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 2326-2360, 2021.
- [59] RASHEED, Tahir et al. Fluorescent sensor based models for the detection of environmentally-related toxic heavy metals. **Science of the Total Environment**, v. 615, p. 476-485, 2018.
- [60] MARTELL, Arthur E.; HANCOCK, Robert D. **Metal complexes in aqueous solutions**. Springer Science & Business Media, 2013.
- [61] LIPPARD, Stephen J.; BERG, Jeremy Mark. **Principles of bioinorganic chemistry**. University Science Books, 1994.
- [63] ARMBRUSTER, David A.; PRY, Terry. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. **The clinical biochemist reviews**, v. 29, n. Suppl 1, p. S49, 2008.
- [64] KIM, Yong Sung et al. A turn-on fluorescent chemosensor for Zn 2+ based on quinoline in aqueous media. **Journal of fluorescence**, v. 26, p. 835-844, 2016.
- [65] LIU, Hao-Ming; VENKATESAN, Parthiban; WU, Shu-Pao. A sensitive and selective fluorescent sensor for Zinc (II) and its application to living cell imaging. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 203, p. 719-725, 2014.
- [66] YANG, Yun-Shang et al. A highly selective “turn-on” fluorescent sensor for zinc ion based on a cinnamyl pyrazoline derivative and its imaging in live cells. **Analytical Methods**, v. 10, n. 16, p. 1833-1841, 2018.
- [67] CHAE, Ju Byeong; LEE, Hangyul; KIM, Cheal. Determination of zinc ion by a quinoline-based fluorescence chemosensor. **Journal of Fluorescence**, v. 30, p. 347-356, 2020.

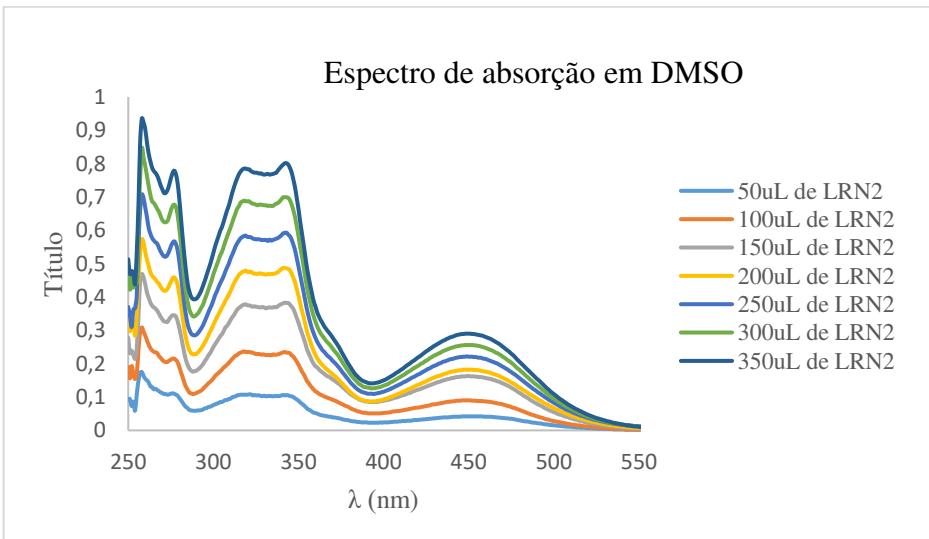
APENDICE A – Gráficos

1. Espectros de absorção de LRN2 em diferentes solventes

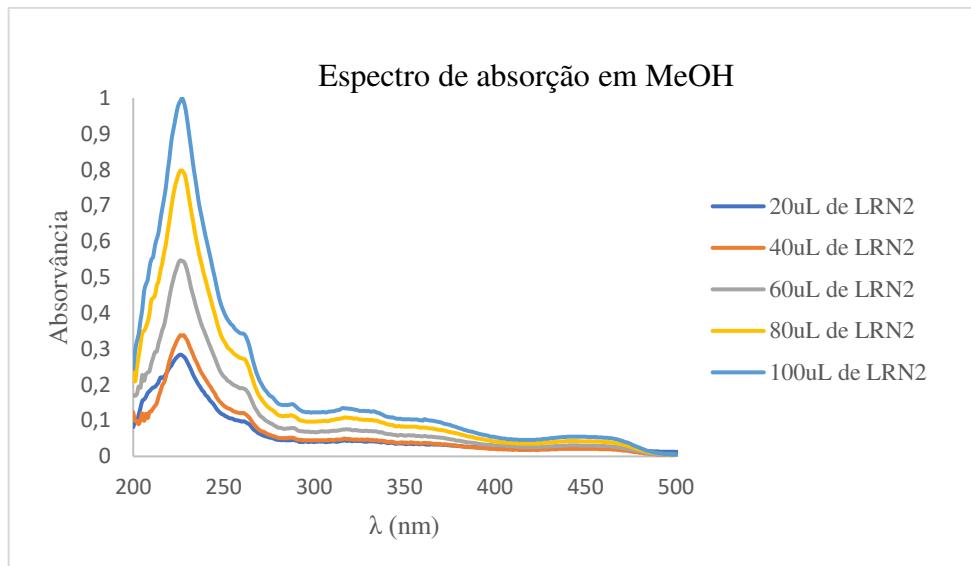
a) ACN



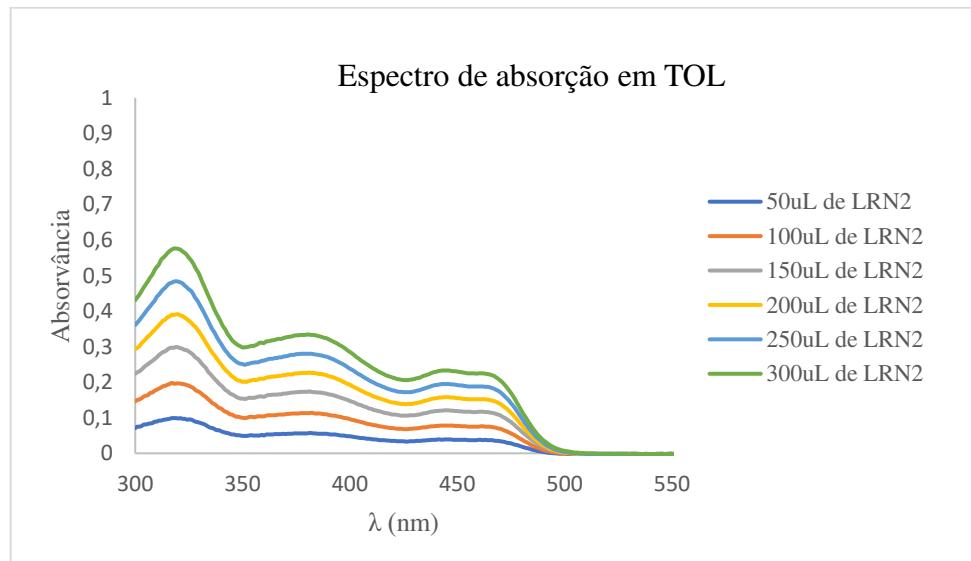
b) DMSO



c) MeOH

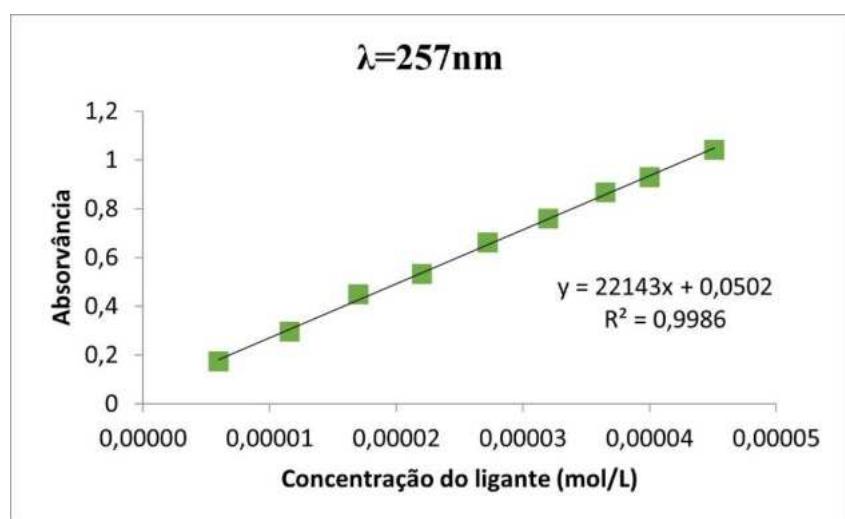


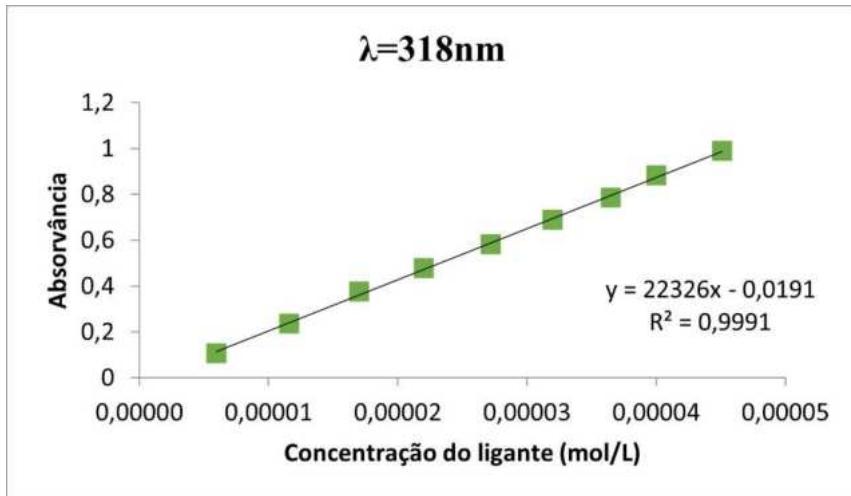
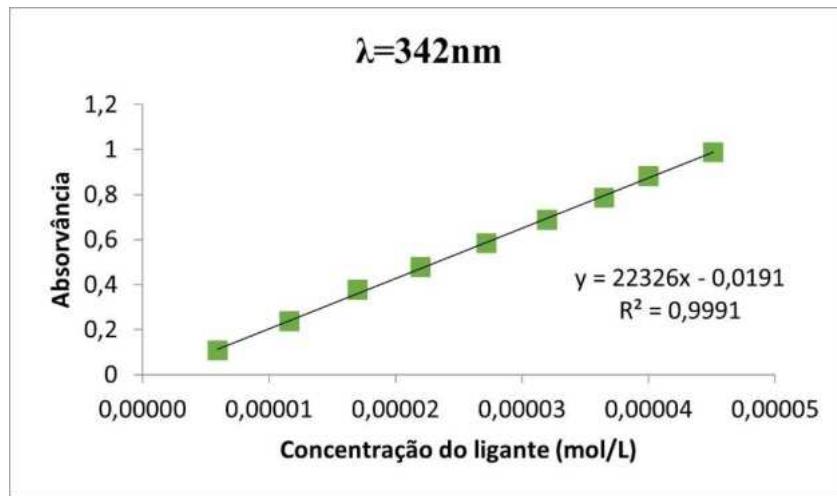
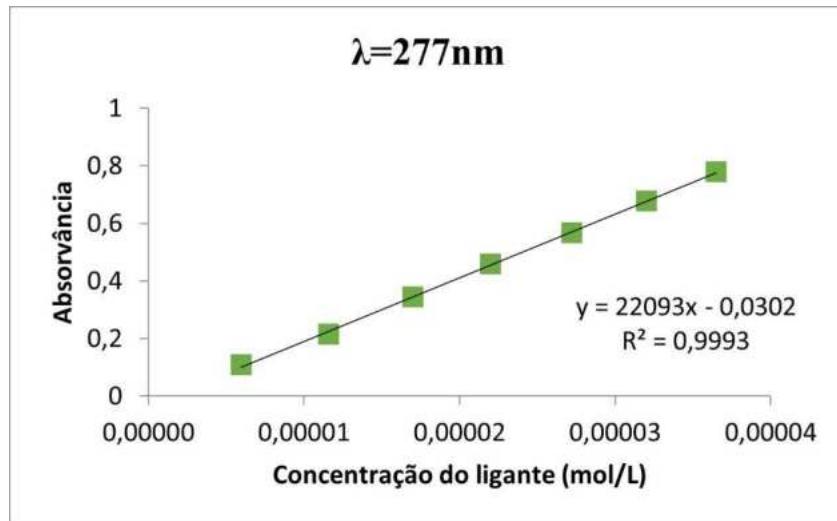
d) TOL



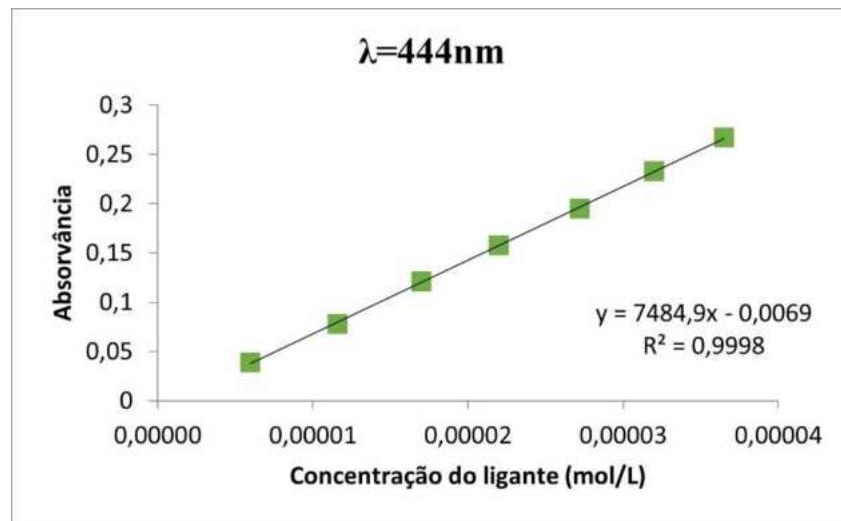
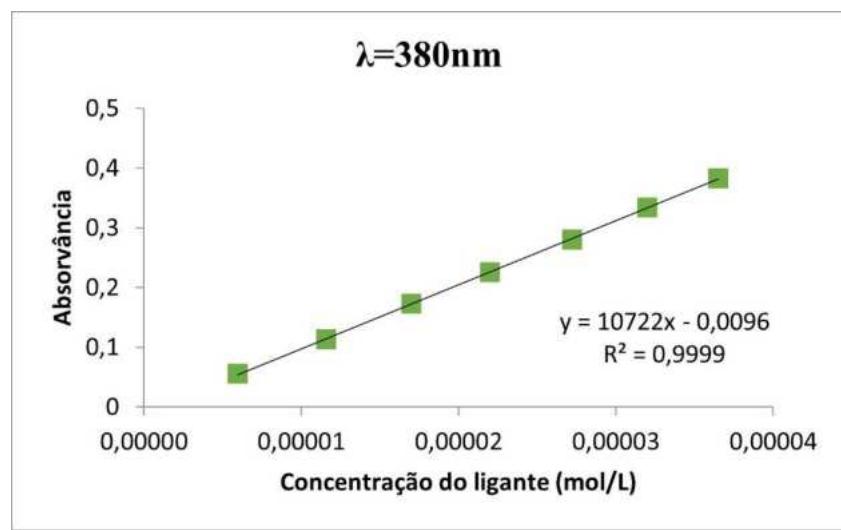
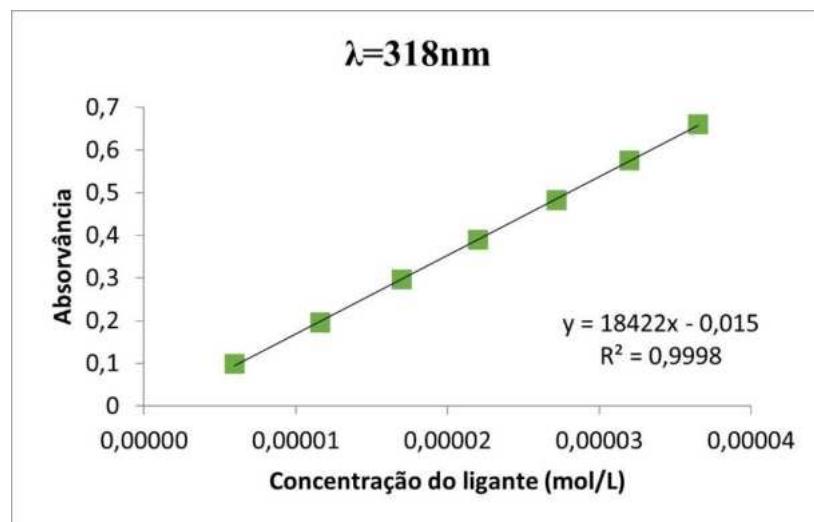
2. Curvas para cálculo do epsilon

a) DMSO

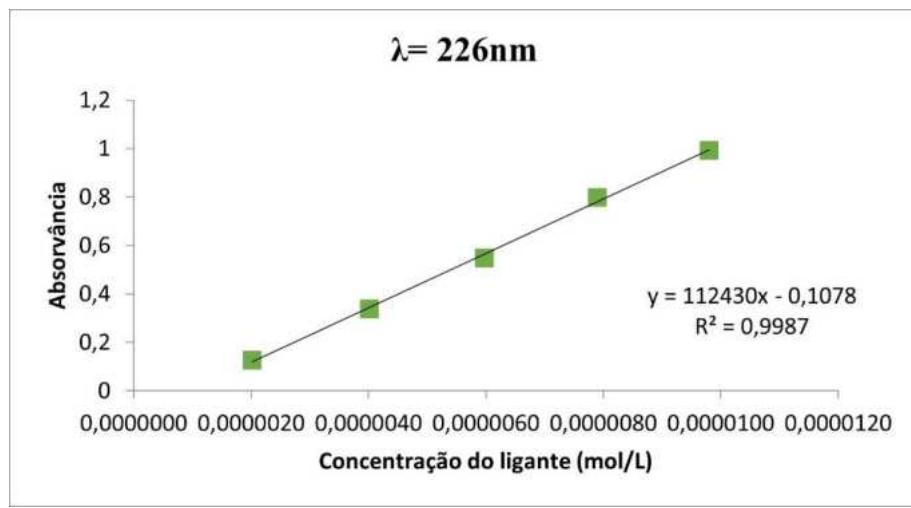
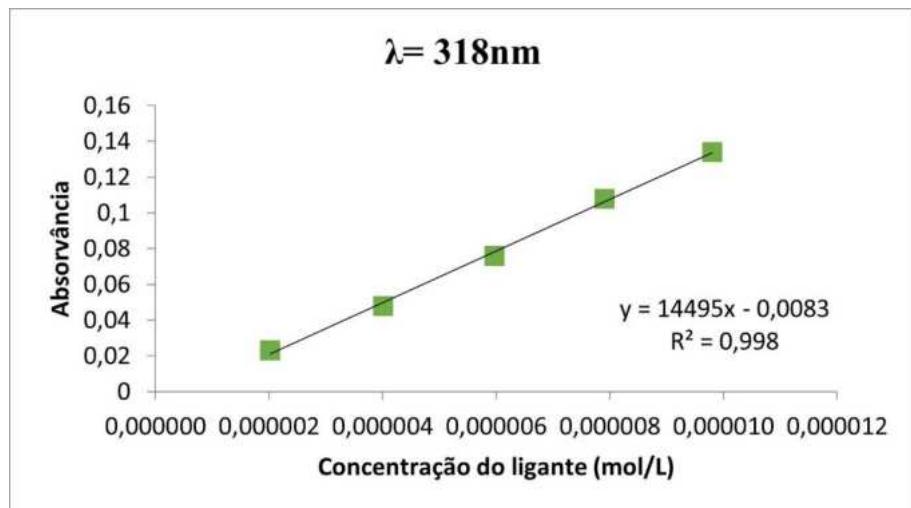




b) TOL



c) MeOH



d) ACN

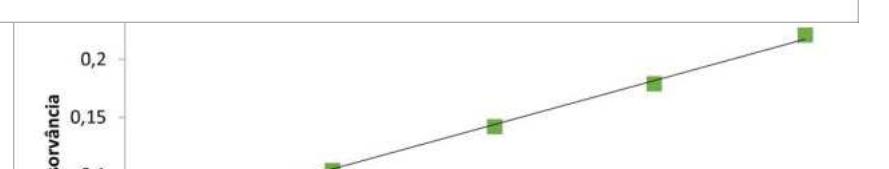
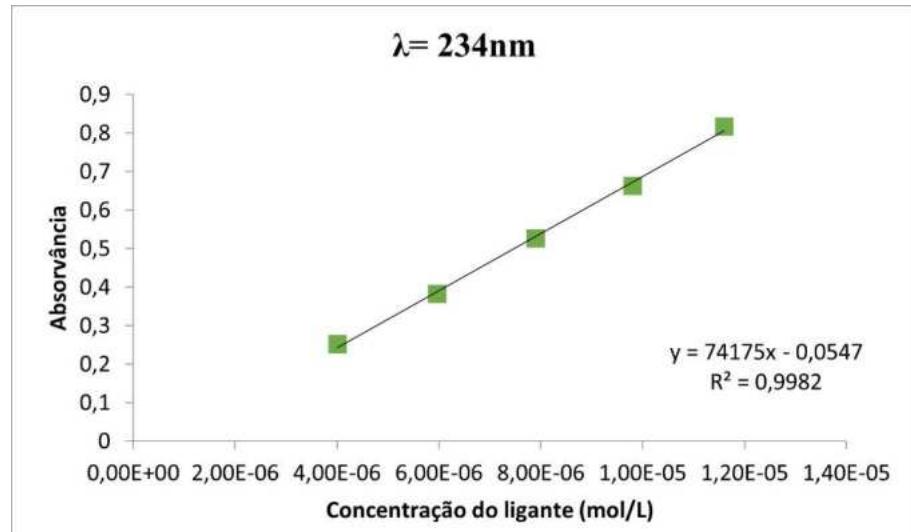
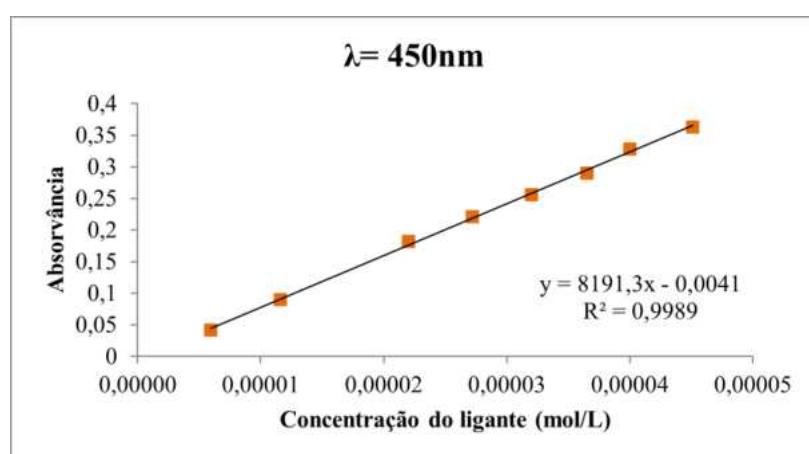


Tabela 1 – Absortividade molar do LRN2 em DMSO

	$\lambda=450\text{nm}$		$\lambda=342$		$\lambda=318\text{nm}$		$\lambda=277\text{nm}$		$\lambda=257\text{nm}$	
	Abs	[] mol/L	Abs	[] mol/L	Abs	[] mol/L	Abs	[] mol/L	Abs	[] mol/L
50uL	0,042	5,95E-06	0,105	5,95E-06	0,107	5,95E-06	0,11	5,95E-06	0,173	5,95E-06
100uL	0,09	1,16E-05	0,235	1,16E-05	0,237	1,16E-05	0,215	1,16E-05	0,296	1,16E-05
150uL	0,163	1,70E-05	0,387	1,70E-05	0,377	1,70E-05	0,345	1,70E-05	0,449	1,70E-05
200uL	0,182	2,20E-05	0,487	2,20E-05	0,477	2,20E-05	0,459	2,20E-05	0,533	2,20E-05
250uL	0,221	2,72E-05	0,592	2,72E-05	0,583	2,72E-05	0,567	2,72E-05	0,662	2,72E-05
300uL	0,256	3,20E-05	0,699	3,20E-05	0,689	3,20E-05	0,677	3,20E-05	0,758	3,20E-05
350uL	0,29	3,65E-05	0,801	3,65E-05	0,785	3,65E-05	0,779	3,65E-05	0,866	3,65E-05
400uL	0,328	4,00E-05	0,902	4,00E-05	0,883	4,00E-05	0,882	4,00E-05	0,928	4,00E-05
450uL	0,363	4,51E-05	1,008	4,51E-05	0,989	4,51E-05	0,991	4,51E-05	1,042	4,51E-05



Para o ligante em DMSO, foram observadas as bandas de transições eletrônicas em $\lambda=450\text{nm}$, $\lambda=342\text{nm}$, $\lambda=318\text{nm}$, $\lambda=277\text{nm}$ e $\lambda=257\text{nm}$. Através das curvas analíticas para os citados

comprimentos de onda, observou-se que a equação da reta obtida para $\lambda=450\text{nm}$ foi a que resultou no maior valor de coeficiente de absorvância molar (ϵ). A constante pôde ser determinada através da equação de Lambert-Beer.

$$A = \epsilon c$$

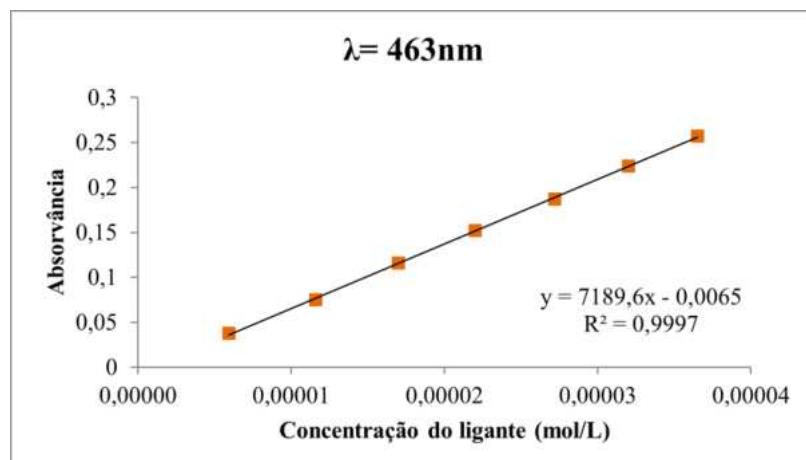
$$y = 8191,3x - 0,0041$$

Através do coeficiente angular da reta, foi possível determinar o coeficiente de absorvância molar. Dessa maneira:

$$\epsilon = 8191,3 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Tabela 2 – Absorvância molar do LRN2 em TOL

	$\lambda=463\text{nm}$		$\lambda=444\text{nm}$		$\lambda=380\text{nm}$		$\lambda=318\text{nm}$	
	Abs	[] mol/L						
50uL	0,038	5,95E-06	0,039	5,95E-06	0,056	5,95E-06	0,099	5,95E-06
100uL	0,075	1,16E-05	0,078	1,16E-05	0,113	1,16E-05	0,196	1,16E-05
150ul	0,116	1,70E-05	0,121	1,70E-05	0,173	1,70E-05	0,297	1,70E-05
200uL	0,152	2,20E-05	0,158	2,20E-05	0,226	2,20E-05	0,389	2,20E-05
250uL	0,187	2,72E-05	0,195	2,72E-05	0,28	2,72E-05	0,483	2,72E-05
300uL	0,224	3,20E-05	0,233	3,20E-05	0,334	3,20E-05	0,576	3,20E-05
350uL	0,257	3,65E-05	0,267	3,65E-05	0,383	3,65E-05	0,66	3,65E-05



Para o ligante em TOL, foram observadas as bandas de transições eletrônicas (**Anexo**) em $\lambda=463\text{nm}$, $\lambda=444\text{nm}$, $\lambda=380\text{nm}$ e $\lambda=318\text{nm}$. Através das curvas analíticas para os citados comprimentos de onda, observou-se que a equação da reta obtida para $\lambda=463\text{nm}$ foi a que resultou no maior valor de coeficiente de absorvidade molar (ϵ). A constante pôde ser determinada através da equação de Lambert-Beer.

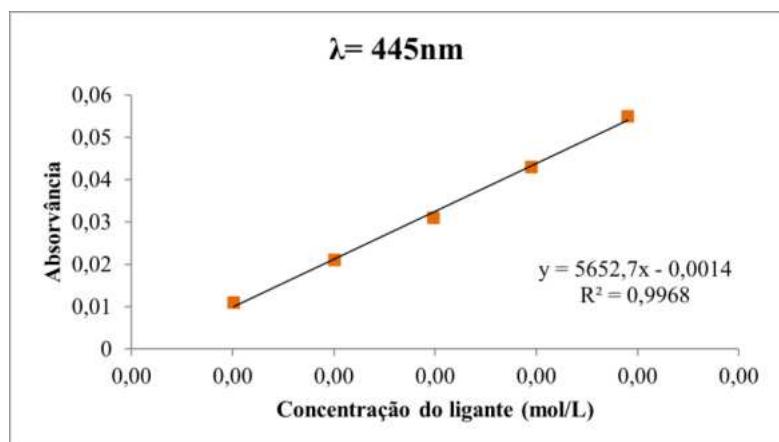
Através do coeficiente angular da reta, foi possível determinar o coeficiente de absorvidade molar. Dessa maneira:

$$\epsilon = 7189,6 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$$

A mesma análise foi realizada para o ligante em MeOH e ACN. Em MeOH, as bandas apresentaram seus máximos em $\lambda=445\text{nm}$, $\lambda=318\text{nm}$ e $\lambda=226\text{nm}$, sendo em $\lambda=445\text{nm}$ o maior valor de ϵ , igual a $5652,7 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

Tabela 3 – Absorvidade molar do LRN2 em MeOH

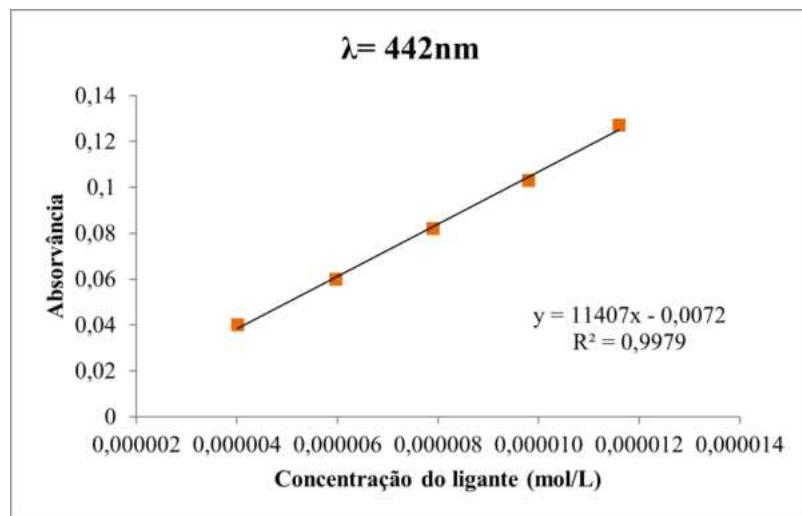
	$\lambda=445\text{nm}$		$\lambda=318\text{nm}$		$\lambda=226\text{nm}$	
	Abs	[]	Abs	[]	Abs	[]
20uL	0,011	2,02E-06	0,023	2,02E-06	0,127	2,02E-06
40uL	0,021	4,01E-06	0,048	4,01E-06	0,338	4,01E-06
60uL	0,031	5,97E-06	0,076	5,97E-06	0,547	5,97E-06
80uL	0,043	7,90E-06	0,108	7,90E-06	0,797	7,90E-06
100uL	0,055	9,80E-06	0,134	9,80E-06	0,991	9,80E-06



Em ACN, as bandas apresentaram seus máximos em $\lambda=442\text{nm}$, $\lambda=315\text{nm}$ e $\lambda=234\text{nm}$, sendo em $\lambda=442\text{nm}$ o maior valor de ϵ , igual a $11407 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Tabela 4 – Absortividade molar do LRN2 em ACN

	$\lambda= 442\text{nm}$		$\lambda= 315\text{nm}$		$\lambda= 234\text{nm}$	
	Abs	[]	Abs	[]	Abs	[]
20uL		2,02E-06		2,02E-06		2,02E-06
40uL	0,04	4,01E-06	0,069	4,01E-06	0,252	4,01E-06
60uL	0,06	5,97E-06	0,104	5,97E-06	0,382	5,97E-06
80uL	0,082	7,90E-06	0,142	7,90E-06	0,526	7,90E-06
100uL	0,103	9,80E-06	0,179	9,80E-06	0,663	9,80E-06
120uL	0,127	1,16E-05	0,221	1,16E-05	0,817	1,16E-05



3. Determinação da entalpia

