



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

CLAYTON MALHEIROS DE SOUZA

**“UMA ABORDAGEM SIMPLES PARA A OBTENÇÃO DE
CICLOMETALADOS DE RUTÊNIO(II) A PARTIR DE
LAPACHONAS: SÍNTESE, FOTOFÍSICA E APLICAÇÃO
COMO MARCADORES CELULARES”**

**BELO HORIZONTE
MARÇO DE 2015**



**“UMA ABORDAGEM SIMPLES PARA A OBTENÇÃO DE
CICLOMETALADOS DE RUTÊNIO(II) A PARTIR DE
LAPACHONAS: SÍNTESE, FOTOFÍSICA E APLICAÇÃO
COMO MARCADORES CELULARES”**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal de Minas Gerais
como requisito parcial para a obtenção do
grau de Mestre em Química.

Orientadores:

Professora Doutora Cynthia Peres Demichelli
Professor Doutor Eufrânio Nunes da Silva Júnior

Belo Horizonte

Março de 2015

S719u Souza, Clayton Malheiros de
2015 Uma abordagem simples para a obtenção de
D ciclometalados de rutênio(II) a partir de lapachonas
[manuscrito] : síntese, fotofísica e aplicação como
marcadores celulares / Clayton Malheiros de Souza.
2015.

[xvii], 138 f. : il.

Orientadora: Cynthia Peres Demicheli.

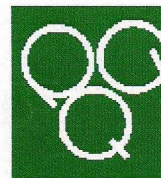
Coorientador: Eufrânio Nunes da Silva Júnior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais. Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química inorgânica - Teses 2. Compostos de
rutênio - Teses 3. Piridina - Derivados - Teses 4.
Fluorescência - Teses 5. Microscopia de fluorescência
- Teses 6. Luminescência - Teses I. Demicheli, Cynthia
Peres, Orientadora II. Silva Júnior, Eufrânio Nunes
da, Coorientador III. Título.

CDU 043



"Uma Abordagem Simples para a Obtenção de Ciclometalados de Rutênio(II) a partir de Lapachonas: Síntese, Fotofísica e Aplicação como Marcadores Celulares"

Clayton Malheiros de Souza

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Cynthia Peres Demicheli

Profa. Cynthia Peres Demicheli - Orientadora
UFMG

Eufrânio Nunes da Silva Júnior

Prof. Eufrânio Nunes da Silva Júnior - Coorientador
UFMG

Maria Helena de Araujo

Profa. Maria Helena de Araujo
UFMG

Rosimíriam Pereira de Freitas

Profa. Rosimíriam Pereira de Freitas
UFMG

Belo Horizonte, 30 de março de 2015.



Instituto de Ciências Exatas - DQ UFMG
Dissertação de Mestrado – Clayton Malheiros de Souza
Citação

“Não me sinto obrigado a acreditar que o mesmo Deus que nos dotou de sentidos, razão e intelecto, pretenda que não os utilizemos.”

Galileu Galilei



Instituto de Ciências Exatas - DQ UFMG
Dissertação de Mestrado – Clayton Malheiros de Souza
Agradecimentos

Aos meus pais Osmar Marcelino de Souza e Dalila Malheiros, minhas irmãs Sônia e Dayla, e aos meus sobrinhos Karyna, Keyner, Keyla, Klarissa e Artur, pelo amor, incentivo e dedicação durante toda a minha caminhada.



AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos professores Cynthia Peres Demicheli e Eufrânio Nunes da Silva Junior pela amizade, orientação e paciência.

Aos amigos Eduardo Cruz, Emilay Baessa, Fabíola Santos, Fernanda Gouveia, Francielly Souto, Gleiston Dias, Guilherme Jardim, Isadora Miranda, Israel Tadeu, Lucas Santos, Wallace Reis, Wagner Valença, Matheus Ribeiro e Samara Bahia pela imprescindível ajuda nesta caminhada experimental e pela amizade que tornou tudo mais prazeroso.

A amiga e companheira Rafaela Costa e Silva, pela dedicação, competência e parceria desenvolvidas durante todo este trabalho.

A Bárbara P. De Moraes pelo carinho, paciência, solicitude e amizade fundamentais para conclusão deste trabalho.

Aos demais colegas de trabalho do Laboratório de Química Sintética e Heterocíclica, pela ajuda prestada na composição desta dissertação e pelo bom ambiente de trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Bioinorgânica no Departamento de Química ICEx (201) pela boa convivência, apoio e cooperação na realização deste trabalho.

Ao amigo Hélio Ribeiro pelo incentivo, apoio e ajuda incondicional, durante toda a minha jornada nesta instituição, sem o qual este momento em minha vida não seria concretizado.

Aos professores (as) Luiza M. P. Dolabella, Isolda M. C. Mendes, Halen D. R. Calado, Maria H. Araújo pelo apoio durante esta caminhada.

Ao professor Carlos Alberto de Simone pela colaboração na cristalografia.

Ao professor Tiago Brandão, pelo auxílio e ensinamentos prestados na utilização dos espectrômetros de UV-vis e Fluorescência, e pelos conselhos relativos à luminescência quanto à obtenção e tratamento dos dados.

Aos professores Jarbas Magalhães, José Dias e técnicos do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LAREMAR) pelo auxílio na aquisição e interpretação dos espectros.

Ao professor Hélio Anderson Duarte pela análise computacional.

Ao professor Rúbens Mena Barreto pelas análises em marcação celular.

A todos os ótimos professores com quem tive contato no departamento de Química da UFMG. A colaboração de todos foi essencial para o meu desenvolvimento acadêmico.



UFMG

Instituto de Ciências Exatas - DQ UFMG
Dissertação de Mestrado – Clayton Malheiros de Souza
Agradecimentos

A central analítica e a todos os funcionários do departamento de Química da UFMG que possibilitam que o funcionamento do DQ.

À banca examinadora por aceitar o convite.

Ao CNPQ, CAPES, FAPEMIG e PRPq-UFMG pela bolsa concedida e financiamento à pesquisa.



RESUMO

“Uma abordagem simples para a obtenção de ciclometalados de Rutênio(II) a partir de lapachonas: síntese, fotofísica e aplicação como marcadores celulares”

Complexos de rutênio(II), tais como $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dppz}]^{2+}$ exibem luminescência e são promissores para o desenvolvimento de sondas celulares. Neste trabalho, a partir de derivados da fenantrolina, lapachol e lausona foram sintetizadas fenazinas e seus respectivos complexos de rutênio(II) luminescentes com potencial aplicabilidade em biologia celular. Os complexos de rutênio(II) foram preparados pela reação entre os ligantes fenazínicos e $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$. Estudos de fotofísica na região do UV-vis, estudos computacionais e de marcação celular em linhagens de células Vero foram realizados visando a completa determinação do potencial destas substâncias para aplicação em bioimageamento celular.

Palavras chaves: Complexos de Rutênio(II), Fenazinas, Fluorescência, Marcação Celular.



ABSTRACT

“A straightforward approach for cyclometalated complex of ruthenium(II) from lapachone: Synthesis, photophysics and luminescent cell imaging applications”

Ruthenium (II) complexes such as $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dppz}]^{2+}$ are luminescent. These sort of compounds are promising for developing cellular probes. In this work, luminescent phenazines and their ruthenium complexes (II) were prepared from phenanthroline, lapachol and lawsone. The potential applicability of these compounds in cell biology is in evidence. The ruthenium complexes (II) were prepared by reaction of phenazines and $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$. Photophysical studies in the UV-vis region, computational studies and cell labeling in Vero cell lines were carried out to determination of the potential of these substances for use in cell bioimaging.

Keywords: Ruthenium(II) Complexes, Phenazine, Fluorescence, Cell Bioimaging.



ÍNDICE

| | |
|--|------|
| Resumo..... | vi |
| Abstract..... | vii |
| Índice..... | viii |
| Lista de Abreviaturas e Acrônimos..... | x |
| Lista de Tabelas..... | xii |
| Lista de Figuras..... | xiii |
| Lista de Esquemas..... | xvii |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. Quinonas..... | 1 |
| 1.1.1. Lapachol e derivados naftoquinônicos..... | 5 |
| 1.2. Fenazinas..... | 9 |
| 1.2.1. Complexos metálicos de fenazinas | 14 |
| 1.3. Complexos de rutênio como sondas celulares..... | 15 |
| 2. Objetivo..... | 24 |
| 2.1. Objetivo geral | 24 |
| 2.2. Objetivos específicos | 24 |
| 3. Resultados e discussão..... | 26 |
| 3.1. Síntese e caracterização..... | 26 |
| 3.2. Fotofísica..... | 57 |
| 3.2.1. Luminescência..... | 57 |
| 3.2.2. Processos não radiativos..... | 62 |
| 3.2.3. Tempo de vida e rendimento quântico..... | 65 |
| 3.2.4. Deslocamento de Stokes e sistema π conjugado estendido..... | 67 |
| 3.2.5. Solvatocromismo e rendimento quântico..... | 68 |
| 3.3. Detalhes computacionais..... | 78 |
| 3.4. Estudos de marcação celular..... | 83 |
| 4. Conclusão..... | 86 |



| | |
|--|-----|
| 5. Parte experimental | 87 |
| 5.1. Materiais e equipamentos | 87 |
| 5.2. Síntese das substâncias conhecidas | 88 |
| 5.3. Procedimento geral para síntese de fenazinas | 95 |
| 5.4. Procedimento geral para síntese dos complexos de Ru(II) | 98 |
| 5.5. Procedimento para obtenção das medidas de fotofísica | 104 |
| 5.5.1. Solvatocromismo | 104 |
| 5.5.2. Obtenção dos coeficientes de absorção e emissão | 105 |
| 5.5.3. Rendimento quântico de fluorescência | 106 |
| 5.6. Aspectos computacionais | 108 |
| 5.7. Procedimentos para testes de marcação celular | 108 |
| 5.7.1. Análise da viabilidade celular | 108 |
| 5.7.2. Análise por microscopia de fluorescência | 109 |



LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

| | |
|---------------------|---|
| δ | Deslocamento Químico |
| J | Constante de Acoplamento |
| $\nu_{\text{máx.}}$ | Frequência de Absorção Máxima |
| λ | Comprimento de Onda |
| RMN | Ressonância Magnética Nuclear |
| APT | “Attached Proton Test” (Teste de Próton Ligado) |
| DEPT | “Distortionless Enhancement by Polarization Transfer” (Aumento sem Distorção pela Transferência de Polarização) |
| AcOH | Ácido Acético |
| AcONa | Acetato de Sódio |
| ADN | Ácido Desoxirribonucleico |
| ARN | Ácido Ribonucleico |
| ATP | Adenosina-Tri-Fosfato |
| bpy | Bipiridina |
| DPB | Dibenzo[<i>a,c</i>]fenazina |
| ppm | Parte por Milhão |
| Células Hela | Linhagem de células obtidas de câncer cervical |
| Hochest 33258 | Marcador celular de ADN que é fluorescente na região do azul |
| GFP | “Green Fluorescent Protein” (Proteína Verde Fluorescente) |
| C_0 | Carbono Quaternário |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DMSO- d_6 | Dimetilsulfóxido Deuterado |
| d | Dupleto |
| dd | Duplo Dupleto |
| m | Multiplete |
| q | Quarteto |
| s | Simpleto |
| t | Triplete |
| sl | Simpleto Largo |



UFMG

| | |
|---------|---|
| EI/HRMS | “Electrospray Ionization / High Resolution Mass Spectrometry” (espectrometria de massas de alta resolução / ionização por eletrospray) |
| E.M. | Espectrometria de Massas |
| EROs | Espécies Reativas de Oxigênio |
| EtOH | Etanol |
| FT-IR | “Fourier Transform Infrared” (Infravermelho com Transformada de Fourier) |
| I.V. | Espectroscopia no Infravermelho |
| p.f. | Ponto de Fusão |
| T.A. | Temperatura Ambiente |
| C.C.D. | Cromatografia em Camada Delgada |
| HIV | “Human Immunodeficiency Virus” (Vírus da Imunodeficiência Humana) |
| HOMO | Highest Occupied Molecular Orbital (Orbital Molecular Ocupado de mais Alta Energia) |
| LUMO | Lowest Unoccupied Molecular Orbital (Orbital Molecular Descocupado de mais Baixa Energia) |
| THF | Tetrahidrofurano |
| TG | Termogravimetria |
| TG/DTA | “Thermogravimetric analysis / Diferencial Thermal Analysis” (termogravimetria / análise térmica diferencial) |
| TG/DTG | “Thermogravimetric analysis / Diferencial Thermogravimetry” (termogravimetria / termogravimetria diferencial) |
| TMS | Tetrametilsilano |
| MeOH | Metanol |
| NADPH | Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzido |



LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Atribuições de bandas características nos espectros de infravermelho para as fenazinas e os complexos de Ru(II)..... | 50 |
| Tabela 2. Dados cristalográficos e refinamento da estrutura para complexo (57)..... | 52 |
| Tabela 3. Distância de ligação (Å) e ângulos de ligação (°) ao redor do Ru na estrutura para complexo (57)..... | 53 |
| Tabela 4. Massa molar, concentração, condutividade e condutividade molar para os complexos sintetizados..... | 56 |
| Tabela 5. Dados referentes análise elementar (CHN) para as substâncias sintetizadas..... | 57 |
| Tabela 6. Os variados tipos de luminescência..... | 58 |
| Tabela 7. Dados de fotofísica para substância (50)..... | 69 |
| Tabela 8. Dados de fotofísica para substância (57)..... | 72 |
| Tabela 9. Dados de absorção e emissão de fluorescência no UV-Vis (em diferentes solventes) para as substâncias (51-55) e (58-62)..... | 77 |
| Tabela 10. Valores de massa molar, massa e concentração das soluções estoques (100 mL) obtidas para todos os compostos sintetizados..... | 105 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Classificação estrutural das quinonas segundo o esqueleto aromático..... | 2 |
| Figura 2. Quinonas naturais..... | 2 |
| Figura 3. Quinonas utilizadas no tratamento do câncer..... | 5 |
| Figura 4. Lapachol (12), nor-lapachol (13), β -lapachona (14) e α -lapachona (15)..... | 6 |
| Figura 5. Fenazinas diméricas sintetizadas a partir da β -lapachona (14)..... | 8 |
| Figura 6. Fenazinas e derivados sintetizadas por bactérias..... | 10 |
| Figura 7. Derivados de fenazina de ocorrência natural e suas origens..... | 10 |
| Figura 8. Estrutura da benzofenazina (27), do derivado XR 11576 (28) com atividade antitumoral..... | 12 |
| Figura 9. Imagem de fluorescência confocal de co-coloração de Células Hela com fenazina e imagem de corte transversal xz | 12 |
| Figura 10. Efeito da infecção pelo vírus sobre a absorção celular de $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ em células hospedeiras..... | 13 |
| Figura 11. Estrutura de alguns complexos com ligantes fenazínicos | 14 |
| Figura 12. Complexos de Ir(III) com ligantes piridínicos..... | 15 |
| Figura 13. Estrutura do primeiro complexo polipiridínico de Ru luminescente..... | 16 |
| Figura 14. Complexo polipiridínico de Ru(II) como sonda para Cu..... | 16 |
| Figura 15. Complexos polipiridínicos com ligante fenazínico diferenciado..... | 19 |
| Figura 16. Estrutura dos ligantes poliazaaromáticos..... | 21 |
| Figura 17. Distribuição da densidade de spin para o menor estado tripleto dos complexos..... | 21 |
| Figura 18. Representação das imagens de transmissão (esquerda) e da imagem confocal de emissão de varredura a laser (direita)..... | 22 |
| Figura 19. Células HeLa foram incubadas com 5 μM de Ru-D-R8 durante 30 min (esquerda), 5 μM Ru-R8-D-fluor durante 30 min (meio), ou 20 μM Ru-fluor, durante 41 h (direita) a 37 ° C..... | 22 |
| Figura 20. Estrutura das fenazinas propostas..... | 24 |
| Figura 21. Estrutura dos complexos propostos..... | 25 |
| Figura 22. Espectro de RMN ^1H da β -lapachona (14)..... | 29 |



UFMG

| | |
|--|----|
| Figura 23. Espectro de RMN de ^1H da bromo- β -lapachona (40)..... | 31 |
| Figura 24. Espectro de RMN de ^1H do <i>nor</i> -lapachol (13)..... | 33 |
| Figura 25. Espectro de RMN de ^1H da <i>nor</i> - β -lapachona (44)..... | 35 |
| Figura 26. Estruturas das quinonas sintetizadas..... | 36 |
| Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância (47)..... | 37 |
| Figura 28. Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da substância (48)..... | 38 |
| Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) da substância (49)..... | 40 |
| Figura 30. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (50)..... | 42 |
| Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (55)..... | 44 |
| Figura 32. Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da substância (56)..... | 46 |
| Figura 33. Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da fenazina (50) e do seu complexo com Ru(II) (57)..... | 50 |
| Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância (57)..... | 51 |
| Figura 35. Projeção ORTEP-3 do derivado 45 com os átomos identificados e elipsóides de vibração térmica a 20% de probabilidade | 52 |
| Figura 36. Curvas TGA/DTA para complexo (57) em fluxo de ar (50 mL/min)..... | 54 |
| Figura 37. Curvas TGA/DTA para complexo (58) em fluxo de ar (50 mL/min)..... | 55 |
| Figura 38. Diferentes fenômenos foto-físicos pelo qual uma substância excitada pode perder energia..... | 60 |
| Figura 39. Distinção entre os estados excitados singleto e tripleto, usando o formaldeído como exemplo..... | 61 |
| Figura 40. Estrutura química da rodamina B e seus movimentos rotacionais..... | 63 |
| Figura 41. Espectros de absorção da substância (50) com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em diversos solventes..... | 69 |
| Figura 42. Espectros de emissão da substância (50) com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em diversos solventes..... | 70 |
| Figura 43. Curvas analíticas da absorvância em função da concentração para determinação dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) da substância (50)..... | 70 |



| | |
|--|-----|
| Figura 44. Curvas analíticas para determinação do rendimento quântico de fluorescência (Φ) da fenazina (50)..... | 71 |
| Figura 45. Espectros de absorção da substância (57) com concentração $1,99 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ em diversos solventes..... | 72 |
| Figura 46. Espectros de emissão da substância (57) com concentração $1,99 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ em diversos solventes..... | 73 |
| Figura 47. Curvas analíticas da absorvância em função da concentração para determinação dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) do complexo (57)..... | 74 |
| Figura 48. Curvas analíticas para determinação do rendimento quântico de fluorescência (Φ) da fenazina (57)..... | 74 |
| Figura 49. Geometrias otimizadas e orbitais moleculares (HOMO e LUMO) para as substâncias sintetizadas (50-55) e (57-62) | 81 |
| Figura 50. Diagrama de energia dos orbitais HOMO e LUMO para os compostos sintetizados..... | 83 |
| Figura 51. Análise por microscopia de fluorescência para a fenazina (54)..... | 84 |
| Figura 52. Análise por microscopia de fluorescência para a fenazina (55)..... | 85 |
| Figura 53. Gráfico de regressão linear para o padrão (sulfato de quinina) e a fenazina (50)..... | 107 |
| Figura 54. Gráfico de regressão linear para o padrão (rodamina B) e o complexo (57). 107 | 107 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|--|----|
| Esquema 1. Equilíbrio redox entre a <i>p</i> -benzoquinona e a hidroquinona | 1 |
| Esquema 2. Ciclo redox induzido por quinonas..... | 3 |
| Esquema 3. Modificações no centro redox da β -lapachona (14) para a obtenção de derivados com variados arcaouços estruturais | 7 |
| Esquema 4. Síntese de fenazinas 1,2,3-triazólicas derivadas da β -lapachona (14)..... | 9 |
| Esquema 5. Síntese de fenazina derivada do lapachol (12), uma sonda para Cd^{2+} | 9 |
| Esquema 6. Estrutura química dos complexos RuL_{1-7} | 18 |
| Esquema 7. Planejamento levando a formação dos marcadores celulares propostos | 27 |
| Esquema 8. Ciclização do lapachol (12) para obtenção da β -lapachona (14)..... | 28 |
| Esquema 9. Mecanismo de ciclização formando a β -lapachona (14)..... | 28 |
| Esquema 10. Reação de formação da 3-bromo- β -lapachona (40)..... | 29 |
| Esquema 11. Mecanismo de formação da 3-bromo- β -lapachona (40)..... | 30 |
| Esquema 12. Reação de formação da 3-iodo- β -lapachona (41)..... | 31 |
| Esquema 13. Reação de formação do ácido β -lapachona-3-sulfônico (42)..... | 32 |
| Esquema 14. Reação da lausona (43) para obtenção do <i>nor</i> -lapachol (13)..... | 32 |
| Esquema 15. Mecanismo proposto para formação do <i>nor</i> -lapachol (13)..... | 33 |
| Esquema 16. Reação de ciclização do <i>nor</i> -lapachol (13)..... | 34 |
| Esquema 17. Mecanismo proposto para ciclização do <i>nor</i> -lapachol (13)..... | 34 |
| Esquema 18. Reação de síntese do produto (46)..... | 35 |
| Esquema 19. Mecanismo proposto para formação do intermediário (45)..... | 36 |
| Esquema 20. Obtenção da 4,7-fenantrolina-5,6-diona (47)..... | 37 |
| Esquema 21. Reação de síntese da 4,7-fenantrolina-5,6-dioxima (48)..... | 38 |
| Esquema 22. Formação da 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (49)..... | 39 |
| Esquema 23. Reação de formação das fenazinas (50-55) a partir dos derivados das lapachonas (14, 40-42)..... | 41 |
| Esquema 24. Reação de condensação formando fenazinas luminescentes derivadas das 1,2-furanonftoquinonas..... | 43 |
| Esquema 25. Mecanismo proposto para formação das fenazinas luminescentes..... | 45 |
| Esquema 26. Formação do $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ | 46 |



UFMG

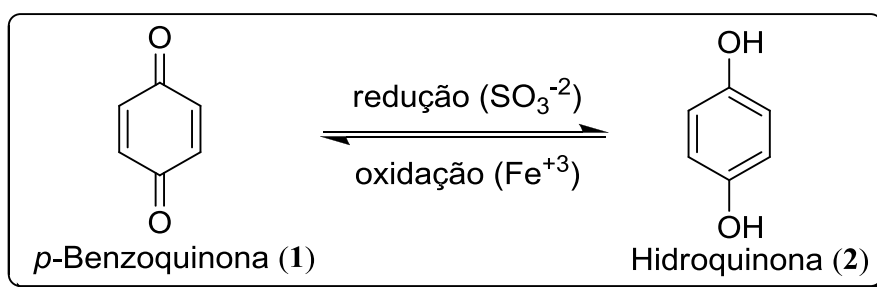
| | |
|--|----|
| Esquema 27. Reação de formação dos complexos luminescentes com ligantes fenazínicos derivados de 1,2-piranoftoquinonas..... | 47 |
| Esquema 28. Formação dos complexos luminescentes das fenazinas derivadas das 1,2-furanoftoquinonas..... | 48 |
| Esquema 29. Diagrama de Jablonski..... | 62 |
| Esquema 30. Fenômenos radiativos e não radiativos relacionados diretamente com o cruzamento intersistemas..... | 64 |

1. INTRODUÇÃO

1.1. Quinonas

As quinonas são conhecidas pelo homem desde a antiguidade. Acredita-se que o primeiro relato do uso de *Alkanna tinctoria* (alkannin), um derivado naftoquinônico de ocorrência natural, esteja nas obras do filósofo e médico grego Hipócrates (séc. IV e V a.C.).¹

As quinonas são compostos α,β -dienônicos cíclicos que possuem propriedades redox que estão intrinsecamente relacionadas com suas propriedades biológicas. O Esquema 1 mostra o equilíbrio redox da *para*-benzoquinona que pode ser reduzida a hidroquinona. O sistema conjugado das quinonas apresenta energia semelhante às hidroquinonas, sendo que a fácil interconvenção entre estas moléculas é a base de um mecanismo muito investigado de oxi-redução que ocorre nas células.²



Esquema 1: Equilíbrio redox entre a *p*-benzoquinona e a hidroquinona.

A classificação das quinonas quanto a estrutura leva em consideração o tipo de sistema aromático ao qual o anel quinonoídico está inserido: benzeno – benzoquinonas; naftaleno – naftoquinonas; antraceno – antraquinonas.³ Em decorrência das diferentes formas quinoidais observam-se propriedades físico-químicas diferentes e conseqüentemente variações nas ações biológicas desses compostos (Figura 1).³

1. Papageorgiu, V.P.; Assimopoulou, A.N.; Couladouros, E.A.; Hepworth, D.; Nicolau, K.C.; The chemistry and biology of alkannin, shikonin, and related naphthazarin natural products. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 270-300.

2. Morrison, R.; Boyd, R.; *Organic Chemistry*, sixth edition, Prentice-Hall, **1996**.

3. Da Silva, M.N.; Ferreira, V.F.; Souza, M.C.B.V.; Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. *Quim. Nova*, **2003**, *3*, 407-416.

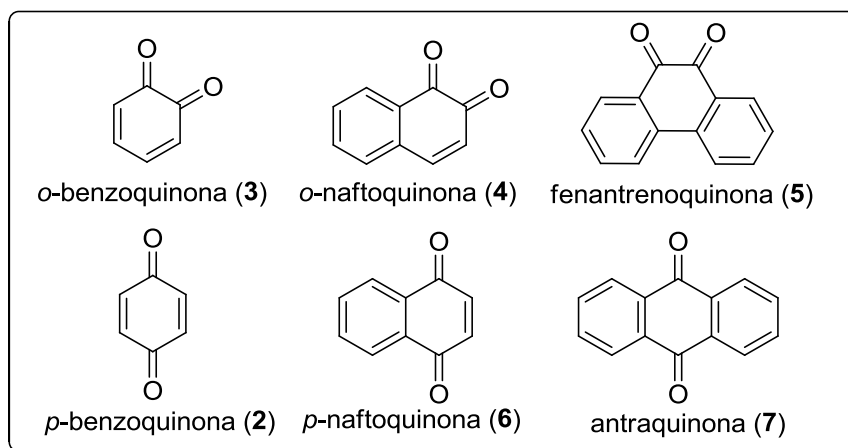


Figura 1: Classificação estrutural das quinonas segundo o esqueleto aromático.

As quinonas fazem parte de uma ampla família de metabólitos naturais secundários⁴ e estão relacionadas com processos biológicos vitais, como por exemplo, a cadeia transportadora de elétrons.⁴ Compostos naftoquinoidais podem ser produtos naturais ou sintéticos. A coenzima Q₁₀ também conhecida como ubiquinona é um importante exemplo de uma quinona que atua como transportadora de elétrons na cadeia respiratória sendo uma substância fundamental na biologia celular. Um derivado de naftoquinona, a vitamina K₁ (8) participa na coagulação do sangue (Figura 2) e também é um exemplo a se destacar.⁵

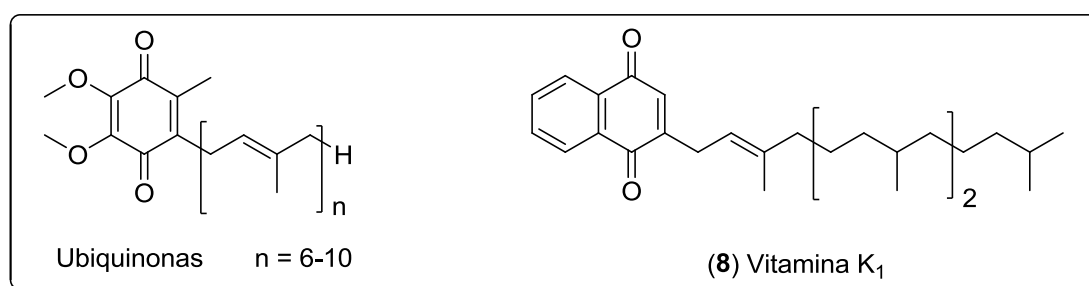


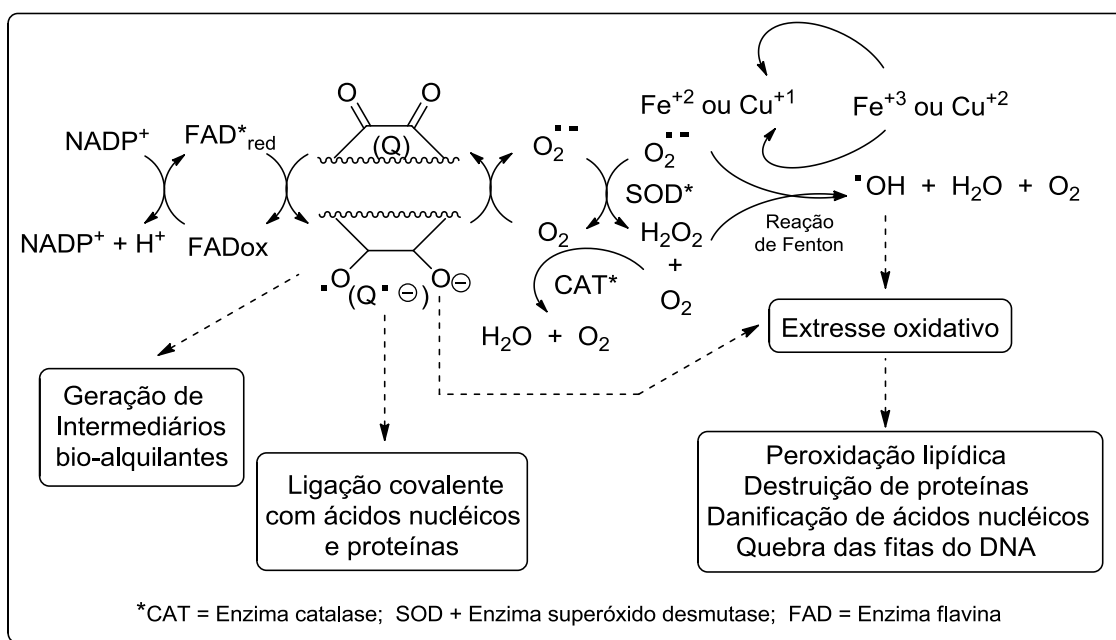
Figura 2: Quinonas naturais.

A formação endógena de espécies reativas de oxigênio (EROs) :O₂⁻, H₂O₂ e HO· que ocorrem através da biorredução do núcleo quinônico envolve outra característica importante desta classe de compostos. As quinonas estão presentes nos meios

4. Thomson, R.H.; Em *Naturally Occurring Quinones*; Academic Press: New York, **1971**; Thompson, R. H. Em *Naturally Occuring Quinones IV: Recents Advances*; Champman & Hall: London, **1997**.

5. Asche, C.; *Antitumour Quinones Mini Rev. Med. Chem.* **2005**, 5, 449-467.

biológicos e participam do processo de formação das espécies endógenas de oxigênio principalmente devido ao metabolismo celular oxidativo de catecolaminas e estrogênios. As EROs são geradas no ciclo redox de quinonas (Esquema 2), que pode se iniciar por uma redução com um elétron, sendo catalisada pelo NADPH-citocromo P450 redutase, ou por uma redução com dois elétrons sendo o NAD(P)H redutase o catalisador.⁶



Esquema 2: Ciclo redox induzido por quinonas gerando EROs via catálise pelo NADPH-citocromo P450 redutase.⁷

As quinonas, especialmente as naftoquinonas, possuem diversas atividades biológicas comprovadas, a saber: atividade tripanocida,⁸ antifúngica,⁹ bactericida,¹⁰

6. Castro, S.L.; Emery, F.S.; da Silva-Junior, E.N.; Synthesis of quinoidal molecules: strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 69, 678-700.

7. Da Silva-Junior, E.N.; *Tese de Mestrado*, Universidade Federal Fluminense, Brasil, **2007**.

8. (a) Pinto, C.N.; Dantas, A.P.; de Moura, K.C.G.; Emery, F.S.; Polequevitch, P.F.; Pinto, M.C.F.R.; Castro, S.L.; Pinto, A.V.; Chemical reactivity studies with naphthoquinones from tabebuia with anti-trypanosomal efficacy. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **2000**, 50 (II), 1120-1128. (b) Zani, C.L.; Chiari, E.; Krettli, A.U.; Murta, S.M.F.; Cunningham, M.L.; Fairlamb, A.H.; Romanha, A.J.; Anti-plasmodial and anti-trypanosomal activity of synthetic naphtho[2,3-b]thiophen-4,9-quinones. *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 12, 2185-2192.

9. Garner, S.; Wolfender, J.L.; Nianga, M.; Stoeckli-Evanst, H.; Hostettmann, K.; Antifungal and antibacterial naphthoquinones from *Newbouldia Laevis* Roots. *Phytochem.* **1996**, 42, 5, 1315-1320.

leishmanicida,¹¹ moluscida,¹² antitumoral,^{13,14} atividade contra doenças neurodegenerativas,¹⁵ antiviral,¹⁶ entre outras. Daunorrubicina (**9**), doxorubicina (**10**) e mitoxantrona (**11**) são exemplos de quinonas com importante atividade antitumoral (Figura 3).

10. Lourenço, A.L.; Abreu, P.A.; da Silva Junior, E.N.; Pinto, A.V.; Pinto, M.C.F.R.; Souza, A.M.T.; Novais, J.S.; Paiva, M.B.; Cabral, L.M.; Rodrigues, C.R.; Ferreira, V.F.; Castro, H.C.; Identification of nor-b-lapachone derivatives as potential antibacterial compounds against *Enterococcus faecalis* clinical strain. *Curr Microbiol*, **2011**, 62, 684-689.

11. Guimarães, T.T.; Pinto, M.C.F.R.; Lanza, J.S.; Melo, M.N.; do Monte-Neto, R.L.; Melo, I.M.M.; Diogo, E.B.T.; Ferreira, V.F.; Camara, C.A.; Valença, W.O.; Oliveira, R.N.; Frézard, F.; da Silva Junior, E.N.; Potent naphthoquinones against antimony-sensitive and -resistant *Leishmania* parasites: Synthesis of novel β - and nor- β -lapachone based 1,2,3-triazoles by copper-catalyzed azidealkyne cycloaddition. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 63, 523-530.

12. Camara, C.A.; Silva, T.M.S.; da-Silva, T.G.; Martins, R.M.; Barbosa, T.P.; Pinto, A.C.; Vargas, M.D.; Molluscicidal activity of 2-hydroxy-[1,4]naphthoquinone and derivatives. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2008**, 2, 80.

13. Reichstein, A.; Vortherms, S.; Bannwitz, S.; Tentrop, J.; Prinz, H.; Muller, K.; Synthesis and structure-activity relationships of lapachol analogues. 1. Suppression of human keratinocyte hyperproliferation by 2-substituted naphtho[2,3-b]furan-4,9-diones, activation by enzymatic one- and two-electron reduction, and intracellular generation of superoxide. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 7273-7284.

14. Coelho-Cerqueira, E.; Netz, P.A.; do Canto, V.P.; Pinto, A.C.; Follmer, C.; Beyond topoisomerase Inhibition: antitumor 1,4-naphthoquinones as potential inhibitors of human monoamine oxidase. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2014**, 83, 401-410.

15. Cleren, C.; Yang, L.; Lorenzo, B.; Calingasan, N.Y.; Schomer, A.; Sireci, A.; Wille, E.J.; Beal, M.F.; Therapeutic effects of coenzyme Q10 (CoQ10) and reduced CoQ10 in the MPTP model of Parkinsonism. *J. Neurochem.* **2008**, 104, 1613-1621.

16. Stagliano, K.W.; Emadi, A.; Lu, Z.; Malinakova, H.C.; Twenter, B.; Yu, M.; Holland, L.E.; Rom, A.M.; Harwood, J.S.; Amin, R.; Johnson, A.A.; Pommier, Y.; Regiocontrolled synthesis and HIV inhibitory activity of unsymmetrical binaphthoquinone and trimeric naphthoquinone derivatives of conocurvone. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 5651-5665.

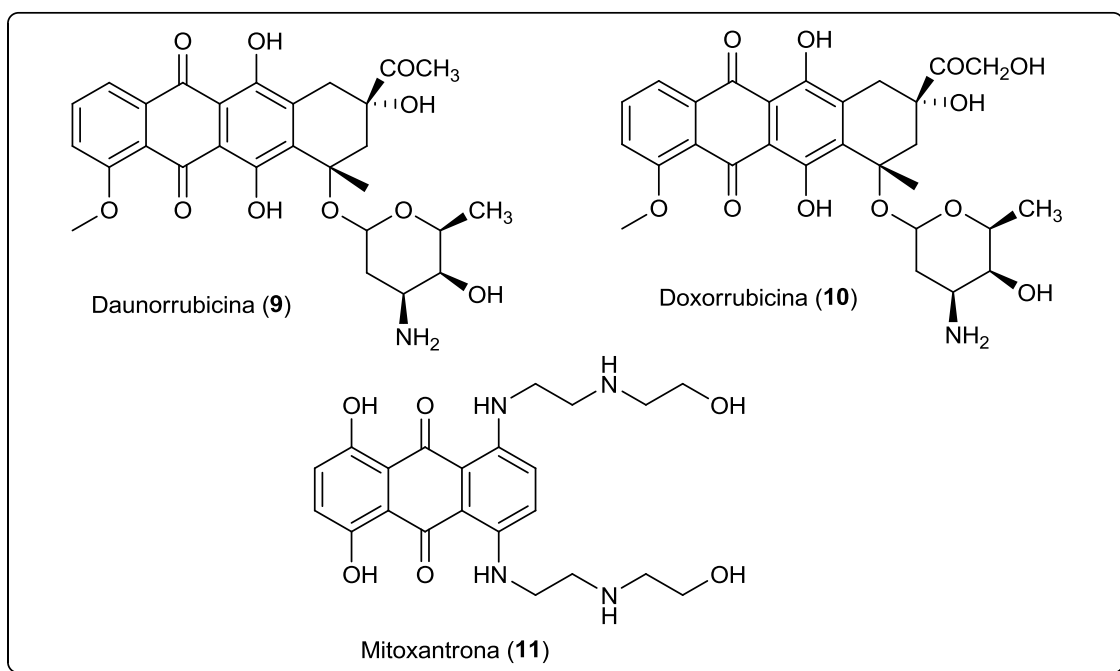


Figura 3: Quinonas utilizadas no tratamento do câncer.¹⁷

Entre as naftoquinonas destaca-se o lapachol (**12**) por possuir diversas bioatividades e por ser precursor sintético de compostos usados para diversos fins, como por exemplo, sondas celulares.

1.1.1. Lapachol e derivados naftoquinônicos

O lapachol (**12**) foi primeiramente isolado por Arnaudon em 1858¹⁸ sendo encontrado no cerne do lenho das árvores da *Tabebuia* spp, Bignoniaceae (popularmente conhecida como ipê). Vários estudos foram realizados em 1882, por Paternò,¹⁹ visando a determinação de sua estrutura. Hooker entre 1892-1896,²⁰ propôs a estrutura para este composto que foi confirmada posteriormente por Fieser em 1927.²¹

17. Almeida, V.L.; Leitão, A.; Reina, L.C.B.; Montanari, C.A.; Donnici, C.L.; Lopez, T.P.; Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclocelular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Quim. Nova*, **2005**, 28, 1, 118-129.

18. Arnaudon, M.; *Compt. Rend.* **1858**, 46, 1152.

19. Paternò, E.; *Gazz. Chim. Ital.* **1882**, 12, 387-404.

20. (a) Hooker, S.C.; *J. Chem. Soc.* **1892**, 62, 611. (b) Hooker, S.C.; *J. Chem. Soc.* **1896**, 69, 1355.

21. Fieser, L.F.; *J. Am. Chem. Soc.* **1927**, 49, 857.

Além do lapachol (**12**), destacam-se também entre as naftoquinonas naturais ou semissintéticas os derivados, como por exemplo, o nor-lapachol (**13**), a β -lapachona (**14**) e a α -lapachona (**15**) que possuem diversas atividades biológicas comprovadas (Figura 4).³

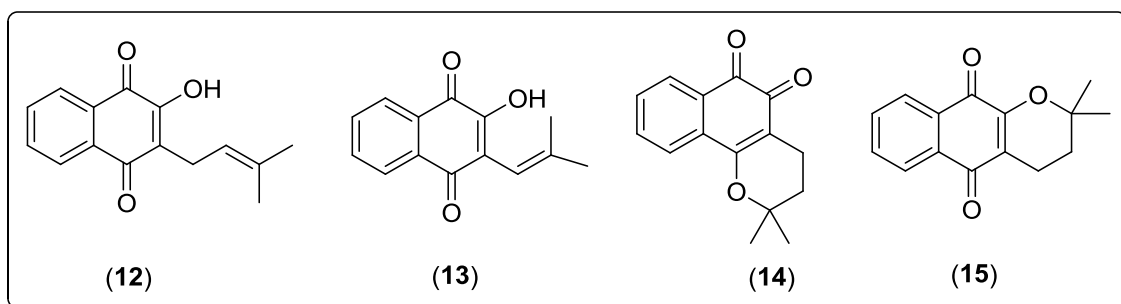


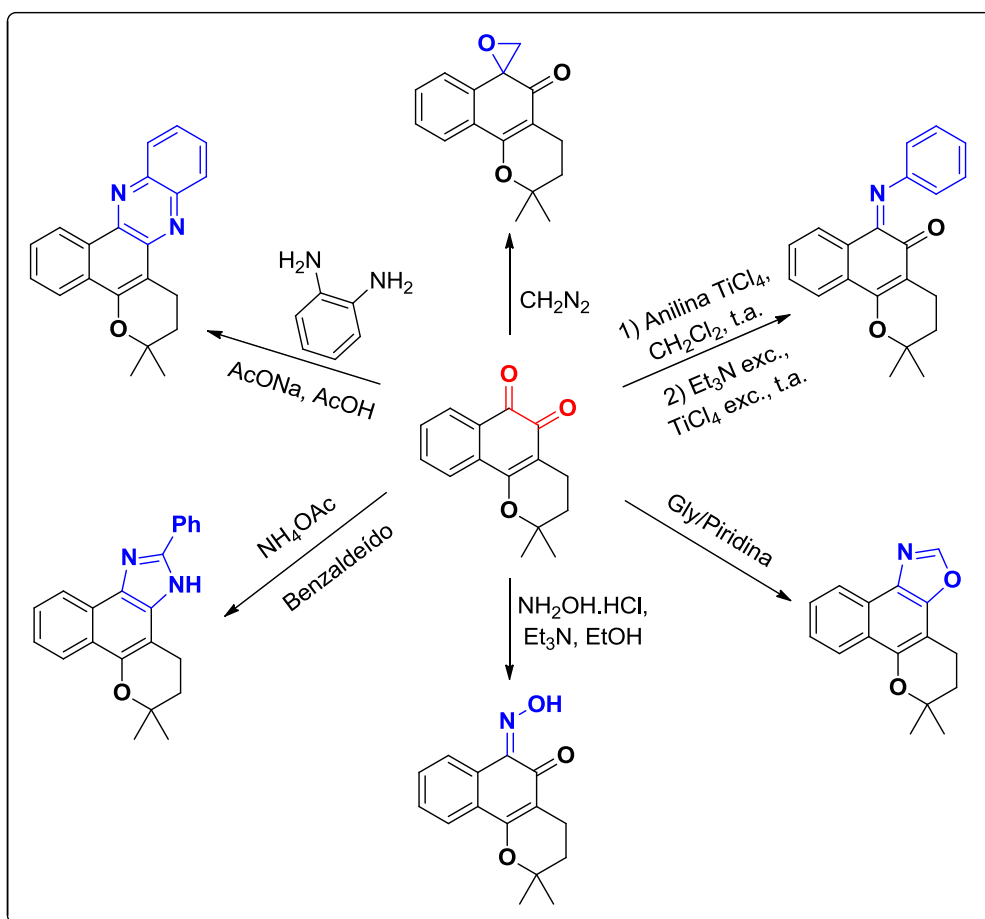
Figura 4: Lapachol (**12**), nor-lapachol (**13**), β -lapachona (**14**) e α -lapachona (**15**).

A β -lapachona (**14**) (β -lap) é um isômero constitucional do lapachol (**12**) que também é encontrada no cerne das árvores da família Bignoniaceae, porém em menor proporção, sendo conhecida desde 1858.²² A β -lap mostrou-se eficaz contra o *Trypanossoma cruzi*, porém com alta toxicidade o que impede sua utilização como fármaco.²² Esta naftoquinona apresenta também significativa atividade, *in vitro*, contra o câncer.²² Uma associação da β -lap com gencitabina, sob o código ARQ501, encontra-se atualmente em ensaios clínicos de Fase II.²³

A modificação no centro redox da β -lapachona (**14**) é uma importante estratégia para obtenção de inúmeras classes de compostos bioativos, como por exemplo, naftozaxóis, naftoimidazóis, oxiranas, iminas, e fenazinas (Esquema 3), o que confere à β -lap um enorme potencial como precursor sintético de moléculas que possuem aplicações variadas.

22. Ferreira, S.B.; Gonzaga, D.T.G.; Santos, W.C.; Araújo, K.G.L.; Ferreira, V.F.; β -Lapachona: Sua importância em química medicinal e modificações estruturais. *Rev. Virtual Quim.* **2010**, *2*, 2, 140-160.

23. Yang, R. Y.; Kizer, D.; Wu, H.; Volckova, E.; Miao, X. S.; Ali, S. M.; Tandon, M.; Savage, R. A.; Chan, T. C. K.; Ashwell, M. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5635.



Esquema 3: Modificações no centro redox da β -lapachona (**14**) para a obtenção de derivados com variados arcabouços estruturais.²⁴

Neste contexto de modificação estrutural da β -lapachona (**14**) e seus derivados, diversas fenazinas com propriedades biológicas e com potencial como marcadores

24. (a) da Silva, M.N.; da Souza, M.C.B.V.; Ferreira, V.F.; Pinto, A.V.; Pinto, M.C.R.F.; Wardellec, S.M.S.V.; Wardell, J.L.; Synthesis of new aldehyde derivatives from β -lapachone and nor- β -lapachone. *Arkivoc*, **2003**, 10, 156-168. (b) Andrade-Neto, V.F.; Goulart, M.O.F.; da Silva Filho, J.F.; da Silva, M.J.; Pinto, M.C.F.R.; Pinto, A.V.; Zalis, M.G.; Carvalho, L.H.; Krettli, A.U.; Antimalarial activity of phenazines from lapachol, β -lapachone and its derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. *Bioorg. Med. Chem.Lett.* **2004**, 14, 1145-1149. (c) Pinto, A.V.; Pinto, C.N.; Pinto, M.C.F.R.; Emery, F.S.; de Moura, K.C.G., Carvalho, C.E.M.; Brinn, I.M.; Fluorescent symmetric phenazines from the reaction of β -lapachone and nor- β -lapachone with ammoniating agents *J. Chem. Res.* **1999**, S, 650-651. (d) Emery, Fda S.; Silva, R.S.; de Moura, K.C.; Pinto, M.C.; Amorim, M.B.; Malta, V.R.; Santos, R.H.; Honório, K.M.; da Silva, A.B.; Pinto, A.V.; 1,4- Addition of diazomethane to a heterodiene: a direct preparation of the oxazolic ring. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2007**, 79, 29-33.

celulares e sondas para determinação de metais pesados foram preparadas.²⁵ Pinto e colaboradores descreveram a síntese de fenazinas diméricas fluorescentes a partir da β -lapachona (**14**) promissoras em estudos fotofísicos com potencial uso como sondas fluorescentes (Figura 5).²⁶

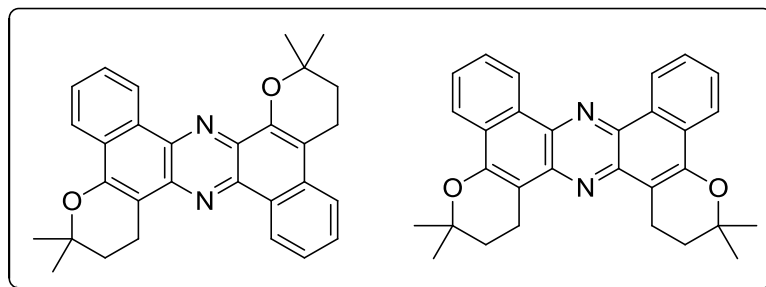


Figura 5: Fenazinas diméricas sintetizadas a partir da β -lapachona (**14**).

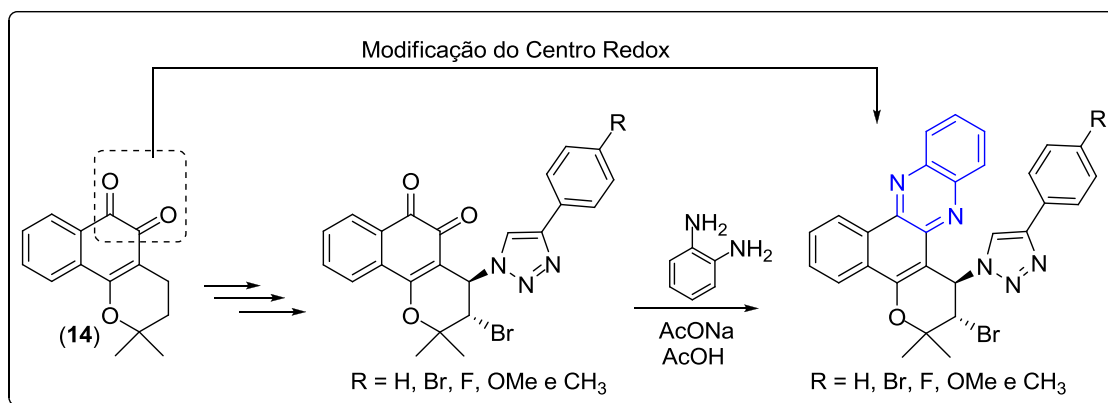
Recentemente, o grupo de pesquisa de Da Silva Júnior reportou a síntese e avaliação contra o *Mycobacterium tuberculosis* de fenazinas 1,2,3-triazólicas obtidas a partir de lapachonas (Esquema 4).²⁷ Em outro recente trabalho do mesmo grupo, uma fenazina fluorescente obtida a partir da nor- β -lapachona foi descrita como sensor para

²⁵. (a) Pérez-Sacau, E.; Díaz-Peñate, R.G.; Estévez-Braun, A.; Ravelo, A.G.; García-Castellano, J.M.; Pardo, L.; Campillo, M.; Synthesis and pharmacophore modeling of naphthoquinone derivatives with cytotoxic activity in human promyelocytic leukemia HL-60 cell line. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 696-706. (b) Andrade-Neto, V.F.; Goulart, M.O.F.; Filho, J.F.S.; da Silva, M.J.; Pinto, M.C.F.R.; Pinto, A.V.; Zalis, M.G.; Carvalho, L.H.; Krettli, A.U.; Antimalarial activity of phenazines from lapachol, β -lapachone and its derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 1145-1149. (c) Singh, P.; Dandia, A.; Khandelwal, P.; Studies on novel polycyclic heterocycles: synthesis of new naphthaquinoxaline and naphthazaquinoxaline derivatives from naturally occurring quinones. *Indian J. Chem. B*, **2008**, 47, 427-433.

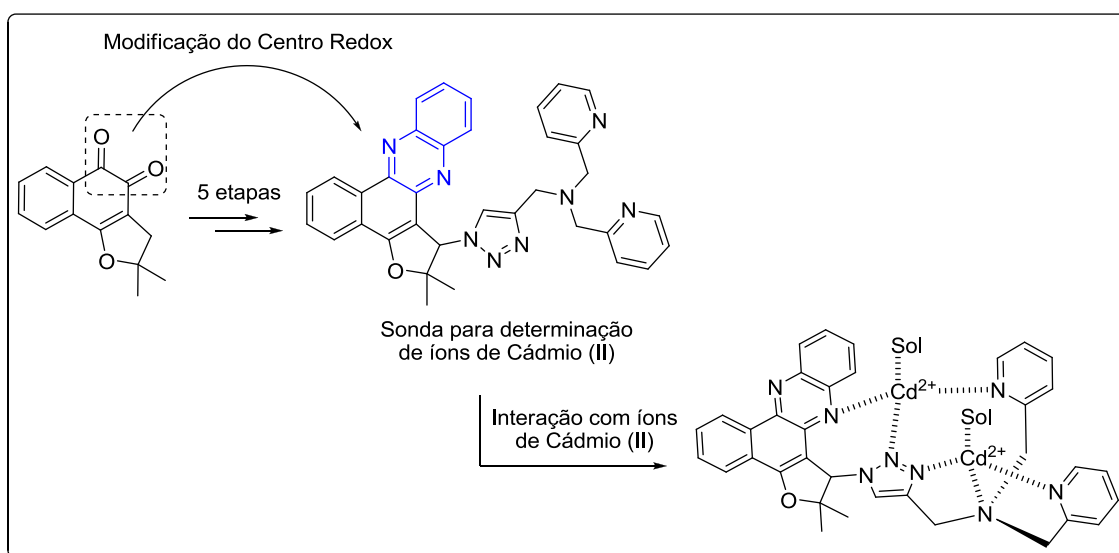
26. (a) Carvalho, C. E. M.; Brinn, I. M.; Pinto, A. V.; Pinto, M. C. F. R.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2000**, 136, 25-33. (b) Carvalho, C. E. M.; De Lucas, N. C.; Herrera, J. O. M.; Pinto, A. V.; Pinto, M. C. F. R.; Brinn, I. M.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2004**, 167, 1-9.

27. Jardim, G.A.M.; Cruz, E.H.G.; Valença, W.O.; Resende, J.M.; Rodrigues, B.L.; Ramos, D.F.; Oliveira, R.N.; Silva, P.E.A.; Da Silva Júnior, E.N.; On the search for potential antimycobacterial drugs: synthesis of naphthoquinoidal, phenazinic and 1,2,3-triazolic compounds and evaluation against *mycobacterium tuberculosis*. *J. Braz. Chem. Soc.* **Aceito em 15/01/2015**.

íons cádmio (II) (Esquema 5), evidenciando a aplicabilidade destes compostos em diferentes áreas.²⁸



Esquema 4: Síntese de fenazinas 1,2,3-triazólicas derivadas da β-lapachona (14).



Esquema 5: Síntese de fenazina derivada do lapachol (12), uma sonda para Cd²⁺.

1.2. Fenazinas

As fenazinas são dibenzopirazinas que englobam um variado grupo de compostos heterocíclicos nitrogenados com propriedades físico-químicas que dependem

28. Jardim, G.A.M.; Calado, H.D.R.; Cury, L.A.; Da Silva Júnior, E.N.; Synthesis of a phenazine-based 1,2,3-triazole from naturally occurring naphthoquinone designed as a probe for Cd²⁺ ions. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 703–709

do tipo e do posicionamento dos substituintes. Mais de 6000 moléculas desta classe foram descritas no século passado, sendo muitas de origem natural (Figura 6). Compostos fenazínicos podem apresentar atividade antibacteriana e antifúngica.²⁹ Estas substâncias podem ser produzidas por algumas bactérias (Figura 7), principalmente pelas bactérias do gênero das *Pseudomonas* e têm despertado grande interesse devido às suas atividades biológicas e, suas aplicações em biotecnologia.³⁰

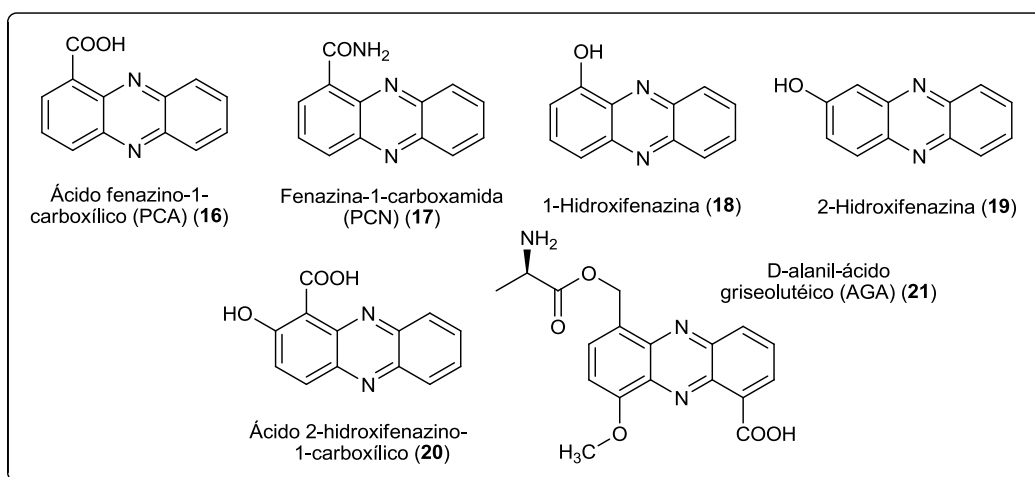


Figura 6: Fenazinas e derivados sintetizados por bactérias.

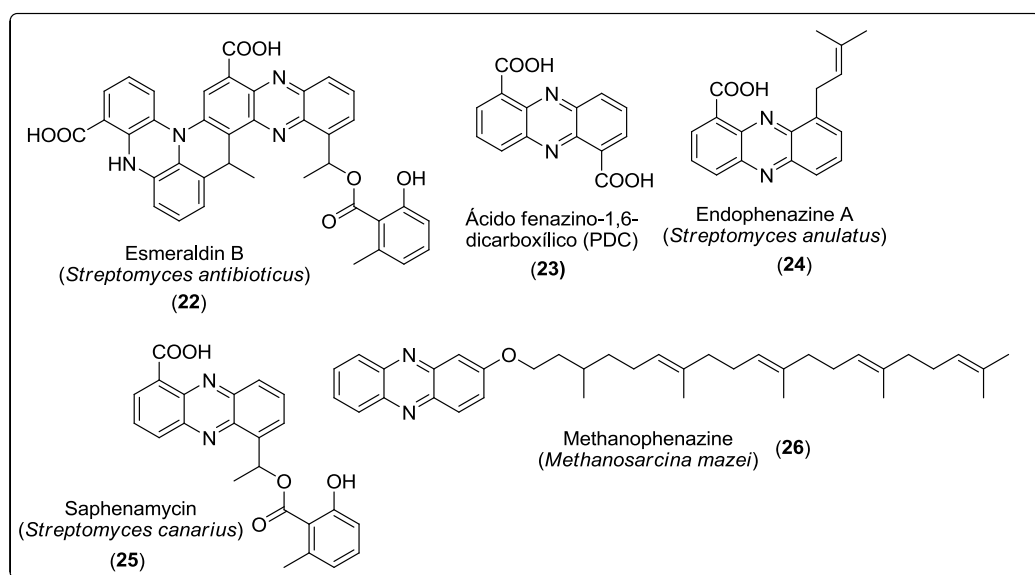


Figura 7: Derivados de fenazina de ocorrência natural e suas origens.

29. Mavrodi, D.V.; Blankenfeldt, W.; Thomashow, L.S.; Phenazine compounds in fluorescent *Pseudomonas* Spp. Biosynthesis and regulation. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2006**, 44, 417–445.

30. Pierson, L.S.; Pierson, E.A.; Metabolism and function of phenazines in bacteria: impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, 86, 1659–1670.

Fordos em 1859³¹ foi o primeiro a extrair e isolar piocianina, a primeira fenazina natural que se tem relato. O primeiro micro-organismo produtor de fenazina a ser isolado foi um patógeno humano que vive no solo, a bactéria *Pseudomona aeruginosa*, em 1882 por Gessard, na ocasião chamada de “*Bacillus pyocyaneus*”.³² Em 1900, Migula nomeou estas bactérias por “*Pseudomonas aeruginosas*”, esta denominação permanece até hoje.³³ As fenazinas exibem diversas atividades biológicas tais como atividade antibiótica,³⁴ antifúngica,³⁵ antitumoral (Figura 8),³⁶ antiparasitária,³⁷ antimalária,³⁸ antimicrobiana³⁹ e anticâncer.⁴⁰

31. Fordos, J.; *Rec. Trav. Soc. Emul. Sci. Pharm.* **1859**, 3, 30.

32. Gessard, C.; Sur les colorations bleu et verte des lignes `a pansements. *C. R. Acad. Sci. Ser.* **1882**, 94, 536–68.

33. Migula, W.; *System Der Bakterien.* **1900**, Jena: G. Fischer.

34. (a) Priyaja, P.; Jayesh, P.; Philip, R.; Singh, I.S.B.; Pyocyanin induced in vitro oxidative damage and its toxicity level in human, fish and insect cell lines for its selective biological applications. *Cytotechnol.* **2014**. (b) Veremeeko, E.G.; Maksimova, N.P.; Activation of the antioxidant complex in *Pseudomonas aurantiaca* - producer of phenazine antibiotics. *Microbiology*, **2010**, 79(4), 439-444.

35. (a) Morohoshi, T.; Wang, W.; Suto, T.; Saito, Y.; Ito, S.; Someya, N.; Ikeda, T.; Phenazine antibiotic production and antifungal activity are regulated by multiple quorum-sensing systems in *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* StFRB508. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **2013**, 116(5), 580-584. (b) Morales, D.K.; Jacobs, N.J.; Rajamani, S.; Krishnamurthy, M.; Cubillos-Ruiz, J.R.; Hogan, D.A.; Antifungal mechanisms by which a novel *Pseudomonas aeruginosa* phenazine toxin kills *Candida albicans* in biofilms. *Mol. Microbiol.* **2010**, 78(6), 1379-1392.

36. Pachón, O.G.; Azqueta, A.; Lavaggi, M.L.; Cerain, A.L.; Creppy, E.; Collins, A.; Cerecetto, H.; Gonzáles, M.; Centelles, J.J.; Cascante, M.; Antitumoral effect of phenazine N5,N10-dioxide derivatives on caco-2 cells. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, 21, 1578–1585.

37. Blankenfeldt, W.; Kusin, A.P.; Skarina, T.; Korniyenko, Y.; Tong, L.; Bayer, P.; Janning, P.; Thomashow, L.S.; Mavrodí, D.V.; Structure and function of the phenazine biosynthetic protein PhzF from *Pseudomonas fluorescens*. *Biochemistry*, **2004**, 101(47), 16431-16436.

38. (a) Andrade-Neto, V.F.; Goulart, M.O.F.; da Silva Filho, J.F.; da Silva, M.J.; Pinto, M.C.F.R.; Pinto, A.V.; Zalis, M.G.; Carvalho, L.H.; Krettli, A.U.; Antimalarial activity of phenazines from lapachol, β -lapachone and its derivatives against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 14, 1145-1149. (b) Makgatho, M.E.; Anderson, R.; O’Sullivan, J.F.; Egan, T.J.; Freese, J.A.; Cornelius, N.; van Rensburg, C.E.J.; Tetramethylpiperidine-substituted phenazines as novel anti-plasmodial agents. *Drug Development Research*, **2000**, 50, 195-202.

39. Hussain, H.; Specht, S.; Sarite, S.R.; Saefel, M.; Hoerauf, A.; Schulz, B.; Krohn, K.; A new class of phenazines with activity against a chloroquine resistant *plasmodium falciparum* strain and antimicrobial activity. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 4913-4917.

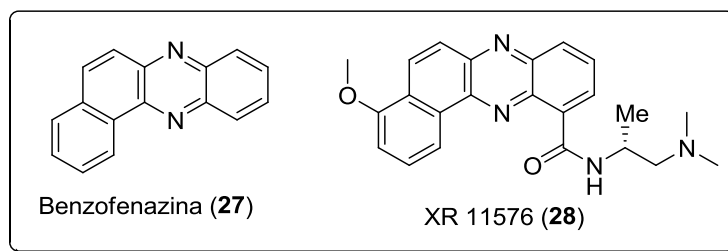


Figura 8: Estrutura da benzofenazina (27) e do derivado XR 11576 (28) com atividade antitumoral.

Devido as suas propriedades luminescentes as fenazinas possuem aplicação como sondas em sistemas biológicos. Alguns compostos fenazínicos apresentam alto rendimento quântico de fluorescência e, portanto podem ser detectados em meio biológico mesmo em concentrações muito baixas.⁴¹ Na Figura 9 um exemplo de uma fenazina utilizada como sonda luminescente fornecendo uma imagem de fluorescência confocal de co-coloração de Células Hela e imagem de corte transversal *xz*. (a) canal azul: imagem do núcleo corado pelo Hoechst 33258, λ_{Ex} = 405 nm, emissão foi recolhido por canal azul 370-470 nm; (b) canal vermelho: co-coradas com fenazina, λ_{Ex} = 543 nm, emissão foi recolhida por canal vermelho 650-750 nm; (c) sobreposição de (a) e (b); (d) imagem transversal *xz*.⁴²

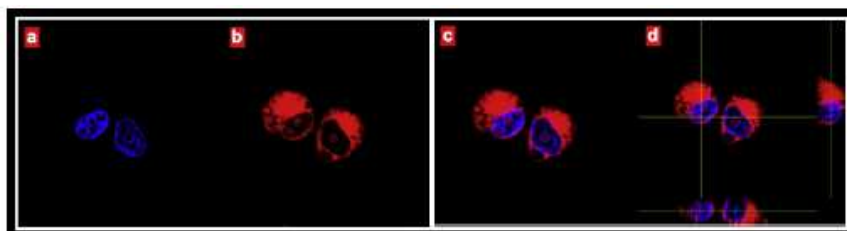


Figura 9: Imagem de fluorescência confocal de co-coloração de Células Hela com fenazina e imagem de corte transversal *xz*. (Adaptada da referência 42).

40. (a) Zhuo, S.; Li, C.; Hu, M.; Chen, S.; Yao, P.; Huang, S.; Ou, T.; Tan, J.; An, L.; Li, D.; Gu, L.; Huang, Z.; Synthesis and biological evaluation of benzo[a]-phenazine derivatives as a dual inhibitor of topoisomerase I and II. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 3989-4005. (b) Cimmino, A.; Evidente, A.; Mathieu, V.; Andolfi, A.; Lefranc, F.; Kornienko, A.; Kiss, R.; Phenazines and câncer. *Nat. Prod. Rep.* **2012**, 29, 487-501.

41. Mavrodi, D.V.; Parejko, J.A.; Mavrodi, O.V.; Kwak, Y.-S.; Weller, D.M.; Blankenfeldt, W.; Thomashow, L.S.; Recent insights into the diversity, frequency and ecological roles of phenazines in fluorescent *Pseudomonas* spp. *Environ. Microbiol.* **2013**, 15(3), 675-686.

42. Yang, L.; Li, X.; Qu, Y.; Qu, W.; Zhang, X.; Hang, Y.; Agren, H.; Hua, J.; Red turn-on fluorescent phenazine-cyanine chemodosimeters for cyanide anion in aqueous solution and its application for cell imaging. *Sens. Actuators, B*, **2014**, 203, 833-847.

Fenazinas formam complexos com metais de transição que apresentam características luminescentes e são também bastante promissores em estudos de biologia celular. Complexos de Ru(II) com ligantes piridínicos são muito estudados devido a sua extensiva aplicação no campo da fotoquímica, fotofísica e bioquímica. Complexos polipiridínicos de Ru(II) contendo pelo menos um ligante fenazínico exibem características importantes como: bom rendimento quântico de fluorescência e emissão de fluorescência na região próxima ao vermelho, são raros os marcadores celulares que exibem fluorescência nesta região do espectro. Um exemplo de complexo polipiridínico com ligante fenazínico que fornece imageamento celular é o $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (Figura 10), onde observa-se imagens de microscopia confocal do baculovírus em células Sf9 na presença de 20 μM de $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$. Estas imagens apresentam em vermelho o $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$; em verde o GFP, em amarelo é a fluorescência de colocalização do vermelho e verde. Pode-se notar que a medida que o vírus se desenvolve, a intensidade de luminescência do complexo aumenta, pois este complexo exibe luminescência apenas quando intercalado com o vírus.⁴³ Além disso, os complexos polipiridínicos possuem atividade biológica e é sabido que interagem com o ácido desoxirribonucleico (ADN).⁴⁴

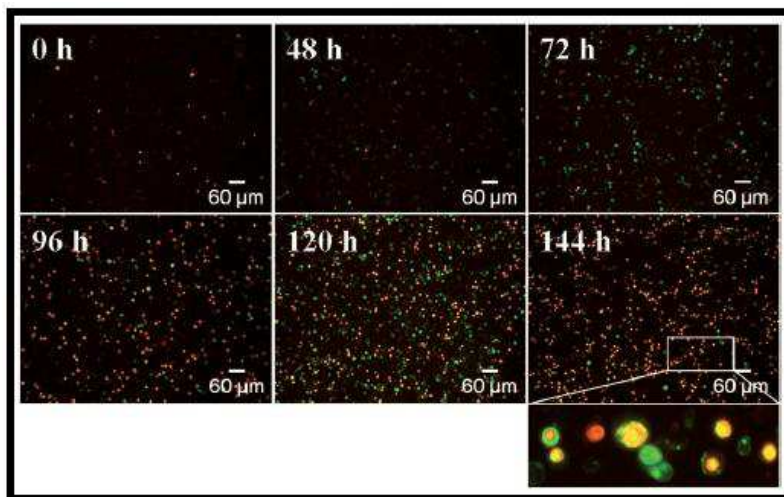


Figura 10: Efeito da infecção pelo vírus sobre a absorção celular de $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ em células hospedeiras. (Adaptada da referência 43).

43. Zhou, P.; Zheng, Z.; Lu, W.; Zhang, F.; Zhang, Z.; Pang, D.; Hu, B.; He, Z.; Wang, H.; Multicolor labeling of living-virus particles in live cells. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 670–674.

44. Phillips, T.; Haq, I.; Meijer, A.J.H.M.; Adams, H.; Soutar, I.; Swanson, L.; Sykes, M.J.; Thomas, J.A.; DNA binding of an organic dppz-based intercalator. *Biochemistry* **2004**, 43, 13657-13665.

1.2.1. Complexos metálicos de fenazinas

Bhat e colaboradores⁴⁵ descreveram a formação de complexos polipiridínicos fenazínicos de Re(II) e Ru(II). Os complexos formados, $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$, ((bpy) = 2,2'-bipiridina, (phen) = 1,10-fenantrolina), foram estudados extensivamente e sua interação com ADN foi amplamente discutida pelos autores (Figura 11).

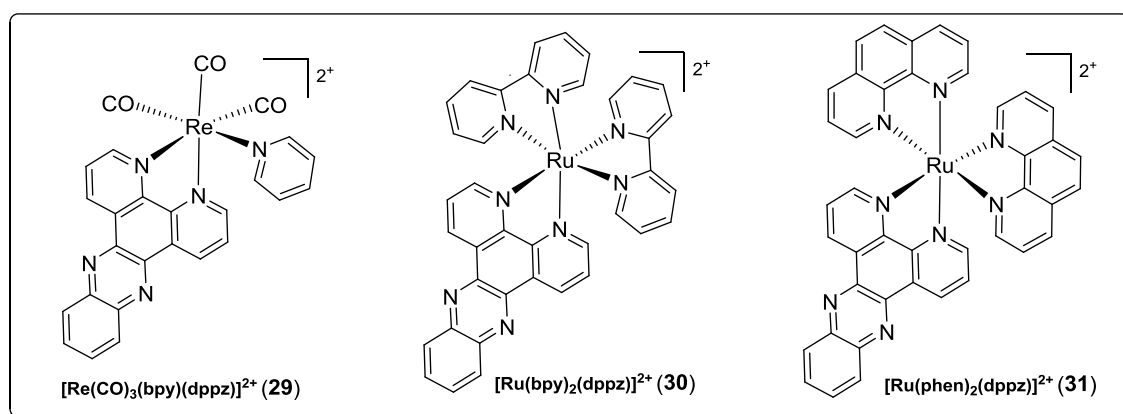


Figura 11: Estrutura de alguns complexos com ligantes fenazínicos.

Recentemente Pope e colaboradores⁴⁶ relataram o estudo de fenazinas complexadas a diversos metais de transição que exibem emissão entre os comprimentos de onda de 620-630 nm, como por exemplo, complexos formados por dppz coordenada ao Ir(III) (Figura 12). Estes complexos fenazínicos de Ir(III) são fosforescentes e possuem interessantes aplicações.

45. Bhat, S.S.; Kumbhar, A.S.; Loncke, P.L.; Hey-Hawkins, E.; Self-association of ruthenium(II) polypyridyl complexes and their interactions with calf thymus DNA. *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 4843–4853.

46. Smith, R.A.; Stokes, E.C.; Langdon-Jones, E.E.; Platts, J.A.; Kariuki, B.M.; Hallett, A.J.; Pope, S.J.A.; Cyclometalated cinchophen ligands on iridium(III): towards water-soluble complexes with visible luminescence. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 10347-10357.

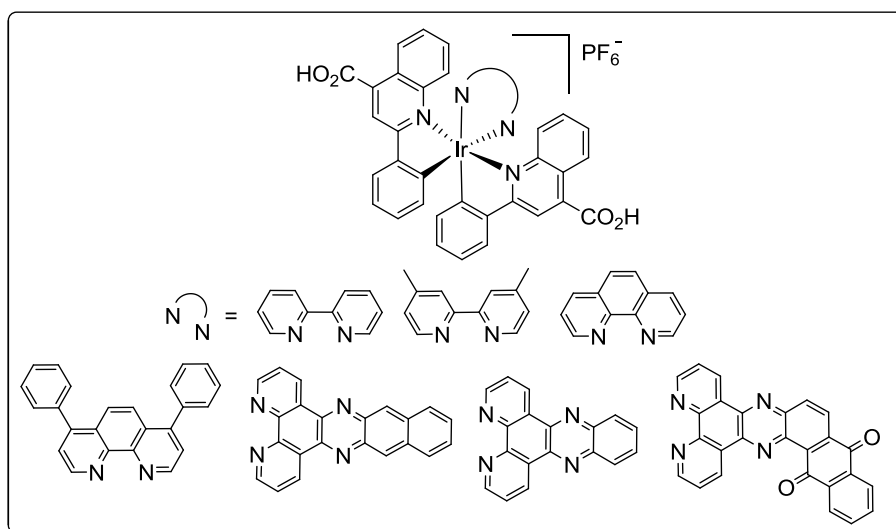


Figura 12: Complexos de Ir(III) com ligantes piridínicos.

Complexos polipiridínicos de Ru(II) que possuem pelo menos um ligante fenazínico, apresentam variadas aplicações no campo óptico-eletrônico,⁴⁷ na eletroquímica,⁴⁸ em células fotovoltaicas e em imagens de luminescência,⁴⁹

Uma importante aplicação de complexos metálicos de fenazinas são suas propriedades fotofísicas apresentadas principalmente por complexos fenazínicos de Ru(II) que os tornam potencialmente aplicáveis em biologia celular como marcadores celulares.

1.3. Complexos de Rutênio como Sondas Celulares

Complexos de Ru(II) com ligantes polipiridínicos continuam sendo estudados e despertam o interesse de um grande número de pesquisadores devido às suas propriedades e potencialidades com já citado anteriormente. As pesquisas sobre a interação de complexos de Ru(II) com ADN apresenta variada aplicabilidade nos seguintes temas de pesquisa: sondas estruturais para o ADN, sensores eletroquímicos

47. He, L.; Duan, L.; Qiao, J.; Dong, G.; Wang, L.; Qiu, Y.; Highly efficient blue-green and white light-emitting electrochemical cells based on a cationic iridium complex with a bulky side group. *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 3535.

48. Baranoff, E.; Yum, J.-H.; Gratzel, M.; Nazeeruddin, Md.K.; Cyclometallated iridium complexes for conversion of light into electricity and electricity into light. *J. Organomet. Chem.* **2009**, *694*(17), 2661-2670.

49. Thorp-Greenwood, F.L.; Balasingham, R.G.; Coogan, M.P.; Organometallic complexes of transition metals in luminescent cell imaging applications. *J. Organomet. Chem.* **2012**, *714*, 12-21.

ou luminescentes; mediadores de reações de quebra do ADN; fármacos para tratamento do câncer e outras doenças parasitárias.⁵⁰ A luminescência destes complexos foi primeiramente relatada por Paris e Brandt em 1859 para o $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ (Figura 13).⁵¹

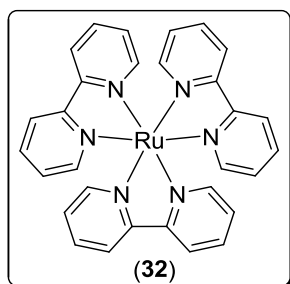


Figura 13: Estrutura do primeiro complexo polipiridínico de Ru luminescente.

Complexos polipiridínicos de Ru(II) são aplicados como sondas de íons, como por exemplo detecção de cianeto⁵² e de cobre⁵³ (Figura 14).

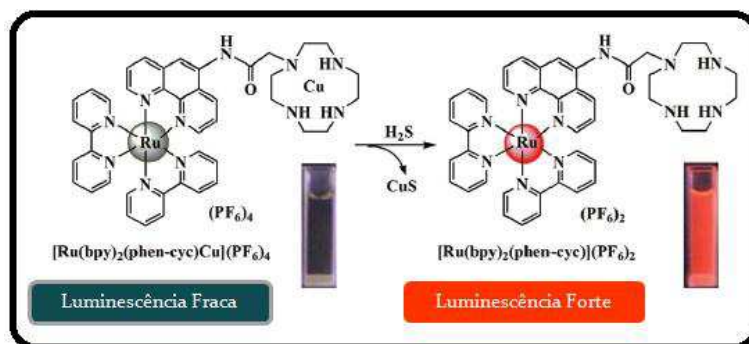


Figura 14: Complexo polipiridínico de Ru(II) como sonda para Cu.(Adaptada da referência 53)

50. (a) Jaquet, L.; Davies, R.J.H.; Mesmaeker, A. K.-D.; Kelly, J.M.; Photoaddition of $\text{Ru}(\text{tap})_2(\text{bpy})^{2+}$ to DNA: a new mode of covalent attachment of metal complexes to duplex DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119(49), 11763–11768. (b) Metcalfe, C.; Thomas, J. A.; Kinetically inert transition metal complexes that reversibly bind to DNA. *Chem. Soc. Rev.* **2003**, 32(4), 215–224. (c) Sigman, D. S.; Mazumder, A.; Perrin, M. D.; Chemical nucleases. *Chem. Rev.* **1993**, 93(6), 2295–2316. (d) Elias, B.; Mesmaeker, A.K.-D.; Photo-reduction of polyazaaromatic Ru(II) complexes by biomolecules and possible applications. *Coord. Chem. Rev.* **2006**, 250(13), 1627–1641. (e) Turro, N. J.; Barton, J. K.; Tomalia, D. A.; Molecular recognition and chemistry in restricted reaction spaces. Photophysics and photoinduced electron transfer on the surfaces of micelles, dendrimers, and DNA. *Acc. Chem. Res.*, **1991**, 24(11), 332–340.

51. Paris, J.P.; Brandt, W.W.; Charge transfer luminescence of a Ruthenium(II) chelate. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 5001.

52. Li, M.-J.; Lin, Z.; Chen, X.; Chen, G.; Colorimetric and luminescent bifunctional Ru(II) complexes for rapid and highly sensitive recognition of cyanide. *Dalton Trans.* **2014**, 43,11745-11751.

53. Ye, Z.; An, X.; Song, B.; Zhang, W.; Dai, Z.; Yuan, J.; A novel dinuclear ruthenium(II)–copper(II) complex-based luminescent probe for hydrogen sulfide. *Dalton Trans.* **2014**, 43, 13055-13060.

Um grande incentivo aos estudos dos complexos de rutênio foi a descoberta de que o $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ imobilizado em vidro seria capaz de decompor H_2O em H_2 e O_2 em presença de radiação solar.⁵⁴

As propriedades luminescentes dos complexos polipiridínicos de Ru(II) também foram exploradas no desenvolvimento de dispositivos eletroluminescentes produzindo células eletroquímicas com eficiente emissão de luz.⁵⁵

A utilização de complexos de Ru(II) como sensores em geral, é viável devido as propriedades: longo tempos de vida de fluorescência, alto rendimento quântico, rápido tempo de resposta, grande deslocamento de Stokes e alta intensidade de emissão.⁵⁶

Visando incrementar as aplicações dos complexos de Ru(II) a pesquisa foi voltada para os complexos polipiridínicos de rutênio dinucleares. Observou-se que os complexos dinucleares podem funcionar também como sondas para cátions metálicos⁵⁷, como Cu^{2+} e sondas para imageamento celular (Esquema 6).⁵⁸

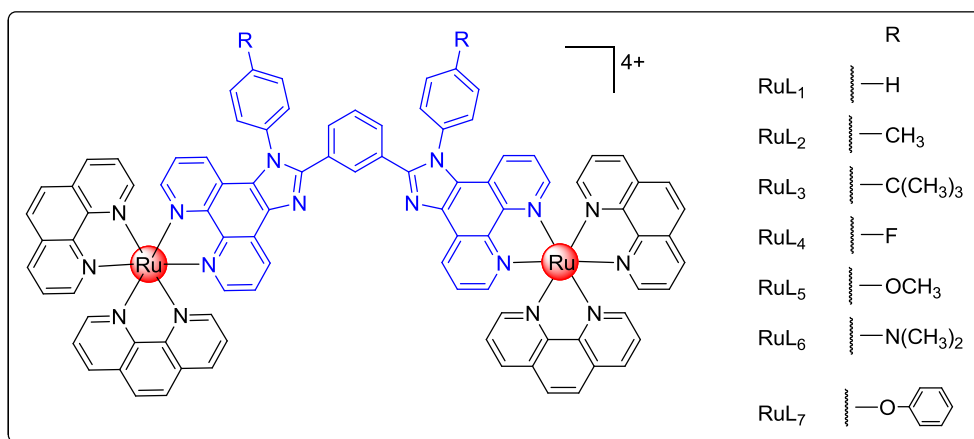
54. Sprintschnik, G.; Sprintschnik, H.W.; Kirsch, P.P.; Whitten, D.G.; Photochemical reactions in organized monolayer assemblies. III. Photochemical cleavage of water: a system for solar energy conversion using monolayer-bound transition metal complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98(8), 2337-2338.

55. Buda, M.; Kalyzhny, G.; Bard, A.J.; Thin-film solid-state electroluminescent devices based on tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124(21), 6090-6098. (b) Lu, S.-J.; Ji, S.-B.; Liu, J.-C.; Li, H.; Li, W.-S.; Photoelectrocatalytic oxidation of glucose at a ruthenium complex modified titanium dioxide electrode promoted by uric acid and ascorbic acid for photoelectrochemical fuel cells. *J. Power Sources*, **2015**, 273, 142-148.

56. (a) Tao, Z.; Tehan, E.C.; Tang, Y.; Bright, F.V.; Stable sensors with tunable sensitivities based on class II xerogels. *Anal. Chem.* **2006**, 78, 1939-1945. (b) Chen, L.; Zhang, Y.; Ren, S.; Huang, D.; Zhou, C.; Chi, Y.; Chen, G.; An ionic liquid-mediated electrochemiluminescent sensor for the detection of sulfur dioxide at the PPB level. *Analyst.* **2013**, 138, 7006-7011. (c) Ongun, M.Z.; Obter, O.; Sabanci, G.; Ertekin, K.; Celik, E.; Enhanced stability of ruthenium complex in ionic liquid doped electrospun fibers. *Sensors and Actuators B*, **2013**, 183, 11-19.

57. Cheng, F.; Tang, N.; Miao, K.; Wang, F.; A Dinuclear ruthenium(II) polypyridyl complex containing a terpy-like fragment for Cu^{2+} probing. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2014**, 640(8-9), 1816-1821.

58. Xu, W.; Zuo, J.; Wang, L.; Ji, L.; Chao, H.; Dinuclear ruthenium(II) polypyridyl complexes as single and two-photon luminescence cellular imaging probes. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 2123-2125.



Esquema 6: Estrutura química dos complexos RuL₁₋₇.

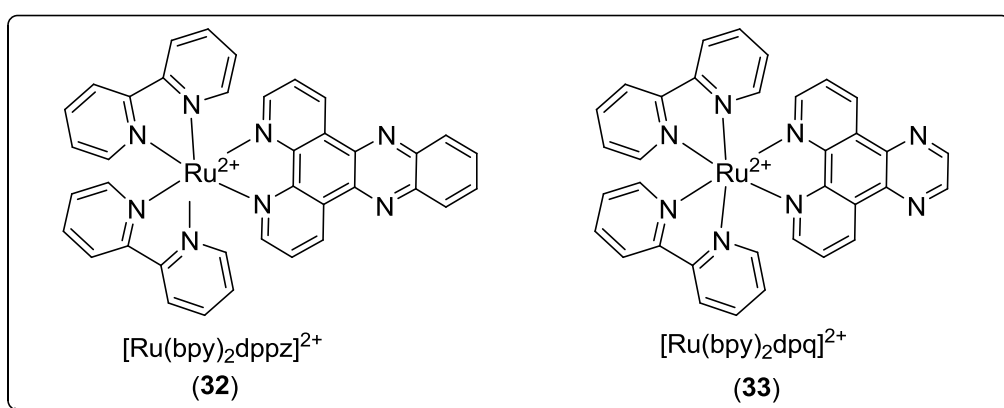
A interação de complexos polipiridínicos de Ru(II) com ADN tem sido enormemente investigada visando uma aplicação importante, a obtenção de marcadores de núcleos celulares. Estes estudos sobre as interações dos ácidos nucleicos com os complexos de rutênio polipiridínicos estendem-se ao longo dos últimos 30 anos.⁵⁹ Inicialmente foi estimulada pela pesquisa de sondas quirais para o ADN partindo-se dos enantiômeros dos complexos.⁶⁰ Um método valioso no desenvolvimento de sondas luminescentes é a variação dos ligantes, pois ligantes distintos proporcionam propriedades fotofísicas e eletroquímicas distintas. Assim observou-se que os complexos [Ru(bpy)₃]²⁺ e [Ru(phen)₃]²⁺ se ligam diferentemente ao ADN.⁶¹

59. (a) Stemp, E.D.A.; Barton, J.K.; Electron transfer between metal complexes bound to DNA: is DNA a wire? *Met. Ions Biol. Syst.* **1996**, 33, 325-365. (b) Nordén, B.; Lincoln, P.; Kerman, B.; Tuite, E.; DNA interactions with substitution-inert transition metal ion complexes. *Met. Ions Biol. Syst.* **1996**, 33, 177-252. (c) Moucheron, C.; Kirsch-De Mesmaeker, A.; Kelly, J.M.; Photophysics and photochemistry of metal polypyridyl and related complexes with nucleic acids. *Struct. Bonding*, **1998**, 92, 163-216.

60. (a) Kumar, C.V.; Barton, J.K.; Turro, N.J.T.; Photophysics of ruthenium complexes bound to double helical DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 5518-5523. (b) Proudfoot, E.M.; Mackay, J.P.; Karuso, P.; Probing site specificity of DNA binding metallointercalators by NMR spectroscopy and molecular modeling. *Biochemistry* **2001**, 40, 4867-4878. (c) Xu, H.; Zhu, Q.-Q.; Lu, J.; Chen, X.-J.; Xiao, J.; Liu, Z.-G.; Chen, S.-P.; Tong, M.-L.; Ji, L.-N.; Liang, Y.; Studies on thermodynamic nature of stereoselectivity for ruthenium(II) polypyridyl complex binding to DNA. *Inorg. Chem. Commun.* **2010**, 13, 711-714.

61. (a) Hage, R.; Prins, R.; Hassnoot, J. G.; Reedijk, J.; Synthesis, spectroscopic, and electrochemical properties of bis(2,2'-bipyridyl)-ruthenium compounds of some pyridyl-1,2,4-triazoles. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1987**, 6, 1389-1395. (b) Foxon, S. P.; Metcalfe, C.; Adams, H.; Webb, M.; Thomas, J. A.; Electrochemical and photophysical properties of DNA metallo-intercalators containing the ruthenium(II)

A interação com o ADN é uma característica importante para um marcador celular, portanto o complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (Figura 15) merece ser destacado, pois se intercala ao ADN de modo diferenciado. O complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ foi sintetizado primeiramente por Sauvage e colaboradores⁶², esse complexo não apresenta luminescência em água (meio biológico), porém é fluorescente quando se encontra ligado ao ADN (Figura 15), por isso ele é denominado “interruptor de luz” (light-switch).⁶³ Já o complexo fenazínico $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dpq})]^{2+}$ (Figura 15), dpq = dipiridoquinoxalina não apresenta o efeito interruptor de luz e possui uma intensa emissão em água.⁶⁴



tris(1-pyrazolyl)methane unit. *Inorg. Chem.* **2007**, 46(2), 409–416. (c) Hiort, C.; Lincoln, P.; Norden, B.; DNA binding of DELTA- and LAMBDA- $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dppz}]^{2+}$. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3448–3454.

62. Chambron, J.-C.; Sauvage, J.-P.; Amouyal, E.; Koffi, P.; $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{dipyridophénazine})]^{2+}$: A complex with a long range directed charge transfer excited state. *Nouv. J. Chim.* **1985**, 9, 527.

63. (a) Bolger, J.; Gourdon, A.; Ishow, E.; Launay, J.; Mononuclear and binuclear tetrapyrro[3,2-*a*:2',3'-*c*:3'',2''-*h*:2''',3'''-*j*]phenazine (tpphz) ruthenium and osmium complexes. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 2937-2944. (b) Jenkins, Y.; Friedman, A.E.; Turro, N.J.; Barton, J.K.; Characterization of dipyrrophenazine complexes of ruthenium(II): The light switch effect as a function of nucleic acid sequence and conformation. *Biochemistry*, **1992**, 31(44), 10809-10816. (c) Hartshorn, R.M.; Barton, J.K.; Novel dipyrrophenazine complexes of ruthenium(II): exploring luminescent reporters of DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114(15), 5919-5925.

64. (a) Collins, J.G.; Aldrich-Wright, J.R.; Greguric, I.D.; Pellegrini, P.A.; Binding of the Δ - and Λ -enantiomers of $[\text{Ru}(\text{dmphen})_2\text{dpq}]^{2+}$ to the hexanucleotide d(GTCGAC)₂. *Inorg. Chem.* **1999**, 38(24), 5502-5509. (b) Aldrich-Wright, J.R.; Brodie, C.; Glazer, E.C.; Luedtke, N.W.; Elson-Schwab, L.; Tor, Y.; Symmetrical dinuclear complexes with high DNA affinity based on $[\text{Ru}(\text{dpq})_2(\text{phen})]^{2+}$. *Chem. Commun.* **2004**, 8, 1018-1019. (c) Odonoghue, K.; Penedo, J.C.; Kelly, J.M.; Kruger, P.E.; Photophysical study of a family of $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{Me}_n\text{dpq})]^{2+}$ complexes in different solvents and DNA: a specific water effect promoted by methyl substitution. *Dalton Trans.* **2005**, 6, 1123-1128.

Figura 15: Complexos polipiridínicos com ligante fenazínico diferenciado.

A presença de substituintes doadores ou retiradores no ligante dppz dos complexos de Ru(II) modifica a força de ligação ao ADN bem como suas outras propriedades, por exemplo, a eficiência de fotoclivagem.⁶⁵ Pode-se modificar o rendimento quântico de emissão bem como a dinâmica do estado excitado pela mudança de um substituinte. Por exemplo, a troca de um H por um Br na phen provoca um aumento do rendimento quântico do complexo.⁶⁴ De modo oposto, a introdução de um Br no ligante phz do complexo de Ru(II) diminui o rendimento quântico e acelera a recuperação do estado fundamental.⁶⁶

Uma compreensão da disposição eletrônica nos ligantes dos complexos polipiridínicos de Ru(II) é importante na tentativa de sintetizar um complexo com aplicabilidade como marcador celular. A comparação entre os estados fundamentais e excitados dos diversos ligantes permite elucidar a importância dos mesmos frente às propriedades fotofísicas dos complexos. Brédas e colaboradores⁶⁷ realizaram um estudo teórico correlacionado à química quântica de uma série de complexos de Ru(II) com ligantes poliazaaromáticos (Figura 16) e compararam os estados excitados singletos e tripletos destas espécies livres e associadas. Foi determinada através da química quântica a localização da densidade eletrônica nestes estados excitados nas porções dos ligantes (Figura 17).⁶⁷ Para ligantes com sistema aromático relativamente limitado como phen ou bpy que possuem uma menor transferência de carga metal-ligante (³TCML) na formação do estado excitado, a luminescência não é afetada pela água e o tempo de vida varia normalmente em função da temperatura. Entretanto quando ligantes com sistema aromático estendido estão presentes no complexo, como dppz, tpphz e phehat apresentam maior ³TCML. Para estes últimos complexos passa a existir uma alta sensibilidade ao meio, e o tempo de vida da emissão depende enormemente da

65. Arounaguiri, S.; Maiya, B. G.; Dipyridophenazine complexes of cobalt(III) and nickel(II): DNA-binding and photocleavage studies. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 4267-4270.

66. Kuhnt, C.; Karnahl, M.; Tschierlei, S.; Griebenow, K.; Schmitt, M.; Schafer, B.; Kriek, S.; Gorls, H.; Rau, S.; Dietzek, B.; Popp, J.; *Substitution-controlled ultrafast excited-state processes in Ru-dppz-derivatives. Phys.Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12, 1357-1368.

67. Pourtois, G.; Beljonne, D.; Moucheron, C.; Schumm, S.; Mesmaeker, A.K.-D.; Lazzaroni, R.; Brédas, J.-L.; Photophysical Properties of Ruthenium(II) Polyazaaromatic Compounds: A Theoretical Insight. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 683-692.

temperatura na presença de solventes apróticos.⁶⁸ Este comportamento anormal que é observado principalmente para o $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$, deve-se à presença de um estado excitado escuro de baixa energia, localizado principalmente na porção pirazínica do sistema π estendido.⁶⁸ Uma explicação plausível deste efeito, seria o baixo decaimento radioativo devido a presença do centro metálico, porém foi determinado uma baixa contribuição para a função de onda decorrente do centro metálico.⁶⁷

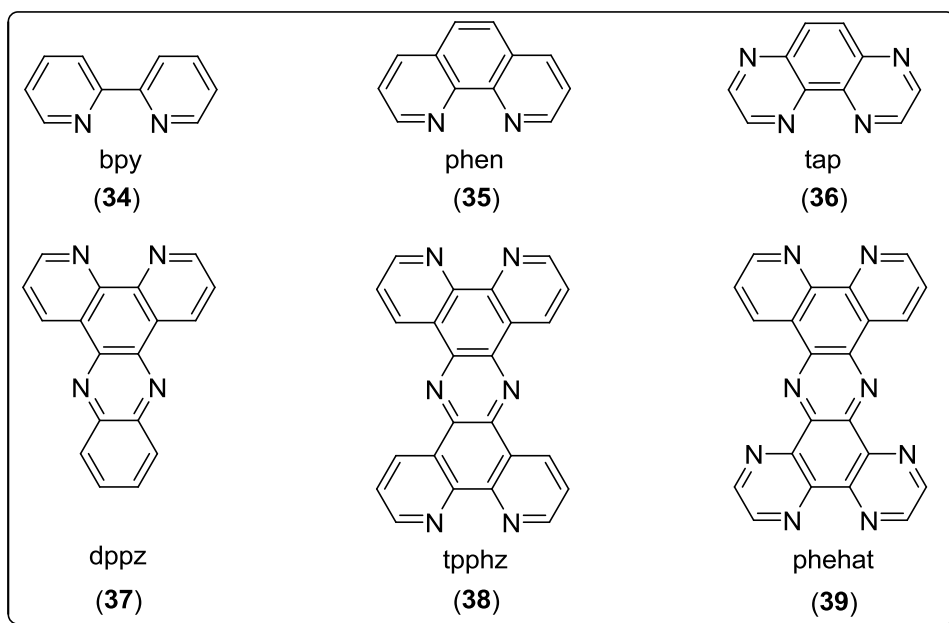


Figura 16: Estrutura dos ligantes poliazaaromáticos.

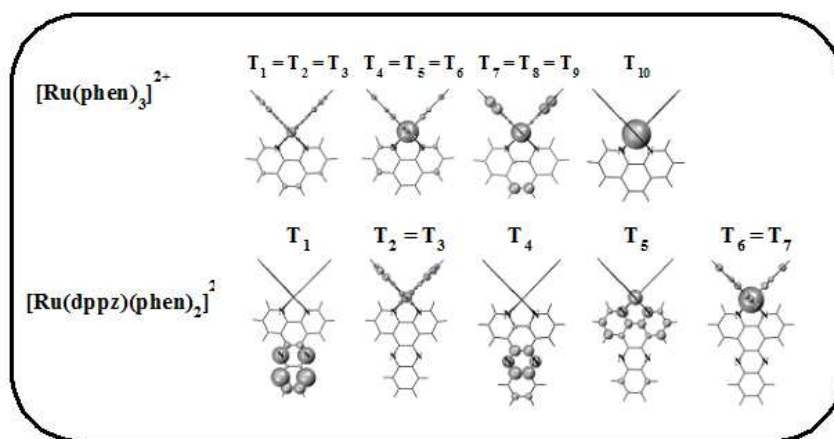


Figura 17: Distribuição da densidade de spin para o menor estado tripleto dos complexos.

68. (a) Brennaman, M. K.; Alstrum-Acevedo, J. H.; Fleming, C. N.; Jang, P.; Meyer, T. J.; Papanikolas, J. M.; Turning the $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ light-switch on and off with temperature. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 15094-15098. (b) Brennaman, M. K.; Meyer, T. J.; Papanikolas, J.M.; $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ light-switch mechanism in protic solvents as studies through temperature-dependent lifetime measurements. *J. Phys. Chem. A*, **2004**, 108, 9938-9944.

Como exemplos de complexos de Ru(II) com ligante fenazínico que produz imagiamento celular podem ser citados os isômeros Δ - e Λ -[Ru(phen)₂(dppz)]²⁺ (Figura 18)⁶⁹ e o complexo [Ru(bpy)(phen)(dppz)]²⁺ conjugado com D-R8 (octaarginina) em presença de fluoresceína (Figura 19).⁷⁰ Por outro lado estudos de complexos de Ru(II) apresentando ligante fenazínico derivado de naftoquinonas já comprovaram a sua possível aplicabilidade como marcador celular.⁷¹

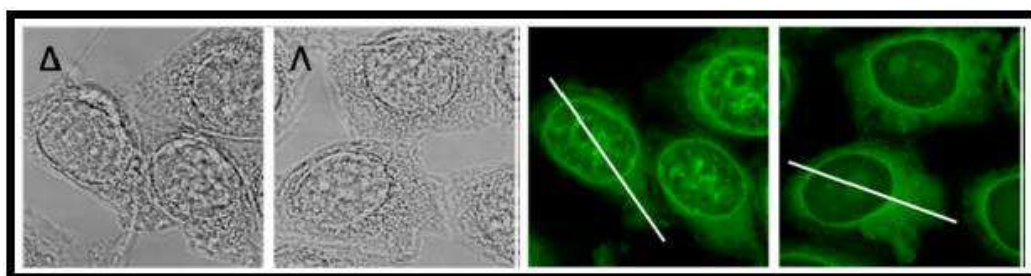


Figura 18: Representação das imagens de transmissão (esquerda) e da imagem confocal de emissão de varredura a laser (direita) da distribuição intracelular de Δ - e Λ -[Ru(phen)₂(dppz)]²⁺, em células CHO-K1 (células de ovário de hamster) fixadas. (Adaptada da referência 69).

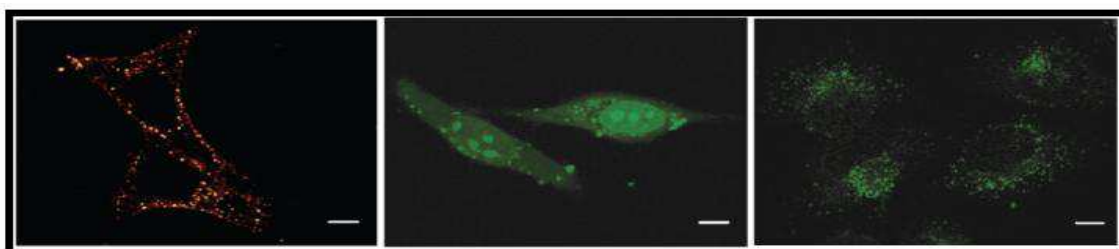


Figura 19: Células HeLa foram incubadas com 5 μ M de [Ru(bpy)(phen)(dppz)]²⁺-D-R8 durante 30 min (esquerda), 5 μ M R[Ru(bpy)(phen)(dppz)]²⁺-R8-D-fluor durante 30 min (meio), ou 20 μ M Ru-fluor, durante 41 h (adireita) a 37 ° C e, em seguida, foi obtida imagiologia por microscopia confocal em cada caso. (Adaptada da referência 70).

69. Svensson, F.R.; Abrahamsson, M.; Stromberg, N.; Ewing, A.G.; Lincoln, P.; Ruthenium(II) complex enantiomers as cellular probes of diastereomeric interactions in confocal and fluorescence lifetime imaging microscopy. *J Phys Chem Lett.* **2011**, 2(5), 397–401.

70. Puckett, C.A.; Barton, J.K.; Fluorescein redirects a ruthenium-octaarginine conjugate to the nucleus. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 8738–8739

71. Foxon, S.P.; Green, C.; Walker, M.G.; Wragg, A.; Adams, H.; Weinstein, J.A.; Parker, S.C.; Meijer, A.J.H.M.; Thomas, J.A.; Synthesis, characterization, and DNA binding properties of ruthenium(II) complexes containing the redox active ligand benzo[i]dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazine-11,16-quinone. *Inorg. Chem.* **2012**, 51, 463–471.

Baseado na vasta aplicabilidade apresentada pelas quinonas, fenazinas e dos seus complexos de Ru(II) proporcionada principalmente por suas propriedades luminescentes a síntese e a análise das propriedades luminescentes destes potenciais candidatos a marcadores celulares são muito relevantes. Vale ressaltar que as inúmeras possibilidades estruturais das quinonas precursoras das fenazinas torna esse campo ainda mais fértil e promissor.

2. Objetivo

2.1. Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo principal a síntese, a caracterização e o estudo das propriedades fotofísicas de fenazinas luminescentes e de seus complexos de rutênio(II).

2.2. Objetivos específicos

As fenazinas propostas (Figura 20) serão preparadas a partir da 5,6-diamino-1,10-fenantrolina (fendiamina) pela reação com as respectivas quinonas. Os derivados quinônicos serão obtidos a partir do lapachol, nor-lapachol e C-alil lausona.

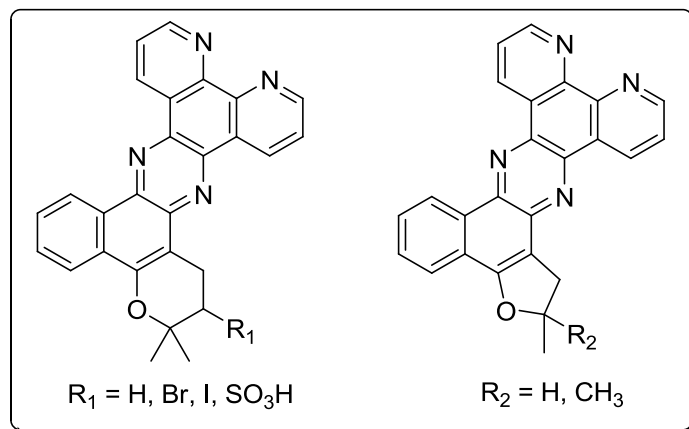


Figura 20: Estrutura das fenazinas propostas.

Posteriormente as fenazinas serão complexadas com Ru(II) através da reação com o precursor $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ para a obtenção de complexos com as estruturas propostas abaixo que apresentam diferentes propriedades luminescentes (Figura 21).

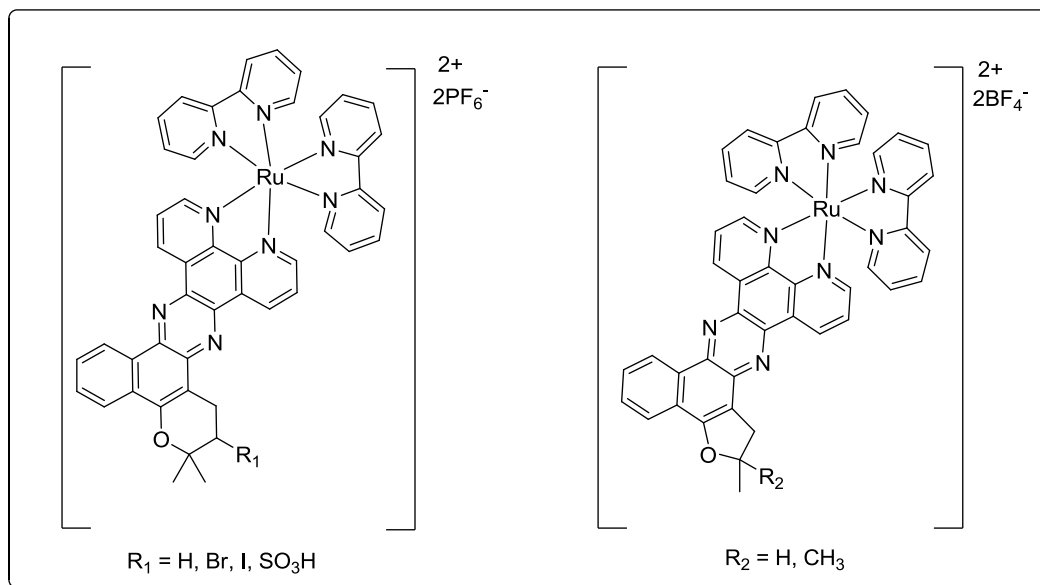


Figura 21: Estrutura dos complexos propostos.

Todas as substâncias sintetizadas serão estudadas através de cálculos de química computacional, suas propriedades fotofísicas serão determinadas por estudos de solvatocromismo e cálculo de rendimento quântico de fluorescência, também serão realizados testes de marcação celular.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Síntese e caracterização

Como ressaltado anteriormente fenazinas⁷² e complexos fenazínicos de Ru(II)⁷³ possuem propriedades luminescentes de grande interesse e são potenciais candidatos à marcadores celulares. A aplicação, principalmente dos complexos de Ru(II), pode ser muito variada, por exemplo, em reações fotoinduzidas,⁷⁴ como fotossensibilizantes em células solares sensibilizadas por corante (DSSCs),⁷⁵ e em sensores de fibras ópticas.⁷⁶

De acordo com o planejamento deste trabalho, visando a obtenção de fenazinas luminescentes, é necessária a síntese dos precursores naftoquinoidais derivados do lapachol (**12**) e lausona (**43**). Desta forma nossa abordagem inicial foi a síntese da β -lapachona (**14**), 3-bromo- β -lapachona (**40**), 3-iodo- β -lapachona (**41**) e o derivado sulfônico da β -lapachona (**42**), além da *nor*- β -lapachona (**44**), e o derivado ciclizado da C-alil lausona (**46**).

As estruturas das fenazinas propostas neste trabalho são formadas a partir das naftoquinonas, com posterior reação de condensação (ou modificação do centro redox) com a respectiva diamina. A modificação do anel C da β -lapachona proporciona diferentes naftoquinonas possibilitando a síntese de fenazinas com propriedades fotofísicas diferenciadas devido as mudanças do tipo de anel e do grupo substituinte nestes anéis. Este planejamento proporcionou a formação de fenazinas com sistema π

72. Ambrose, A.; Maiya, B.G.; Ruthenium(II) complexes of 6,7-dicyanodipyridoquinoxaline: synthesis, luminescence studies, and DNA interaction. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 4264-4272.

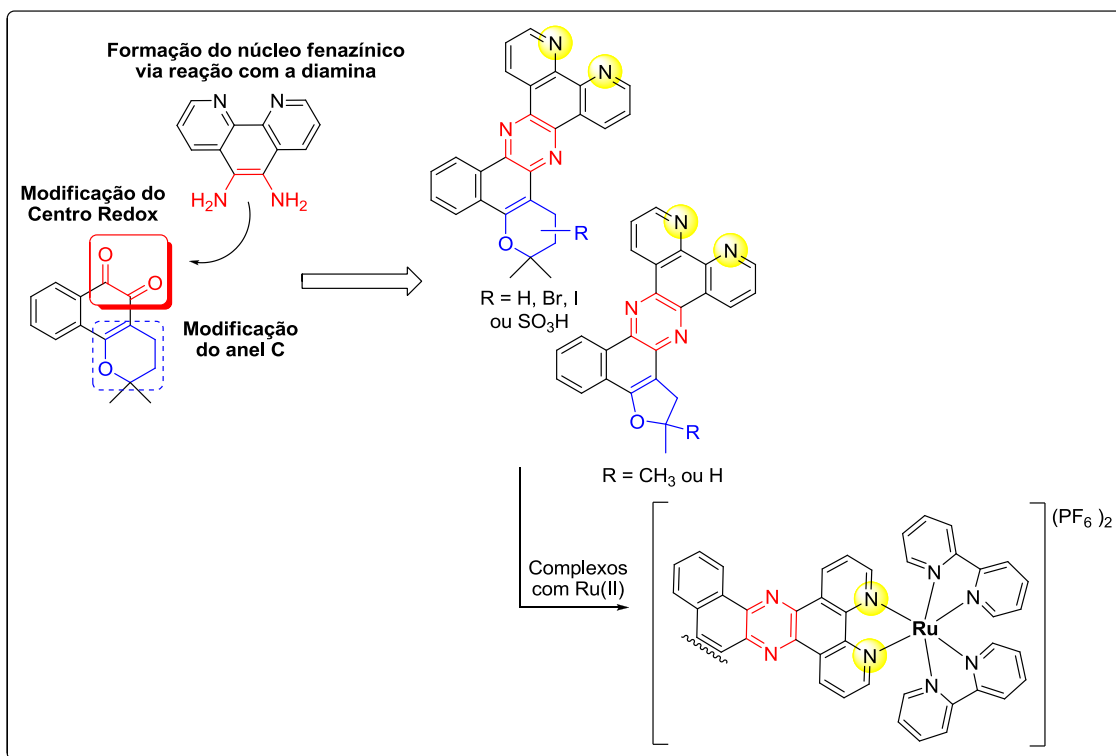
73. Karmakar, S.; Maity, D.; Mardanya, S.; Baitalik, S.; Multichromophoric bimetallic Ru(II) terpyridine complexes based on pyrenyl-bis-phenylimidazole spacer: synthesis, photophysics, spectroelectrochemistry, and TD-DFT calculations. *Inorg. Chem.* **2014**, *53*, 12036–12049.

74. Arounaguiri, S.; Maiya, B.G.; Electro-photo switch” and “molecular light switch” devices based on ruthenium(ii) complexes of modified dipyrldophenazine ligands: modulation of the photochemical function through ligand designs. *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 842-843.

75. Adeloye, A.O.; Ajibade, P.A.; Towards the development of functionalized polypyridine ligands for Ru(II) complexes as photosensitizers in dye-sensitized solar cells (DSSCs). *Molecules*, **2014**, *19*, 12421-12460.

76. Xiong, Y.; Xu, J.; Zhu, D.-q.; Duan, C.-f.; Guan, Y.-f.; Fiber-optic fluorescence sensor for dissolved oxygen detection based on fluorinated xerogel immobilized with ruthenium (II) complex. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2010**, *53*, 441–447.

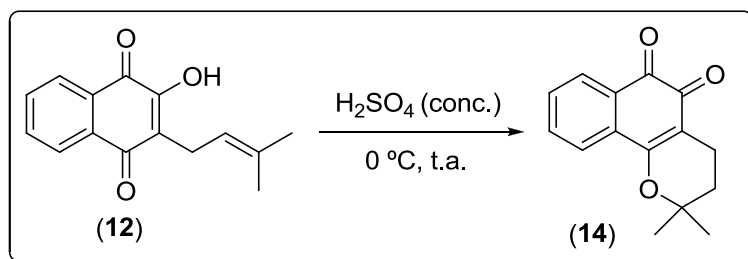
conjugado estendido somado aos diferentes efeitos causados pela alteração dos substituintes. Numa última etapa os complexos de rutênio(II) foram preparados visando a obtenção dos marcadores celulares propostos. No Esquema 7 é mostrada a estratégia utilizada no planejamento dos compostos.



Esquema 7: Planejamento levando a formação dos marcadores celulares propostos.

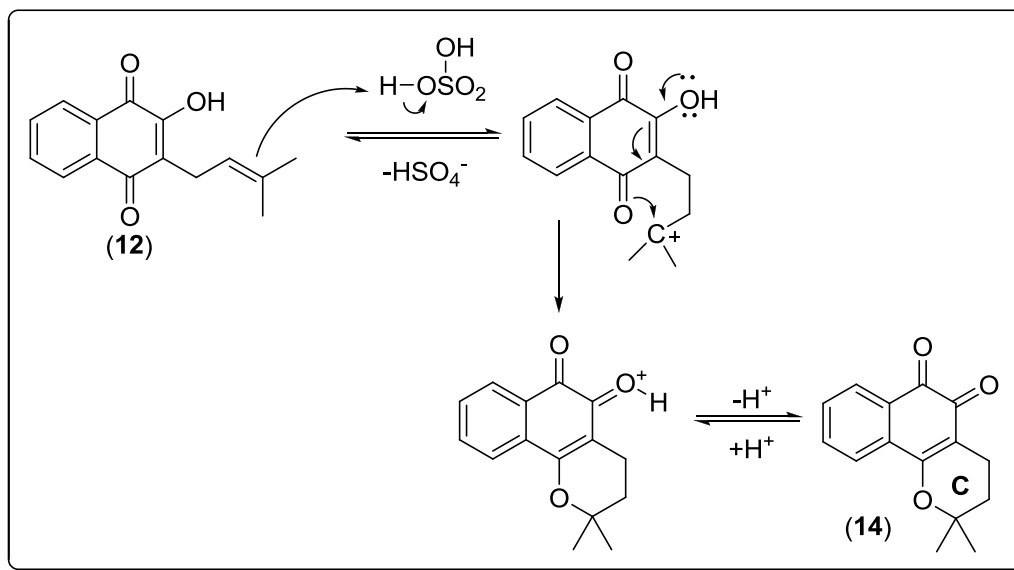
A obtenção da β -lapachona (**14**) foi realizada a partir do lapachol (**12**) pela reação com ácido sulfúrico concentrado.⁷⁷ O produto formado é um sólido vermelho e o rendimento da reação foi quantitativo (Esquema 8).

77. Hooker, S.C.; Steyermark, A.; Conversion of ortho into para, and of para into ortho quinone derivatives. Part IV. Synthesis of furan derivatives of α - and β -naphthoquinones. *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 1202-1207.



Esquema 8: Ciclização do lapachol (**12**) para obtenção da β -lapachona (**14**).

O mecanismo de formação da β -lapachona (**14**) se inicia por uma reação de adição de um próton a ligação dupla da cadeia alifática. Esta adição é muito favorecida devido a formação de um carbocátion terciário estabilizado pelos efeitos indutivo e de hiperconjugação da carbonila assistida pela hidroxila do anel B. Um posterior ataque nucleofílico efetuado pelo par de elétrons do oxigênio forma o anel C do produto (Esquema 9).



Esquema 9: Mecanismo de ciclização formando a β -lapachona (**14**).

A β -lapachona (**14**) foi caracterizada por RMN de ^1H (Figura 22), onde foram observados todos os sinais esperados: na região alifática em δ 1,42, um simpleto relativo aos seis hidrogênios metilênicos caracterizando sua natureza enantiotópica. Ainda na região alifática, dois sinais tripletos relativos aos hidrogênios dos grupos CH_2 , em δ 2,50 e 1,80, comprovando que cada par de hidrogênios encontra-se em mesmo ambiente

químico. Os sinais na região aromática apresentam integração coerente com o número de hidrogênios ligados ao anel A da quinona.

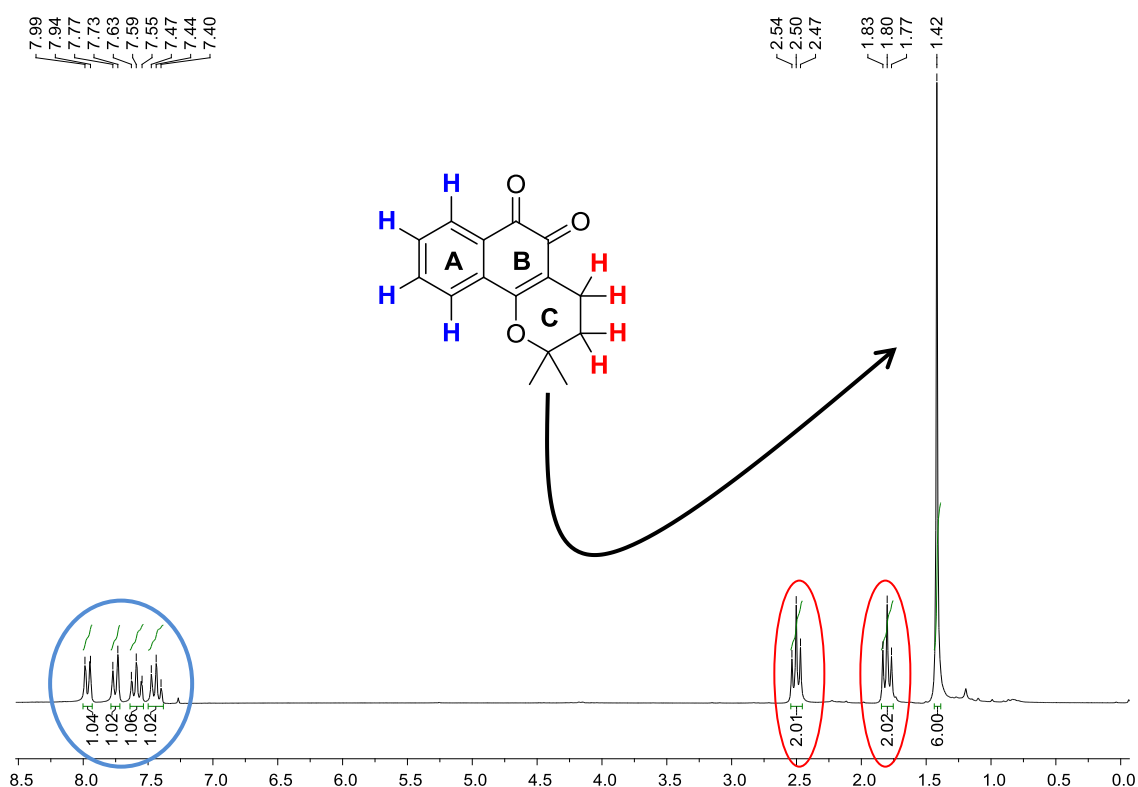
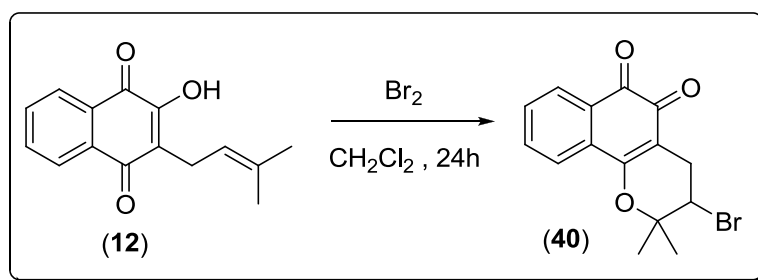


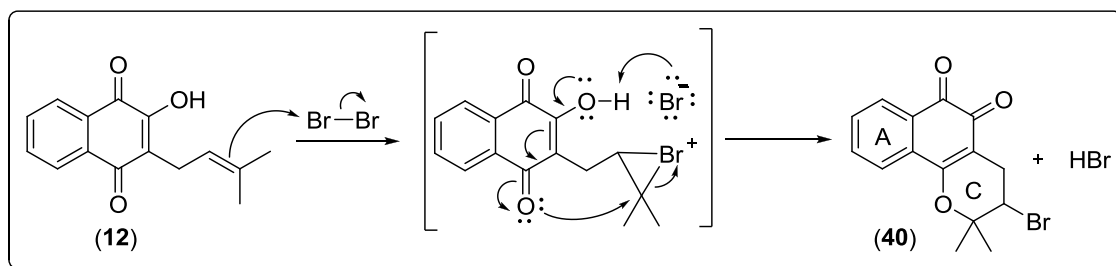
Figura 22: Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da β -lapachona (**14**).

A 3-bromo- β -lapachona (**40**) foi sintetizada a partir da reação do lapachol (**12**) com Br_2 em diclorometano, à baixa temperatura (Esquema 10). O monitoramento da reação por C.C.D. evidenciou o consumo completo dos reagentes de partida, e foi observada a formação do produto como um sólido alaranjado com rendimento de 85%.



Esquema 10: Reação de formação da 3-bromo- β -lapachona (**40**).

Conforme mecanismo proposto para reação anterior, ocorre a formação do íon bromônio pela interação com os elétrons π da dupla ligação com bromo, com um sucessivo ataque nucleofílico do par de elétrons do oxigênio ao carbono parcialmente positivo ocorrendo a ciclização (Esquema 11).



Esquema 11: Mecanismo de formação da 3-bromo- β -lapachona (**40**).

A 3-bromo- β -lapachona (**40**) foi caracterizada por RMN de ^1H (Figura 23), onde foram observados todos os sinais esperados: na região alifática em δ 1,61 e 1,64, dois simples relativos às duas metilas que se encontram em ambientes químicos diferentes; ainda na região alifática dois dupletos duplos relativos aos hidrogênios do grupo CH_2 , em δ 3,00 com $J = 12,1$ e $5,0$ Hz e o outro em δ 1,80 com $J = 12,1$ e $3,6$ Hz confirmando a natureza diastereotópica destes hidrogênios; além do duplo duplo em δ 4,25 com $J = 5,0$ e $3,6$ Hz referente ao hidrogênio do grupo CH que é mais desblindado em relação aos demais hidrogênios da região alifática pois está mais próximo ao substituinte Br muito eletronegativo. Os sinais na região aromática apresentam integração coerente com o número de hidrogênios ligados ao anel A da quinona.

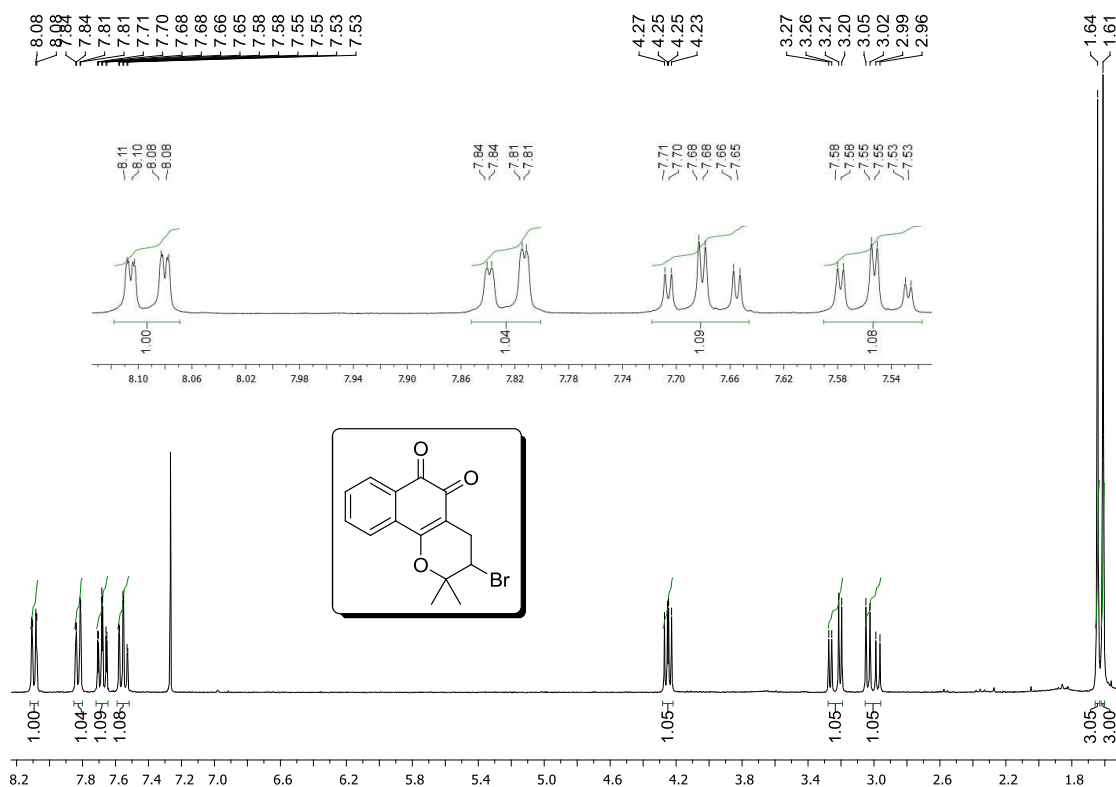
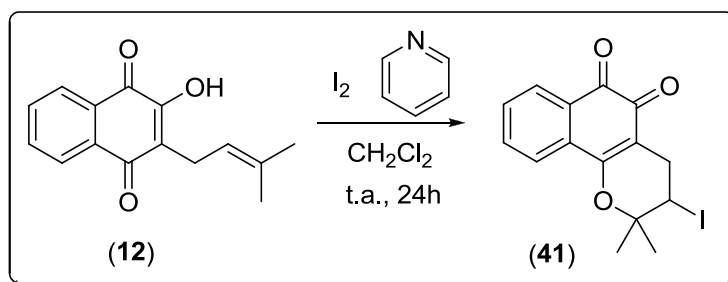


Figura 23: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da bromo-β-lapachona (40)

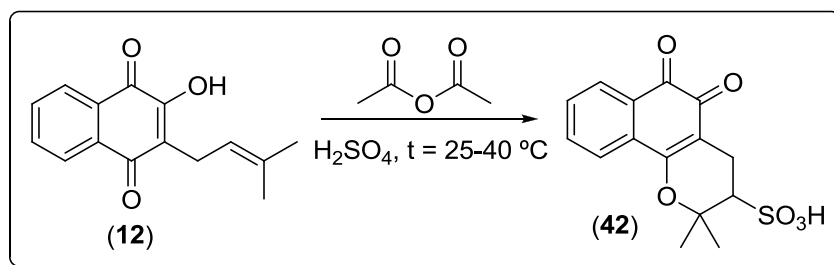
Outro derivado da β-lapachona com o anel C modificado foi obtido pela reação do lapachol com I_2 e piridina em CH_2Cl_2 (Esquema 12). Após a evaporação do solvente o sólido foi purificado em coluna cromatográfica. A reação foi acompanhada por C.C.D., que evidenciou o consumo completo dos reagentes de partida. Após purificação, o rendimento da reação foi de 53%.



Esquema 12: Reação de formação da 3-iodo-β-lapachona (41).

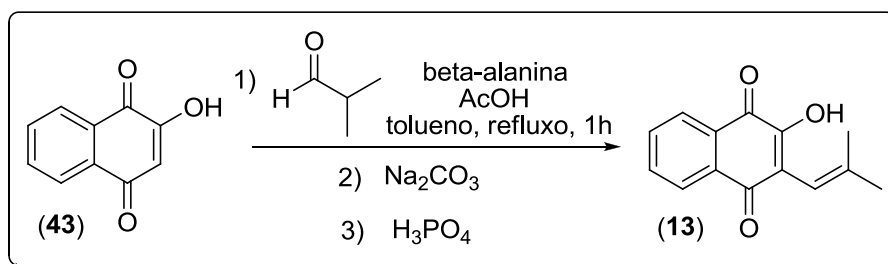
A substância **41** apresenta um espectro de RMN de ^1H similar ao observado para o derivado bromado (**40**).

A reação de formação do ácido sulfônico da β -lapachona (**42**) foi realizada com rendimento de 91% conforme proposto por Fieser.⁷⁸ O lapachol (**12**) reagiu com anidrido acético e ácido sulfúrico em uma temperatura entre 25-40 °C e forneceu o produto como um sólido vermelho (Esquema 13). A temperatura não pode exceder 40 °C pois ocorre formação de produtos secundários e o fim da reação foi evidenciado pela total dissolução dos reagentes em ácido sulfúrico formando uma pasta vermelha. O produto foi filtrado, lavado com éter etílico e secado.



Esquema 13: Reação de formação do ácido β -lapachona-3-sulfônico (**42**).

Visando a obtenção dos derivados diidrofuranos a partir da lausona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) (**43**) foi sintetizado o *nor*-lapachol (**13**) utilizando-se metodologia modificada de Kopanski.⁷⁹ A 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (**43**) foi aquecida até o refluxo juntamente com β -alanina, isobutiraldeído e ácido acético, em tolueno (Esquema 14). A mistura permaneceu em agitação por uma hora, seguida pela extração ácido-base com carbonato de sódio e posterior ajuste de pH com ácido fosfórico levando a formação do precipitado que foi então filtrado e lavado com água.

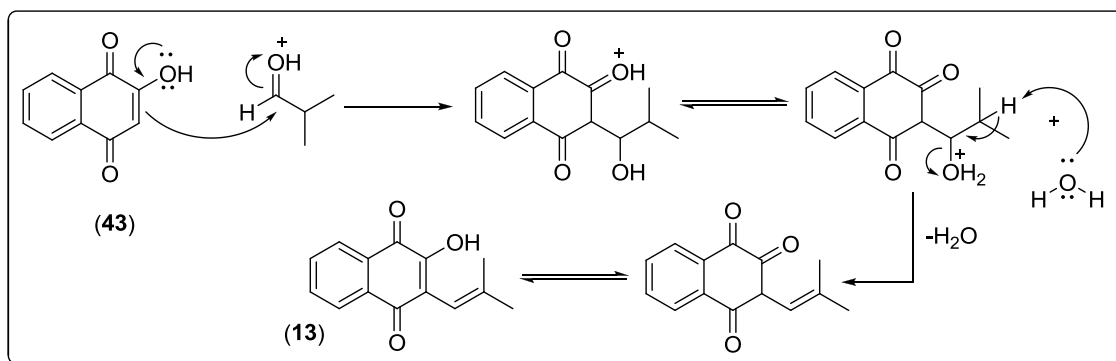


Esquema 14: Reação da lausona (**43**) para obtenção do *nor*-lapachol (**13**).

78. Fieser, L.F.; Naphthoquinone antimalarials. XVI. water-soluble derivatives of alcoholic and unsaturated compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, 70, 3232-3237.

79. Kopanski, L.; Karbach, D.; Selbifsehka, G.; Steglich, W.; Vesparion, ein naphthol[2,3-*b*]pyrandion-derivat aus dem schleimpilz metatríchia vesparium (Myxomycetes). *Annal. Chem.*, **1987**, 53, 793-796.

O mecanismo proposto para a reação inicia-se com o ataque nucleofílico sofrido pela carbonila do isobutiraldeído realizado pela dupla ligação conjugada à hidroxila da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (**43**). Ocorre em seguida o prototropismo com eliminação de água e obtenção do produto (**13**) (Esquema 15).



Esquema 15: Mecanismo proposto para formação do *nor*-lapachol (**13**).

Foram observados todos os sinais esperados na caracterização do *nor*-lapachol (**13**) pelo espectro de RMN de ^1H (Figura 24): na região alifática em δ 1,68 e 2,00 dois simples relativos às duas metilas presentes que se encontram em ambientes químicos diferentes; ainda na região alifática em δ 6,01 um sinal hepteto relativo ao grupo CH alifático, em δ 7,54 um simpleto relativo ao hidrogênio do grupo hidroxila. Na região aromática os sinais apresentam integração coerente ao número de hidrogênios ligados ao anel A da quinona.

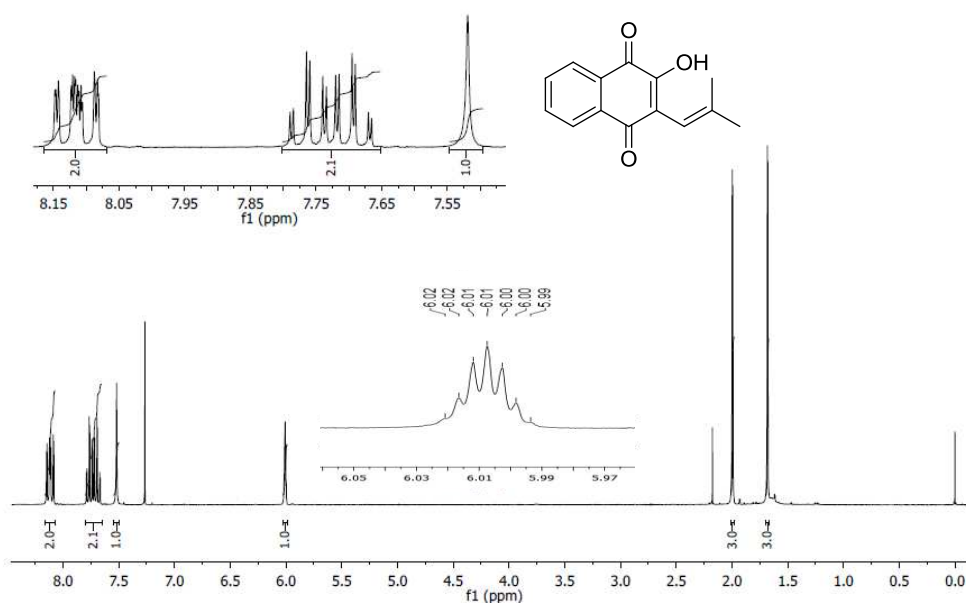
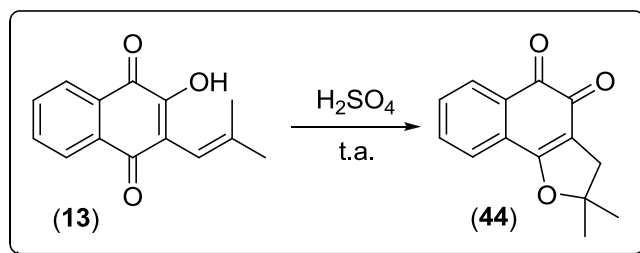


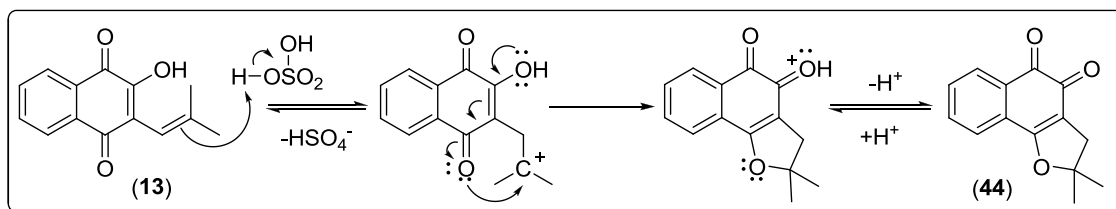
Figura 24: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) do *nor*-lapachol (**13**).

A preparação da *nor*- β -lapachona (**44**) foi realizada pela reação do *nor*-lapachol (**13**) em meio ácido, adicionando-se ácido sulfúrico concentrado à temperatura ambiente, formando um sólido vermelho escuro com rendimento quantitativo (Esquema 16).



Esquema 16: Reação de ciclização do *nor*-lapachol (**13**).

Assim como descrito anteriormente para a β -lapachona (**14**), o mecanismo da ciclização do *nor*-lapachol é iniciado pela adição de um próton à dupla ligação da cadeia alifática, muito favorecida pela formação do carbocátion terciário. Posteriormente ocorre o ataque nucleofílico do par de elétrons do oxigênio ao carbono positivo, formando o ciclo de cinco membros (Esquema 17).



Esquema 17: Mecanismo proposto para ciclização do *nor*-lapachol (**13**).

No espectro de RMN de ^1H da *nor*- β -lapachona (**44**) foram observados todos os sinais esperados (Figura 25): em δ 1,61 um simpleto relativo aos hidrogênios metílicos enantiotópicos; em δ 2,95 um simpleto relativo aos hidrogênios do grupo CH_2 que estão em mesmo ambiente químico. Na região aromática os sinais apresentam integração coerente com o número de hidrogênios ligados ao anel A da quinona. O sinal relativo ao hidrogênio aromático mais próximo à carbonila, mais desblindado, aparece como um duplo duplete em δ 8,3.

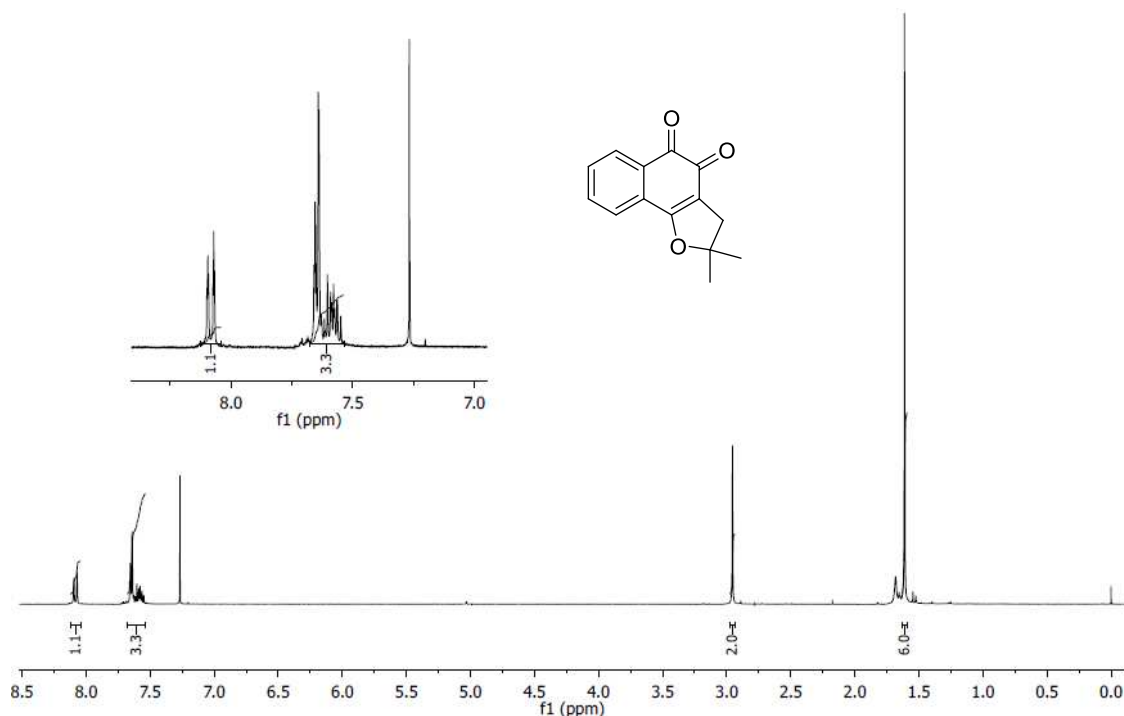
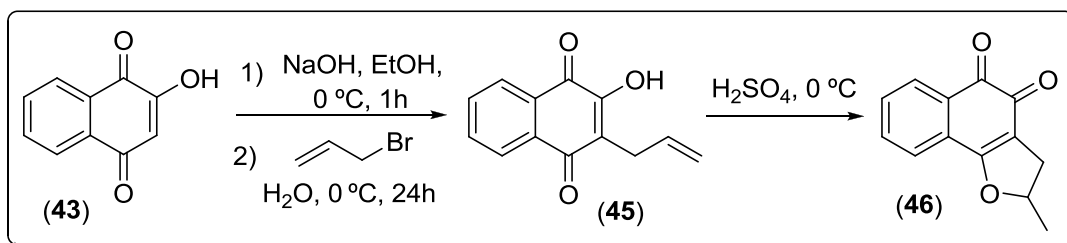


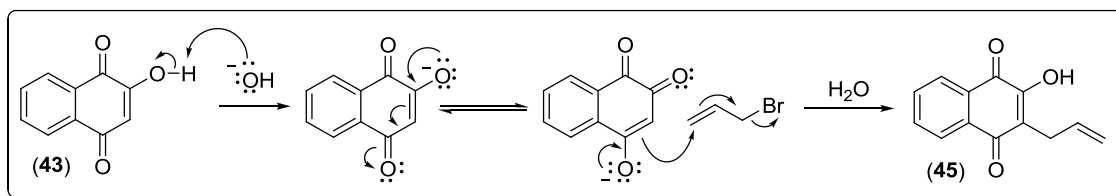
Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da *nor*- β -lapachona (**44**).

A obtenção da 2-metil-2,3-diidronafto[1,2-*b*]furano-4,5-diona (**46**) foi realizada em duas etapas. Inicialmente preparou-se o sal da lausona por tratamento com hidróxido de sódio. Em seguida o precipitado obtido foi reagido com brometo de alila e após uma hora foi acrescida água, obtendo-se um sólido amarelo, a 2-hidroxi-3-alil-1,4-naftoquinona (**45**), com rendimento de 35%. Em uma segunda etapa foi realizada a reação da 2-hidroxi-3-alil-1,4-naftoquinona com ácido sulfúrico concentrado formando a 2-metil-2,3-diidronafto[1,2-*b*]furano-4,5-diona (**46**), em uma reação de ciclização com rendimento quantitativo (Esquema 18).



Esquema 18: Reação de síntese do produto (**46**).

O mecanismo para obtenção do intermediário (45) se inicia com a desprotonação da lausona, seguida de uma posterior substituição nucleofílica no carbono alílico com saída do bromo (Esquema 19).⁸⁰



Esquema 19: Mecanismo proposto para formação do intermediário 45.

Na Figura 26 estão relacionadas todas as quinonas sintetizadas inicialmente como precursoras para obtenção das fenazinas luminescentes.

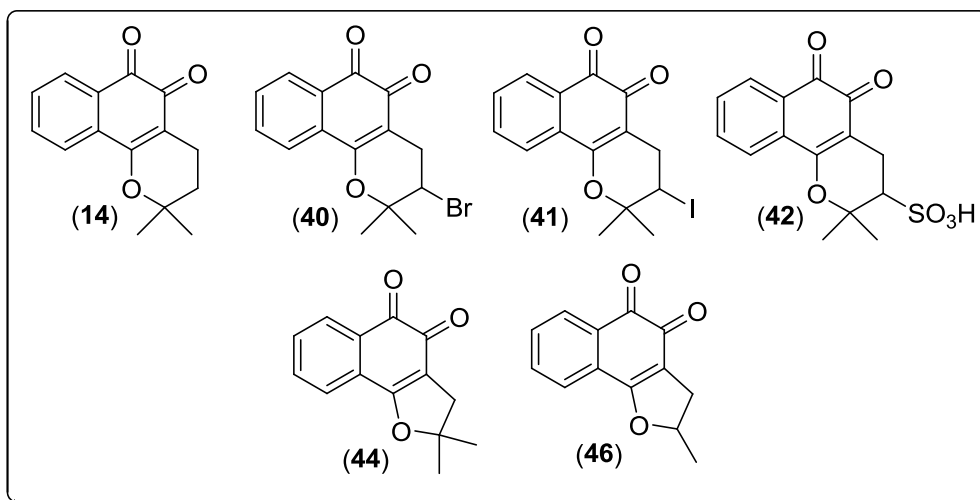


Figura 26: Estruturas das quinonas sintetizadas.

Para a preparação das fenazinas foi sintetizado outro precursor, a 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (49) em três etapas. Primeiramente a 1,10-fenantrolina comercial (35) foi oxidada pela reação com bromato de potássio, em solução 60% de

80. Kongkathip, N.; Kongkathip, B.; Siripong, P.; Sangma, C.; Luangkamin, S.; Niyomdecha, M.; Pattanapa, S.; Piyaviriyagulb, S.; Kongsareec, P.; Potent Antitumor Activity of Synthetic 1,2-Naphthoquinones and 1,4-Naphthoquinones. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3179–3191.

ácido sulfúrico, com posterior neutralização com hidróxido de sódio, obtendo-se um precipitado amarelo, a 4,7-fenantrolina-5,6-diona (**47**) com rendimento de 70% (Esquema 20).

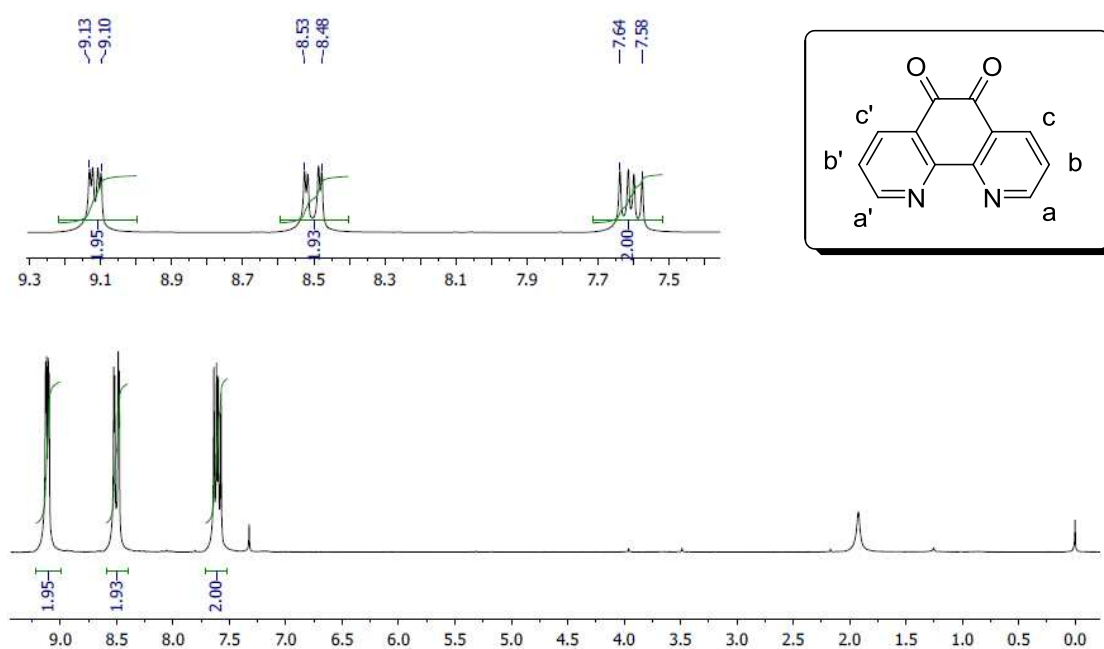
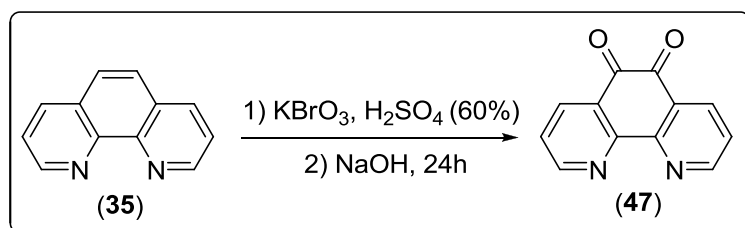


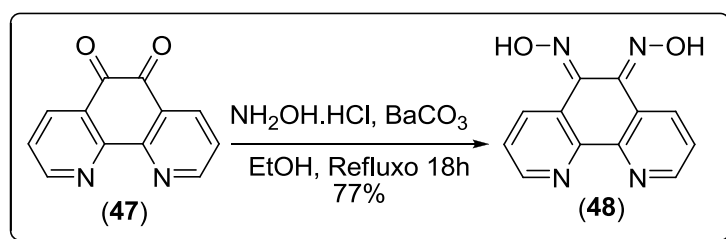
Figura 27: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância (**47**).

A substância (**47**) foi caracterizada pelo ponto de fusão com valor experimental de 256-258 °C sendo 257-258 °C o valor apresentado na literatura.⁸¹ O espectro de RMN de ^1H também foi realizado apresentando os sinais esperados: na região aromática

81. Guanbo, C.; Wenlian, L.; Zhiguo K.; Zisheng S.; Bei C.; Bin L.; Zhiqiang Z.; Zhizhi H.; Haijun C.; Hydrothermal syntheses of some derivatives of tetraazatriphenylene. *Synthetic Comm.* **2006**. 36, 2519-2524.

em δ 9,12 um sinal duplo duplete relativo aos hidrogênios (a, a') com $J = 9,4$ e $3,5$ Hz, em δ 8,50 um duplo duplete relativo aos hidrogênios (c, c') com $J = 15,8$ e $3,6$ Hz e em δ 7,61 um duplo duplete relativo aos hidrogênios (b, b') com $J = 15,7$ e $3,6$ Hz. A integração dos sinais corresponde à proporção dos hidrogênios observada no composto (Figura 27). O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ forneceu seis sinais na região aromática que estão de acordo com a sua estrutura, onde existem doze carbonos, mas devido à simetria, fornecem apenas seis sinais com deslocamentos químicos diferentes.

Em uma segunda etapa, o produto (47) foi reagido com cloridrato de hidroxilamina e carbonato de bário em etanol anidro, formando um precipitado amarelo claro que foi tratado com solução $1,0 \text{ molL}^{-1}$ de HCl (Esquema 21). A 4,7-fenantrolina-5,6-dioxima (48) foi filtrada e o produto obtido em um rendimento de 77%.



Esquema 21: Reação de síntese da 4,7-fenantrolina-5,6-dioxima (48).

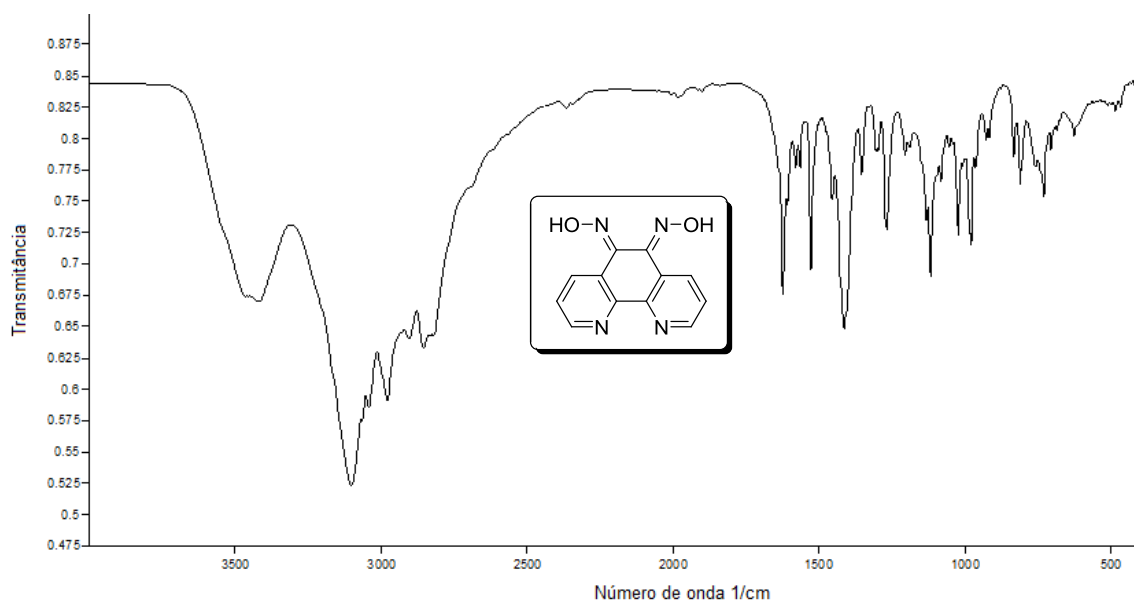
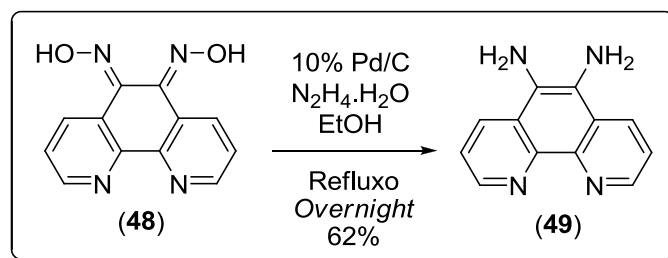


Figura 28: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da substância (48).

A substância (**48**) foi caracterizada pelo ponto de fusão com valor experimental de 239-241 °C sendo 240-241 °C o valor apresentado na literatura.⁸² O espectro de absorção na região do infravermelho foi utilizado para caracterização, sendo observadas bandas em regiões características: banda larga de estiramento de O-H em 3396 cm⁻¹; de deformação C-H aromático em 3102 cm⁻¹; e devido aos estiramentos assimétricos de C=C e C=N as bandas em 1632 cm⁻¹ e em 1519 cm⁻¹, respectivamente (Figura 28).

Na terceira etapa, a 4,7-fenantrolina-5,6-dioxima (**48**) foi reduzida por hidrogenação catalítica na reação com Pd/C (10%), hidrazina monohidratada, e etanol anidro, em atmosfera de argônio (Esquema 22). A mistura foi filtrada em celite, o volume do filtrado foi reduzido e resfriado, obtendo-se assim a 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (**49**) como um precipitado, que foi filtrado a vácuo e obtido como um sólido amarelo com 62% de rendimento.



Esquema 22: Formação da 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (**49**).

A caracterização da substância (**49**) foi realizada determinando-se o seu ponto de fusão, com valor experimental de 217-219 °C que está de acordo com dados da literatura, 217-218 °C.⁸ Também foi obtido o espectro de absorção na região do infravermelho com bandas características: referentes a estiramentos simétricos e assimétricos do grupo N-H de aminas primárias em 3370, 3261 e 3220 cm⁻¹ e estiramentos assimétricos de C=C e C=N em 1655 e 1620 cm⁻¹, respectivamente. O espectro de RMN de ¹H da 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (**49**) apresentou todos os sinais esperados: na região alifática em δ 5,19 um simpleto relativo aos quatro hidrogênios (dd') das aminas. Na região aromática em δ 8,75 um duplete com J = 1,9 Hz, relativo

82. Abeywickrama, C.; Baker, A.D.; Efficient synthesis of 1,4,5,12-tetraazatriphenylene and derivatives. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7741-7744.

aos hidrogênios (aa'); em δ 8,46 um duplete com $J = 4,2$ Hz, relativo aos hidrogênios (cc'); em 7,50-7,57 ppm, um sinal multipletto, relativo aos hidrogênios (bb') (Figura 29).

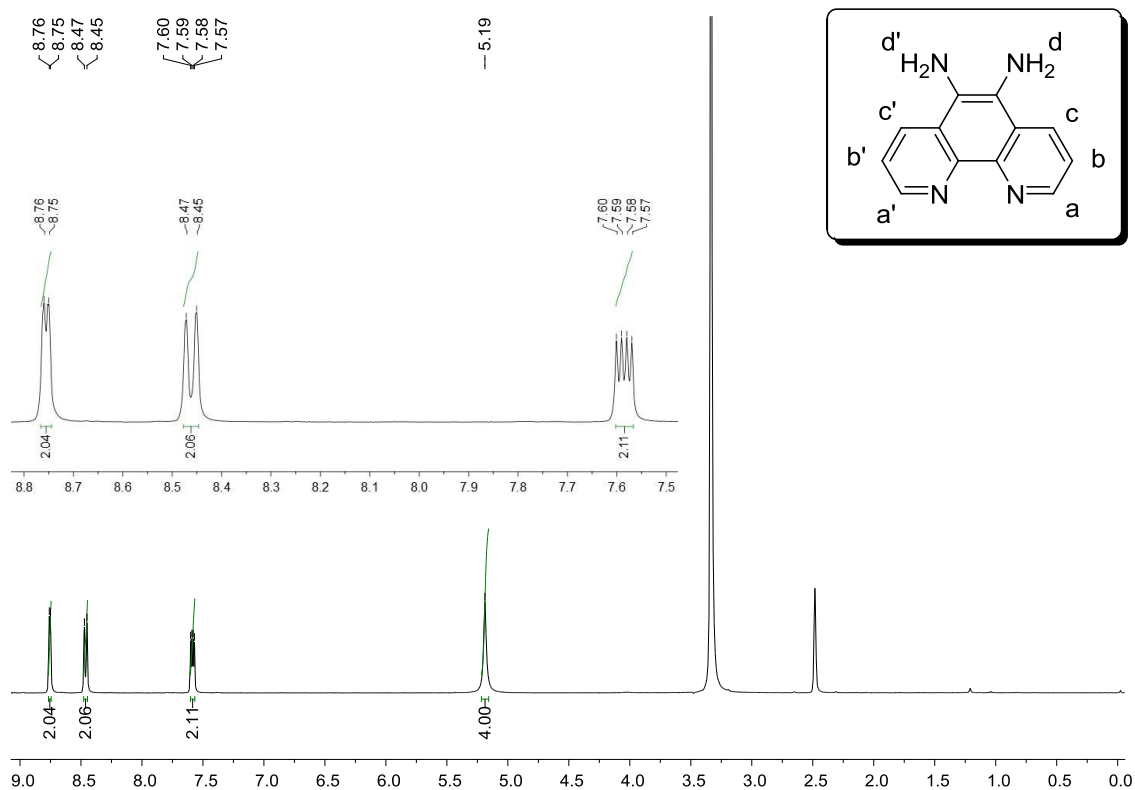
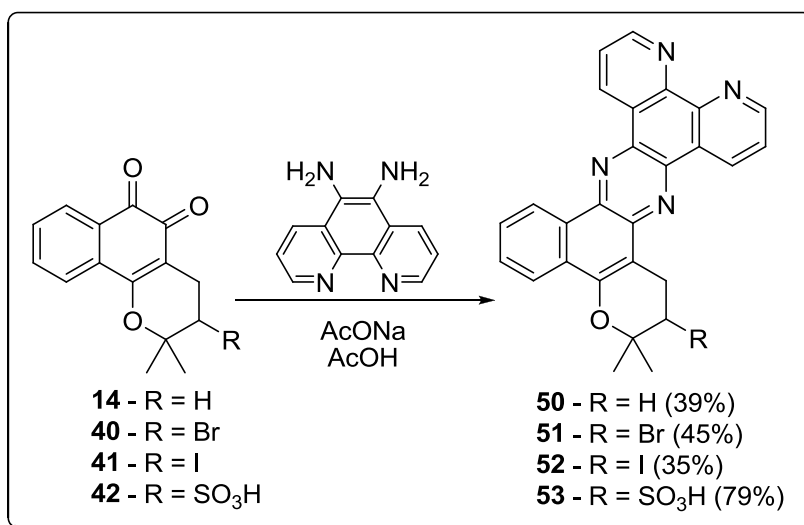


Figura 29: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) da substância (49).

A molécula (49) sofre reação de condensação com os derivados das quinonas para formar as fenazinas luminescentes propostas neste estudo. Assim a 4,7-fenantrolina-5,6-diamina foi reagida com as respectivas lapachonas na presença de acetato de sódio em ácido acético, (Esquema 23) seguindo a metodologia proposta por Hooker em 1883.⁸³ As fenazinas obtidas, todas inéditas, foram purificados em coluna cromatográfica.

83. Hooker, S.C.; The constitution of lapachol and its derivatives. Part II. The azines of the lapachol group. *J. Chem. Soc. Trans.* **1893**, 63, 1376-1387.



Esquema 23: Reação de formação das fenazinas **50-52** inéditas, a partir dos derivados das lapachonas **14, 40-42**.

A seguir são discutidos os dados espectrais da substância **50**. Sendo que todas as fenazinas inéditas foram caracterizadas por RMN de ¹H, RMN de ¹³C{¹H}, RMN DEPT, Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho, Análise Elementar (CHN), e algumas por Espectrometria de Massa.

O espectro de absorção na região do infravermelho apresenta bandas características: dos estiramentos assimétricos das ligações C=N e C=C em 1617 cm⁻¹ e em 1596 cm⁻¹, respectivamente; da deformação CH aromático em 738 cm⁻¹; e da deformação C-H fora do plano em 2926 cm⁻¹. O espectro também não apresentou as bandas referentes a estiramentos simétricos e assimétricos do grupo N-H de aminas primárias em 3370, 3261 e 3220 cm⁻¹ presentes no espectro de absorção na região do infravermelho da substância (**49**), evidenciando a ocorrência da reação.

O espectro de RMN de ¹H da substância (**50**) confirma a reação de condensação entre a diamina e a naftoquinona devido à ausência dos sinais característicos dos hidrogênios das aminas primárias que foram observados anteriormente no espectro da diamina (**49**) (Figura 29). O espectro apresenta na região alifática: em δ 1,53 um simpleto característico das metilas que se encontram em mesmo ambiente químico, e os sinais tripletos em δ 3,13 e em δ 2,03 na qual o desdobramento ocorre devido ao acoplamento spin-spin dos hidrogênios dos dois grupos CH₂ vizinhos. O tripleto mais desblindado, com maior valor para o deslocamento químico, é referente aos hidrogênios

pertencentes ao grupo CH₂ mais próximo ao nitrogênio fenazínico. A integração na região aromática está em proporção com o número de hidrogênios aromáticos, sendo os cinco hidrogênios mais próximos aos nitrogênios fenazínicos mais desblindados, ou seja, apresentam maior valor de deslocamento químico (Figura 30).

O espectro de RMN de ¹³C{¹H} confirmou a presença dos vinte e dois carbonos na região aromática, concordando com a estrutura proposta, além de apresentar um sinal em 26,85 ppm referente aos dois carbonos dos dois grupos CH₃ presentes.

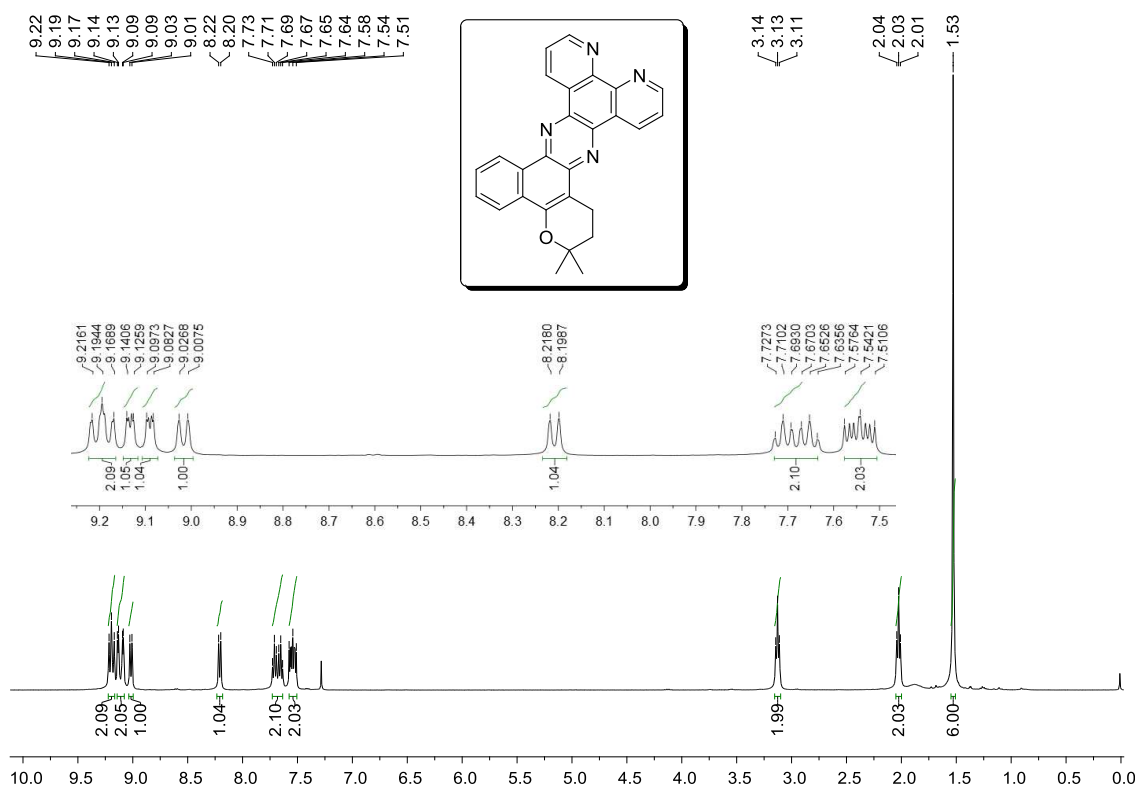
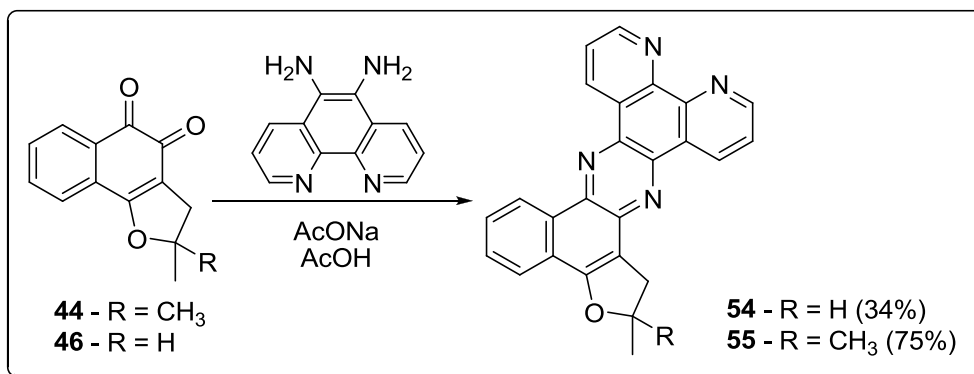


Figura 30: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **(50)**.

O mesmo procedimento descrito para obtenção das fenazinas **(50)** a **(53)** (Esquema 23) foi seguido para reagir a 4,7-fenantrolina-5,6-diamina com as diidrofuranonaftoquinonas produzindo mais duas fenazinas luminescentes inéditas (Esquema 24).



Esquema 24: Reação de condensação formando fenazinas inéditas luminescentes derivadas das 1,2-furanonaftoquinonas.

O espectro de absorção na região do infravermelho da substância (**55**) apresenta bandas características: dos estiramentos assimétricos das ligações C=N e C=C em 1628 cm⁻¹ e em 1595 cm⁻¹, respectivamente; da deformação C-H aromático em 739 cm⁻¹; e da deformação C-H aromático fora do plano em 2923 cm⁻¹. Também não foram observadas as bandas referentes a estiramentos simétricos e assimétricos do grupo N-H de aminas primárias em 3370, 3261 e 3220 cm⁻¹ da substância (**49**), evidenciando a ocorrência da reação.

O espectro de RMN de ¹H da substância (**55**) não apresenta os sinais característicos relativos aos hidrogênios das aminas primárias, observado no espectro da diamina (**49**) (Figura 29), o que evidencia a ocorrência da reação de condensação entre a diamina e a naftoquinona. O espectro apresenta na região alifática: em δ 1,74 um simpleto característico das metilas que são enantiotópicas, em δ 3.38 um simpleto referente aos hidrogênios também enantiotópicos do grupo CH₂. A integração na região aromática está de acordo com a proporção do número de hidrogênios aromáticos, sendo os cinco hidrogênios mais próximos aos nitrogênios fenazínicos mais desblindados, ou seja, apresentam maior valor de deslocamento químico (Figura 31).

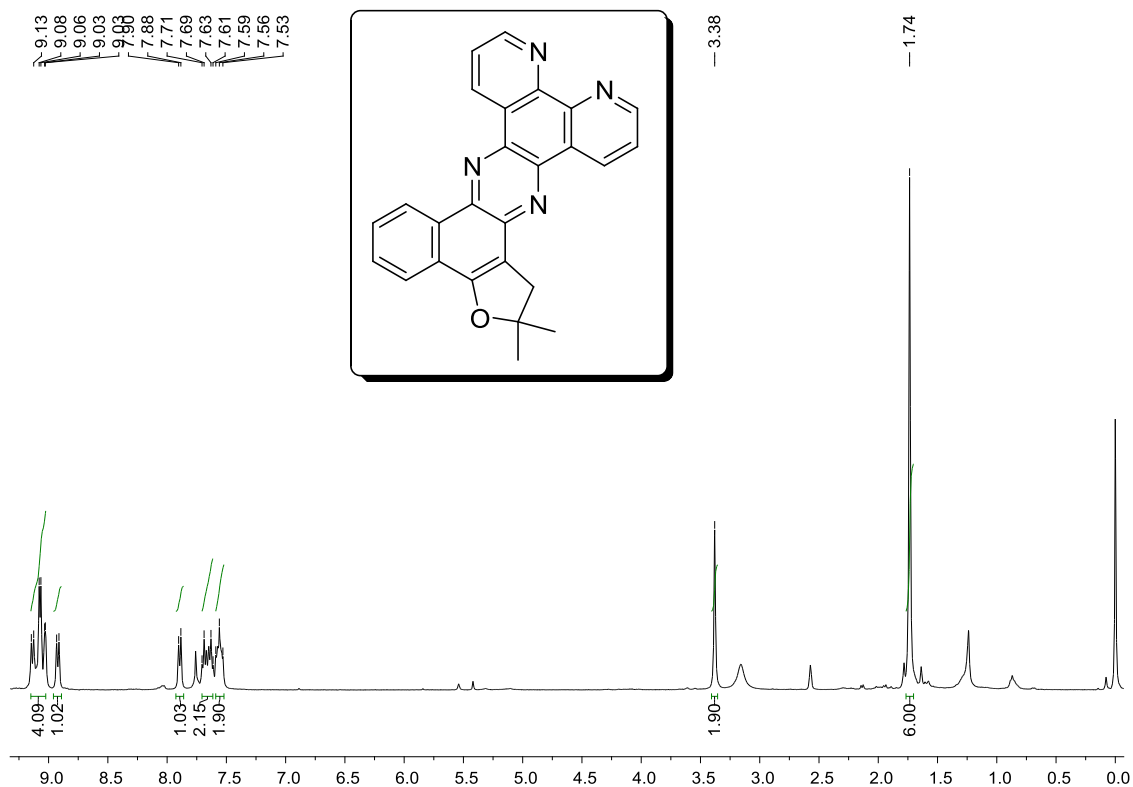
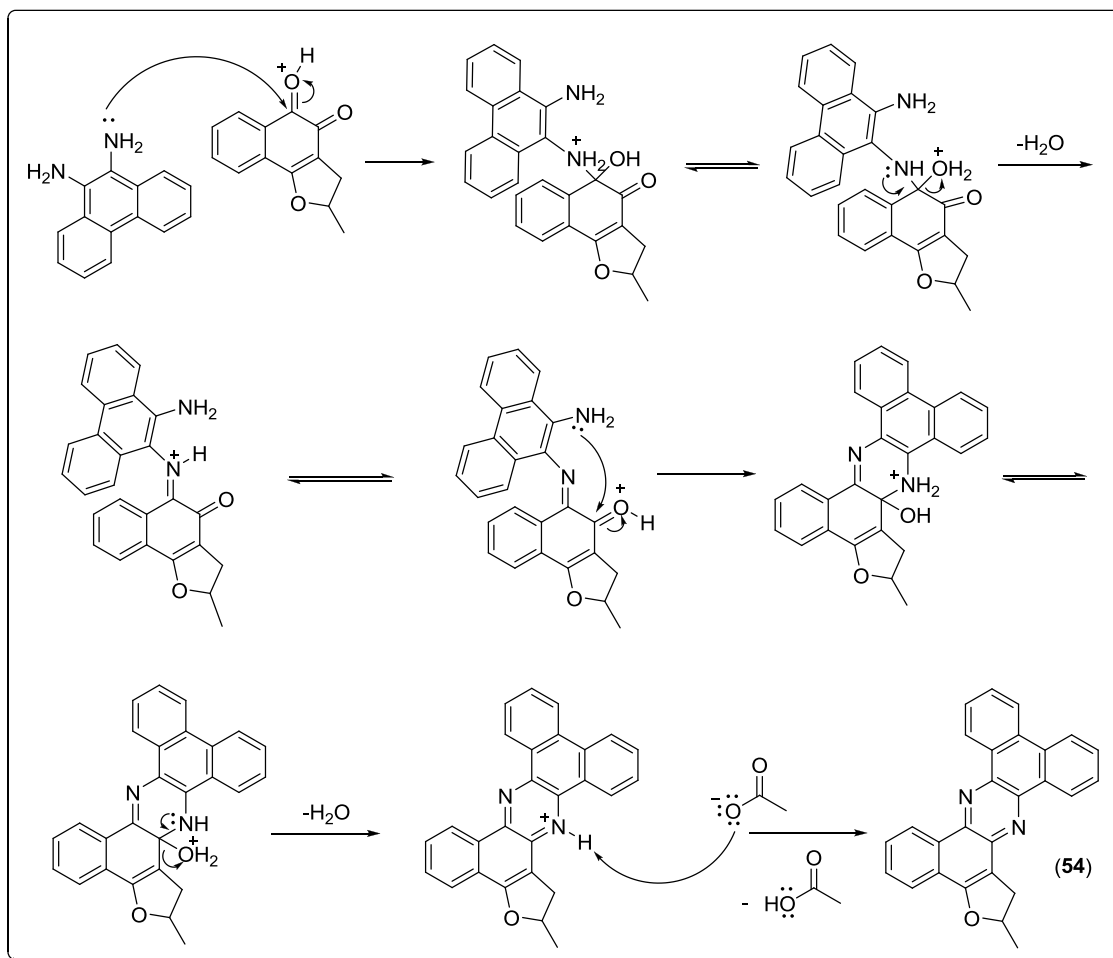


Figura 31: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **55**.

O mecanismo da reação de condensação para obtenção das fenazinas se inicia com a diamina efetuando um ataque nucleofílico ao carbono da carbonila, seguido pela eliminação de água com formação da imina. A cinética para o segundo ataque nucleofílico pela amina é muito favorável devido à sua proximidade com o outro carbono da segunda carbonila. Posteriormente ocorre nova eliminação de água com formação da fenazina (Esquema 25). As aminas não são protonadas no decorrer da reação devido ao efeito da solução tampão, formada pelo ácido acético e pelo acetato de sódio, que impede o decréscimo do valor do pH do meio reacional.

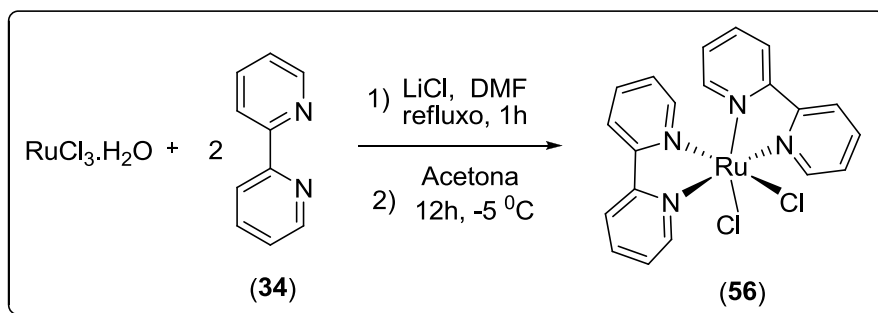


Esquema 25: Mecanismo proposto para formação das fenazinas luminescentes.

Após a síntese das fenazinas, a obtenção dos complexos fenazínicos de Ru(II) requer a síntese de um complexo de Ru(II) precursor, que tenha dois ligantes com labilidade suficiente para serem deslocados pelos ligantes fenazínicos. Este precursor permite a obtenção dos complexos polipiridínicos de Ru(II), que apresentam propriedades fotofísicas diferenciadas e são portanto potenciais sondas com aplicações extremamente variadas, conforme discutido anteriormente. Desta forma foi escolhido o complexo $[RuCl_2(bpy)_2]$ como o complexo precursor dos complexos de Ru(II) com as fenazinas.

Portanto, o $[RuCl_2(bpy)_2]$, foi obtido pela reação de complexação da bipyridina (bpy) com tricloreto de rutênio monohidratado em presença de cloreto de lítio, utilizando-se dimetilformamida como solvente. A reação permaneceu sob agitação por uma hora, logo após o meio reacional foi resfriado à temperatura ambiente, logo após

foi acrescentada acetona e a mistura foi mantida em refrigeração à -5 °C, em freezer, por doze horas (Esquema 26).⁸⁴



Esquema 26: Formação do $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$.

O complexo (56) foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho (Figura 32) apresentando bandas características, em 3098 e 3069 cm^{-1} relativas ao estiramento C-H aromático, em 1614 e 1419 cm^{-1} associadas à deformação axial de C=C e C=N nos anéis piridínicos. Outra banda referente a deformação C-H aromático aparece em 768 cm^{-1} .⁸⁵

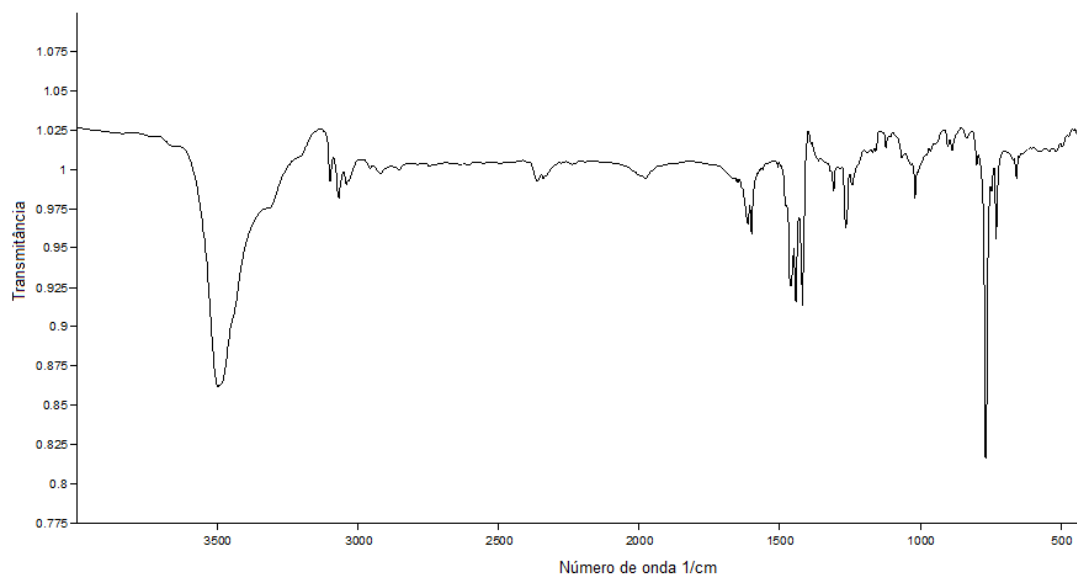
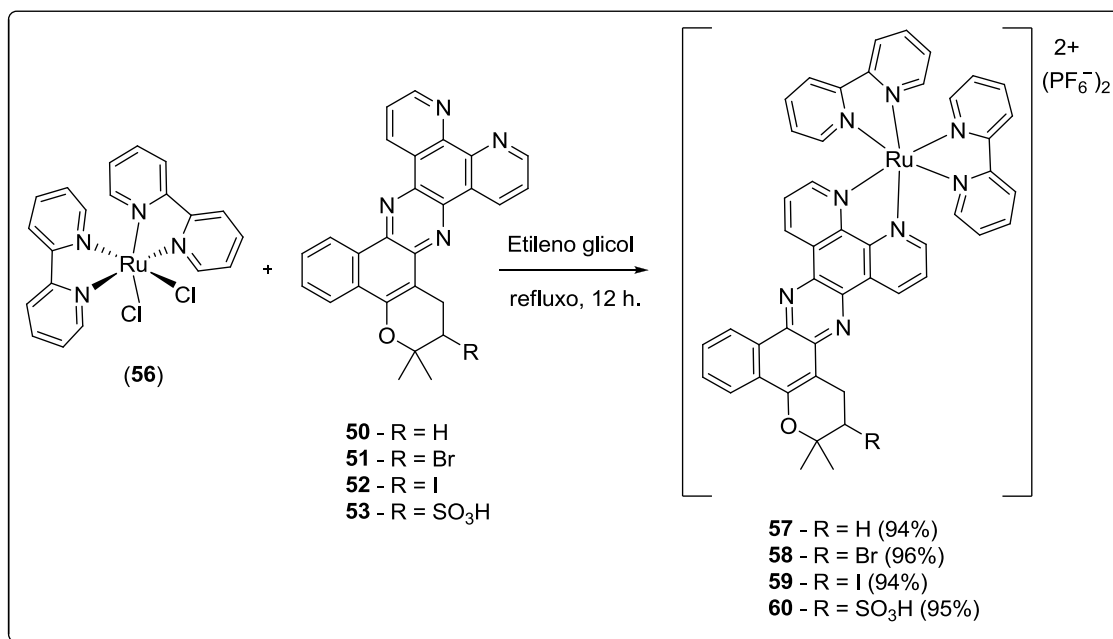


Figura 32: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da substância (56).

84. Sullivan, P.; Salmon, D.J.; Meyer, T.J.; Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. *Inorg. Chem.* **1978**, 17(12), 3335-3341.

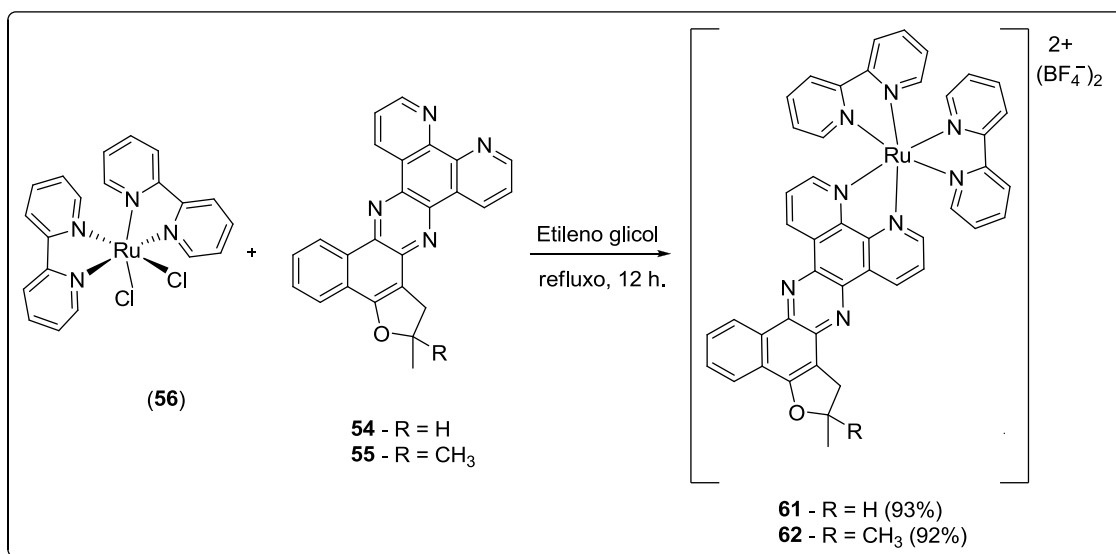
85. (a) Silverstein, R. M.; Bassler, G. C.; Morrill, T. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **1994**, 65-167. (b) Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R. Introdução à espectroscopia. Tradução da 4ª Edição Norte-Americana. São Paulo: Cengage Learning, **2010**.

A reação de complexação das fenazinas com o complexo $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ foi realizada em etileno glicol sob refluxo. Após resfriamento à temperatura ambiente, foi adicionada água e acrescentado o contraíon tetrafluoroborato de sódio (ou hexafluorofosfato de potássio) ocorrendo precipitação do produto. Sólidos de coloração vermelha foram obtidos como produtos das reações (Esquema 27), sendo todos complexos inéditos. O precipitado obtido com o contraíon (PF_6^-) foi extramente fino e que dificultou sua separação do meio reacional. Os outros complexos fenazínicos foram obtidos com o contraíon (BF_4^-) fornecendo um precipitado mais granular.



Esquema 27: Reação de formação dos complexos luminescentes com ligantes fenazínicos derivados de 1,2-piranonaftoquinonas.

Os outros dois complexos inéditos formados com as fenazinas (**54**) e (**55**) foram sintetizados utilizando o mesmo procedimento, reagindo a fenazina com o complexo $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ em etileno glicol sob refluxo e ambos formaram precipitados vermelhos em água na presença de (BF_4^-) como contraíon (Esquema 28).



Esquema 28: Formação dos complexos luminescentes das fenazinas derivadas das 1,2-furanonaftoquinonas.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por métodos espectroscópicos e espectrométricos. A obtenção dos espectros de RMN de ¹³C{¹H} para os complexos não foi realizada devido à baixa solubilidade em solventes deuterados, como por exemplo, acetona-d₆, benzeno-d₃, clorofórmio-d, ciclohexano-d₁₂, N,N-dimetilformamida-d, dimetilsulfóxido-d₆, etanol-d₆, metanol-d₄, piridina-d₅, tolueno-d₈.

Os complexos foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho. A comparação entre os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos para as fenazinas e seus respectivos complexos fenazínicos de Ru(II) apresentam principalmente uma mudança na região entre 1370 a 1680 cm⁻¹. Esta região do espectro é característica das bandas dos estiramentos assimétricos das ligações C=C e C=N,⁸⁶ que aparecem nas moléculas das fenazinas, o que sugere a ocorrência da coordenação destas moléculas ao rutênio(II) indicando a formação dos complexos. A seguir serão discutidos principalmente os aspectos estruturais referentes ao complexo bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina}rutenato (57).

86. Barbosa, L.C.A.; Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. **2008**, 1ª Ed. UFV, Viçosa.



Nos espectros dos complexos fenazínicos de Ru(II), em relação ao espectro do complexo precursor (**56**), ocorre o aparecimento da banda na região de 2850 a 3000 cm^{-1} característica dos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação C-H, assim como o aparecimento das bandas características dos contraíons. Bandas características do contraíon⁸⁷ PF_6^- aparecem em 841 e 557 cm^{-1} no espectro do complexo (**57**), e as bandas características do contraíon BF_4^- em 1035 e 1085 cm^{-1} aparecem nos espectros de todos os outros complexos.⁸⁸

A comparação entre os resultados das análises de absorção na região de infravermelho da fenazina (**50**) e do seu complexo de Ru(II) (**57**) sugere a formação deste complexo fenazínico. O espectro do complexo (**57**) assemelha-se ao da fenazina (**50**) na região de 2850 a 3000 cm^{-1} , relativa aos estiramentos simétricos e assimétricos da ligação C-H, e de sua deformação fora do plano em torno de 2920 cm^{-1} . Na região entre 1370 a 1680 cm^{-1} ocorre um alargamento das bandas características dos estiramentos assimétricos das ligações C=C e C=N, quando comparados os espectros do ligante e do complexo, evidenciando a complexação do ligante ao metal (Figura 33). Este alargamento das bandas na região, entre 1370 e 1680 cm^{-1} , é uma característica observada para todos os complexos, sugerindo a ocorrência das reações de complexação.

87. Dinelli, L.R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, **2003**.

88. Bessler, K.E.; Sousa, A.T.; Lemos, S.S.; Gomes, F.B.; Souza, E.J.; Preparação e caracterização espectroscópica de complexos de boro – uma proposta para uma prática integrada de química inorgânica. *Quim. Nova*, **2010**, 33(6), 1408-1411.

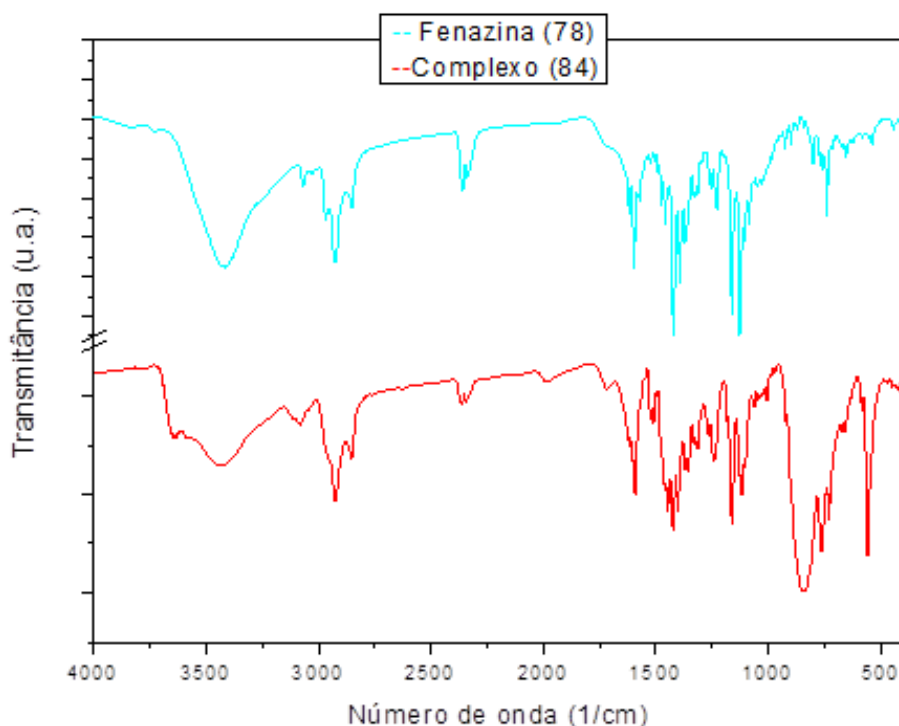


Figura 33: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da fenazina (**50**) e do seu complexo com Ru(II) (**57**).

As atribuições das bandas características que aparecem nos espectros de absorção na região do infravermelho as fenazinas e para os seus complexos com Ru(II), bem como para o complexo precursor (**56**) estão relacionadas na Tabela 1.

Tabela 1: Atribuições de bandas características nos espectros de infravermelho para as fenazinas e para os complexos de Ru(II).

| Composto | ν C=N (cm ⁻¹) | ν C=C (cm ⁻¹) | ν C-N (cm ⁻¹) | δ C-H _{ar} (cm ⁻¹) | ν C-H _{ar} (cm ⁻¹) |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--|---|
| 50 | 1617 | 1596 | 1087 | 738 | 2926 |
| 51 | 1618 | 1594 | 1090 | 741 | 2924 |
| 52 | 1621 | 1599 | 1090 | 740 | 2931 |
| 53 | 1624 | 1594 | 1042 | 730 | 2921 |
| 54 | 1628 | 1596 | 1083 | 740 | 2929 |
| 55 | 1628 | 1595 | 1084 | 739 | 2923 |
| 57 | 1619 | 1593 | 1062 | 730 | 2925 |
| 58 | 1620 | 1594 | 1085 | 729 | 2922 |
| 59 | 1622 | 1596 | 1085 | 741 | 2928 |
| 60 | 1624 | 1594 | 1042 | 730 | 2921 |
| 61 | 1642 | - | 1085 | 729 | 2922 |
| 62 | 1626 | 1594 | 1085 | 728 | 2926 |
| 56 | 1617 | 1600 | 1018 | 731 | - |

O complexo (**57**) foi caracterizado por RMN de ^1H , em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ (Figura 34). A presença de sinais com deslocamentos químicos característicos foram identificados: em δ 1,56 um simpleto devido às duas metilas em mesmo ambiente químico, com integração proporcional aos seis hidrogênios; em δ 2,19 e 3,47 dois tripletos relacionados aos hidrogênios dos grupos CH_2 , evidenciando a natureza enantiotópica de cada par de hidrogênios. Na região aromática a integração está em acordo com o número de hidrogênios esperados nesta região que estão presentes na estrutura do complexo, perfazendo um total de vinte e seis hidrogênios aromáticos.

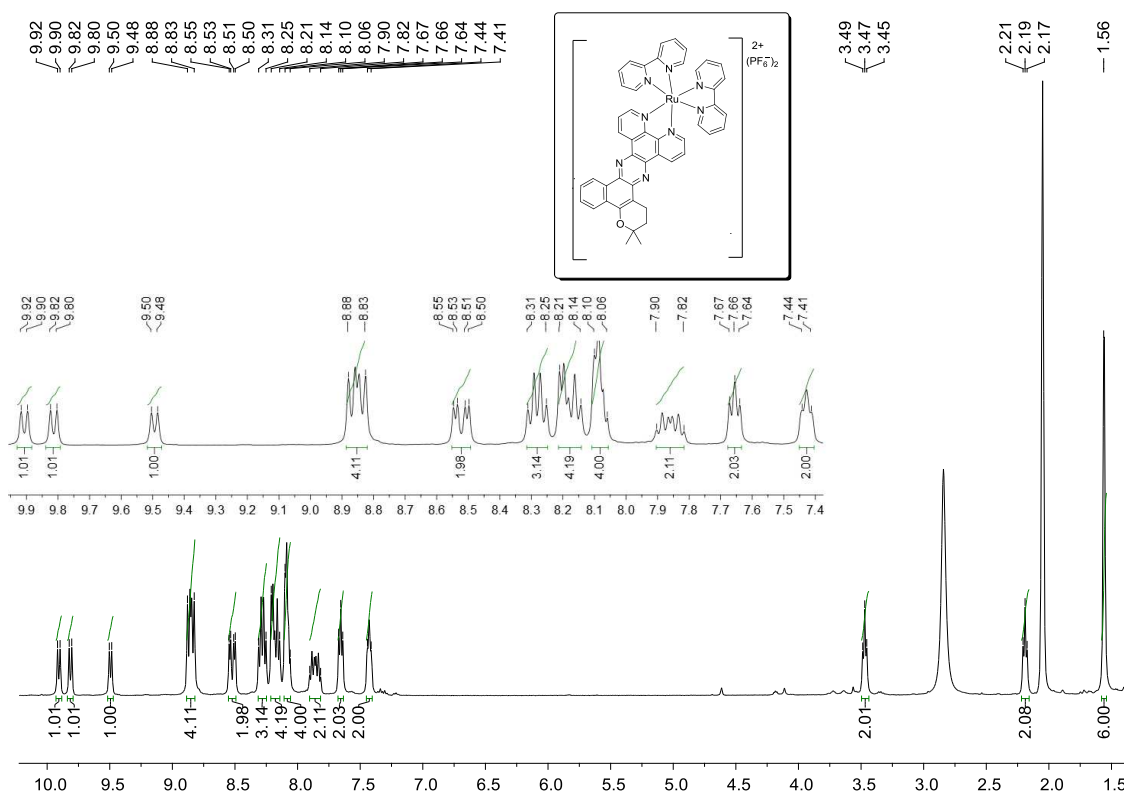


Figura 34: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância **57**.

Nos experimentos para obtenção de cristais apropriados para estudos de cristalografia de raios-X, realizaram-se testes de solubilidade para as substâncias sintetizadas e posteriormente várias tentativas de obtenção de cristais via difusão lenta entre dois solventes com diferentes polaridades (tolueno e acetonitrila). Foram obtidos monocristais do complexo (**57**) que apresentaram uma relação metal:ligante (1:1), a mesma relação encontrada no precipitado não cristalino do complexo através das outras análises, como RMN de ^1H , análise condutimétrica e análise elementar.

A Figura 35 mostra a estrutura gerada pelo programa ORTEP-3, a Tabela 2 os principais parâmetros cristalográficos e a Tabela 3 contém os comprimentos e ângulos de ligação distribuídos em torno do metal.

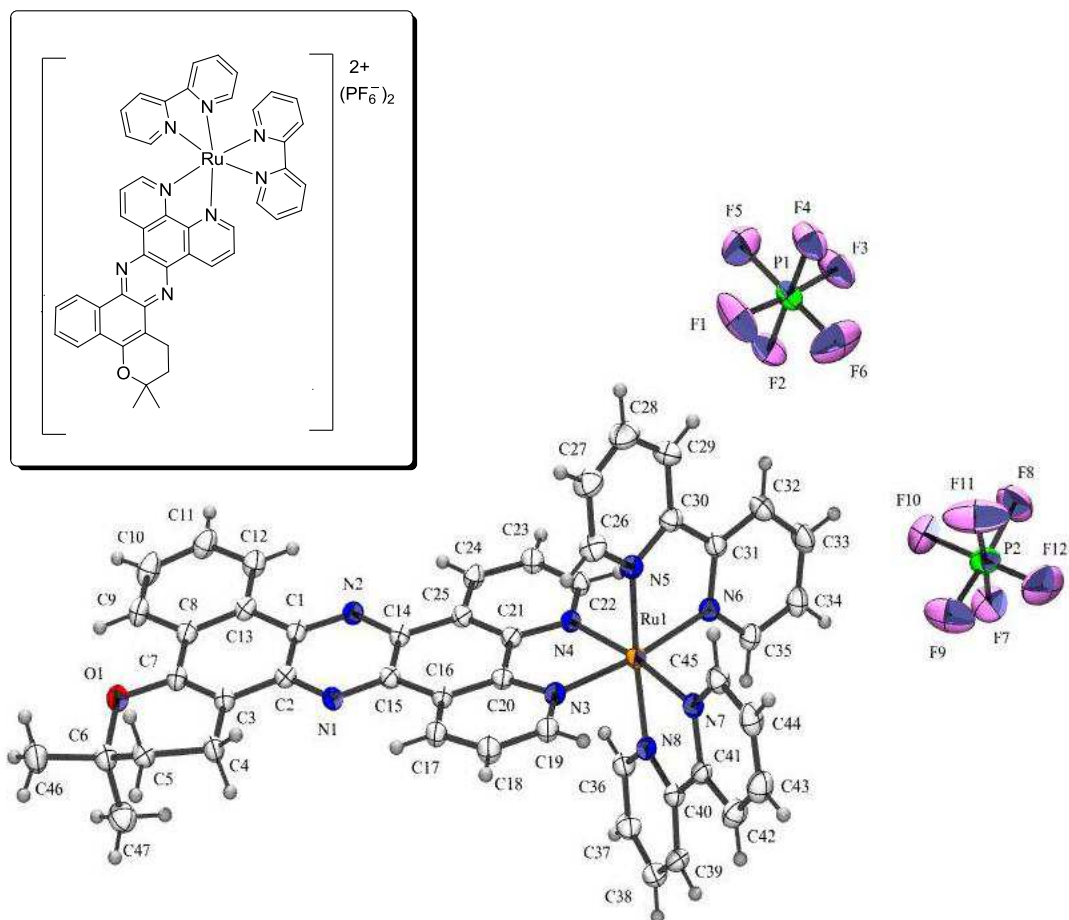


Figura 35: Projeção ORTEP-3 do complexo (57) com os átomos identificados e elipsóides de vibração térmica a 20% de probabilidade.

Tabela 2: Dados cristalográficos e refinamento da estrutura para complexo (57).

| | | |
|--|--|-------------|
| Fórmula empírica | C₄₇H₃₆F₁₂N₈OP₂Ru | |
| Massa molecular (g mol ⁻¹) | 1119,85 | |
| Temperatura | 293(2) K | |
| Comprimento de onda | 0,71073 Å | |
| Sistema cristalino | Monoclínico | |
| Grupo espacial | P2 ₁ /c | |
| Dimensões de cela unitária | a = 12,9980(3) Å | α = 90° |
| | b = 17,7660(4) Å | β = 120,52° |
| | c = 24,1930(5) Å | γ = 90° |



UFMG

| | |
|---------------------------------------|---|
| Volume | 4812,6(2) Å ³ |
| Z | 4 |
| Densidade (calculada) | 1,546 mg/m ³ |
| Coeficiente de absorção (μ) | 0,485 mm ⁻¹ |
| F(000) | 2256 |
| Tamanho do cristal | 0,24 x 0,20 x 0,19 mm ³ |
| θ _{min} , θ _{max} | 2,7 to 27,5° |
| Variação dos índices | -16 ≤ h1 ≤ 14, -22 ≤ k ≤ 22, -31 ≤ l ≤ 30 |
| Reflexões coletadas | 50204 |
| Reflexões independentes | 11002 [R(int) = 0,062] |
| Método de refinamento | Full-matrix least-squares on F ² |
| Dados / restrições / parâmetros | 6595 / 0 / 641 |
| S(Goodness-of-fit on F ²) | 1,09 |
| Índice R final [I > 2σ(I)] | R1 = 0,09, wR2 = 0,27 |
| Índices R (todos os dados) | R1 = 0,12, wR2 = 0,30 |
| Máx. e mín. de Δρ final | 1,03 e -0,86 e.Å ⁻³ |

Tabela 3: Distância de ligação (Å) e ângulos de ligação (°) ao redor do Ru na estrutura para complexo (57).

| Ligação | Distância | Ângulo | (°) |
|---------|-----------|-----------|-------------|
| Ru1—N5 | 2.045 (5) | N5—Ru1—N6 | 78.5 (2) |
| Ru1—N6 | 2.064 (5) | N5—Ru1—N7 | 97.9 (2) |
| Ru1—N7 | 2.061 (5) | N6—Ru1—N7 | 92.27 (19) |
| Ru1—N3 | 2.067 (5) | N5—Ru1—N3 | 95.2 (2) |
| Ru1—N8 | 2.064 (5) | N6—Ru1—N3 | 172.23 (19) |
| Ru1—N4 | 2.076 (5) | N7—Ru1—N3 | 93.12 (19) |
| | | N5—Ru1—N8 | 175.5 (2) |
| | | N6—Ru1—N8 | 98.91 (19) |
| | | N7—Ru1—N8 | 78.5 (2) |
| | | N3—Ru1—N8 | 87.65 (19) |
| | | N5—Ru1—N4 | 87.5 (2) |
| | | N6—Ru1—N4 | 95.10 (18) |
| | | N7—Ru1—N4 | 171.63 (19) |
| | | N3—Ru1—N4 | 79.94 (18) |
| | | N8—Ru1—N4 | 96.5 (2) |

Foram realizados estudos termogravimétricos para os complexos (57) e (58) através da determinação das curvas TG/DTG para os complexos, visando definir as alterações que o aquecimento pode causar nas substâncias, tais como fusão, decomposição, desidratação, oxidação, etc.

Foi realizado o estudo térmico em atmosfera oxidativa com fluxo de ar (50 mL/min) entre 30 e 750 °C para o complexo (57) (Figura 36). A curva TG apresentou duas etapas para decomposição. A primeira etapa com máximo de decomposição próximo a 330 °C correspondendo à perda de 25,21 % da massa; a segunda etapa com máximo de decomposição próximo a 490 °C correspondendo a 51,02 % de perda da massa do complexo. Considerando que há perda de solvente até a temperatura de 220 °C, e que o produto de decomposição do complexo seja RuO(PF₆), o resíduo experimental de 23,77 % está muito próximo do valor teórico que é de 22,40 %. Este resultado está de acordo a estrutura proposta para o complexo.

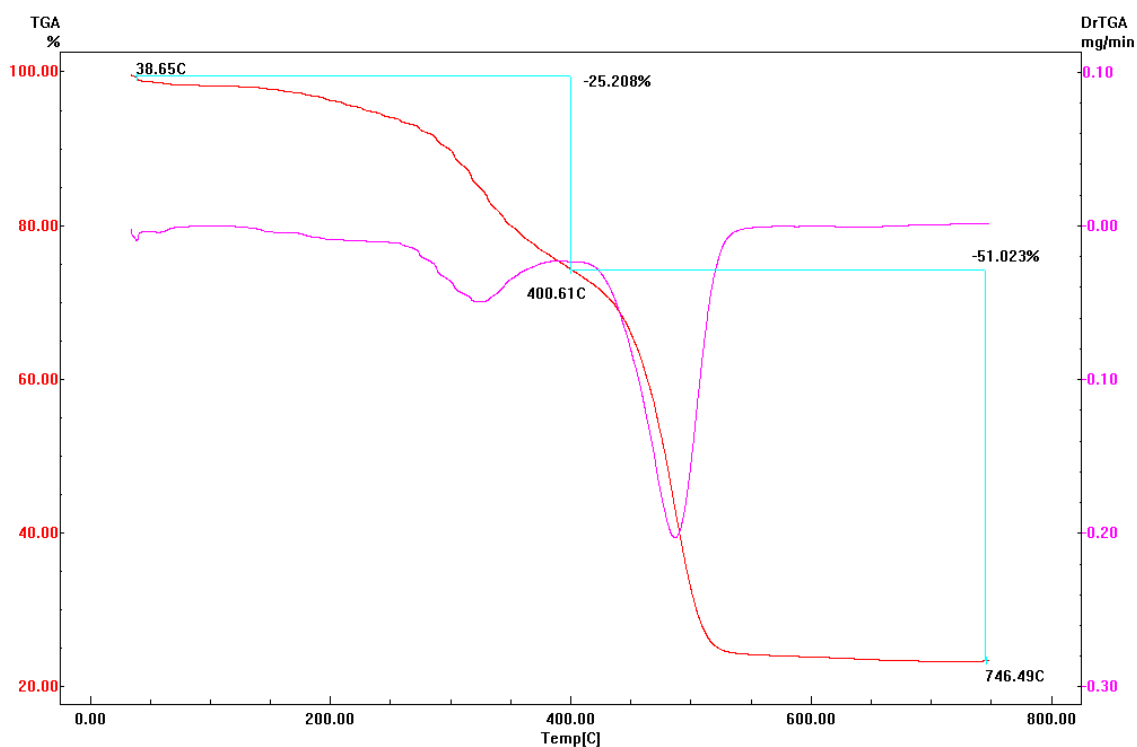


Figura 36: Curvas TGA/DTA para complexo (57) em fluxo de ar (50 mL/min).

Também foi realizado o estudo em atmosfera oxidativa com fluxo de ar (50 mL/min) para o complexo (58) (Figura 37). A curva TG apresentou três etapas para decomposição. A primeira etapa entre com máximo de decomposição próximo aos 245 °C correspondendo a perda de 11,08 % da massa relativa a perda de solvente (etileno glicol); a segunda etapa com máximo de decomposição próximo a 395 °C correspondendo a 23,00 % de perda da massa do complexo e a terceira etapa com máximo de decomposição próximo a 440 °C correspondendo a 47,05 % de perda da

massa do complexo. O valor do resíduo experimental encontrado é de 18,84 % e o resíduo teórico calculado é 17,24 %, a proximidade dos valores sugere novamente a estrutura proposta para o complexo está correta.

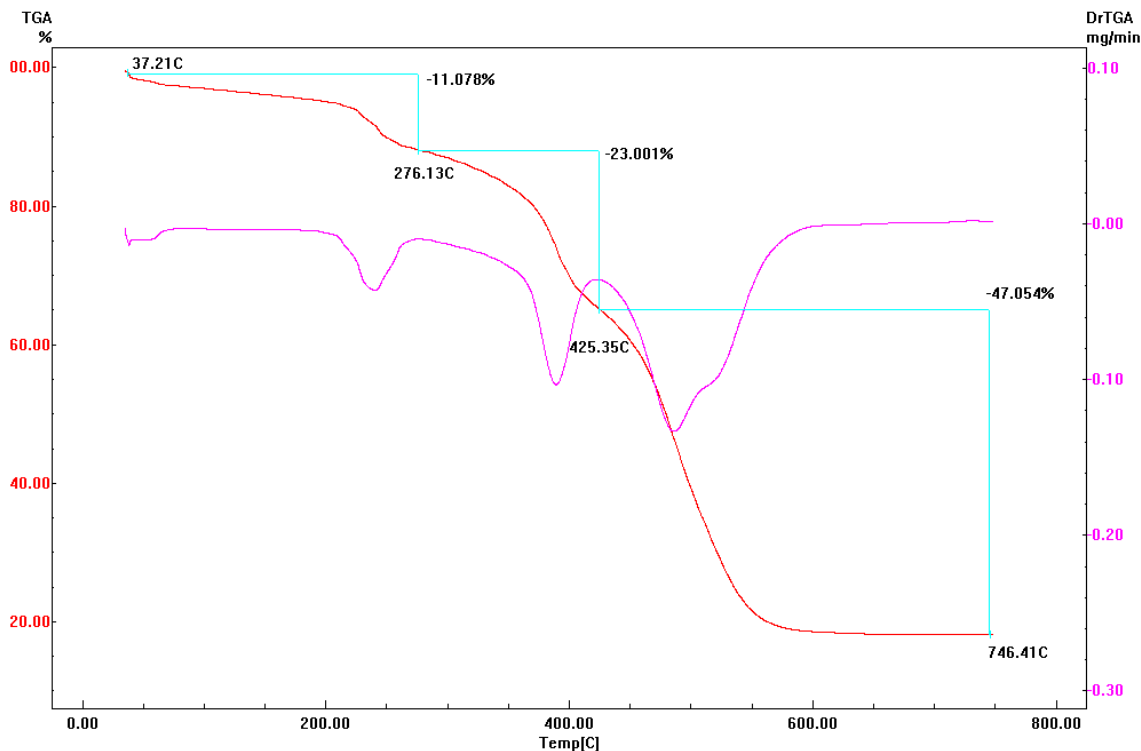


Figura 37: Curvas TGA/DTA para complexo (58) em fluxo de ar (50 mL/min).

Foram realizados estudos de condutimetria dos complexos de Ru(II) sintetizados visando determinar o número de contraíons em cada complexo. Em uma solução o valor da condutividade elétrica é dependente da concentração, pois está relacionado com o número de cargas presentes no meio. Mantendo uma concentração constante é possível prever o número de cargas presentes em um complexo metálico em solução pela comparação com valores de condutividade molar apresentados na literatura. No caso dos complexos sintetizados neste trabalho, a água não é um solvente apropriado devido à baixa solubilidade destes complexos. Geary relacionou os principais solventes orgânicos utilizados em condutimetria e as considerações sobre suas propriedades que interferem na determinação das medidas.⁸⁹

89. Geary, W.J.; The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. *Coord, Chem. Rev.* **1971**, 7(1), 81-122.

Os complexos sintetizados são bem solúveis em acetonitrila, e este solvente também possui propriedades favoráveis como alta constante dielétrica e baixa viscosidade.⁹⁰ Portanto as medidas de condutividade foram realizadas em acetonitrila $k = 24,1 \mu\text{Scm}^{-1}$, utilizado uma célula condutimétrica com constante $1,045 \text{ cm}^{-1}$, solução padrão $k = 1,400 \mu\text{Scm}^{-1}$ e as soluções dos complexos de Ru(II) foram preparadas em concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. Os valores medidos para a condutividade e os valores calculados para condutividade molar estão na Tabela 4.

Tabela 4: Massa molar, concentração, condutividade e condutividade molar para os complexos sintetizados.

| Complexo | Massa Molar (gmol^{-1}) | Concentração (molL^{-1}) | k (μScm^{-1}) | Λ_{mol} ($\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$) |
|-----------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|--|
| 57 | 1119,84 | 1,01 | 42,1 | 178 |
| 58 | 989,49 | 1,05 | --- | --- |
| 59 | 1082,42 | 1,07 | --- | --- |
| 60 | 975,47 | 1,09 | 48,2 | 241 |
| 61 | 1129,42 | 1,05 | 44,0 | 208 |
| 62 | 1083,58 | 1,04 | 49,3 | 240 |

k = condutividade ; Λ_{mol} = condutividade molar.

Os valores calculados para condutividade molar (Λ_{mol}) em acetonitrila estão dentro da faixa de valores descritos na literatura⁹⁰ entre 162 a $345 \text{ Scm}^2\text{mol}^{-1}$ para os complexos **57**, **60**, **61** e **62**. Os outros dois complexos apresentaram valores acima do esperado, podendo ser justificado pela presença de impurezas, por exemplo, excesso do contraíon que precipitou junto com o complexo. Novos estudos serão realizados para estes complexos depois de purificados.

Foi realizada a análise elementar (CHN) para caracterização de todos os compostos sintetizados (Tabela 5).

90. (a) Coucouvanis, D.; Holah, D.G.; Hollander, F.J.; Metal dithiosquarates. II.1 Synthesis and characterization of bis(dithiosquarato) tetrahedral and planar complexes. Crystal and molecular structure of potassium bis(dithiosquarato)nickelate(II) dehydrate. *Inorg. Chem.* **1975**, 14(11), 2657-2665. (b) Darensbourg, M.Y.; Font, I.; Mills, D.K.; Pala, M.; Reibenspies, J.H.; Variable modes of nickel(II) coordination with macrocyclic ligands based on 1,5-bis(2-mercaptoethyl)-1,5-diazacyclooctane (BME-DACO). *Inorg. Chem.* **1992**, 31(24), 4965-4971.

Tabela 5: Dados referentes análise elementar (CHN) para as substâncias sintetizadas.

| Substância | Massa molar (g/mol) | C (%) | | H (%) | | N (%) | |
|------------|---------------------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| | | Teor. | Exp. | Teor. | Exp. | Teor. | Exp. |
| 50 | 416,47 | 77,87 | 74,79 | 4,15 | 5,22 | 14,42 | 13,06 |
| 51 | 495,37 | 65,46 | 64,65 | 3,87 | 4,47 | 11,31 | 10,34 |
| 52 | 542,37 | 59,82 | 60,57 | 3,53 | 4,24 | 10,33 | 9,51 |
| 53 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 54 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 55 | 402,45 | 77,59 | 75,86 | 4,51 | 4,83 | 13,92 | 13,87 |
| 57 | 1119,84 | 50,41 | 49,24 | 3,24 | 4,11 | 10,01 | 8,39 |
| 58 | 989,49 | 52,15 | 48,87 | 3,26 | 3,94 | 10,35 | 9,39 |
| 59 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 60 | 975,47 | 52,10 | 52,02 | 3,35 | 5,19 | 10,34 | 8,24 |
| 61 | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 62 | 1083,58 | 55,84 | 50,94 | 3,46 | 4,26 | 11,32 | 10,02 |

Os valores encontrados na análise elementar estão de acordo com os valores teóricos esperados, divergem um pouco devido à presença de solvente ou excesso do sal do contraíon em excesso (complexos). Os valores obtidos para as substâncias (**53**), (**54**), (**59**) e (**61**) não estão de acordo com os resultados teóricos esperados para as estruturas propostas. Novas análises elementares destas substâncias serão obtidas após purificação das mesmas.

3.2. Fotofísica

3.2.1. Luminescência

A emissão de fótons na região do ultravioleta, visível ou infravermelho, por uma substância excitada é o fenômeno denominado luminescência. O termo luminescência foi utilizado cientificamente pela primeira vez por Eilhardt Wiedemann em 1888,⁹¹ físico e historiador da ciência, para descrever fenômenos onde a luz não influenciava na temperatura da matéria. Existem diferentes tipos de substâncias que exibem luminescência, incluindo compostos orgânicos e inorgânicos, como os complexos

91. Da Silveira Neto, B.A.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2006.

metálicos. Dependendo do modo de excitação a luminescência pode ser diferentemente classificada (Tabela 6).

Tabela 6: Os variados tipos de Luminescência.

| Fenômeno | Tipo de excitação |
|-----------------------------------|--|
| Fotoluminescência ⁹² | Absorção de luz (fótons) |
| Radioluminescência ⁹³ | Radiação ionizante (Raios X, α , β , γ) |
| Catodoluminescência ⁹⁴ | Raios catódicos (feixe de elétrons) |
| Eletroluminescência ⁹⁵ | Campo elétrico |
| Termoluminescência ⁹⁶ | Aquecimento (irradiação radioativa) |
| Quimiluminescência ⁹⁷ | Processo químico (oxidação) |
| Bioluminescência ⁹⁸ | Processo biológico |
| Triboluminescência ⁹⁹ | Fricção e forças eletrostáticas |
| Sonoluminescência ¹⁰⁰ | Ultrassom |

Na fluorescência e na fosforescência a substância é excitada do mesmo modo através da absorção de fótons, porém são fenômenos distintos quanto à emissão. A emissão de fótons pela substância quando ela retorna ao seu estado fundamental é

-
92. Shimizu, M.; Hiyama, T.; Organic Fluorophores Exhibiting Highly Efficient Photoluminescence in the Solid State. *Chem. Asian J.* **2010**, 5(7), 1516-1531.
93. Santana, G. C.; Mello, A. N.; Valerio, M. E. G.; Macedo, Z. S.; Scintillating properties of pure and doped BGO ceramics. *J. Mater. Sci.* **2007**, 42, 2231-2235
- 94 – Smet, P.F.; Moreels, I.; Hens, Z.; Poelman, D.; Luminescence in sulfides: a rich history and a bright future. *Materials*, **2010**, 3, 2834-2883.
95. Oliveira, H.P.M.; Cossielo, R.F.; Atvars, T.D.Z.; Akcelrud, L.; Dispositivos poliméricos eletroluminescentes. *Qui. Nova*, **2006**, 29(2), 277-286.
96. Furetta, C.; Kitis, G.; Models in thermoluminescence. *J. Mater. Sci.* **2004**, 39, 2277-2294
97. Ferreira, E.C.; Rossi, A.V.; A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. *Quim. Nova*, **2002**, 25(6), 1003-1011.
98. Albertin, R.; Arribas, M.A.G.; Bastos, E.L.; Ropke, S.; Sakai, P.N.; Sanches, A.M.M.; Stevani, C.V.; Umezu, I.S.; Yu, J.; Baader, W.J.; Quimiluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula. *Qui. Nova*, **1998**, 21(6), 772-779.
99. Eddingsaas, N. C.; Suslick, K. S.; Mechanoluminescence: Light from sonication of crystal slurries. *Nature (London, U. K.)* **2006**, 444, 163.
100. Flannigan, D. J.; Hopkins, S. D.; Suslick, K. S.; Sonochemistry and sonoluminescence in ionic liquids, molten salts, and concentrated electrolyte solutions. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690, 3513-3517.



chamado de fotoluminescência (que pode ser por fluorescência ou por fosforescência).¹⁰¹

Quando o estado eletrônico excitado é singlete, o retorno do elétron para o estado fundamental, também singlete, é uma transição eletrônica permitida $S_0 \rightarrow S_1$, portanto a emissão do fóton é rápida. A taxa de emissão é da ordem de 10^8 s^{-1} , possuindo um tempo de vida (τ) da ordem de 10^{-9} s a 10^{-6} s . Chama-se tempo de vida, τ , de um fluoróforo a média do tempo em que ele fica no estado excitado antes de emitir luz (fóton). Em geral o fóton emitido possui um comprimento de onda (λ) maior que aquele absorvido em 50 a 150nm.¹⁰²

Na fosforescência, a luminescência persiste mesmo após a iluminação excitante ser retirada, ou seja, o fluoróforo possui um tempo de vida (τ) maior que aquele considerado anteriormente. Após a irradiação de excitação, a emissão de luz pela substância ainda persiste tempo suficiente para ser detectada, 10^{-4} a 10 s. a taxa de emissão é da ordem de 10^{-3} a 10^0 s^{-1} . Nesta emissão ocorre uma transição proibida por spin $T_1 \rightarrow S_1$, pois o elétron sai do estado excitado tripleto para o estado fundamental singlete, mudando assim seu número de spin.¹⁰³

A substância excitada pode perder energia de vários modos diferentes, por meios radiativos e não radiativos, conforme ilustrado na Figura 38.

101. Valeur B., *Molecular fluorescence: principles and applications*, Wiley VCH, USA, **2002**.

102. (a) Lakowicz, J. R.; *Principles of fluorescence spectroscopy*, 2nd ed., Plenum Press: New York, **1998**. (b) Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; *Fundamentals of analytical Chemistry*, 7th ed., Saunders College Publishing: New York, **1996**.

103. (a) Palmeira, T., Berberan-Santos, M.; Effect of triplet–triplet absorption on time-resolved phosphorescence. *J. Lumin.* **2015**, 158, 510-518. (b) Penzkofer, A.; Simmel, M.; Riedl, D.; Room temperature phosphorescence lifetime and quantum yield of erythrosine B and rose bengal in aerobic alkaline aqueous solution. *J. Lumin.* **2012**, 132, 1055-1062.

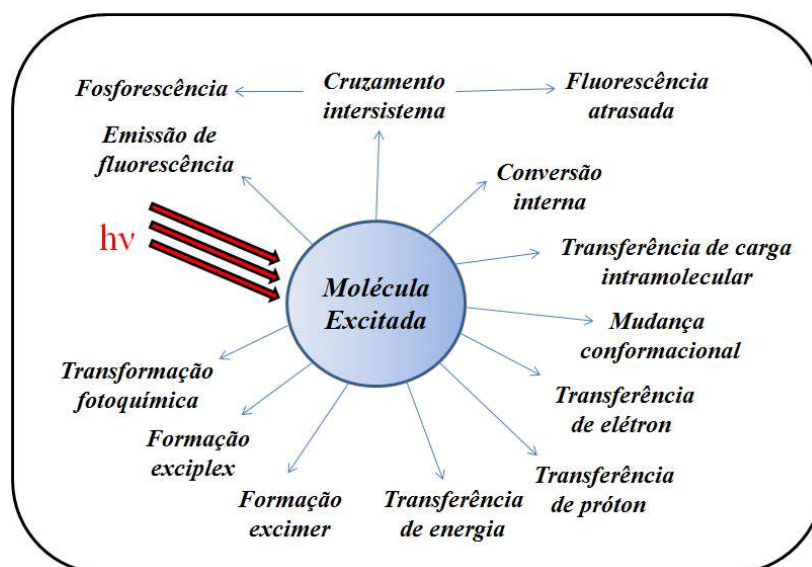


Figura 38: Diferentes fenômenos foto-físicos pelo qual uma substância excitada pode perder energia.¹⁰¹

As transições eletrônicas que ocorrem na excitação de moléculas poliatômicas dependem das características dos orbitais de origem (HOMO) e do orbital em que o elétron é promovido após receber energia (LUMO). Temos as seguintes transições: $n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$, em ordem de energia.^{104,101}

A Lei de Lambert-Beer fornece a relação entre a quantidade de luz de excitação absorvida em relação à concentração de uma molécula fluorescente:

$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \varepsilon(\lambda)lc$, sendo $A(\lambda)$ = Absorvância, I_{λ}^0 = intensidade da luz incidente, I_{λ} = Intensidade de luz transmitida, $\varepsilon(\lambda)$ = coeficiente de absorção molar ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), c = concentração (mol L^{-1}), l = comprimento do caminho através da amostra (cm). A absorvância caracteriza a eficiência de absorção da luz irradiada.¹⁰⁵

As transições eletrônicas obedecem a critérios chamados de regras de seleção em função do spin do elétron e da simetria dos orbitais. As regras estabelecem qual transição é permitida ou proibida. A regra de seleção de spin não permite a mudança das orientações relativas dos elétrons, a transição é permitida se $\Delta S = 0$. Assim um estado singlete ($S = 0$) não pode sofrer transição para um estado tripleto ($S = 1$) (Figura 39). A

104. Itoh, T.; $S_1(n, \pi^*)$, 1A_2 fluorescence and $T_1(n, \pi^*)$, 3A_2 phosphorescence spectra of xanthone vapor. *Chem. Phys. Lett.* **2014**, 599, 12–14.

105. Banerjee, A.; Shuai, Y.; Dixit, R.; Papautsky, I.; *J. Lumin.* **2010**, 130, 1095-1100.

regra de seleção de Laporte prediz que as transições permitidas são aquelas acompanhadas por uma mudança de paridade. São permitidas transições entre os termos g e u (s-p, p-d, e d-f), e proibidas as transições entre g e g ou entre u e u.¹⁰⁶

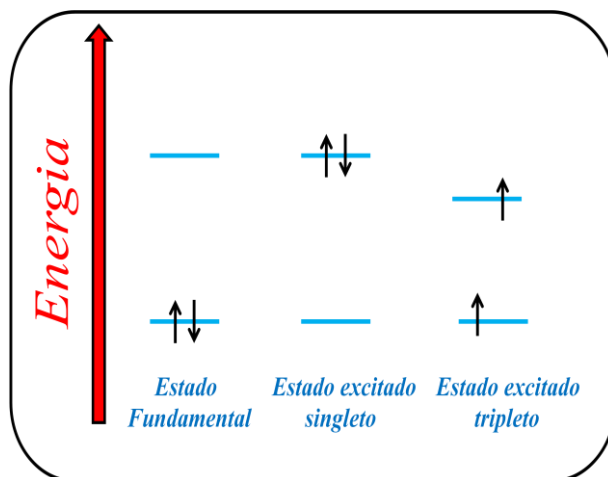
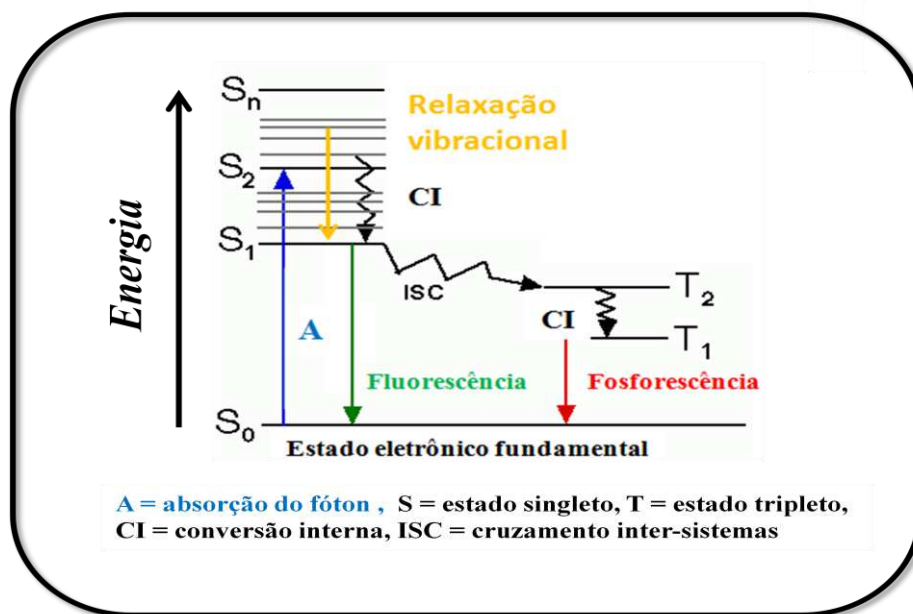


Figura 39: Distinção entre os estados excitados singleto e tripleto, usando o formaldeído como exemplo.¹⁰¹

O diagrama de Jablonski (Esquema 29) representa os principais fenômenos que ocorrem juntamente com a absorção e emissão do fóton. Podem-se notar fenômenos radiativos (absorção, fluorescência e fosforescência) e não radiativos (conversão interna, cruzamento intersistemas e relaxação vibracional). O diagrama foi idealizado pelo físico alemão Alexander Jablonski.¹⁰⁷

106. (a) Shriver, D.F.; Atkins, P.W.; Overton, T.L.; Rourke, J.P.; Weller, M.T.; Armstrong, F.A.; *Inorganic Chemistry*, 4th, New York, USA, **2006**. (b) Masuda, Y.; Wada, S.; Nakamura, T.; Matsumura-Inoue, T.; Efficient microwave synthesis of luminescent europium(III) complexes with polypyridine and the study of electro spectrochemistry. *J. Alloys Compd.* **2006**, 408–412, 1017–1021. (c) Rosenbaum, E.; Sellstedt, M.; Almqvist, F.; Johansson, L.B.-A.; Unusual light spectroscopic properties of a 2-pyridone-based multi-ring-fused fluorescent scaffold. *J. Fluoresc.* **2010**, 20, 1249–1253.

107. Richards-Kortum, R.; Quantitative Optical Spectroscopy for Tissue Diagnosis. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1996**, 47, 555–606.



Esquema 29: Diagrama de Jablonski.

3.2.2. Processos não radiativos

A conversão interna de energia é um processo não radiativo entre dois estados eletrônicos que possuem multiplicidade de spin idêntica, e quando a espécie está em solução ocorre em seguida uma relaxação vibracional tendendo ao menor nível vibracional do estado eletrônico em que se encontra. O tempo decorrido durante a conversão interna está dentro da escala 10^{-13} a 10^{-11} s, sendo mais comum a conversão entre $S_2 \rightarrow S_1$ do que $S_1 \rightarrow S_0$, pois a última possui maior diferença energética e concorre com a emissão por fluorescência e cruzamento intersistemas.¹⁰⁸

Mudança conformacional também é um processo não radiativo em que a espécie perde energia, como por exemplo a rotação do grupo carboxifenila e do grupo carboxila

108. (a) Ohta, K.; Kang, T.J.; Tominaga, K.; Yoshihara, K.; Ultrafast relaxation processes from a higher excited electronic state of a dye molecule in solution: a femtosecond time-resolved fluorescence study. *Chem. Phys.* **1999**, 242, 103–114. (b) Polyak, B.M.; Sakovich, R.A.; Gularyan, S.K.; Romanov, A.N.; Isakova, S.I.; Modeling processes of non-radiative relaxation of electronically excited states of fluorescent probe 4-dimethylaminochalcone and its complexes with water using non-adiabatic molecular dynamics. *J. Photochem. Photobiol. A*, **2014**, 278, 89–96.

da molécula de rodamina B (fluorescente), que também apresenta uma transferência de elétron fotoinduzida do grupo carboxifenila para o anel xanteno (Figura 40).¹⁰⁹

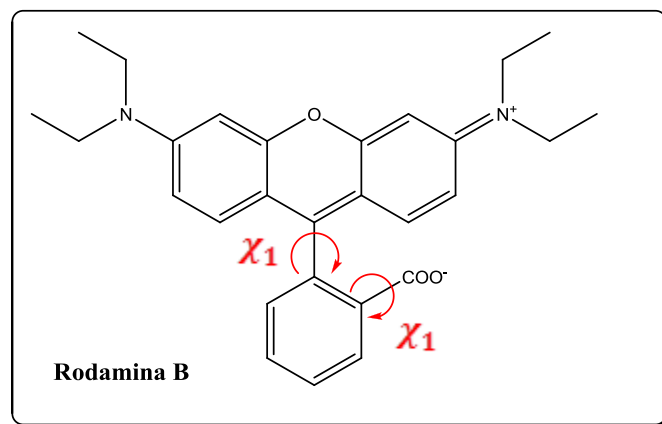


Figura 40: Estrutura química da rodamina B e seus movimentos rotacionais.

Uma transição proibida por spin, porém relaxada pelo acoplamento spin-órbita (feito do átomo pesado) é o cruzamento intersistemas entre dois estados vibracionais de mesma energia. Uma espécie excitada no nível S_1 pode mover-se para um nível T_n e por meio de relaxação vibracional passar para o estado menos energético S_0 .¹¹⁰ É o processo que precede a fosforescência, que é dependente da temperatura, ou seja, é favorecido em temperaturas mais altas.¹¹¹ Uma vez atingido o nível tripleto, ocorre uma competição entre a relaxação vibracional, favorecida pela colisão com moléculas do solvente, e a emissão por fosforescência para a estabilização no nível fundamental S_0 . Em temperaturas mais brandas¹¹² ou em meios mais rígidos¹¹³ o tempo de vida do

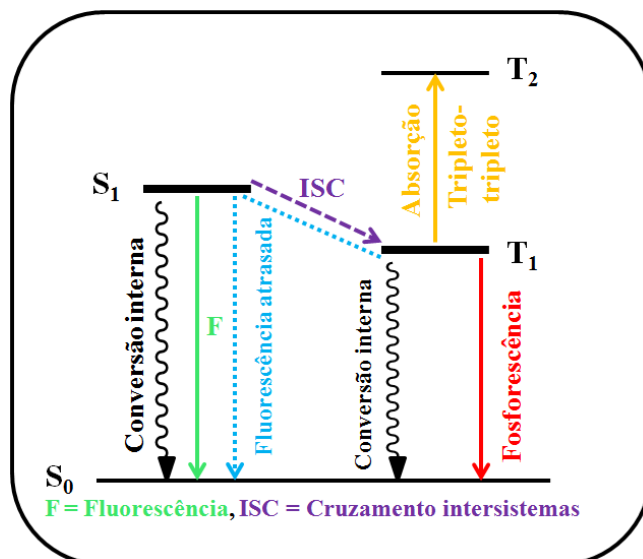
109. Savarese, M.; Raucci, U.; Adamo, C.; Netti, P.A.; Ciofinic, I.; Rega, N.; Non-radiative decay paths in rhodamines: new theoretical insights. *Phys.Chem.Chem.Phys.* **2014**, 16, 20681-20688.

110. (a) Mondal, P.P.; Gilbert, R.J.; So, P.T.C.; Photobleaching reduced fluorescence correlation spectroscopy. *Appl. Phys. Lett.* **2010**, 97, 103704. (b) Steffen, A.; Costuas, K.; Boucekine, A.; Thibault, M.-H.; Beeby, A.; Batsanov, A.S.; Charaf-Eddin, A.; Jacquemin, D.; Halet, J.-F.; Marder, T.B.; Fluorescence in rhoda- and iridacyclopentadienes neglecting the spin-orbit coupling of the heavy atom: the ligand dominates. *Inorg. Chem.* **2014**, 53, 7055–7069.

111. Stacy, W.T.; Swenberg, C.E.; Temperature Dependence of Intersystem Crossing in Crystalline Anthracene. *J. Chem. Phys.* **1970**, 52, 1962-1965.

112. Kowalska-Baron, A.; Galecki, K.; Wysocki, S.; Temperature study of indole, tryptophan and N-acetyl-L-tryptophanamide (NATA) triplet-state quenching by iodide in aqueous solution. *Spectrochim. Acta, Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, 111, 42-48.

estado tripleto é maior, assim a fosforescência é favorecida. O comprimento de onda da fosforescência é maior, menos energético, do que o observado para a fluorescência (Esquema 30).



Esquema 30: Fenômenos radiativos e não radiativos relacionados diretamente com o cruzamento intersistemas.

A fluorescência atrasada (Esquema 30) se deve a um cruzamento intersistema reverso $T_1 \rightarrow S_1$, que só é possível se o tempo de vida de T_1 for suficientemente longo e a diferença energética entre os sistemas for pequena. Este fenômeno possui a mesma energia que a fluorescência normal, porém possui um tempo de vida muito maior.¹¹⁴ Uma colisão entre duas espécies no estado T_1 pode fornecer energia suficiente para este retrocesso acontecer (aniquiação tripleto-tripletto) e permitir a emissão de fluorescência

113. Reineke, S.; Baldo, M.; Room temperature triplet state spectroscopy of organic semiconductors. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 3797.

114. (a) Kubota, Y.; Luminescence in DNA-Acridine Dye Complexes. II. Sensitized Delayed Fluorescence in the Complexes. *Chem.Soc. Jpn.* **1970**, *43*, 3126-3130. (b) Zhang, T.; Chu, B.; Li, W.; Su, Z.; Peng, Q.M.; Zhao, B.; Luo, Y.; Jin, F.; Yan, X.; Gao, Y.; Wu, H.; Zang, F.; Fan, D.; Wang, J.; Efficient Triplet Application in Exciplex Delayed-Fluorescence OLEDs Using a Reverse Intersystem Crossing Mechanism Based on a ΔE_S-T of around Zero. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, *6*, 11907-11914.

atrasada.¹¹⁵ Mas o fluoróforo no estado T_1 também pode absorver um fóton e se promover para um estado T_2 , agora é uma transição permitida. A transição $T_2 \rightarrow S_0$ é muito rara e não ocorre em moléculas biológicas, pode haver fluoróforos com dois estados de oxidação estáveis e emitirem em comprimentos de onda distintos.¹⁰²

3.2.3. Tempo de vida e rendimento quântico

Existem duas características principais para os fluoróforos: o tempo de vida de fluorescência (τ) e o rendimento quântico de fluorescência (Φ). O tempo de vida do estado excitado S_1 é inversamente proporcional aos processos de decaimento radiativos e não radiativos. A intensidade de fluorescência é definida pela quantidade de fótons (em mol) emitida por unidade de tempo (s) e por unidade de volume (L).¹¹⁶ Vale ressaltar que a transferência de prótons das moléculas, no estado singlete excitado, é um processo responsável pela baixa fluorescência em solventes próticos, pois diminui o tempo de vida do estado excitado S_1 e conseqüentemente também o tempo de vida de fluorescência.¹¹⁷

O rendimento quântico de fluorescência é calculado pela razão entre o número de fótons emitidos e o número de fótons absorvidos, reflete a fração de moléculas excitadas que retornam ao estado fundamental através da emissão por fluorescência. Os

115. (a) Ye, C.; Wang, B.; Hao, R.; Wang, X.; Ding, P.; Tao, X.; Chen, Z.; Liang, Z.; Zhou, Y.; Oil-in-water microemulsion: an effective medium for triplet-triplet annihilated upconversion with efficient triplet acceptors. *J. Mater. Chem. C*, **2014**, 2, 8507–8514. (b) Chou, P.-Y.; Chou, H.-H.; Chen, Y.-H.; Su, T.-H.; Liao, C.-Y.; Lin, H.-W.; Lin, W.-C.; Yen, H.-Y.; Chen, I.-C.; Cheng, C.-H.; Efficient delayed fluorescence via triplet-triplet annihilation for deep-blue electroluminescence. *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 6869–6871

116. (a) Puri, K.D.; Khan, M.I.; Gupta, D.; Surolia, A.; Thermodynamic and Kinetic Studies on the Mechanism of Binding of Methylumbelliferyl Galactosides to the Basic Agglutinin from Winged Bean (*Psophocarpus tetragonolobus*). *J. Biol. Chem.* **1993**, 268(22), 16378-16387. (b) Blau, A.P.W.; Theoretical analysis of S_1 -state lifetime measurements of dyes with picosecond laser pulses. *Opt. Quant. Electron.* **1983**, 15, 325-247.

117. Olmsted, J.; Kearns, D.R.; Mechanism of Ethidium Bromide Fluorescence Enhancement on Binding to Nucleic Acids? *Biochemistry*, **1977**, 16(16), 3647-3654.



rendimentos quânticos do cruzamento intersistemas e da fosforescência também podem ser calculados.^{102,118}

O rendimento quântico de fluorescência é reduzido por qualquer dos processos não radiativos vistos anteriormente, sendo influenciado pelo meio (solvente, pH) e pela temperatura. Um modo de minimizar as perdas de energia devido à relaxação conformacional, que desativa os estados excitados, é suportar em polímeros os fluoróforos, e assim obter um rendimento quântico maior.¹¹⁹ Em complexos metálicos o efeito de substituintes e do próprio átomo metálico sobre o rendimento quântico e o tempo de vida de fluorescência também são também fundamentais.¹²⁰

Um aumento na temperatura causa um aumento da intensidade dos processos não radiativos (colisões com moléculas do solvente, rotações, vibrações intramoleculares), implicando numa desativação do estado excitado e na diminuição do tempo de vida e rendimento quântico da fluorescência. A fosforescência sofre o mesmo efeito, pois a extinção tripleto-tripletto aumenta com maiores e mais energéticas colisões moleculares.¹²¹ Porém a fluorescência atrasada pode ser ativada pelo aumento da temperatura fornecendo energia para o cruzamento intersistema reverso, principalmente quando ocorre a interação do fluoróforo com outras espécies.¹²²

118. Józefowicz, M.; Bajorek, A.; Pietrzak, M.; Heldt, J.R.; Heldt, J.; Substituent and solvent effects on spectroscopic properties of 2-amino-1,3-dicyano-5,6,7,8-tetrahydronaphthalene derivatives. *J. Lumin.* **2014**, 153, 152-161.

119. Pina, J.; De Melo, S.S.; Koenen, J.-M.; Jung, S.; Scherf, U.; Excited State Characterization and Energy Transfer in Hyperbranched Polytruxenes and Polytruxene-block-Polythiophene Multiblock Copolymers. *J. Phys. Chem., C*, **2013**, 117, 3718–3728.

120. Uslan, C.; Sesalan, B.S.; Durmus, M.; Synthesis of new water soluble phthalocyanines and investigation of their photochemical, photophysical and biological properties. *J. Photochem. Photobiol., A*, **2012**, 235, 56-64.

121. Billiot, F.H.; McCarroll, M.C.; Billiot, E.J.; Warner, I.M.; Chiral recognition of binaphthyl derivatives using electrokinetic chromatography and steady-state fluorescence anisotropy: Effect of temperature. *Electrophoresis*, **2004**, 25, 753–757.

122. (a) Baleizão, C.; Berberan-Santos, M.N.; A molecular thermometer based on the delayed fluorescence of C70 dispersed in a polystyrene film. *J. of Fluores.* **2006**, 16(2), 215-219. (b) Baleizão, C.; Berberan-Santos, M.N.; Thermally activated delayed fluorescence as a cycling process between excited singlet and triplet states: Application to the fullerenes. *J. Chem. Phys.* **2007**, 126, 204510.



3.2.4. Deslocamento de Stokes e sistema π conjugado estendido

A distância entre o primeiro máximo de absorção e o máximo de emissão de fluorescência, dado em comprimento de onda, é chamada deslocamento de Stokes. O valor do deslocamento de Stokes aumenta com o aumento da polaridade do solvente quando o momento de dipolo da molécula fluorescente for maior no estado excitado do que no estado fundamental. A detecção de fluorescência numa espécie é tão mais fácil quanto maior o deslocamento de Stokes.^{102,123} A formação de ligação de hidrogênio de substratos no estado excitado com o solvente, pode ser evidenciada pelo deslocamento de Stokes, variando-se a polaridade em solvente próticos e apróticos.¹²⁴

A extensão do sistema π conjugado leva a um deslocamento na absorção para menores comprimentos de onda e torna maior o rendimento quântico de fluorescência.¹²⁵ Esta regra pode ser observada na série: naftaleno, antraceno, naftaceno e pentaceno, em que a emissão vai do ultravioleta para o vermelho. A transição em sistemas aromáticos é $\pi \rightarrow \pi^*$ (alto coeficiente de absorção molar e relativamente alto rendimento quântico de fluorescência), com a presença de um heteroátomo como oxigênio ou nitrogênio, a transição passa a ser $n \rightarrow \pi^*$, processo lento que não compete com os processos não radiativos, apresentando assim baixo rendimento quântico de fluorescência.^{102,126}

123. Massey, J.B.; Churchich, J.E.; Kynuramine, A fluorescent substrate and probe of plasma amine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **1977**, 252(22), 8081-8084.

124. Dirr, H.W.; Solvent effects on the spectroscopic properties of aflatoxin B. *J. Biochem.* **1987**, 19, 1137-1140.

125. Turcic, K.; Pettikiriachchi, A.; Battad, J.; Wilmann, P.G.; Rossjohn, J.; Dove, S.G.; Devenish, R.J.; Prescott, M.; Amino acid substitutions around the chromophore of the chromoprotein Rtms5 influence polypeptide cleavage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, 340, 1139-1143.

126. DeCoster, B.; Christensen, R.L.; Gebhard, R.; Lugtenhurg, J.; Farhoosh, R.; Frank, H.A.; Low-lying electronic states of carotenoids. *Biochim. Biophys. Acta*, **1992**, 1102, 107-114.



3.2.5. Solvatocromismo e rendimento quântico

Os estudos de solvatocromismo e cálculo do rendimento quântico de fluorescência foram desenvolvidos no Laboratório de Espectroscopia UV-VIS (LabUV) da Universidade Federal de Minas Gerais. Estes estudos são importantes, pois determinam propriedades fotofísicas que determinam o comportamento luminescente das substâncias sintetizadas. A aplicação destas substâncias como marcadores celulares está sujeita ao ambiente biológico que pode por ser hidrofóbico ou hidrofílico, por isso é necessário conhecer o comportamento destas substâncias em solventes distintos.

As moléculas e os complexos sintetizados foram submetidos ao estudo de solvatocromismo em seis solventes distintos. A Tabela 7 mostra os dados obtidos para a fenazina (**50**) e os espectros de absorção e emissão (fluorescência) estão nas Figuras 41 e 42. As bandas de absorção observadas no espectro de UV-vis apresentaram máximos entre 430-434 nm nos solventes utilizados. Não foi possível a obtenção dos espectros de absorção e emissão em água, devido à insolubilidade de todas as fenazinas neste solvente, com exceção da fenazina (**53**) que é solúvel em água na concentração estudada (2,0 a 4,3 μM).

Quando o máximo de absorção ou de emissão está deslocado para região com maiores valores de comprimento de onda (região do vermelho), observa-se um deslocamento batocrômico. Quando o deslocamento dos máximos está no sentido oposto, em direção a menores valores de comprimento de onda (região do violeta), observa-se um deslocamento hipsocrômico.

Em relação à intensidade dos máximos de absorção e emissão, um maior valor de intensidade é chamado hipercromismo e um menor valor de intensidade é classificado como hipocromismo.

O comportamento da fenazina (**50**) frente aos solventes (polares apróticos) não apresentou diferenças acentuadas, nos espectros de absorção. Em relação ao acetato de etila observa-se um pequeno deslocamento batocrômico em tetraidrofurano (THF) e dimetilsulfóxido (DMSO). Observa-se também um hipercromismo em relação ao acetato de etila para todos os demais solventes, sendo o hipercromismo mais acentuado em tetraidrofurano (THF). O hipercromismo e os deslocamentos batocrômicos ocorrem devido à mudança na polaridade dos solventes. Com relação aos espectros de emissão,

em relação ao acetato de etila ocorre um deslocamento batocrômico em acetona, acetonitrila e mais acentuado em dimetilsulfóxido (DMSO). Observa-se também um hiper Cromismo em relação ao acetato de etila para todos os demais solventes, sendo o hiper Cromismo mais acentuado em acetonitrila. Novamente a mudança na polaridade do solvente causa o hiper Cromismo e o deslocamento batocrômico.

Tabela 7: Dados de fotofísica, valores de máximos de absorção e emissão, coeficiente de absorvidade molar (ϵ) e deslocamento de Stokes para fenazina (**50**).

| Substância | Solvente | λ_{\max} (abs)(nm) ^a | ϵ_{abs} ($10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) | λ_{\max} (em)(nm) ^a | Deslocamento de Stokes (nm) |
|------------|--------------|--|--|---|-----------------------------------|
| | Acetato | 431 | 1,27 | 464 | 33 |
| | Acetona | 431 | 1,66 | 476 | 45 |
| | Acetonitrila | 430 | 1,79 | 474 | 44 |
| | DMSO | 434 | 1,58 | 486 | 55 |
| | THF | 432 | 1,69 | 465 | 33 |

^a Valores para soluções com concentração 10^{-6} M.

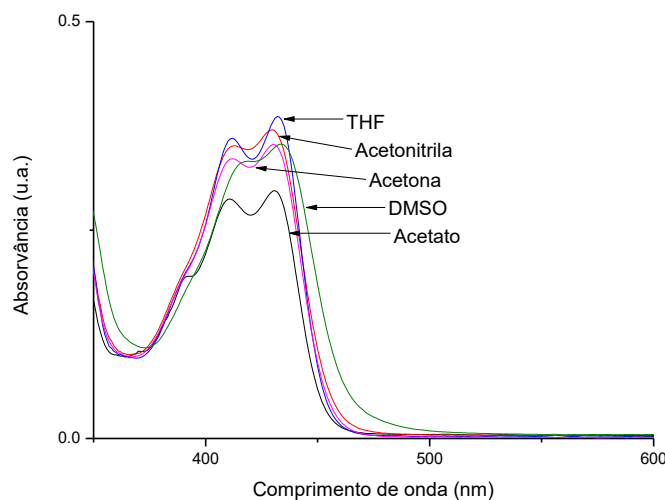


Figura 41: Espectros de absorção da fenazina (**50**) com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em diversos solventes.

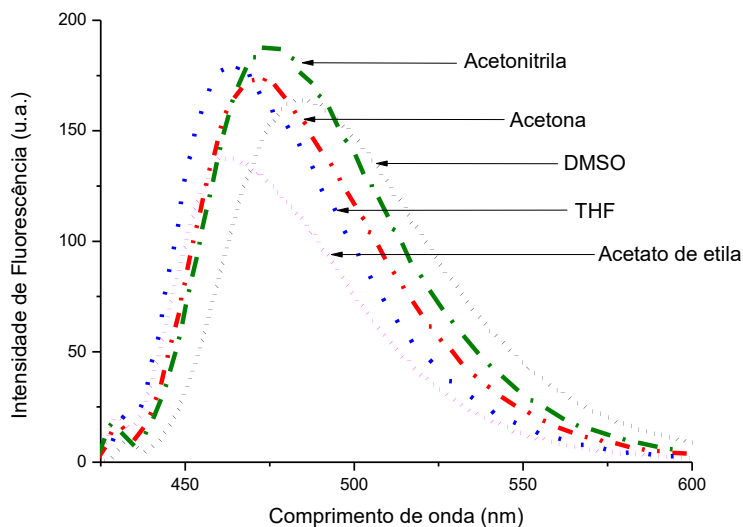


Figura 42: Espectros de emissão da fenazina (**50**) com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em diversos solventes.

Foi realizada a regressão linear das curvas analíticas (Figuras 43 e 44), para obtenção do coeficiente de absorvância molar (ϵ) e para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência (Φ) para a fenazina (**50**), sendo que os valores para os coeficientes de absorvância molar encontram-se entre $1,3 \times 10^4 - 1,8 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ demonstrando o comportamento similar desta molécula nos solventes testados.

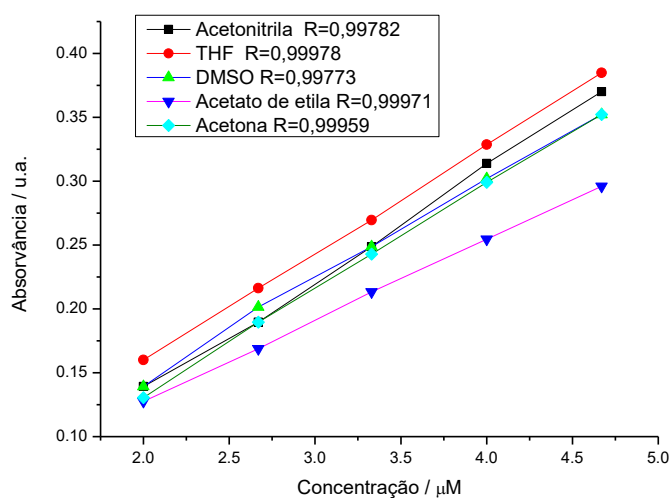


Figura 43: Curvas analíticas da absorvância em função da concentração para determinação dos coeficientes de absorvância molar (ϵ) da fenazina (**50**).

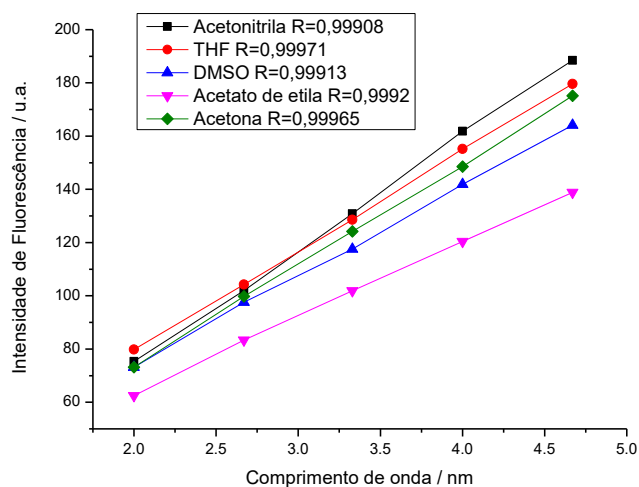


Figura 44: Curvas analíticas para determinação do rendimento quântico de fluorescência (Φ) da fenazina (50).

A Tabela 8 mostra os dados obtidos para o complexo (57), e os espectros de absorção e emissão (fluorescência) estão representados nas Figuras 45 e 46. As bandas de absorção observadas no espectro de UV-vis apresentaram máximos entre 454-461 nm nos solventes utilizados. Diferentemente das fenazinas, para os complexos foi possível a obtenção dos espectros de absorção e emissão em água devido a uma melhor solubilidade dos mesmos neste solvente. O comportamento do complexo (57) em solventes polares apróticos não apresentou diferenças acentuadas nos espectros de absorção. Em relação a água, solvente prótico, observa-se um pequeno deslocamento batocrômico em todos os solventes, sendo mais pronunciado o efeito em tetraidrofurano (THF). Observa-se também um hipercromismo em relação a água em todos os demais solventes, sendo o hipercromismo mais acentuado em acetato de etila. O hipercromismo e os deslocamentos batocrômicos ocorrem devido a utilização de solventes apróticos. Nos espectros de emissão as bandas apresentaram máximos entre 605-620 nm. Observou-se nos espectros de emissão para esse complexo, em relação a água, deslocamento hipsocrômico em acetato de etila e deslocamentos batocrômicos nos demais solventes, sendo este último efeito mais pronunciado em dimetilsulfóxido (DMSO). Observa-se também, em relação a água, um leve hipocromismo em acetonitrila e hipercromismo nos demais solventes, sendo este último efeito mais

pronunciado em dimetilsulfóxido (DMSO). Estes efeitos apresentados nos espectros de emissão estão relacionados à utilização de solventes apróticos.

Tabela 8: Dados de fotofísica, valores de máximos de absorção e emissão, coeficiente de absorvidade molar (ϵ) e deslocamento de Stokes para o complexo (57).

| Solvente | λ_{\max} (abs)(nm) ^a | ϵ_{abs} ($10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) | λ_{\max} (em)(nm) ^a | Deslocamento de Stokes (nm) |
|------------------|--|--|---|-----------------------------------|
| Acetato de etila | 457 | 4,05 | 617 | 160 |
| Acetona | 459 | 3,57 | 612 | 153 |
| Acetonitrila | 459 | 3,12 | 605 | 146 |
| Água | 454 | 2,80 | 608 | 154 |
| DMSO | 458 | 3,50 | 620 | 162 |
| THF | 461 | 3,49 | 616 | 155 |

^a Valores para soluções com concentração 10^{-6} M.

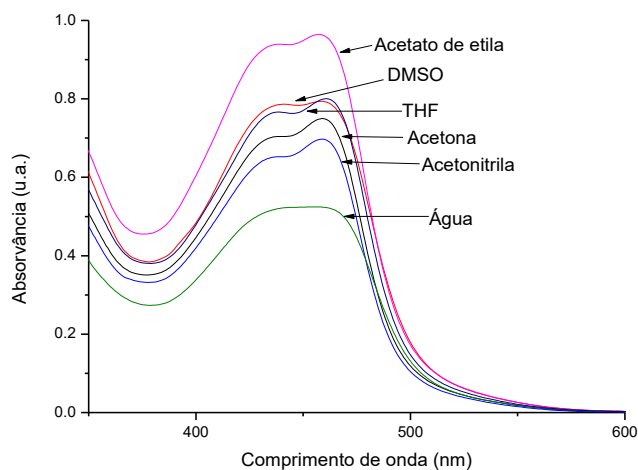


Figura 45: Espectros de absorção do complexo (57) com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em diversos solventes.

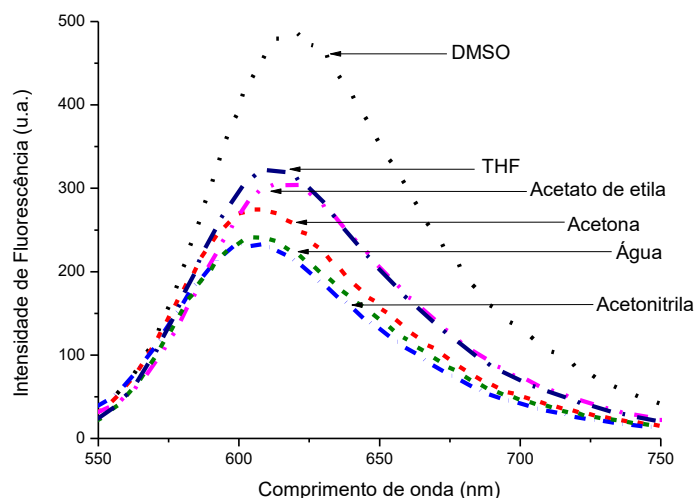


Figura 46: Espectros de emissão do complexo (57) com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em diversos solventes.

Foi realizada a regressão linear das curvas analíticas (Figuras 47 e 48), para obtenção do coeficiente de absorvidade molar (ϵ) e cálculo do rendimento quântico de fluorescência (Φ) para o complexo (57). Os valores para os coeficientes de absorvidade molar encontram-se entre $2,8 \times 10^4 - 4,1 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ demonstrando o comportamento similar deste complexo nos solventes testados, porém com uma melhor absorção em acetato de etila. Outro dado importante frente à aplicabilidade do complexo como marcador celular, é sua solubilidade em água e emissão de fluorescência neste solvente. Pois é necessário que o complexo seja solúvel em água para promoção da marcação celular, deste modo sua aplicabilidade depende de sua emissão de fluorescência em meio aquoso, propriedade exibida por todos os complexos estudados.

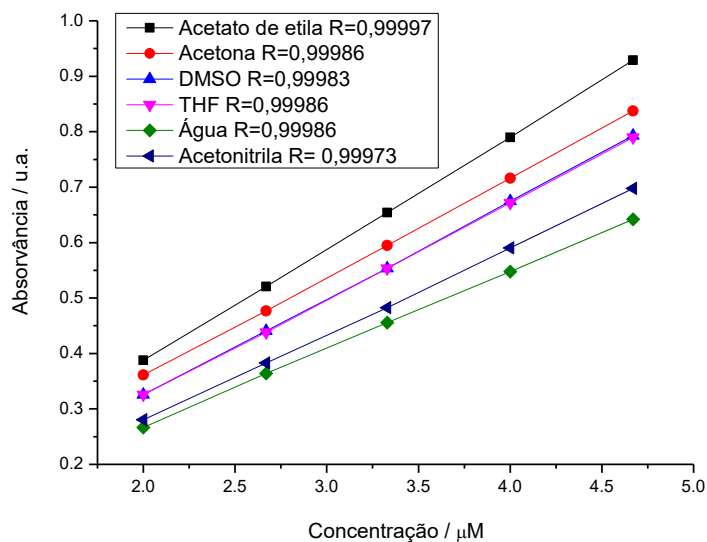


Figura 47: Curvas analíticas da absorvância em função da concentração para determinação dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) do complexo (57).

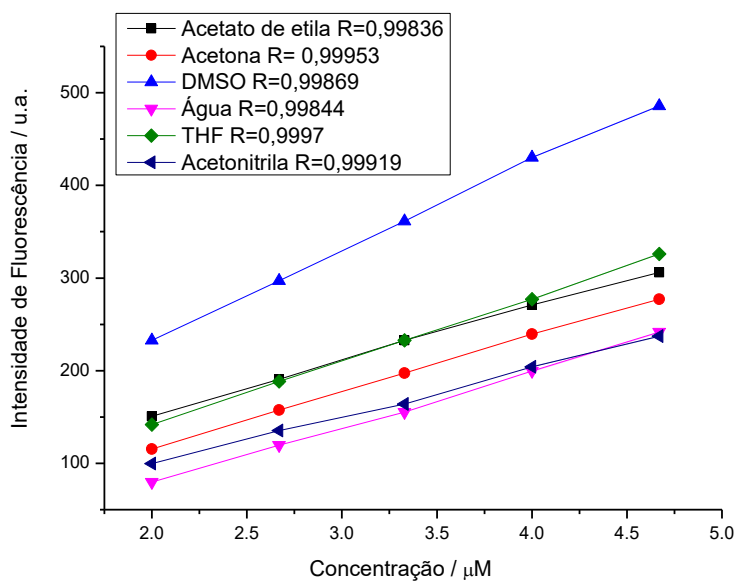


Figura 48: Curvas analíticas para determinação do rendimento quântico de fluorescência (Φ) do complexo (57).

Para preparar uma solução com concentração $1,99 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do padrão sulfato de quinina ($\eta = 1,3342$) foi utilizada uma solução 0,1M de H_2SO_4 concentrado. Esta solução ácida garante a solubilização do padrão e o valor do rendimento quântico de

fluorescência nesta solução é conhecido. Também foi preparada uma solução $1,99 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ da fenazina (**50**) em DMSO ($\eta = 1,4775$) para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência a partir dos dados representados no gráfico da Figura 63 que foram obtidos pelo procedimento descrito na literatura.¹²⁷ As soluções preparadas foram diluídas para fornecerem seis valores lineares de absorvância inferiores a 0,10 nos máximos de absorção, os espectros de emissão foram obtidos usando o mesmo comprimento de onda para a excitação. Os espectros de emissão para estas soluções forneceram um gráfico linear com os valores obtidos nos máximos de intensidade de fluorescência. Através da regressão linear dos pontos foram determinados os valores das inclinações das retas do padrão e da fenazina (**50**). O cálculo do rendimento quântico foi realizado através da equação:

$$\Phi_{78} = \Phi_p \left(\frac{Grad_{78}}{Grad_p} \right) \left(\frac{\eta_{78}^2}{\eta_p^2} \right) \quad (1)$$

Os termos na equação Φ_{78} e Φ_p são os rendimentos quânticos da fenazina (**50**) e do padrão de sulfato de quinina, $Grad_{78}$ e $Grad_p$ são os gradientes encontrados através da regressão linear das retas, e η_{78} e η_p são os índices de refração das soluções que foram preparadas.

Como as seis fenazinas exibiram máximo de intensidade de fluorescência entre os comprimentos de onda 453 e 514 nm, o sulfato de quinina foi adequado para utilização como padrão para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência, pois este apresenta faixa de intensidade de fluorescência entre 400 e 600 nm.

A fenazina (**50**) apresentou um valor de 0,32 para o rendimento quântico de fluorescência, valor este relativamente alto quando comparado com outras fenazinas descritas na literatura com rendimento quântico próximo a 0,20.¹²⁸

127. A guide to recording fluorescence quantum yields.

128. (a) Izumi, A.; Nomura, R.; Masuda, T.; Synthesis of a new class of n-dopable and photoluminescent conjugated polymers having phenazine units in the main chain. *Macromolecules*, **2000**, 33, 8918-8920. (b) Zhu, Y.; Gibbons, K.M.; Kulkarni, A.P.; Jenekhe, S.A.; Polyfluorenes containing dibenzo[a,c]phenazine segments: synthesis and efficient blue electroluminescence from intramolecular charge transfer states. *Macromolecules*, **2007**, 40, 804-813. (c) Estrada, L. A.; Neckers, D. C. Synthesis and photophysics of dibenz-[a,c]phenazine derivatives. *Org. Lett.* **2011**, 13, 3304-3307.

Os cálculos para o rendimento quântico de fluorescência dos complexos sintetizados foram realizados a partir dos dados representados no gráfico da Figura 64 que foram obtidos pelo procedimento descrito na literatura.¹²⁹ Foi utilizado como padrão a rodamina B, e através da regressão linear dos pontos foi obtido o valor da inclinação da reta para os gráficos do padrão e do complexo (57). O cálculo do rendimento quântico foi realizado através da equação (1). Foi utilizada uma solução com concentração $1,99 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do padrão rodamina B em metanol ($\eta = 1,3286$) e solução $1,99 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do complexo (57) em DMSO ($\eta = 1,4775$) na obtenção dos dados para cálculo do rendimento quântico de fluorescência.

Como os seis complexos exibiram máximo de intensidade de fluorescência entre os comprimentos de onda 605 e 626 nm, a rodamina B foi adequada para utilização como padrão para o cálculo do rendimento quântico de fluorescência, pois este apresenta faixa de intensidade de fluorescência entre 554 e 627 nm, e o seu valor do rendimento quântico na solução descrita é conhecido.

O complexo (57) apresentou o valor de 0,52, para o rendimento quântico de fluorescência, valor este relativamente alto quando comparado com os rendimentos quânticos descritos na literatura de outros complexos polipiridínicos que possuem um ligante fenazínico. Por exemplo, um complexo polipiridínico com um ligante dppz o $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ apresenta rendimento quântico de 0,16.¹³⁰

Os valores de rendimento quântico obtidos para as fenazinas, entre 0,17 e 0,65, são muito bons se comparados aos valores encontrados na literatura, credenciando estas moléculas como promissores marcadores celulares. Os complexos apresentarem valores ainda melhores para o rendimento quântico de fluorescência, entre 0,25 e 0,66, quando comparados com os dados de literatura, por isso são considerados marcadores celulares em potencial.

Na Tabela 9 são listados os dados de fotofísica, valores de máximos de absorção e emissão, coeficiente de absorção e deslocamento de Stokes, para as moléculas orgânicas 51-55 e os seus respectivos complexos 58-62.

129. Snare, M.J.; Treloar, F.E.; Ghiggino, K.P.; Thistlethwaite, P.J.; The photophysics of rhodamine B. *J. Photochem.* **1982**, 18, 335-346.

130. Sun, Y.; Turro, C. "Highly solvent dependent luminescence from $[\text{Ru}(\text{bpy})_n(\text{dppp}2)3-n]^{2+}$ ($n = 0 - 2$)" *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 5025-5032.

Tabela 9: Dados de absorção e emissão de fluorescência no UV-Vis (em diferentes solventes) para as substâncias **51-55** e **58-62**. Valores para soluções com concentração 10^{-6} M.

| Substância | Solvente | λ_{\max} (abs)(nm) | ϵ_{abs} ($10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) | λ_{\max} (em)(nm) | Deslocamento de Stokes (nm) |
|------------|------------------|-------------------------------|--|------------------------------|-----------------------------------|
| 51 | Acetato de etila | 425 | 1,38 | 454 | 29 |
| | Acetona | 425 | 1,22 | 461 | 36 |
| | Acetonitrila | 424 | 1,06 | 465 | 41 |
| | DMSO | 428 | 0,93 | 474 | 46 |
| 52 | Acetato de etila | 426 | 1,66 | 453 | 27 |
| | Acetona | 426 | 1,53 | 462 | 36 |
| | Acetonitrila | 425 | 1,38 | 464 | 39 |
| | DMSO | 429 | 1,51 | 475 | 46 |
| | THF | 427 | 1,66 | 456 | 29 |
| 53 | Acetato de etila | 422 | 0,86 | 474 | 52 |
| | Acetona | 417 | 1,04 | 480 | 63 |
| | Acetonitrila | 419 | 1,28 | 479 | 60 |
| | Água | 415 | 0,82 | 487 | 58 |
| | DMSO | 435 | 1,09 | 493 | 58 |
| | THF | 418 | 0,95 | 471 | 53 |
| 54 | Acetato de etila | 446 | 1,21 | 486 | 40 |
| | Acetona | 445 | 1,37 | 496 | 51 |
| | Acetonitrila | 444 | 1,13 | 497 | 53 |
| | DMSO | 449 | 1,19 | 514 | 65 |
| | THF | 447 | 1,45 | 488 | 41 |
| 55 | Acetato de etila | 447 | 1,40 | 486 | 39 |
| | Acetona | 446 | 1,45 | 496 | 50 |
| | Acetonitrila | 431 | 1,49 | 498 | 67 |
| | DMSO | 447 | 1,30 | 511 | 64 |
| | THF | 448 | 1,43 | 486 | 38 |
| 58 | Acetato de etila | 431 | 3,53 | 626 | 195 |
| | Acetona | 453 | 3,33 | 609 | 156 |
| | Acetonitrila | 453 | 3,33 | 608 | 155 |
| | Água | 435 | 2,71 | 619 | 184 |
| | DMSO | 436 | 2,81 | 622 | 186 |
| | THF | 435 | 3,04 | 622 | 187 |
| 59 | Acetato de etila | 437 | 1,02 | 626 | 189 |
| | Acetona | 453 | 1,14 | 609 | 156 |
| | Acetonitrila | 454 | 1,20 | 608 | 154 |
| | Água | 440 | 0,53 | 621 | 181 |
| | DMSO | 441 | 1,04 | 623 | 182 |
| | THF | 454 | 1,01 | 618 | 164 |

| | | | | | |
|-----------|------------------|-----|------|-----|-----|
| 60 | Acetato de etila | 452 | 0,65 | 618 | 166 |
| | Acetona | 463 | 1,08 | 607 | 144 |
| | Acetonitrila | 461 | 0,92 | 607 | 146 |
| | Água | 449 | 0,40 | 616 | 167 |
| | DMSO | 459 | 1,01 | 619 | 160 |
| | THF | 470 | 0,89 | 613 | 143 |
| 61 | Acetato de etila | 470 | 1,29 | 624 | 154 |
| | Acetona | 468 | 1,41 | 608 | 140 |
| | Acetonitrila | 468 | 1,43 | 608 | 140 |
| | Água | 455 | 0,78 | 615 | 160 |
| | DMSO | 469 | 1,41 | 621 | 152 |
| | THF | 471 | 1,53 | 618 | 147 |
| 62 | Acetato de etila | 469 | 2,39 | 622 | 153 |
| | Acetona | 468 | 5,18 | 606 | 138 |
| | Acetonitrila | 467 | 5,92 | 609 | 142 |
| | Água | 456 | 5,40 | 616 | 160 |
| | DMSO | 468 | 5,32 | 620 | 152 |
| | THF | 471 | 4,47 | 617 | 146 |

Os valores de rendimento quântico de fluorescência (Φ) para todas as substâncias obtidos neste trabalho estão na Tabela 10, foram utilizadas soluções de concentração $1,99 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ em dimetilsulfóxido (DMSO) e os padrões de sulfato de quinina e rodamina B ambos em concentração $1,99 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Tabela 10: Valores para o rendimento quântico de fluorescência(Φ) para todas as fenazinas e os complexos sintetizados em DMSO.

| Fenazina | Φ | Complexo | Φ |
|-----------|--------|-----------|--------|
| 50 | 0,32 | 57 | 0,52 |
| 51 | 0,17 | 58 | 0,53 |
| 52 | 0,33 | 59 | 0,33 |
| 53 | 0,30 | 60 | 0,30 |
| 54 | 0,65 | 61 | 0,66 |
| 55 | 0,65 | 62 | 0,25 |

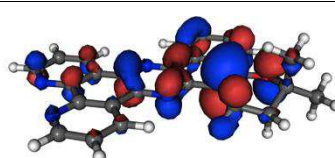
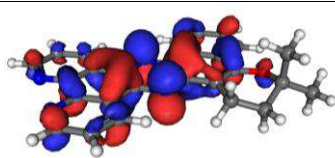
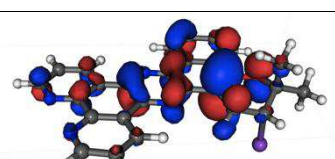
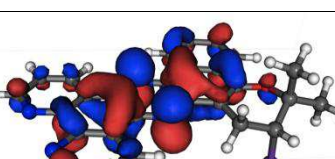
3.3. Detalhes computacionais

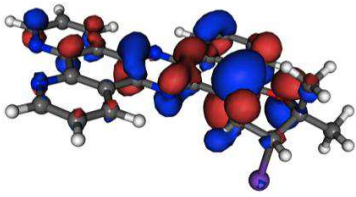
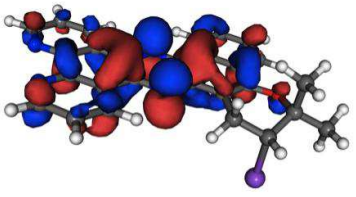
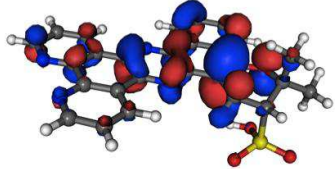
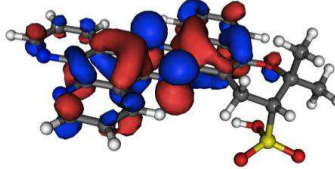
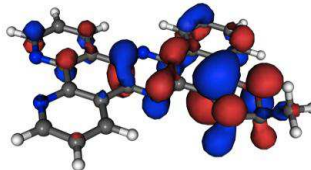
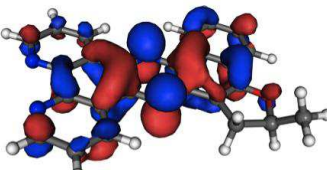
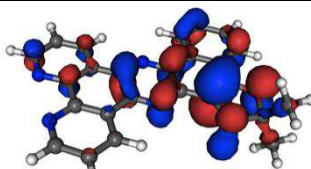
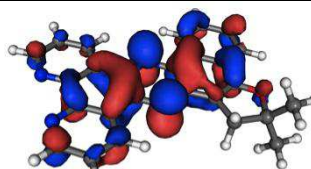
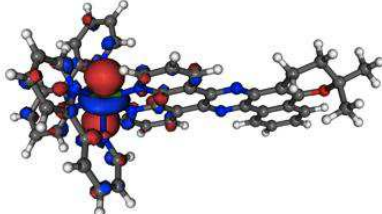
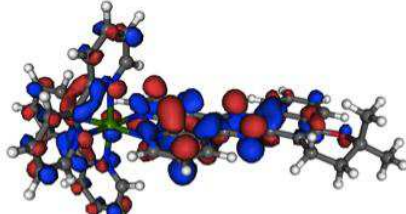
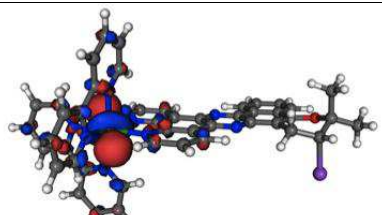
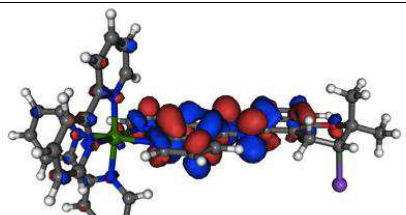
Cálculos de química computacional foram realizados em colaboração com o professor Dr. Hélio Anderson Duarte da Universidade Federal de Minas Gerais. Um dos objetivos deste estudo computacional é determinar a localização da densidade eletrônica

em todas as fenazinas e complexos, tanto em seu estado fundamental quanto em seu estado excitado. A compreensão do deslocamento da densidade eletrônica permite um melhor entendimento da influência das modificações no anel C da parte quinonoídica das fenazinas sobre a emissão de fluorescência das mesmas e dos complexos. Outro objetivo é determinar a diferença energética entre estes dois estados o fundamental (HOMO) e o excitado (LUMO) para cada substância e comparar estes valores com os dados experimentais obtidos neste trabalho no estudo de fotofísica.

Conforme mostrado na Figura 49 os mapas de potenciais eletrônicos HOMO nas moléculas orgânicas (**50-55**) estão centrados nos anéis A-C e não sofreram intensas modificações com a inserção dos grupos substituintes nos respectivos anéis C. Ao avaliarmos os orbitais de fronteira HOMO dos complexos metálicos (**57-62**), foi observado uma concentração da densidade eletrônica principalmente no rutênio(II) e na porção complexada ao metal.

Os orbitais mais energéticos LUMO nas fenazinas (**50-55**) apresentam uma distribuição eletrônica concentrada nos anéis fenazínicos, mais próximas aos nitrogênios. Nos complexos metálicos (**57-62**) o orbital LUMO apresenta densidade eletrônica mais concentrada nos anéis fenazínicos, porém os complexos (**57**), (**61**) e (**62**), apresentam uma densidade eletrônica parcial em menor quantidade também nos anéis das bipyridinas, os demais complexos exibem pouca ou nenhuma densidade nos ligantes bipyridínicos. Deste modo é perceptível o efeito dos substituintes eletronegativos (Br, I, SO₃H) nas porções quinonoídicas dos ligantes fenazínicos, pois no estado excitado de seus complexos (**58**), (**59**) e (**60**) estes ligantes fenazínicos suportam praticamente toda a densidade eletrônica transferida pelo metal.

| Composto | HOMO | LUMO |
|----------|---|--|
| 50 |  |  |
| 51 |  |  |

| | | |
|------------------|---|--|
| 52 |  |  |
| 53 |  |  |
| 54 |  |  |
| 55 |  |  |
| COMPLEXOS | | |
| 57 |  |  |
| 58 |  |  |

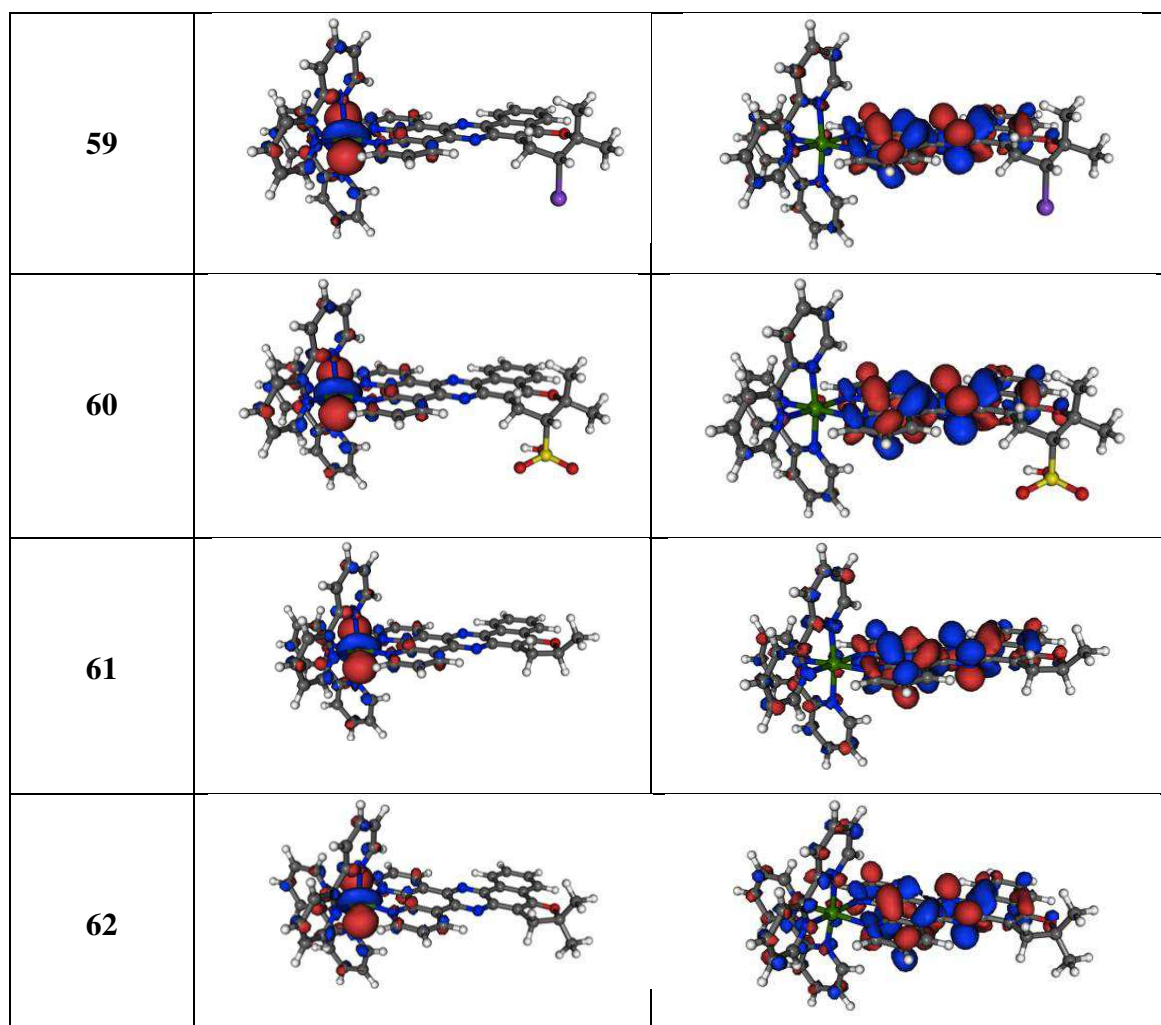


Figura 49: Geometrias otimizadas e orbitais moleculares (HOMO e LUMO) para as substâncias sintetizadas **50-55** e **57-62**.

Foram realizados cálculos para determinação dos valores de energia e elaboração do correspondente diagrama de níveis energéticos na região correspondente aos orbitais HOMO e LUMO dos compostos (Figura 50). O diagrama representa a relação diretamente proporcional entre a diferença de energia dos orbitais HOMO-LUMO (Δ) e a frequência da radiação (ν) e consequentemente sua relação inversa com o comprimento de onda do fóton (λ). Assim uma transição eletrônica com maior valor energético possui um maior valor de Δ e ν , e um menor valor para λ . Neste contexto os valores da diferença energética entre os orbitais HOMO-LUMO para a fenazina (**50**) e o complexo (**57**) representados no diagrama de energia calculado, são confirmados experimentalmente. Os comprimentos de onda do espectro de emissão para fenazina



(50) fornecem valores entre 461-485 nm (na região do azul) e para o complexo de Ru(II) desta fenazina (57) os valores de comprimento de onda no espectro de emissão estão entre 605-620 nm (na região do vermelho).

Experimentalmente, as demais substâncias, apresentam comportamento semelhante, as fenazinas emitindo radiação na região entre o azul e o verde e os complexos de rutênio(II) emitindo radiação na região do vermelho. Os dados de fotofísica comprovam as diferenças energéticas entre os orbitais HOMO/LUMO encontradas no diagrama de energia quando comparadas a fenazina e seu complexo de rutênio(II). Uma maior diferença energética, referente a um menor comprimento de onda é verificado no diagrama para os todas as fenazinas. Em contrapartida uma menor diferença energética, referente a um maior comprimento de onda retratado no diagrama para todos os complexos.

A análise do diagrama comparando as fenazinas entre si mostra uma diferença energética quando a porção quinonoídica apresenta um anel furano ou pirano. Os anéis furanos conferem às fenazinas (54) e (55) um maior valor energético do estado fundamental, devido à sua maior planaridade em relação aos anéis pirano. Desta forma a fenazina que possui um anel pirano é mais estável em seu estado fundamental, a comparação entre as fenazinas (50) e (55) permite esta conclusão visto que diferem somente quanto ao tipo de anel na porção quinonoídica, ambas apresentando duas metilas como substituintes. A análise quanto aos substituintes mostra que substituintes retiradores de elétrons tornam a molécula mais estável no estado fundamental, como observado para as fenazinas (51), (52) e (53) quando comparadas com a fenazina (50), sendo que todas possuem anel pirano. Consequentemente a diferença energética entre os orbitais HOMO/LUMO também é afetada, deste modo algumas fenazinas emitem radiação na região do verde e outras na região do azul.

A análise para os complexos permite observar que o efeito dos substituintes é mais importante. Ao comparar os valores dos estados excitados, os complexos que possuem grupos retiradores de elétron na porção quinonoídica do ligante fenazínico são mais estáveis. Estes complexos portanto apresentam uma menor diferença energética entre os orbitais HOMO/LUMO. Apesar de existirem mudanças nos valores da diferença energética entre os orbitais HOMO/LUMO para os complexos, não se verifica

uma mudança na região de emissão tão significativa a ponto de alterar sua coloração de fluorescência.

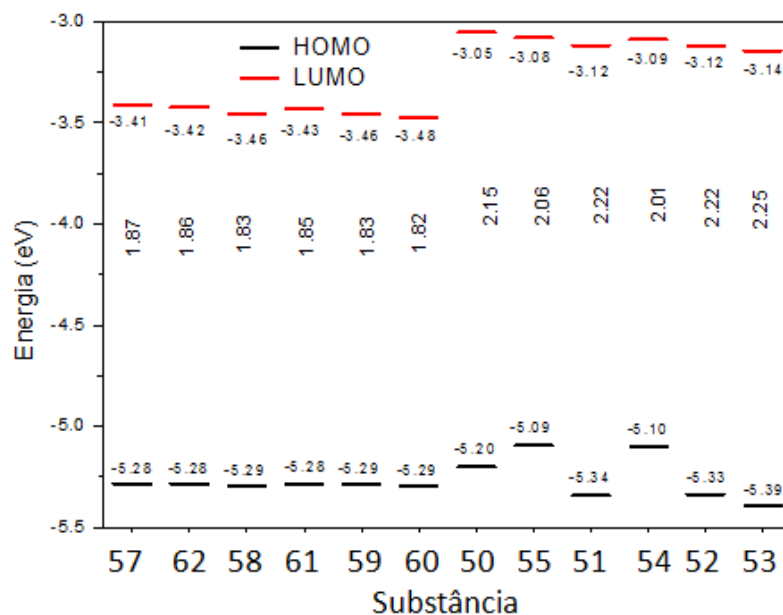


Figura 50: Diagrama de energia dos orbitais HOMO e LUMO para os compostos sintetizados.

3.4. Estudos de marcação celular

Substâncias luminescentes de origem orgânica e inorgânica têm sido desenvolvidas e estudadas visando suas aplicações em diversas áreas como análises bioquímicas e medicinais, sistemas quimiossensoriais, diodos orgânicos emissores de luz, entre outras.¹³¹

Como este trabalho tem como objetivo a síntese de substâncias para aplicação como marcadores celulares, foi realizada a análise de viabilidade celular, concluída para todas as fenazinas e todos os complexos de Ru(II), demonstrando que até a

131. Shigehiro, T.; Yagi, S.; Maeda, T.; Nakazumi, H.; Fujiwara, H.; Sakurai, Y.; Novel 10,13-disubstituted dipyrido[3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazines and their platinum(II) complexes: highly luminescent ICT-type fluorophores based on D–A–D structures. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 5195–5198.

concentração de 50 μ M os compostos não foram tóxicos para cultura de célula primária de macrófagos peritoneais *in vitro*.

A análise por microscopia de fluorescência foi realizada, em fase preliminar, apenas para as fenazinas, e forneceu resultados positivos (Figuras 60 e 61). As moléculas apresentaram resposta positiva frente à luminescência, mas estas fenazinas não marcaram o núcleo (não intercala com o ADN) e não marcaram filamentos de actina (filamento da célula). Quase todas as fenazinas fluorescem e o fazem em duas regiões do espectro, na região do verde e na região do azul. Observou-se também que as fenazinas exibem fluorescência em células pré fixadas tanto quanto em células pós fixadas (Figuras 60 e 61). Interessantemente a fenazina (**53**) foi a única que não fluoresceu no teste de microscopia de fluorescência.

Nas Figuras 51 e 52 as células Vero (1×10^5 células/poço) foram plaqueadas em meio RPMI suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino por 24 h. Após esse período, foram realizados dois protocolos de incubação: pré e pós-fixação. No primeiro (à esquerda), as células foram incubadas por 2 h com o mesmo meio na presença de 50 μ M da fenazina, seguida pela lavagem em PBS e fixação com paraformaldeído 4% por 20 min a 25°C. No segundo (à direita), as células foram primeiramente fixadas em paraformaldeído 4%, seguida por incubação em solução de permeabilização (PBS + 4% BSA + 0,1% triton X-100 + 5% SFB) por 1 h, e então tratadas na concentração de 50 μ M de cada um dos compostos.

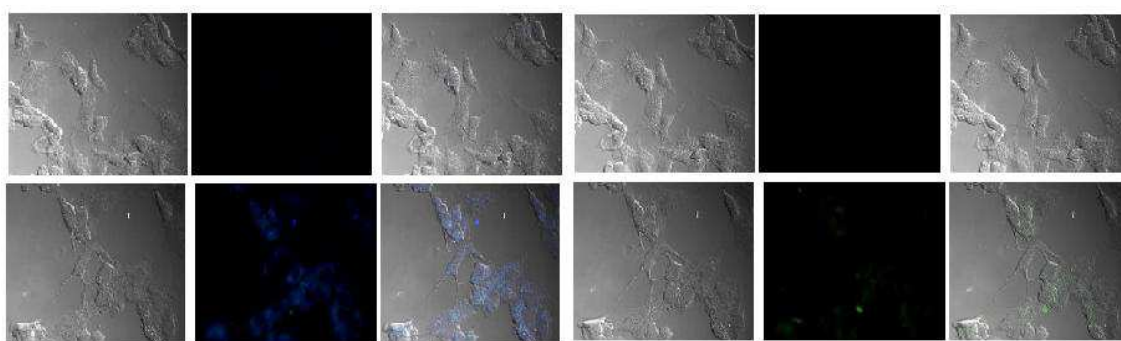


Figura 51: Análise por microscopia de fluorescência para a fenazina (**54**).

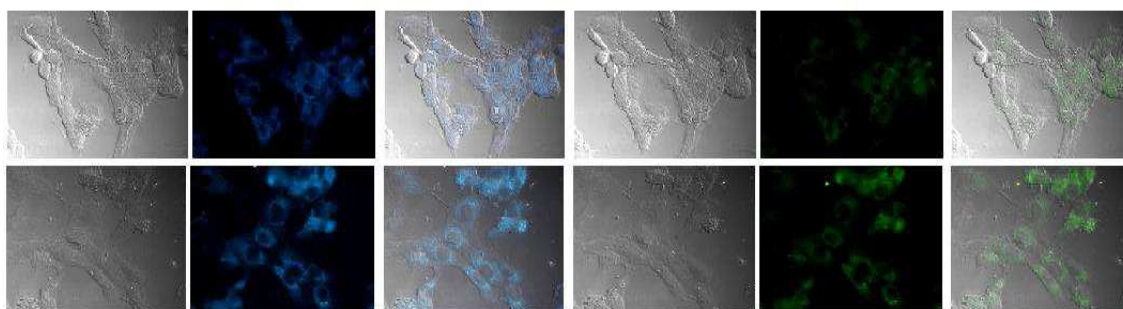


Figura 52: Análise por microscopia de fluorescência para fenazina (55).

Perspectivas futuras de continuidade deste estudo incluem a análise em microscopia de fluorescência para os complexos de Ru(II) e numa segunda etapa um estudo mais detalhado de todas as substâncias visando conhecer a fotodinâmica (quanto tempo o composto suporta ser excitado até que a fluorescência seja perdida); a estabilidade da marcação; a concentração dos compostos necessária para observar uma marcação pontual. Espera-se determinar qual a organela da célula que pode ser marcada pelo composto como sonda potencial.

Em termos gerais, as substâncias aqui sintetizadas, caracterizadas e estudadas como marcadores celulares apresentam grande potencial, e serão objeto de estudos posteriores visando a completa conclusão deste projeto.

4. CONCLUSÃO

Seis fenazinas e seus respectivos complexos de Ru(II) inéditos na literatura foram sintetizados a partir de lapachonas e caracterizados por experimentos de ressonância magnética nuclear, infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução, entre outros.

Os complexos de Ru(II) foram obtidos com proporção 1:1 em relação aos ligantes fenazínicos, possuem dois contraíons e geometria octaédrica distorcida.

As propriedades fotofísicas das substâncias foram estudadas salientando suas características luminescentes. As fenazinas possuem um alto valor para rendimento quântico de fluorescência em relação aos dados da literatura. Os complexos apresentaram valores surpreendentemente elevados para o rendimento quântico de fluorescência, emissão de fluorescência na região do vermelho e também foram solúveis e fluorescentes em água, fatores importantes frente à aplicabilidade como marcadores celulares.

Os estudos de química computacional comprovaram os dados fotofísicos obtidos experimentalmente ressaltando a importância da versatilidade sintética das naftoquinonas como precursoras de fenazinas. As mudanças estruturais evidenciaram o efeito da planaridade do sistema π estendido e o efeito dos substituintes com eletronegatividades distintas que resultaram na mudança dos comprimentos de onda de emissão de fluorescência.

Estudos preliminares de biologia celular mostraram o potencial destas substâncias como marcadores celulares, pois nenhuma substância apresentou toxicidade e em fase preliminar cinco fenazinas produziram imageamento celular frente à excitação em dois comprimentos de onda distintos, fato extremamente relevante, pois é muito incomum na literatura.

Este trabalho representa um ponto de partida interessante e uma avenida de possibilidades para obtenção de complexos metálicos preparados a partir de lapachonas com aplicabilidade como marcadores celulares.



5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais e equipamentos

O ponto de fusão das substâncias sintetizadas foi determinado em aparelho Fisher-Johns em lâminas de vidro arredondadas.

Os valores relacionados ao estudo de fotofísica, dados de absorção foram obtidos no Espectrofotômetro UV-vis Varian Cary 100 e os dados de emissão foram obtidos no Espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse. As medidas foram realizadas em cubetas de quartzo com quatro faces polidas, com caminho óptico de 1,0 cm e volume de 3,5 ml.

Foi utilizado o espectrofotômetro Perkin-Elmer FT-IR, de feixe duplo, pastilhas de KBr anidro, para obter os espectros de absorção na região do infravermelho. Os valores de absorção estão expressos na unidade do centímetro recíproco (cm^{-1}) em número de onda.

Foram utilizados os métodos instrumentais de espectroscopia de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, em que os espectros foram obtidos em espectrômetro Bruker *AVANCE* DRX200 e Bruker *AVANCE* DRX400, utilizando TMS como referência interna. Os deslocamentos químicos foram expressos em partes por milhão (ppm) em relação ao TMS, foi utilizado o hertz (Hz) para os valores de acoplamento (J). A integração computacional foi utilizada na determinação das áreas dos sinais e as multiplicidades foram designadas seguindo esta nomenclatura: s-simpleto; d-dupletto; q-quarteto; t-tripletto; m-multipletto; dd-duplo dupletto; ddd-duplo duplo dupletto; h-hepteto.

As reações foram monitoradas em cromatografia de camada delgada (C.C.D.), utilizando cromatofolhas de gel sílica 60F-254, com 0,2 mm de espessura de camada (MERCK). A preparação dos eluentes foi feita volume a volume (V/V) e foi utilizada lâmpada de ultravioleta para leitura das placas. De acordo com as exigências das sínteses os reagentes e solventes foram tratados, secos ou destilados em comum acordo com a metodologia adotada.

A purificação das substâncias foi realizada em cromatografia em coluna utilizando alumina neutra (Al_2O_3 - Macherey-Nagel 150 mesh diâmetro do poro 58 angstrom) e sílica (SiO_2 – Aldrich 70-230 mesh).

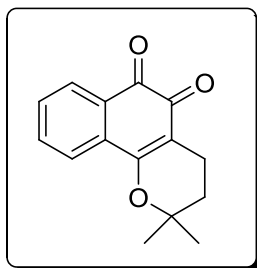
A nomenclatura das substâncias foi determinada recorrendo ao programa e considerando as regras da IUPAC.

Foi utilizado um condutivímetro Digimed, modelo DM3, equipado com célula condutimétrica de 3,0 mL de capacidade e constante igual a 1 cm^{-1} para obtenção dos valores de condutância eletrolítica para os complexos.

Foi utilizado um equipamento TGA50H-Shimadzu, para obtenção das análises térmicas (TG/DTG/DTA). Os experimentos foram realizados em atmosfera de N_2 (50 mL/min) e também na atmosfera de ar (50 mL/min) entre 30 e $750 \text{ }^\circ\text{C}$, com razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

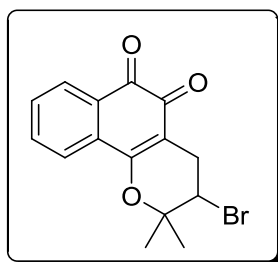
As análises elementares (CHN) foram realizadas em equipamento Perkin Elmer, modelo CHN 2400.

5.2. Síntese das substâncias conhecidas



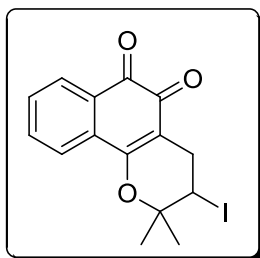
2,2-dimetil-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromeno-5,6-diona (14)

Em um béquer de 100 mL foi adicionado o lapachol (**12**) (726 mg, 3mmol) e sobre ele foi gotejado ácido sulfúrico concentrado (294 mg, 3 mmol). A mistura foi então vertida em água gelada ocorrendo precipitação de um sólido vermelho, a β -lapachona (**14**). O sólido obtido foi filtrado a vácuo obtendo um rendimento quantitativo.



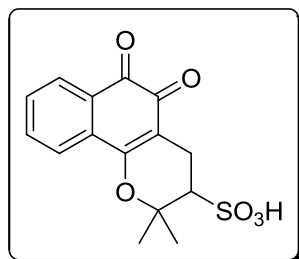
3-bromo-2,2-dimetil-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromeno-5,6-diona (40)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL foi adicionado lapachol (**12**) (485 mg, 2 mmol), bromo (320 mg, 2 mmol) em 40 mL de diclorometano sob agitação. A reação foi monitorada por C.C.D. e após vinte e quatro horas foi encerrada. Foi utilizado o evaporador rotatório para evaporar o solvente e o produto foi purificado em coluna cromatográfica, utilizando como fase estacionária sílica gel e uma mistura de hexano e acetato de etila como eluente. O produto foi obtido como um sólido cristalino alaranjado com rendimento de 85%.



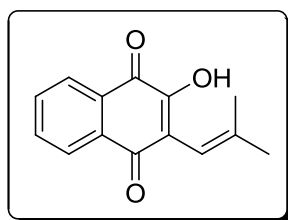
3-iodo-2,2-dimetil-3,4-diidro-2H-benzo[h]cromeno-5,6-diona (41)

Foi adicionado a um balão de fundo redondo de 100 mL, lapachol (**12**) (485 mg, 2 mmol) e 40 mL de diclorometano com agitação. Logo após foi adicionado iodo (508 mg, 2 mmol) e imediatamente acrescida piridina (95 mg, 1,2 mmol). A reação foi monitorada por C.C.D. e encerrada após vinte quatro horas. O solvente foi evaporado em evaporador rotatório e o produto foi purificado em coluna cromatográfica em sílica gel como fase estacionária utilizando-se como eluente uma mistura de hexano com acetato de etila com polaridade variável. O produto foi obtido como um sólido cristalino alaranjado, com rendimento de 53%.



ácido 3-sulfônico-2,2-dimetil-5,6-dioxo-3,4,5,6-tetraidro-2H-benzo[h]cromeno (42)

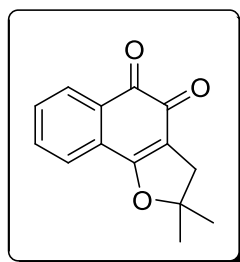
Em um balão de fundo redondo foram adicionados o lapachol (2,42 g, 10 mmol) e 10 mL de anidrido acético e a reação permaneceu em agitação. Enquanto 6,0 mL de ácido sulfúrico 96% foi gotejado na mistura reacional a temperatura foi mantida entre 25-40 °C por meio de banho de gelo. Na solução vermelha formada inicialmente após a adição do ácido sulfúrico formou-se uma pasta alaranjada avermelhada evidenciando o final da reação. Após resfriamento o produto foi filtrado, lavado com éter etílico e seco em pistola a vácuo, obtendo-se o ácido β-lapachona-3-sulfônico (42), com rendimento de 91%.



2-hidroxi-3-(2-metilprop-1-enil)naftaleno-1,4-diona (13)

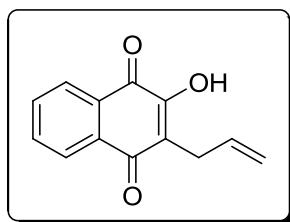
Foram adicionados lausona (43) (1,74 g, 10 mmol), isobutiraldeído (1,44 g, 20 mmol) a 100 mL de tolueno em um balão de fundo redondo de 500 mL, contendo pedaços de porcelana. Foi preparada uma mistura de β-alanina (250 mg, 2,8 mmol) e ácido acético glacial (150 mg, 2,5 mmol) e adicionada ao balão. Foi adaptado o aparato Dean-Stark, manta apropriada e a reação prosseguiu sob refluxo por uma hora. O sistema Dean-Stark coletou a água formada na reação, e após confirmação por C.C.D. de que os reagentes já haviam sido consumidos, a reação foi encerrada. Foi então

realizada a purificação utilizando extração ácido-base em funil de separação, com 250 mL de solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3). Em um béquer foi adicionada a solução aquosa de coloração roxa e realizada neutralização com ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4). O produto foi obtido como um precipitado alaranjado, que foi filtrado a vácuo, lavado com água e seco em pistola a vácuo, obtendo-se um rendimento de 96%.



2,2-dimetil-2,3-diidronafto[1,2-*b*]furano-4,5-diona (44)

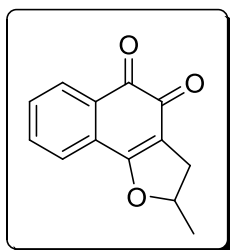
Em um béquer de 100 mL foi adicionado o *nor*-lapachol (**13**) (684 mg, 3mmol) e sobre ele foi gotejado ácido sulfúrico concentrado (294 mg, 3 mmol). A mistura foi então vertida em água gelada ocorrendo precipitação de um sólido vermelho, a *nor*- β -lapachona (**44**). O sólido obtido foi filtrado a vácuo, sendo obtido com um rendimento quantitativo.



2-alil-3-hidroxi-naftaleno-1,4-diona (45)

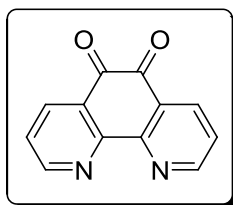
Em um balão de 250 mL foi adicionada lausona (**43**) (2,50 g, 14 mmol) e 50 mL de etanol. Foi preparada uma solução de NaOH (560 mg, 14 mmol) em 7,5 mL de etanol e adicionada ao balão, permanecendo a mistura sob agitação durante uma hora. Logo após foram acrescentados 25 mL de éter etílico e a mistura foi resfriada para 0 °C, em freezer, e mantida em repouso nesta temperatura. O sólido vermelho formado foi

filtrado e lavado com porções alternadas de álcool etílico e éter etílico, e seco em pistola a vácuo. Posteriormente o sólido obtido (2,22 g, 11,32 mmol) foi colocado em balão de 250 mL juntamente com 30 mL de brometo de alila, em agitação por uma hora. Em seguida foi acrescentada água destilada num volume de 100 mL formando solução de coloração vermelha. Após quarenta e oito horas o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 80 mL) e lavado com água (3 x 100 mL). A purificação foi feita em coluna cromatográfica, com fase estacionária de sílica gel e mistura de hexano e acetato de etila, como eluente. O sólido de cor amarela foi obtido com rendimento de 35%.



2-metil-3,3a-diidronafto[1,2-b]furan-4,5-diona (46)

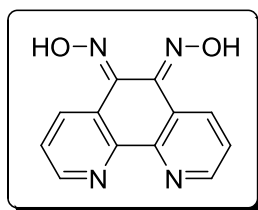
Em um béquer de 100 mL foi adicionado a C-alil-lausona (**45**) (643 mg, 3mmol) e sobre ela foi gotejado ácido sulfúrico concentrado (294 mg, 3 mmol). A mistura foi então vertida em água gelada ocorrendo precipitação de um sólido vermelho escuro, a nafto[1,2-b]furano-4,5-diona (**46**). O sólido obtido foi filtrado a vácuo, sendo obtido com um rendimento quantitativo.



1,10-fenantrolina-5,6-diona (47)

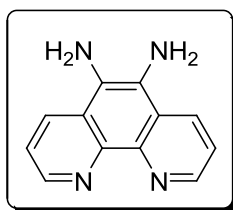
Em um balão de 200 mL de fundo redondo foi adicionada 1,10-fenantrolina (**35**) (5,05 g, 28 mmol) e 65 mL de solução 60% de ácido sulfúrico. Foi acrescentado aos

poucos KBrO_3 (5,10 g, 31 mmol), observando-se a formação de bromo gasoso e mudança da coloração da solução de incolor para amarelo claro. A reação permaneceu sob agitação por vinte horas, tempo após o qual ficou comprovado o consumo dos reagentes por C.C.D.. A mistura reacional foi então transferida para um béquer de 1 L e neutralizada com solução saturada de NaOH. O precipitado amarelo amarronzado formado após refrigeração foi filtrado a vácuo, sendo feita extração da solução com acetato de etila e evaporado o solvente em evaporador rotatório. As partes foram reunidas e purificadas por recristalização em metanol, obtendo-se um sólido amarelo, a 4,7-fenantrolina-5,6-diona (**47**) com rendimento de 70%.



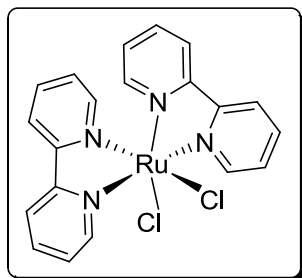
(5E,6E)-1,10-fenantrolina-5,6-diona dioxima (48)

Foi adicionada à 4,7-fenantrolina-5,6-diona (**47**) (1,90 g, 9 mmol), cloridrato de hidroxilamina (2,19 g, 31 mmol), carbonato de bário (2,67 g, 14 mmol), em um balão de 250 mL de fundo redondo, juntamente com 100 mL de etanol anidro. Foi feita atmosfera com argônio e a mistura permaneceu sob refluxo por dezoito horas. Verificado o consumo dos reagentes por C.C.D., a reação foi encerrada. O solvente foi evaporado em evaporador rotatório e o resíduo tratado com 100 mL de solução 1,0 mol L^{-1} de HCl por uma hora. O sólido bege claro formado, 4,7-fenantrolina-5,6-dioxima (**48**), foi filtrado a vácuo sendo obtido um rendimento de 77%.



1,10-fenantrolina-5,6-diamina (49)

Em um balão de três bocas de 500 mL foram adicionados 4,7-fenantrolina-5,6-dioxima (**48**) (1,78 g, 7 mmol), Pd/C (10%) (1,78 g) e feita atmosfera de argônio. Foram então adicionados 140 mL de etanol anidro, sendo posteriormente gotejada sobre a mistura reacional, uma solução composta por 16 mL de hidrazina monohidratada e 5,0 mL de etanol anidro. A reação permaneceu em agitação sob refluxo por vinte e quatro horas, sendo em seguida filtrada a quente, em celite, sendo a celite lavada com etanol aquecido. O filtrado foi adicionado em água a temperatura de 0 °C e a mistura foi mantida sob refrigeração, formando um sólido amarelo bronze, a 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (**49**). O produto foi filtrado a vácuo e lavado com água, sendo obtido com um rendimento de 58 %.

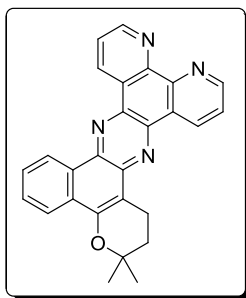


dichlorobis(bipiridina)rutênio(II) (56)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados o tricloreto de rutênio triidratado (1,00 g, 9 mmol), bipyridina (1,20 g, 8 mmol), cloreto de lítio (1,01 g, 24 mmol) e 7 mL de dimetilformamida (DMF). A reação permaneceu sob agitação e refluxo por oito horas. Logo após a mistura foi resfriada, e foram acrescentados 32 mL de acetona à temperatura ambiente. A mistura foi agitada e mantida a 0 °C por vinte e quatro horas. O sólido cristalino preto esverdeado foi filtrado e lavado com três porções de 10 mL de água e três porções de 10 mL de éter dietílico. O complexo (**56**) foi obtido com 38% de rendimento.

5.3. Procedimento geral para síntese das fenazinas

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados inicialmente a 4,7-fenantrolina-5,6-diamina (498 mg, 2,4 mmol) e 12 mL de ácido acético. Posteriormente foi acrescentado o acetato de sódio (326 mg, 4,0 mmol) e a β -lapachona (242 mg, 2,1 mmol) (para obtenção das outras fenazinas foram adicionados 2,1 mmol da naftoquinona precursora). A mistura foi agitada por vinte e quatro horas e então vertida sobre gelo, formando pouquíssimo precipitado amarelo. Foi feita então extração com acetato de etila, e o solvente evaporado em evaporador rotatório. O sólido avermelhado obtido foi purificado por coluna cromatográfica, com fase estacionária de alumina neutra e mistura de hexano e acetato de etila como eluente, em polaridade variável. Foi obtido um sólido de coloração amarela.



12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina (50)

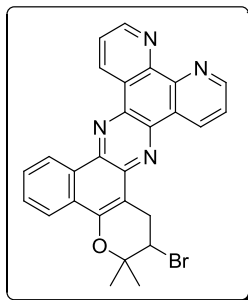
Aspecto: sólido amarelo; **Rendimento:** 39%; **Ponto de fusão:** acima de 330 °C

I.V.: (KBr) 1617 (C=N) 1596 (C=C) 738 (Ar-CH₃) 2926 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 9,19 (2H, *J* = 8,74, t), 9,14-9,13 (1H, m), 9,10-9,08 (1H, m), 9,02 (1H, *J* = 8,5 Hz, d), 8,21 (1H, *J* = 7,7 Hz, d), 7,68 (2H, *J* = 13,7 e 6,8 Hz, dt), 7,56-7,51 (2H, m), 3,13 (2H, *J* = 6,6 Hz, t), 2,03 (2H, *J* = 6,6 Hz, t), 1,53 (6H, s).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 151,6, 151,5, 151,0, 147,4, 146,9, 142,8, 138,6, 147,7, 135,4, 132,8, 132,4, 129,9, 129,2, 128,6, 127,5, 127,4, 127,3, 124,6, 123,5, 123,4, 122,0, 110,0, 76,1, 32,3, 26,9, 18,0.

EI/HRMS: (m/z) [M+H⁺]: 417,1016. Calculado para [C₂₇H₂₀N₄OH]⁺: 417,1637.



**11-bromo-12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]
dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina (51)**

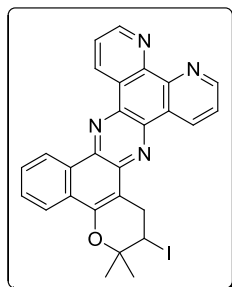
Aspecto: sólido amarelo; **Rendimento:** 45%; **Ponto de fusão:** 244-245 °C

I.V.: (KBr) 1618 (C=N) 1594 (C=C) 741 (Ar-CH₃) 2980 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,20 (2H, *J* = 15,1 e 8,0 Hz, dd), 9,12 (2H, *J* = 10,3 e 3,9 Hz, dd), 9,03 (1H, *J* = 7,4 Hz, d), 8,18 (1H, *J* = 7,3 Hz, d), 7,73 (2H, *J* = 13,4 e 6,4 Hz, p), 7,61-7,54 (2H, m), 4,46 (1H, *J* = 5,7 Hz, q), 3,73 (1H, *J* = 17,4 e 5,3 Hz, dd), 3,58-3,51 (1H, m), 1,78 (3H, s), 1,59 (3H, s).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 151,8, 151,3, 150,6, 147,4, 141,6, 138,7, 137,8, 132,9, 130,1, 129,4, 128,0, 127,9, 127,3, 127,0, 124,6, 123,6, 123,6, 122,0, 108,9, 78,8, 52,3, 30,0, 27,1, 21,6.

EI/HRMS: (m/z) [M+Na⁺]: 516,9723. Calculado para [C₂₇H₁₉BrN₄ONa]⁺: 517,0640.



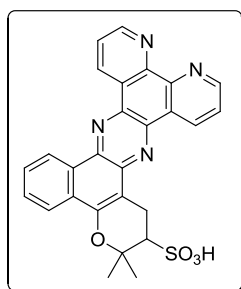
**11-iodo-12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]
dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina (52)**

Aspecto: sólido amarelo; **Rendimento:** 35%; **Ponto de fusão:** 319-321 °C

I.V.: (KBr) 1621 (C=N) 1599 (C=C) 740 (Ar-CH₃) 2931 (C-H) cm⁻¹

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 9,57 (1H, $J = 7,7$ Hz, d), 9,50 (1H, $J = 7,4$ Hz, d), 9,33-9,31 (1H, m), 9,23-9,20 (2H, m), 8,29-8,27 (1H, m), 7,80-7,78 (2H, m), 7,76-7,72 (2H, m), 4,65 (1H, $J = 8,8$ e 5,4 Hz, dd), 4,09 (1H, $J = 17,7$ e 5,4, dd), 3,91 (1H, $J = 17,6$ e 9,3 Hz, dd), 1,81 (3H, s), 1,87 (3H, s).

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 152,0, 151,6, 136,6, 132,9, 129,6, 128,1, 125,0, 124,9, 124,1, 123,9, 122,1, 114,4, 109,8, 99,6, 78,8, 58,8, 32,7, 32,4, 31,3, 31,0, 27,8, 6,3.

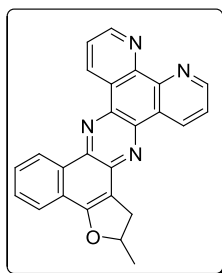


**ácido 11-sulfônico-12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]
dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina (53)**

Aspecto: sólido amarelo; **Rendimento:** 79%; **Ponto de fusão:** degrada 310 °C

I.V.: (KBr) (C=N) (C=C) (Ar-CH₃) (C-H) cm⁻¹

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,84-8,59 (4H, m), 8,05 (1H, s), 7,83-7,43 (4H, m) 2,97-2,77 (2H, m), 2,50 (1H, s), 1,81 (3H, s), 1,37 (3H, s), 1,17 (1H, s).



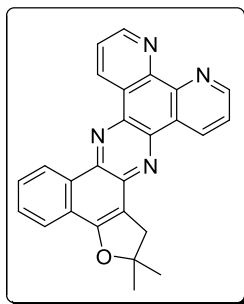
2-metil-1,2-diidrobenzo[a]furo[2,3-c]dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina (54)

Aspecto: sólido amarelo; **Rendimento:** 75%; **Ponto de fusão:** 295- 297 °C

I.V.: (KBr) 1628 (C=N) 1596 (C=C) 740 (Ar-CH₃) 2929 (C-H) cm⁻¹

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 9,56-9,42 (1H, m), 9,32-9,23 (3H, m), 8,11-8,06 (1H, m), 7,85-7,69 (4H, m), 7,57-7,51 (1H, m), 4,10 (1H, $J = 7,0$ Hz, t), 3,84-3,76 (1H, m), 3,32 (1H, $J = 15,5$ e $7,4$ Hz, dd), 1,44 (3H, $J = 6,4$ Hz, d).

EI/HRMS: (m/z) $[\text{M}+\text{H}^+]$: 389,1201. Calculado para $[\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OH}]^+$: 389,1324.



2,2-dimetil-1,2-diidrobenzo[*a*]furo[2,3-*c*]dipirido[3,2-*h*:2',3'-*j*]fenazina (55)

Aspecto: sólido amarelo; **Rendimento:** 34%; **Ponto de fusão:** 179- 182 °C

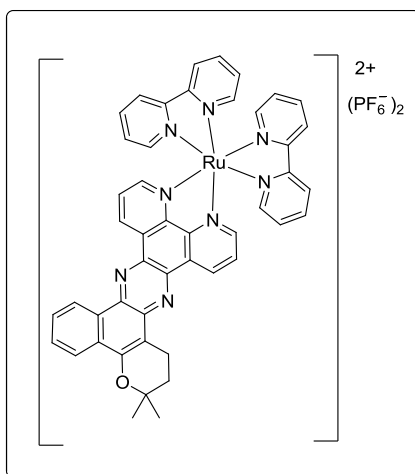
I.V.: (KBr) 1628 (C=N) 1595 (C=C) 739 (Ar-CH₃) 2923 (C-H) cm⁻¹

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,15-9,03 (4H, m), 8,92 (1H, $J = 7,8$ Hz, d), 7,89 (1H, $J = 7,6$ Hz, d), 7,71-7,61 (2H, m), 7,59-7,53 (2H, m), 3,38 (2H, s), 1,74 (6H, s).

EI/HRMS: (m/z) $[\text{M}+\text{H}^+]$: 403,1224. Calculado para $[\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OH}]^+$: 403,1481.

5.4. Procedimento geral para síntese dos complexos de Ru(II)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados a 12,12-dimetil-11,12-diidro-10*H*-benzo[*a*]pirano[2,3-*c*]dipirido[3,2-*h*:2',3'-*j*]fenazina (**50**) (75,5 mg, 0,19 mmol), o bis(bipiridina)diclororutênio(II) (**56**) (91,6 mg, 0,19 mmol) e 20 mL de etileno glicol (para obtenção dos demais complexos com as outras fenazinas são acrescentados 0,19 mmol do ligante fenazínico substituindo a fenazina (**50**)). A reação ficou em refluxo por doze horas observando a mudança da coloração de vermelho escuro para um vermelho mais claro. Posteriormente foi adicionado 60 mL de água e KPF_6 em excesso, ocorrendo a precipitação de um sólido vermelho que foi filtrado a vácuo e lavado com água e éter etílico.



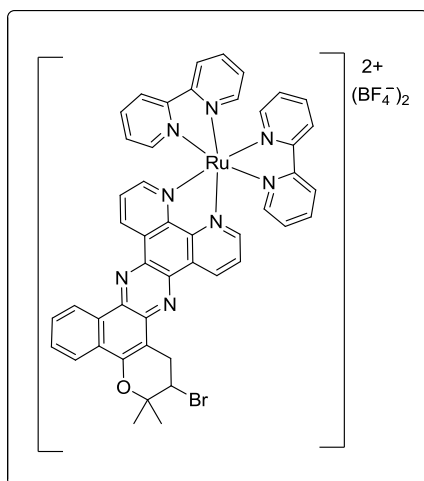
bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina}rutenato (57)

Aspecto: sólido vermelho cristalino; **Rendimento:** 94%; **Ponto de fusão:** acima 330 °C

I.V.: (KBr) 1619 (C=N) 1593 (C=C) 730 (Ar-CH₃) 2925 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 9,91 (1H, *J* = 8,1 Hz, d), 9,81 (1H, *J* = 8,1 Hz, d), 9,49 (1H, *J* = 7,8 Hz, d), 8,88-8,83 (4H, m), 8,52 (2H, *J* = 14,6 e 4,9 Hz, dd), 8,28 (3H, *J* = 7,8 Hz, q), 8,21-8,14 (4H, m), 8,10-8,06 (4H, m), 7,90-7,82 (2H, m), 7,66 (2H, *J* = 6,5 Hz, t), 7,44-7,41 (2H, m), 3,47 (2H, *J* = 6,4 Hz, t), 2,19 (2H, *J* = 6,4 Hz, t), 1,56 (6H, s).

EI/HRMS: (m/z) [M⁺]: 975,1730. Calculado para [C₄₇H₃₆F₆N₈OPRu]⁺: 975,1697.



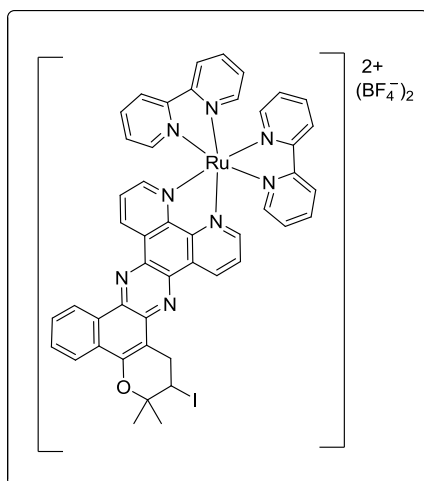
**bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){11-bromo-12,12-dimetil-11,12-diidro-
10H-benzo[a]pirano[2,3-c]
dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina}rutenato (58)**

Aspecto: sólido vermelho cristalino; **Rendimento:** 96%; **Ponto de fusão:** acima 330 °C

I.V.: (KBr) 1620 (C=N) 1594 (C=C) 729 (Ar-CH₃) 2922 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 10,01-9,99 (1H, m), 9,98-9,86 (1H, m), 9,60-9,59 (1H, m), 8,91-8,85 (4H, m), 8,57-8,53 (2H, m), 8,45-8,43 (1H, m), 8,29 2H, *J* = 8,0 Hz, t), 8,21-8,11 (7H, m), 8,11 (1H, s), 7,99-7,98 (2H, m), 7,66 (2H, *J* = 6,5 Hz, t), 7,45-7,39 (2H, m), 4,98-4,95 (1H, m), 4,24-4,16 (1H, m), 4,06-3,99 (1H, m), 1,77 (6H, s).

EI/HRMS: (m/z) [M²⁺]: 455,0581. Calculado para [C₄₇H₃₅BrN₈ORu]²⁺: 455,2563.

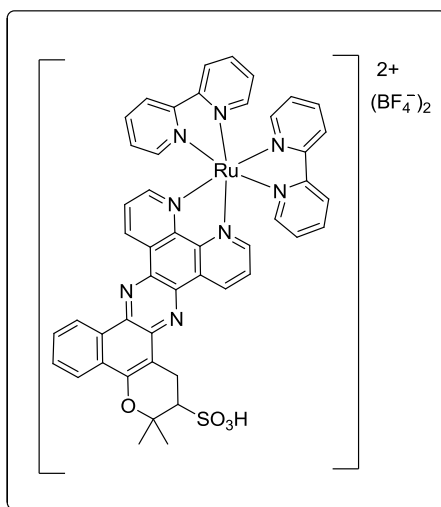


bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){11-iodo-12,12-dimetil-11,12-diidro-10H-benzo[a]pirano[2,3-c]dipirido[3,2-h:2',3'-j]fenazina}rutenato (59)

Aspecto: sólido vermelho ; **Rendimento:** 94%; **Ponto de fusão:** acima 330 °C

I.V.: (KBr) 1622 (C=N) 1596 (C=C) 741 (Ar-CH₃) 2928 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 9,87-9,74 (2H, m), 9,45-9,38 (1H, m), 8,93-8,87 (5H, m), 8,57-8,56 (3H, m), 8,32-8,28 (4H, m), 8,24-8,17 (6H, m), 8,11-8,06 (4H, m), 7,50-7,48 (1H, m), 7,44-7,41 (1H, m), 5,01-4,95 (1H, m), 4,23-4,06 (1H, m), 3,65-3,52 (1H, m), 1,80 (3H, s), 1,75 (3H, s).



bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){ácido-11-sulfônico-12,12-dimetil-11,12-diidro-10*H*-benzo[*a*]pirano[2,3-*c*]dipirido[3,2-*h*:2',3'-*j*]fenazina}rutenato (60)

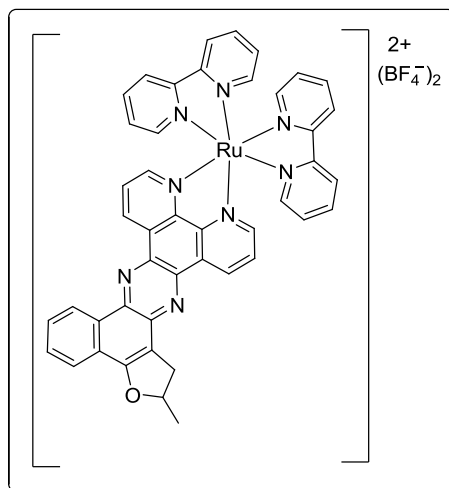
Aspecto: sólido vermelho

Rendimento: 95%

Ponto de fusão: acima 330 °C

I.V.: (KBr) 1624 (C=N) 1594 (C=C) 730 (Ar-CH₃) 2921 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 8,67-8,55 (4H, m), 8,17-7,29 (22H, m), 3,53 (2H, s), 3,14 (1H, s), 1,32 (3H, s), 1,27 (3H, s).



**bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){2-metil-1,2-
 diidrobenzo[*a*]furo[2,3-*c*]dipirido[3,2-*h*:2',3'-*j*]fenazina}rutenato (61)**

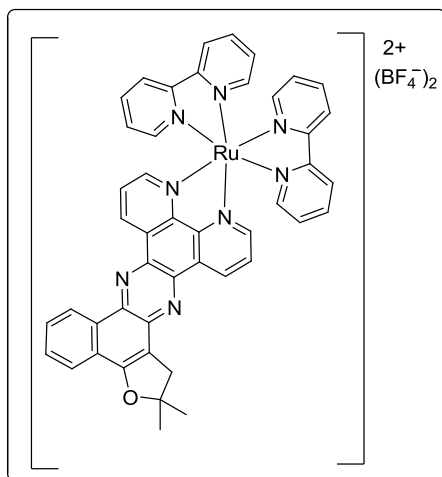
Aspecto: sólido vermelho

Rendimento: 93%

Ponto de fusão: acima 330 °C

I.V.: (KBr) 1642 (C=N) 729 (Ar-CH₃) 2922 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 9,57-9,35 (2H, m), 9,21 (1H, *J* = 16,1 Hz, d), 8,65-8,54 (4H, m), 8,20-7,71 (14H, m), 7,42-7,24 (2H, m), 3,74-3,67 (1H, m), 3,42 (2H, *J* = 14,0 Hz, q), 1,58 (3H, s).



bis(hexafluorofosfato) de bis(dipiridina){2,2-dimetil-1,2-diidrobenzo[*a*]furo[2,3-*c*]dipirido[3,2-*h*:2',3'-*j*]fenazina}rutenato (62)

Aspecto: sólido vermelho

Rendimento: 93%

Ponto de fusão: acima 330 °C

I.V.: (KBr) 1626 (C=N) 1594 (C=C) 728 (Ar-CH₃) 2926 (C-H) cm⁻¹

RMN de ¹H (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 10,02-9,88 (2H, m), 9,71-9,57 (2H, m), 8,91-8,86 (7H, m), 8,56-8,51 (3H, m), 8,30-7,99 (23H, m), 7,68-7,65 (4H, m), 7,42 (3H, s), 3,71 (2H, s), 1,77 (6H, s).

5.5. Procedimentos para obtenção das medidas de fotofísica

5.5.1. Solvatocromismo

Foram preparadas soluções estoques, em acetonitrila, de todas as substâncias sintetizadas, com concentração igual a 0,99x10⁻⁴ mol L⁻¹ (Tabela 10). Alíquotas desta solução estoque foram transferidas para balões de 10 mL, e após evaporação do solvente (acetonitrila) os balões foram completados com os solventes selecionados: acetato de etila, acetona, acetonitrila, água, dimetilsulfóxido (DMSO) e tetraidrofurano (THF). As soluções resultantes apresentaram concentração de 1,99x10⁻⁶ mol L⁻¹. Os espectros de absorção e emissão foram obtidos a partir destas soluções.

Tabela 10: Valores de massa molar, massa e concentração das soluções estoques (100 mL) obtidas para todos os compostos sintetizados.

| Substância | Massa molar (g/mol) | Massa (10^{-3} g) | Concentração (10^{-4} mol L ⁻¹) |
|------------|---------------------|----------------------|--|
| 50 | 416,47 | 41,6 | 0,99 |
| 51 | 495,37 | 49,5 | 0,99 |
| 52 | 542,37 | 54,2 | 0,99 |
| 53 | 496,54 | 49,7 | 0,99 |
| 54 | 388,42 | 38,8 | 0,99 |
| 55 | 402,45 | 40,2 | 0,99 |
| 57 | 974,88 | 97,5 | 0,99 |
| 58 | 1082,42 | 108,2 | 0,99 |
| 59 | 1135,47 | 113,5 | 0,99 |
| 60 | 1089,63 | 109,0 | 0,99 |
| 61 | 981,52 | 98,2 | 0,99 |
| 62 | 989,50 | 99,0 | 0,99 |

5.5.2. Obtenção dos coeficientes de absorção e emissão

Soluções estoques, das substâncias sintetizadas, em concentração $0,99 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ foram preparadas e transferidas alíquotas de 200, 267, 333, 400 e 467 μ L para balões de 10 mL. Deste modo foram obtidas soluções com concentrações $2,00 \times 10^{-6}$, $2,67 \times 10^{-6}$, $3,33 \times 10^{-6}$, $4,00 \times 10^{-6}$, $4,67 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Foram obtidos os espectros de absorção e emissão com as soluções nestas concentrações mencionadas, e assim, determinados os valores correspondentes aos máximos de absorção e emissão. Foram construídas as curvas analíticas dos máximos de absorção e emissão versus a concentração das soluções. Desta forma, por linearização dos pontos obtidos foram determinados os coeficientes de absorção. Observado que o caminho óptico da cubeta é de 1,0 cm, o valor da inclinação da reta corresponde aos coeficientes. As curvas analíticas de absorção e emissão, respectivamente, para o composto (50) estão representadas nas Figuras 41 e 42, e para o composto (57) nas Figuras 45 e 46.

5.5.3. Rendimento quântico de fluorescência

Para as substâncias inéditas sintetizadas foram preparadas soluções de concentração $0,99 \times 10^{-4}$ conforme descrito anteriormente, transferidas alíquotas de 200, 267, 333, 400 e 467 μL para balões de 10 mL. Com estas soluções foram adquiridos os espectros de absorção e emissão, que fornecem uma reta para cada substância sintetizada, plotada no gráfico da integração das curvas de fluorescência versus os máximos de absorção.

A solução de sulfato de quinina foi preparado a partir de uma solução de ácido sulfúrico 0,1 M. O padrão, sulfato de quinina (19,57 mg), foi adicionado a um balão volumétrico de 250 mL que foi então preenchido com a solução ácida. Para uma cubeta de capacidade de 2,5 mL e caminho óptico de 1,00 cm, foram transferidos 2,00 mL da solução ácida e posteriormente adicionado um volume inicial de 20 μL e sucessivos volumes de 6,7 μL . Deste modo os espectros de absorção e emissão foram obtidos de soluções com concentrações: $2,00 \times 10^{-6}$, $2,67 \times 10^{-6}$, $3,33 \times 10^{-6}$, $4,00 \times 10^{-6}$, $4,67 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} .

O padrão para cálculo do rendimento quântico de fluorescência dos complexos foi a rodamina B. Uma solução de concentração $0,99 \times 10^{-4}$ em metanol foi preparada transferindo a rodamina B (47,90 mg) para um balão de 100 mL e completando seu volume com o respectivo solvente. Em uma cubeta de 2,5 mL de capacidade foram adicionados 2,00 mL de metanol sendo acrescentado um volume inicial de 20 μL e sucessivos volumes de 6,7 μL . Assim os espectros de absorção e emissão foram obtidos destas soluções com concentrações: $2,00 \times 10^{-6}$, $2,67 \times 10^{-6}$, $3,33 \times 10^{-6}$, $4,00 \times 10^{-6}$, $4,67 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} .

Os gráficos de regressão linear para o sulfato de quinina e o composto (**50**) estão representados na Figura 53 e para a rodamina B e o complexo (**57**) na Figura 54.

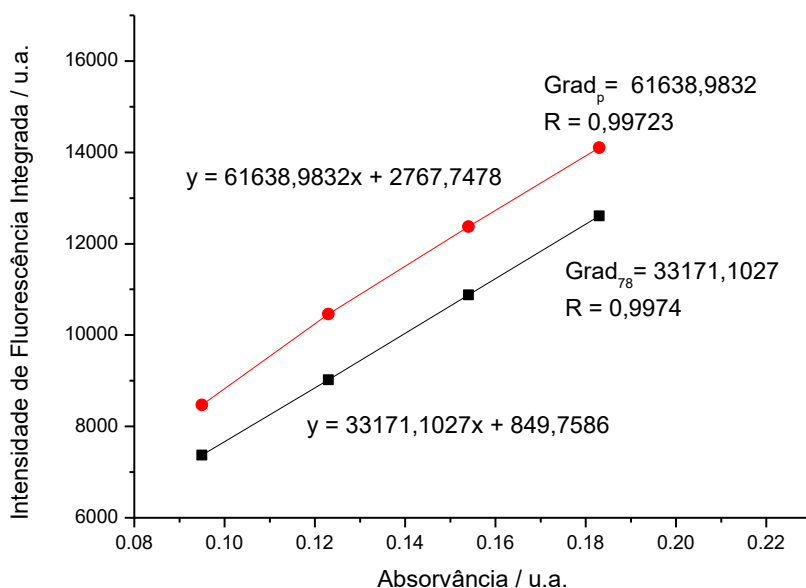


Figura 53: Gráfico de regressão linear para o padrão (sulfato de quinina) e a fenazina (50).

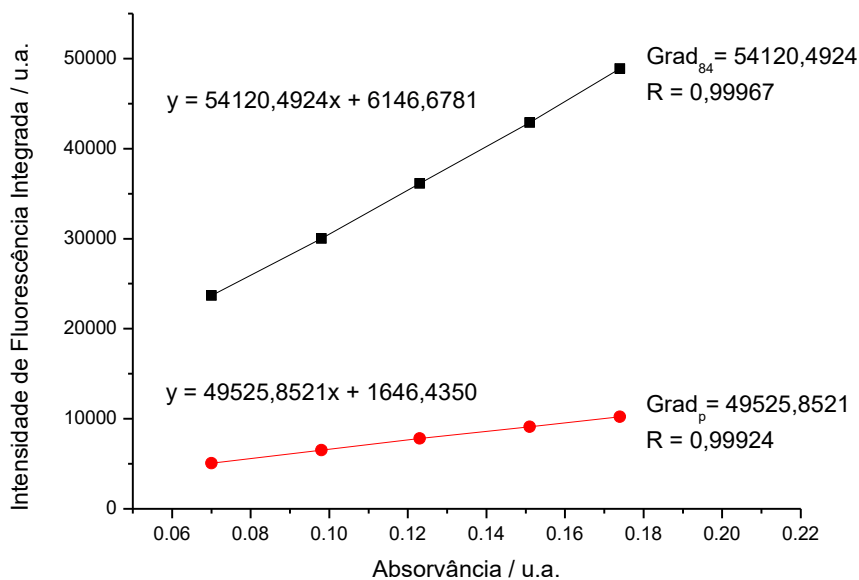


Figura 54: Gráfico de regressão linear para o padrão (rodamina B) e o complexo (57).



5.6. Aspectos computacionais

Todos os complexos metálicos foram totalmente otimizados sem nenhuma restrição à simetria usando a teoria da densidade funcional, tal como aplicado no empacotamento Gaussiano. A estrutura de raios-X do complexo metálico (57) foi utilizada como ponto de partida para as otimizações de geometria. Foi utilizada a aproximação generalizada do gradiente para a troca de correlação funcional (XC) de Perdew, Burke e Ernzerhof (PBE). Os três parâmetros híbridos de mudança funcional Becke combinados com a correlação funcional Lee, Yang e Parr (PBP), combinação esta denotada como B3LYP híbrido, também foi utilizada para comparação. O potencial efetivo do núcleo LANL2DZ foi utilizado para os centros metálicos, bromo e iodo, enquanto que os conjuntos de base cc-pVDZ convencionais foram empregados para os outros átomos. O método contínuo polarizável (PCM) foi usado para descrever a interação não específica da água como solvente. O orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) e o orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO) foram estimados a partir das energias dos orbitais moleculares Kohn-Sham.

5.7. Procedimentos para testes de marcação celular

5.7.1. Análise da viabilidade celular

Macrófagos peritoneais (5×10^4 células/poço) foram plaqueados em meio RPMI suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (pH 7) a 37°C por 24 h, e então tratadas com os compostos mencionados (3,9-500 μM) por 24h. O *Presto Blue* foi adicionado por 5h a 37°C sendo a leitura realizada por nos comprimentos de onda de 570nm e 600nm como descrito pelo fabricante (Invitrogen). Os valores da inibição celular foram obtidos a partir da equação: $100 - (((AB) - (CD)) / ((AE) - (CF))) * 100$, onde A = 117,216; B = Média da leitura em 570nm; C = 80,586; D = Média da leitura em 600nm; E = Média da leitura do controle em 570nm; F = Média da Leitura do controle em 600nm.



5.7.2. Análise por microscopia de fluorescência

Células Vero (1×10^5 células/poço) foram plaqueadas em meio RPMI suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino por 24 h. Após esse período, foram realizados dois protocolos de incubação: pré e pós-fixação. No primeiro, as células foram incubadas por 2 h com o mesmo meio na presença de 50 uM dos compostos (**50**, **51**, **52**, **53**, **54** e **55**), seguida pela lavagem em PBS e fixação com 4% paraformaldeído por 20 min a 25°C. No segundo, as células foram primeiramente fixadas em paraformaldeído 4%, seguida por incubação em solução de permeabilização (PBS + 4% BSA + 0,1% triton X-100 + 5% SFB) por 1 h, e então tratadas na concentração de 50uM de cada um dos seis compostos. As análises foram realizadas no microscópio Zeiss Axio Observer A1 com epifluorescência sendo as imagens capturadas com a câmera Axio Cam com tempo de exposição de 3 segundos, além das imagens obtidas por Contraste de Interferência Diferencial.

Anexo

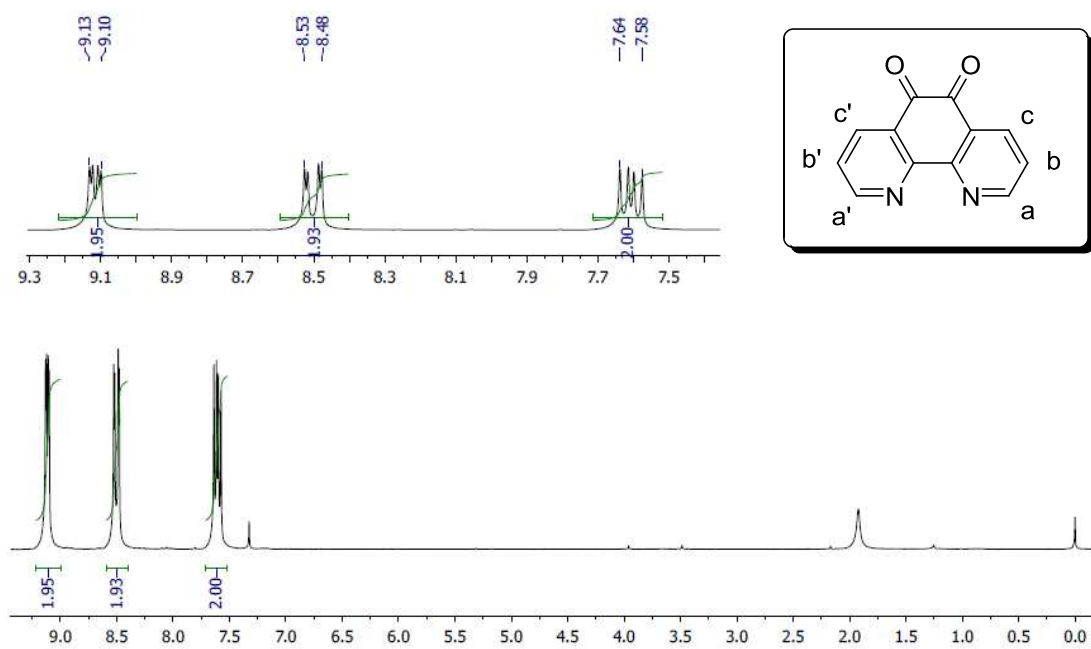


Figura A1: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) da substância 47.

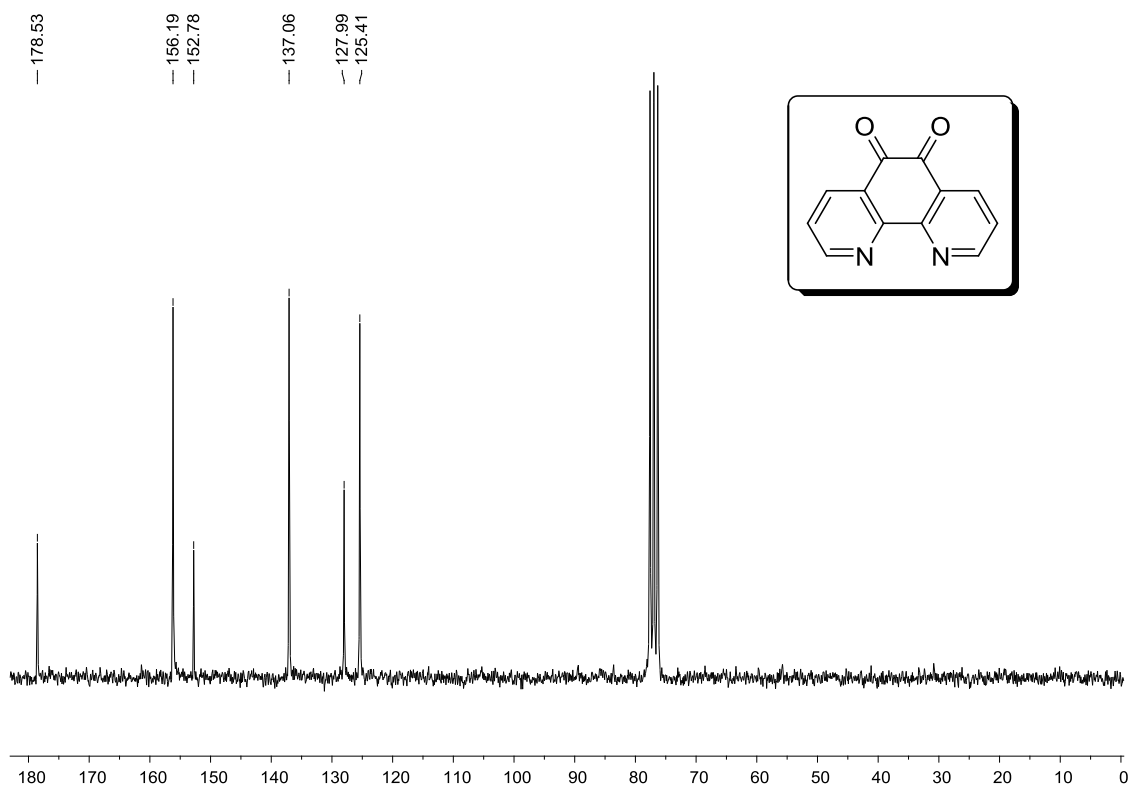


Figura A2: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (50 MHz, CD_3OD) da substância 47.

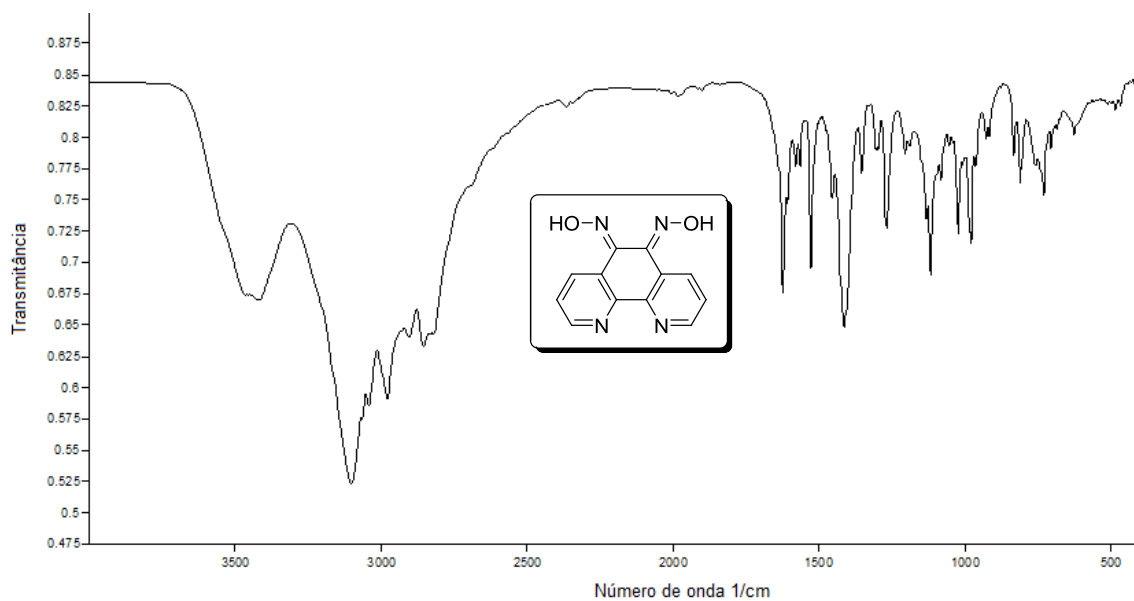


Figura A3: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha de KBr) da substância **48**.

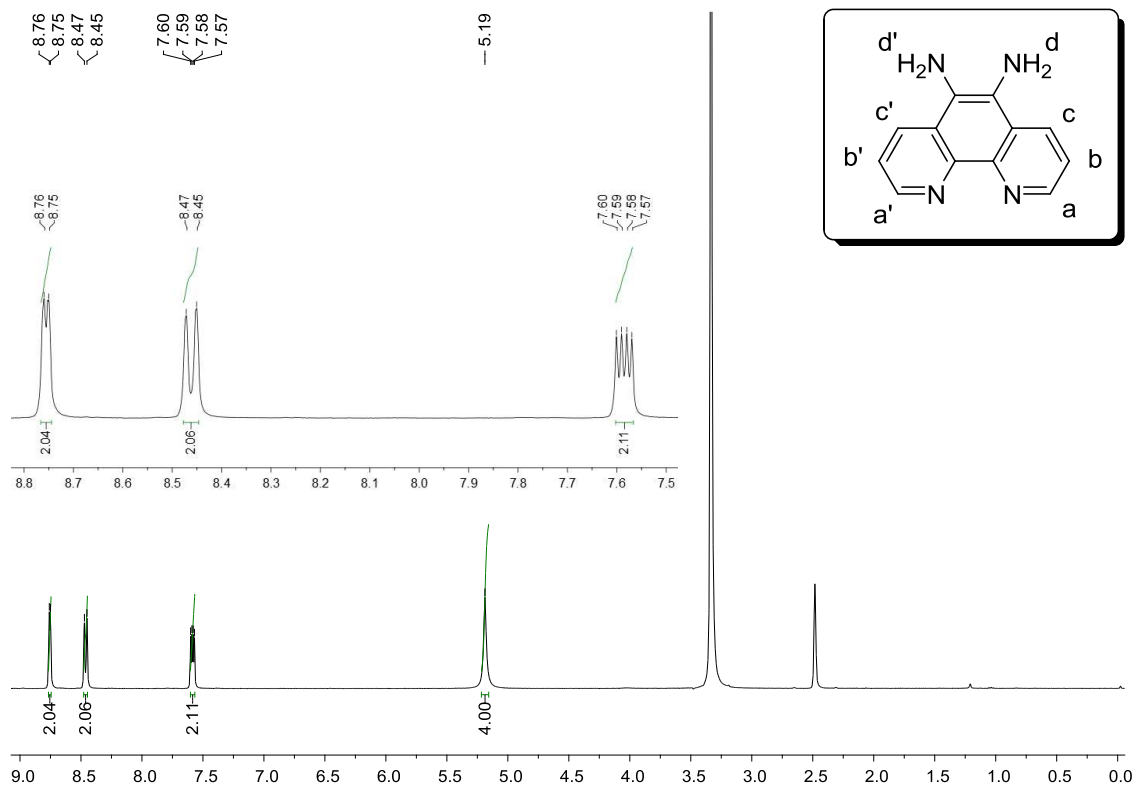


Figura A4: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CD₃OD) da substância **49**.

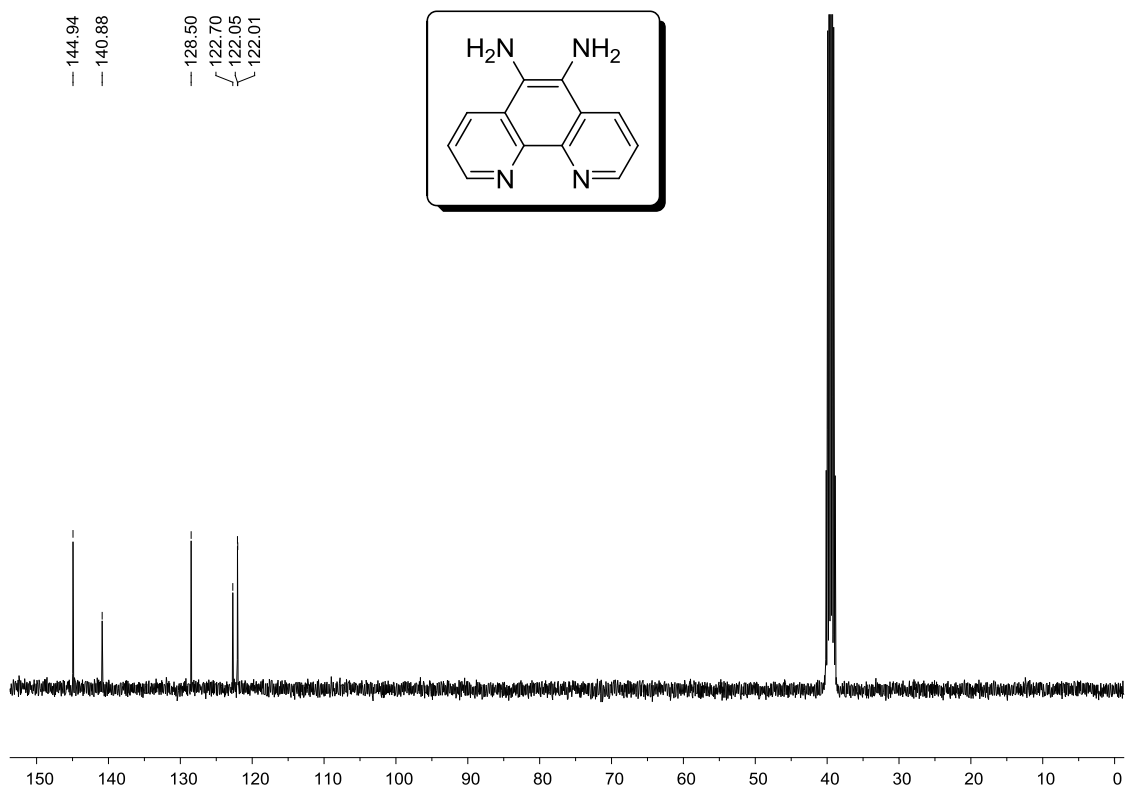


Figura A5: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CD_3OD) da substância **49**.

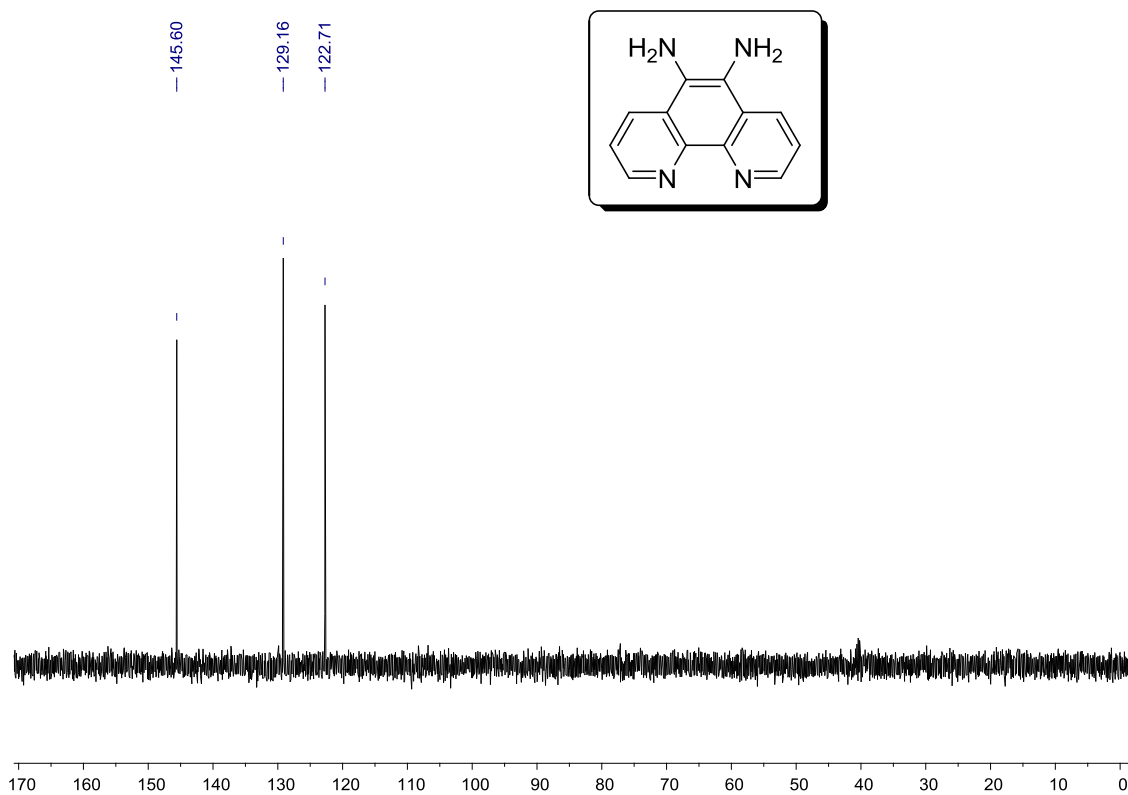


Figura A6: Espectro de RMN de DEPT (50 MHz, CD_3OD) da substância **49**.

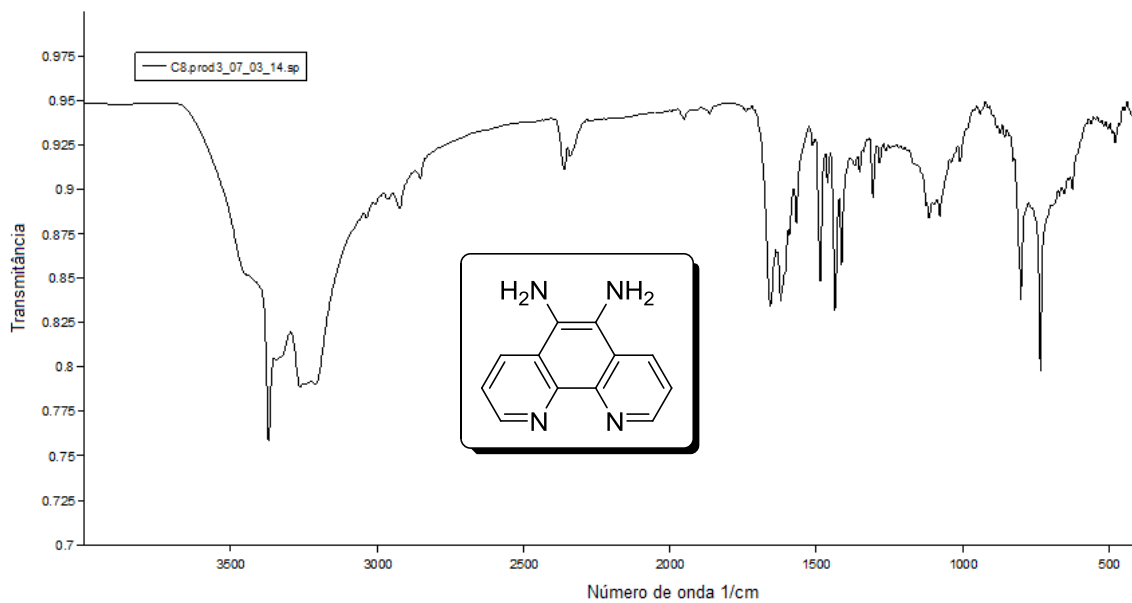


Figura A7: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **49**.

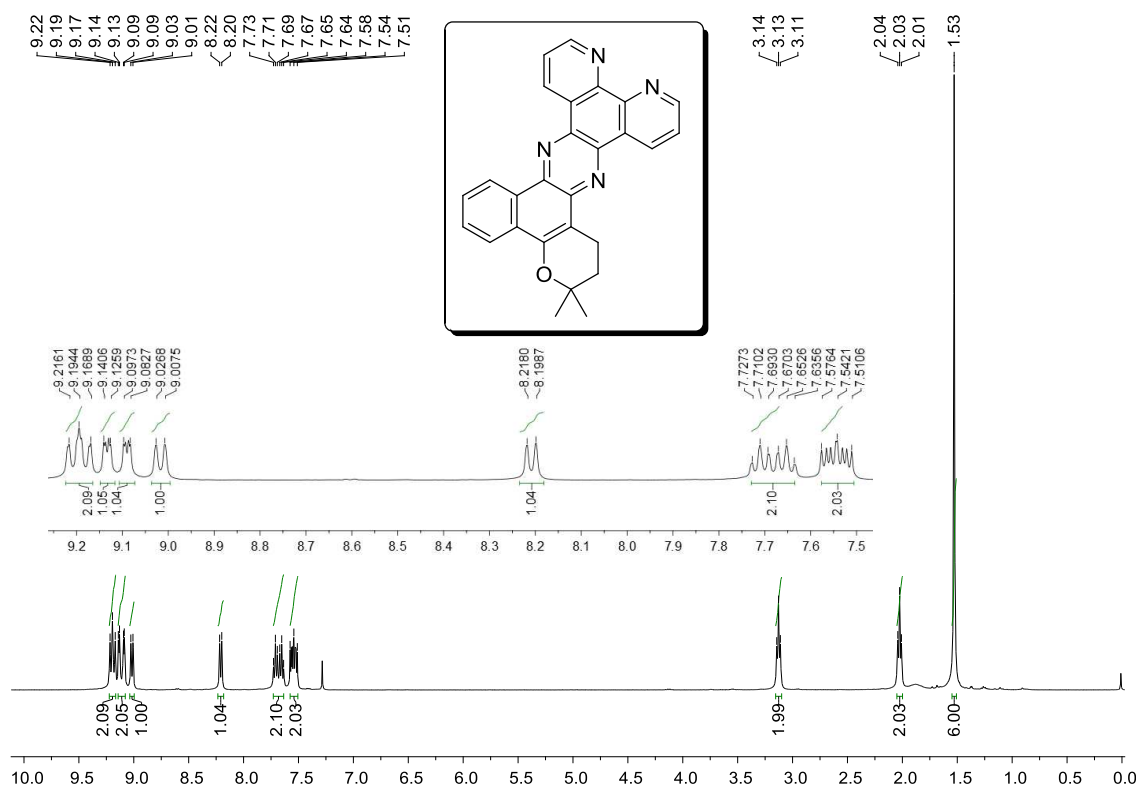


Figura A8: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **50**.

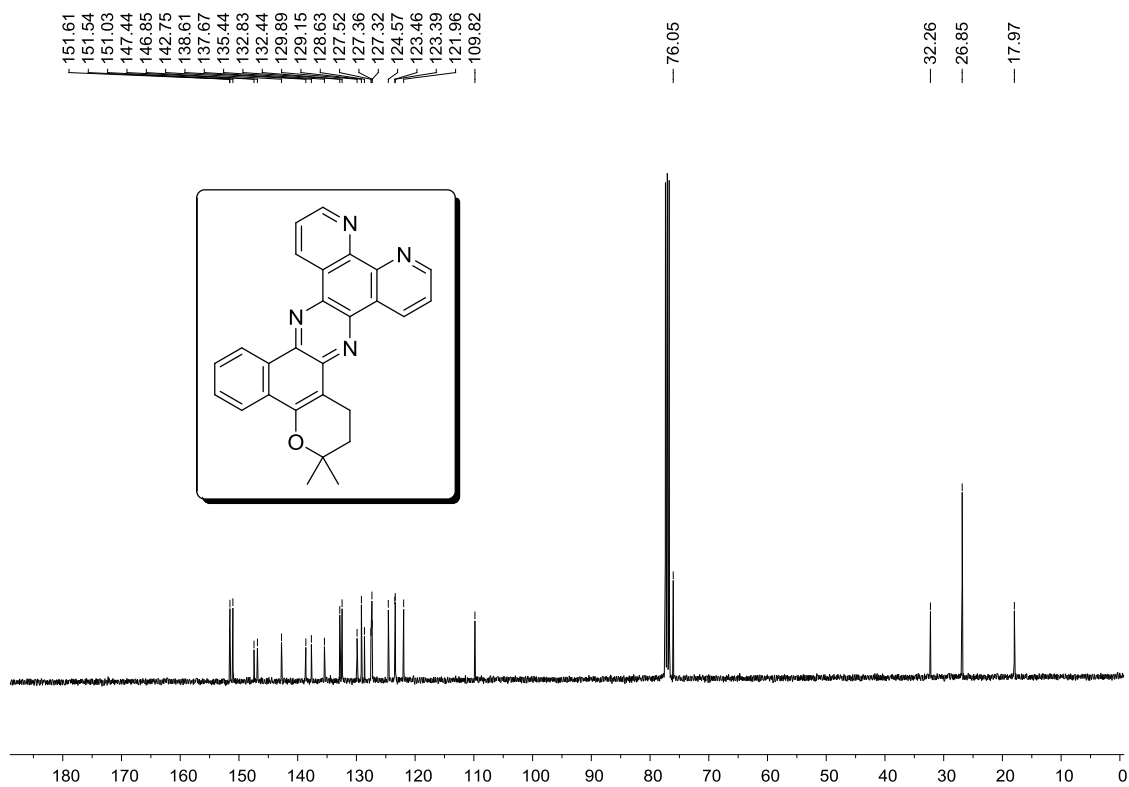


Figura A9: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3) da substância **50**.

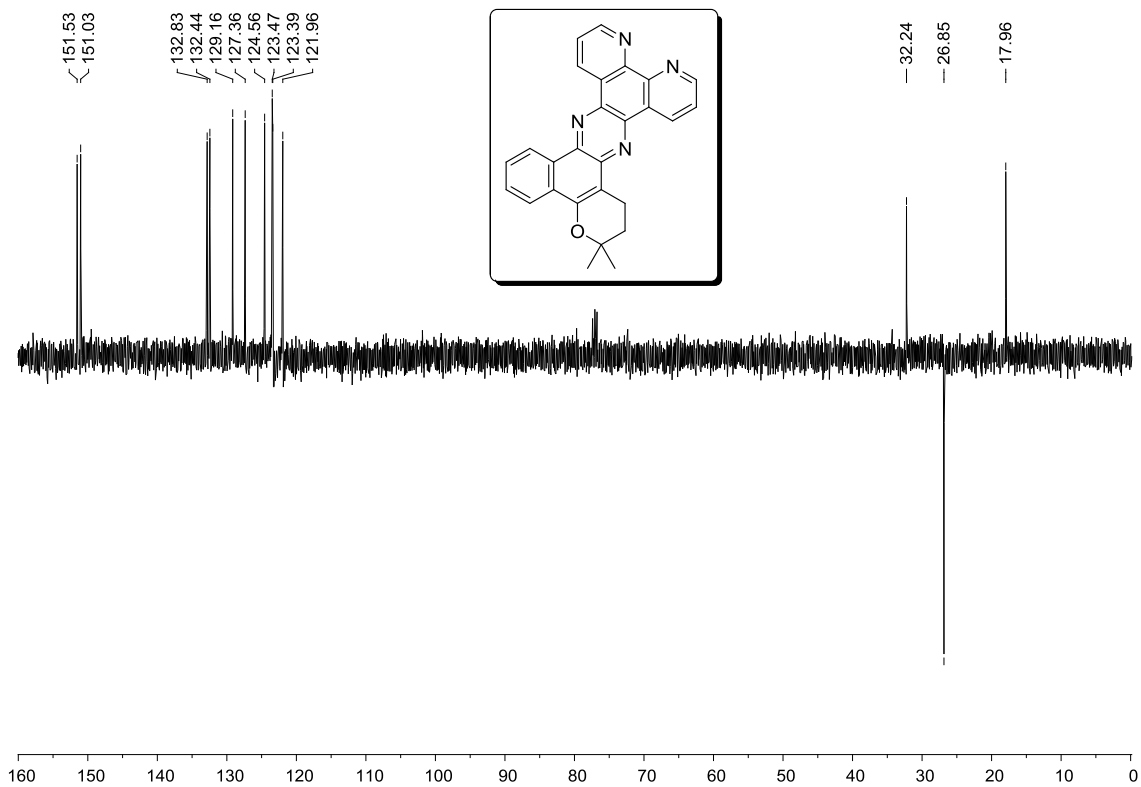


Figura A10: Espectro de RMN de DEPT (100 MHz, CDCl_3) da substância **50**.

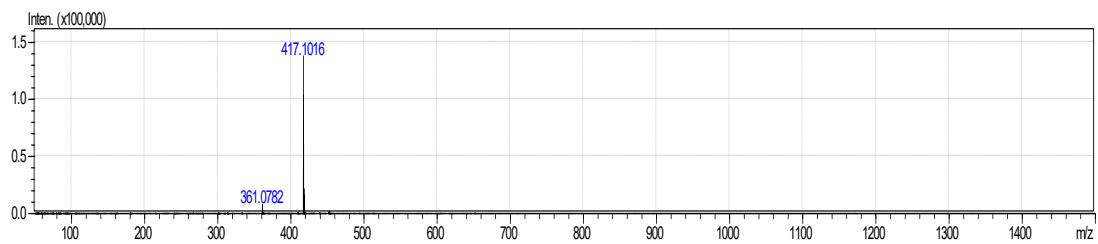


Figura A11: Espectro de Massa da substância **50**.

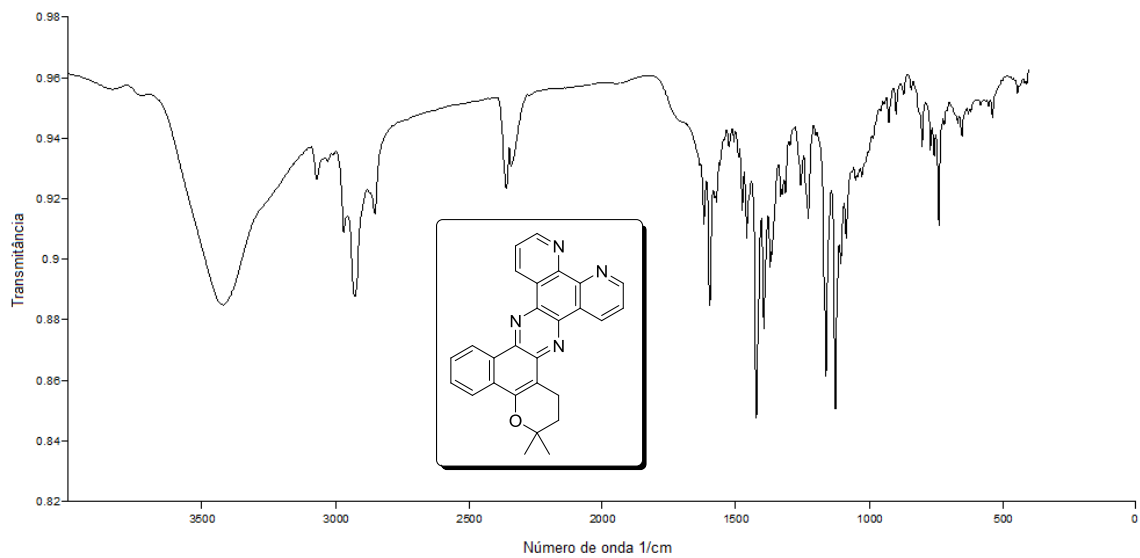


Figura A12: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **50**.

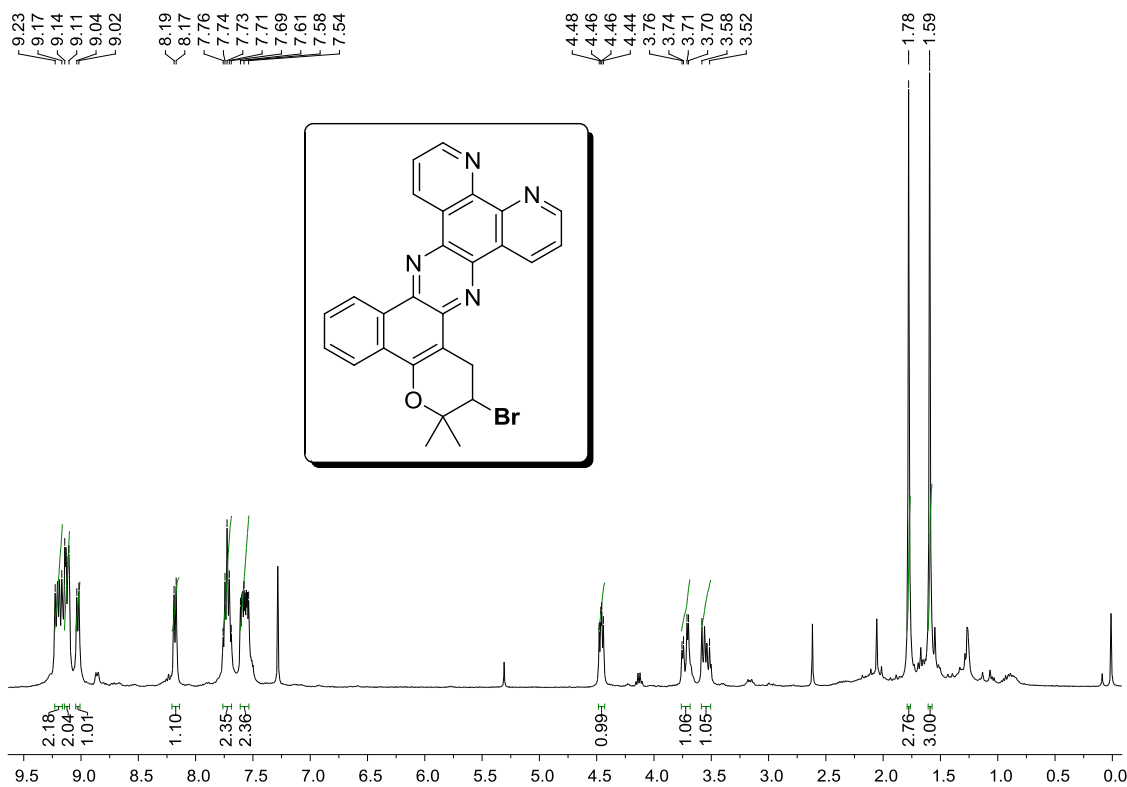


Figura A13: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **51**.

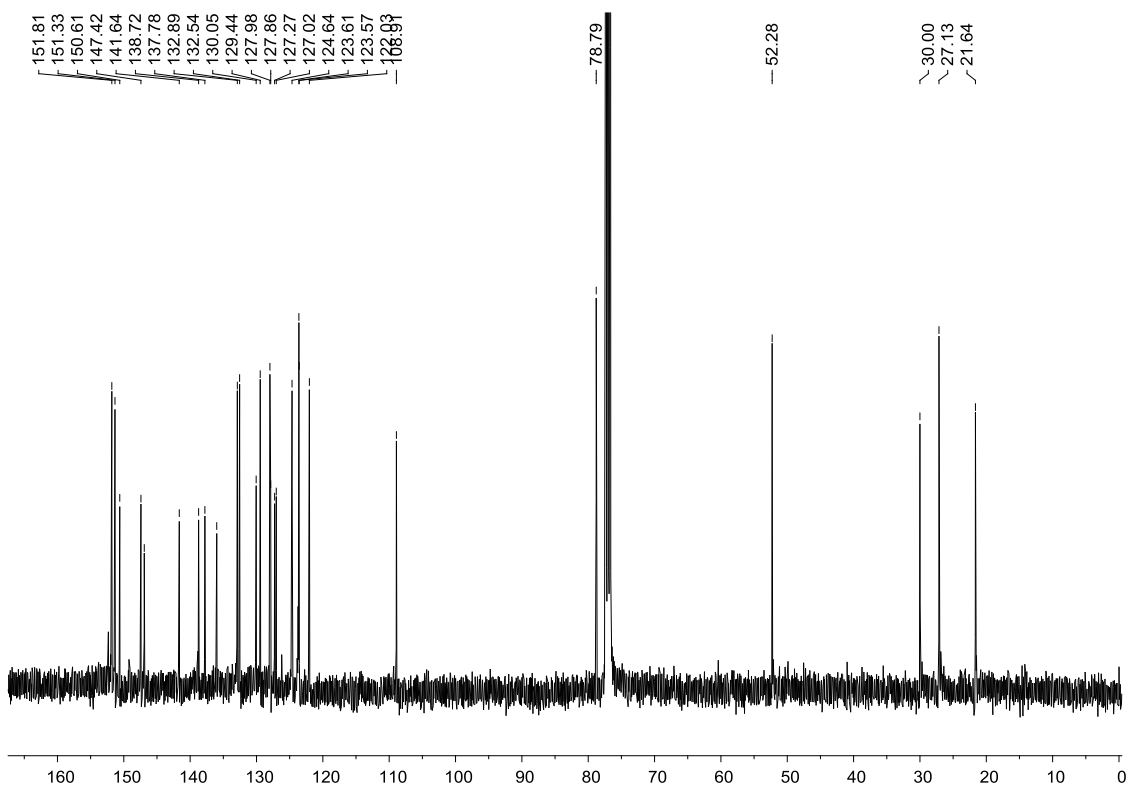


Figura A14: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CDCl₃) da substância **51**.

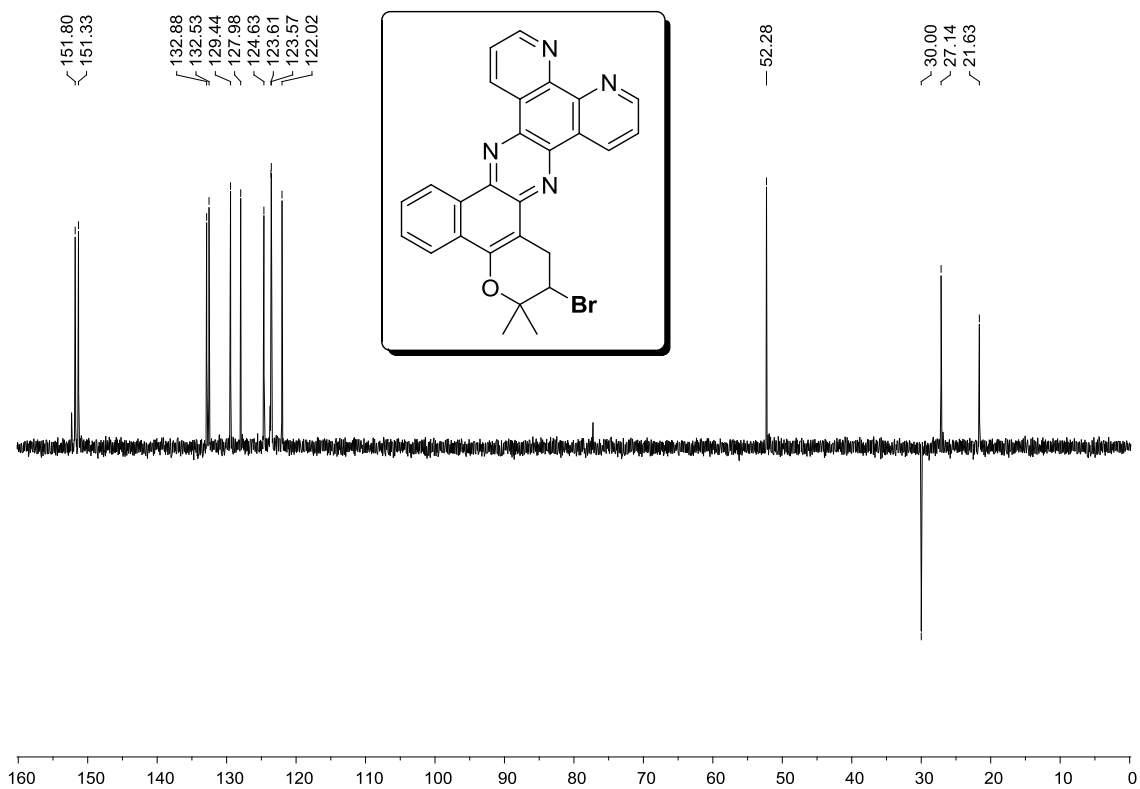


Figura A15: Espectro de RMN de DEPT (100 MHz, CDCl₃) da substância **51**.

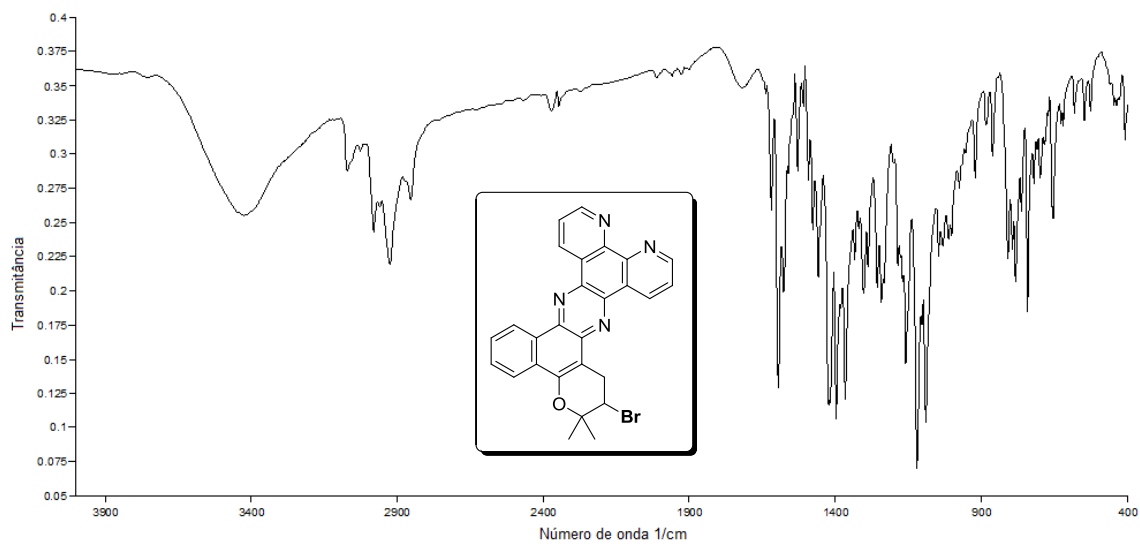


Figura A16: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **51**.

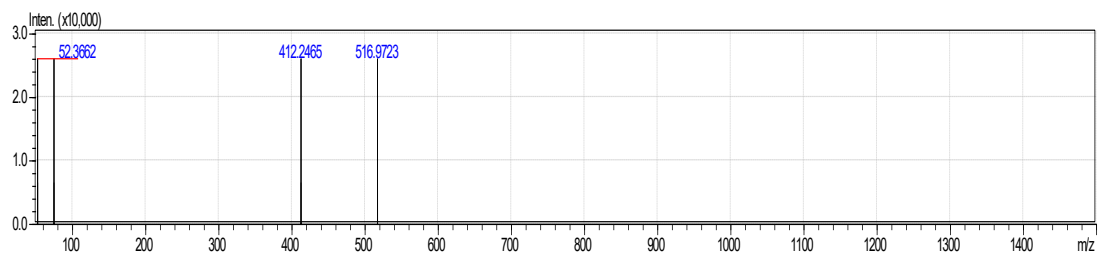


Figura A17: Espectro de Massa da substância **51**.

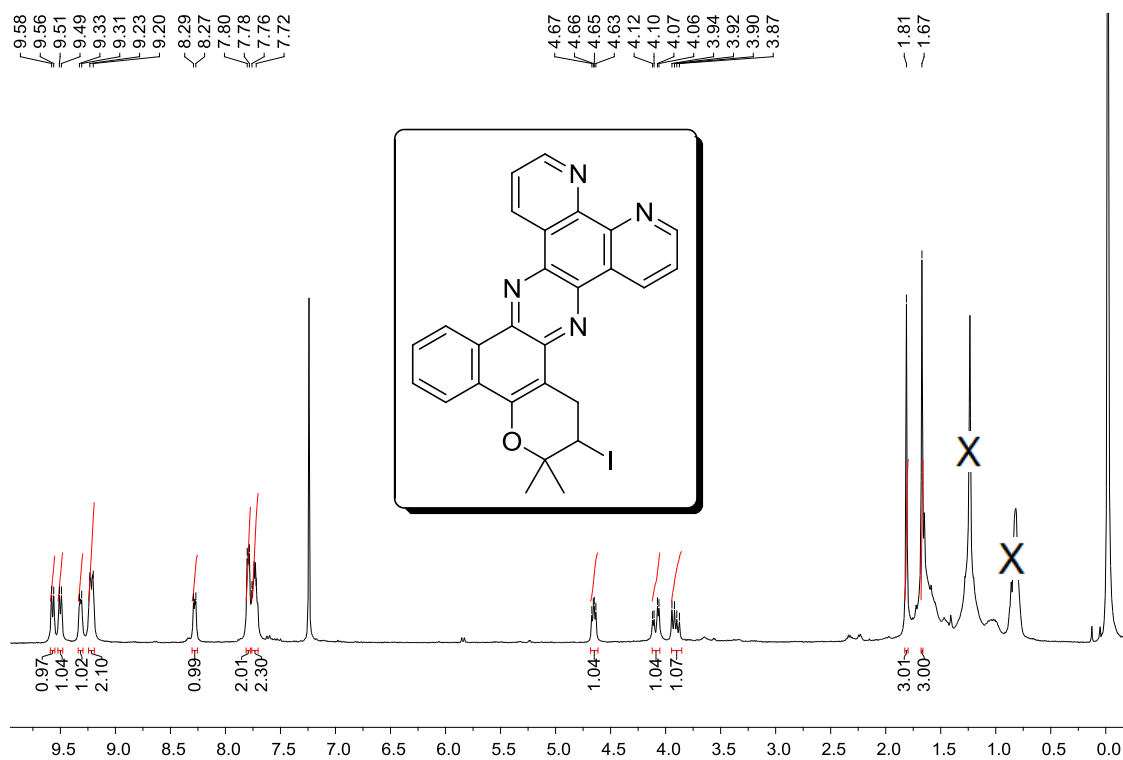


Figura A18: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **52**.

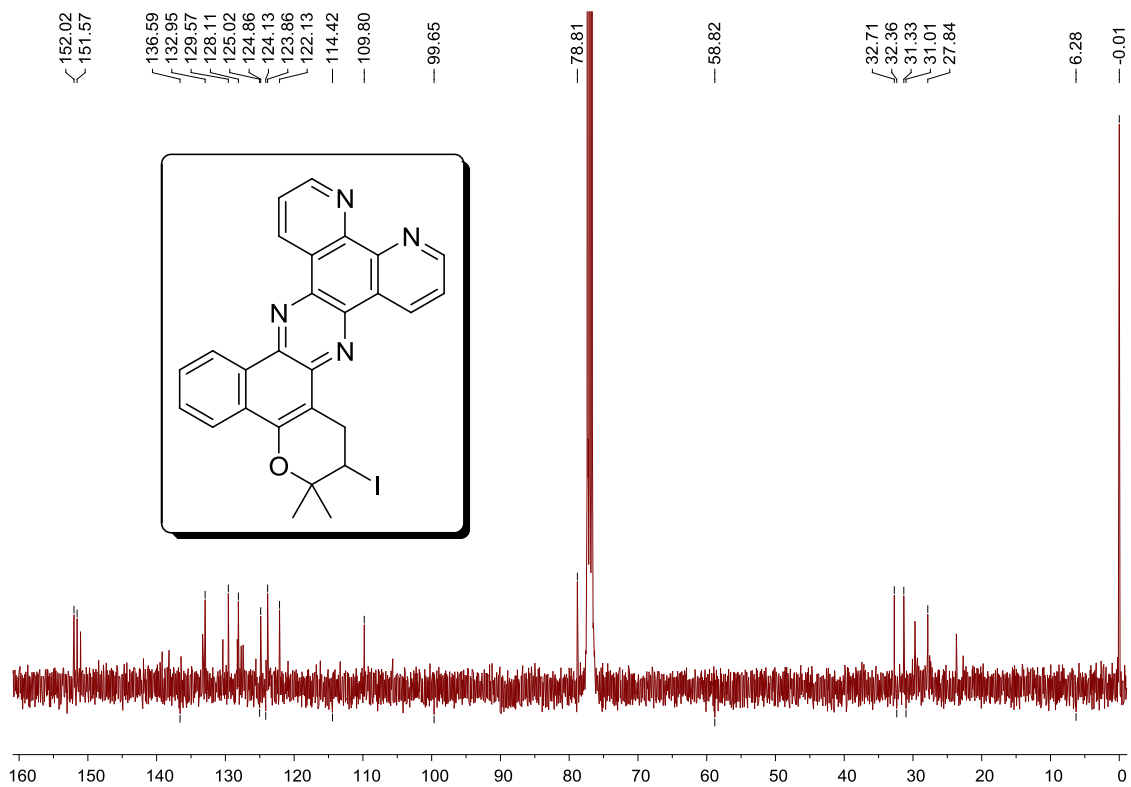


Figura A19: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3) da substância **52**.

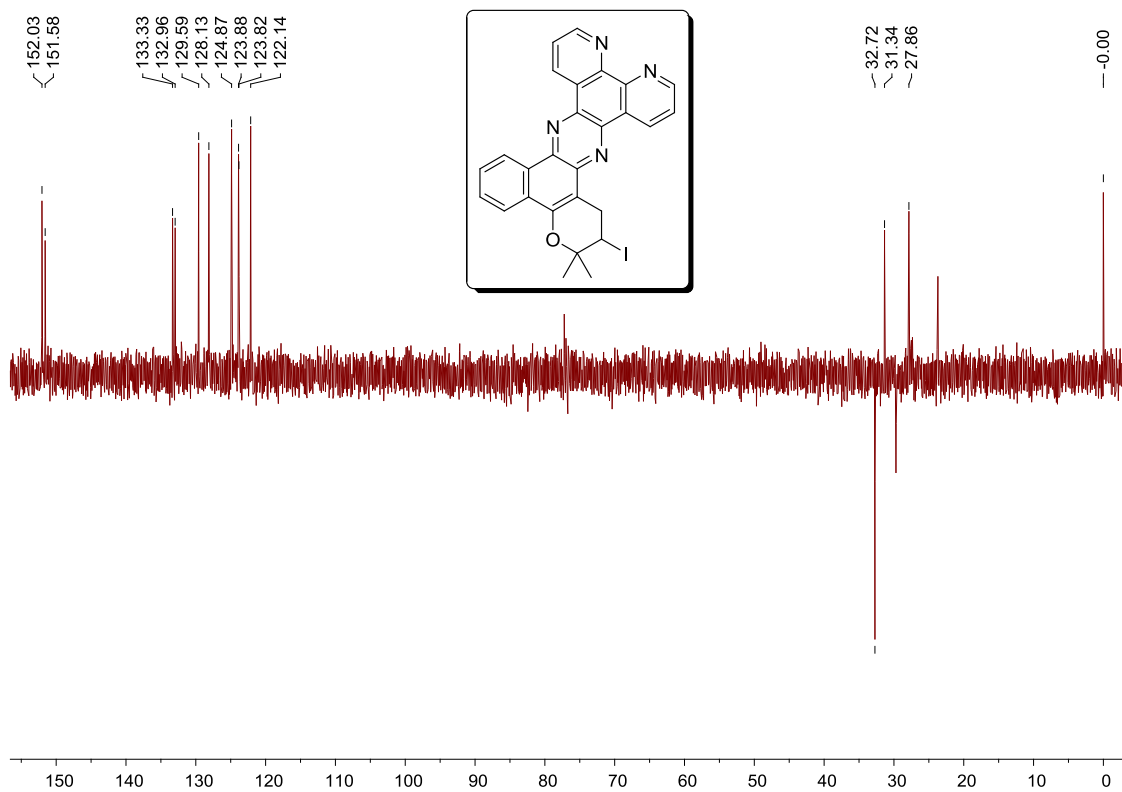


Figura A20: Espectro de RMN de DEPT (100 MHz, CDCl_3) da substância **52**.

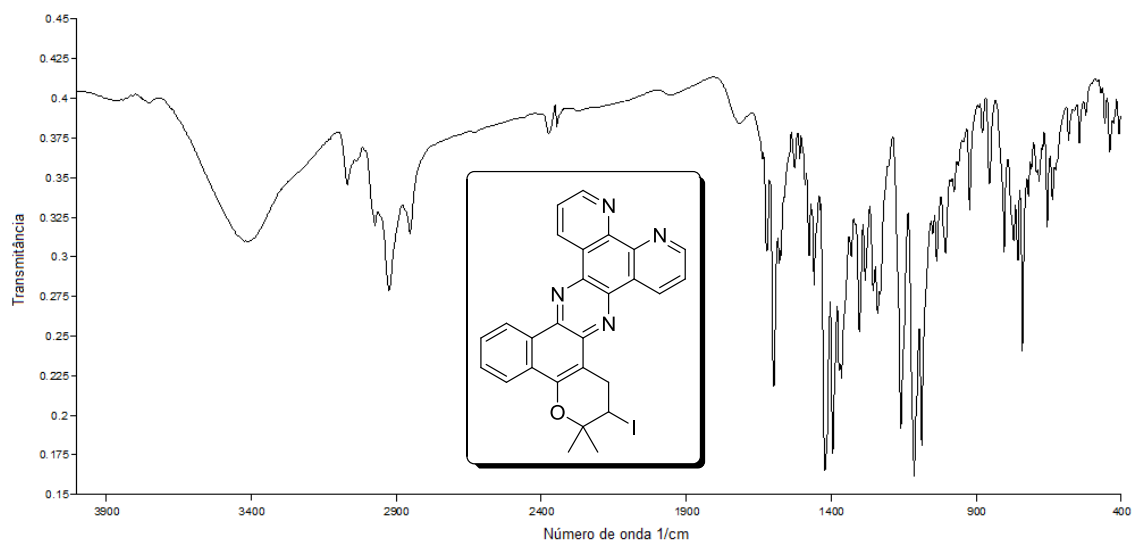


Figura A21: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **52**.

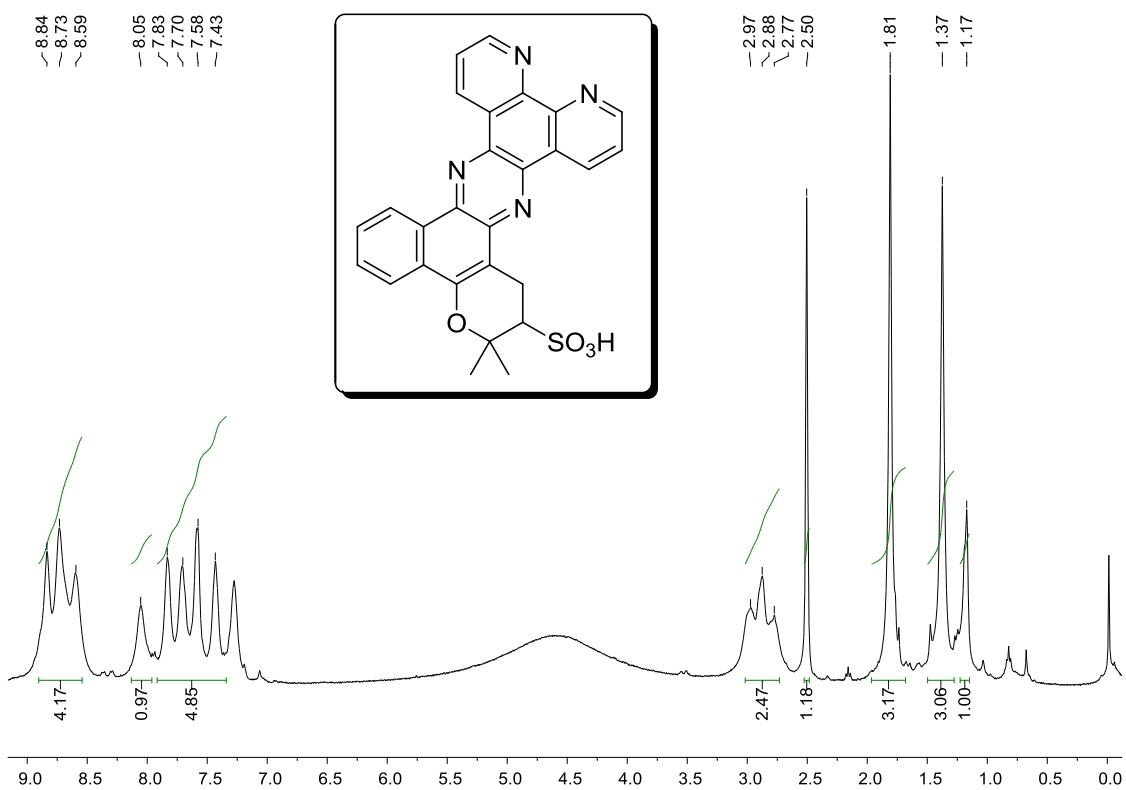


Figura A22: Espectro de RMN de ^1H cc (400 MHz, CDCl_3) da substância **53**.

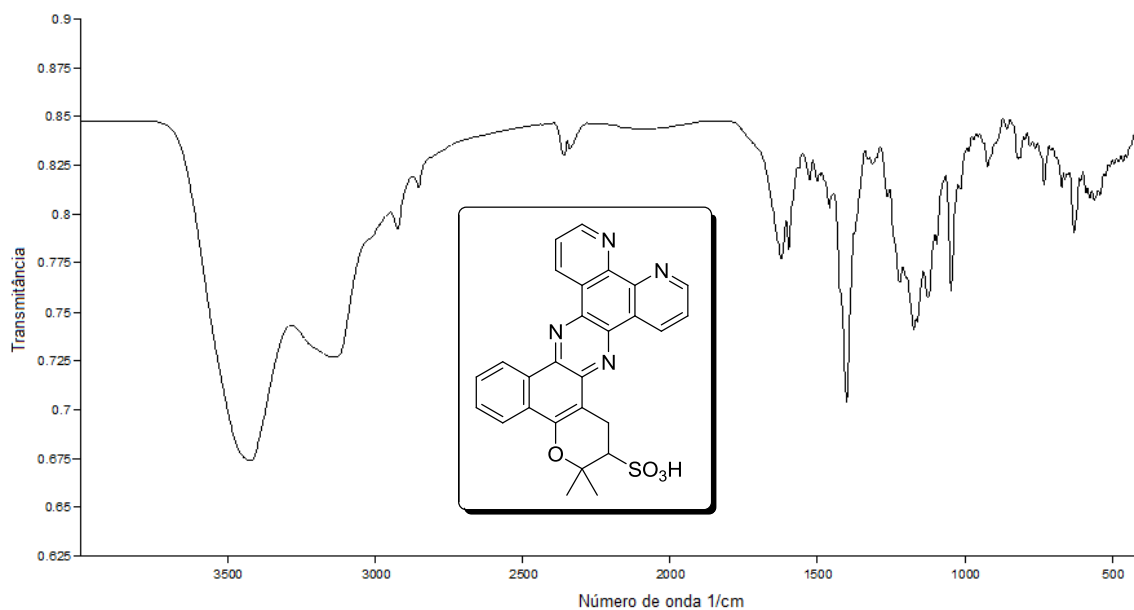


Figura A23: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **53**.

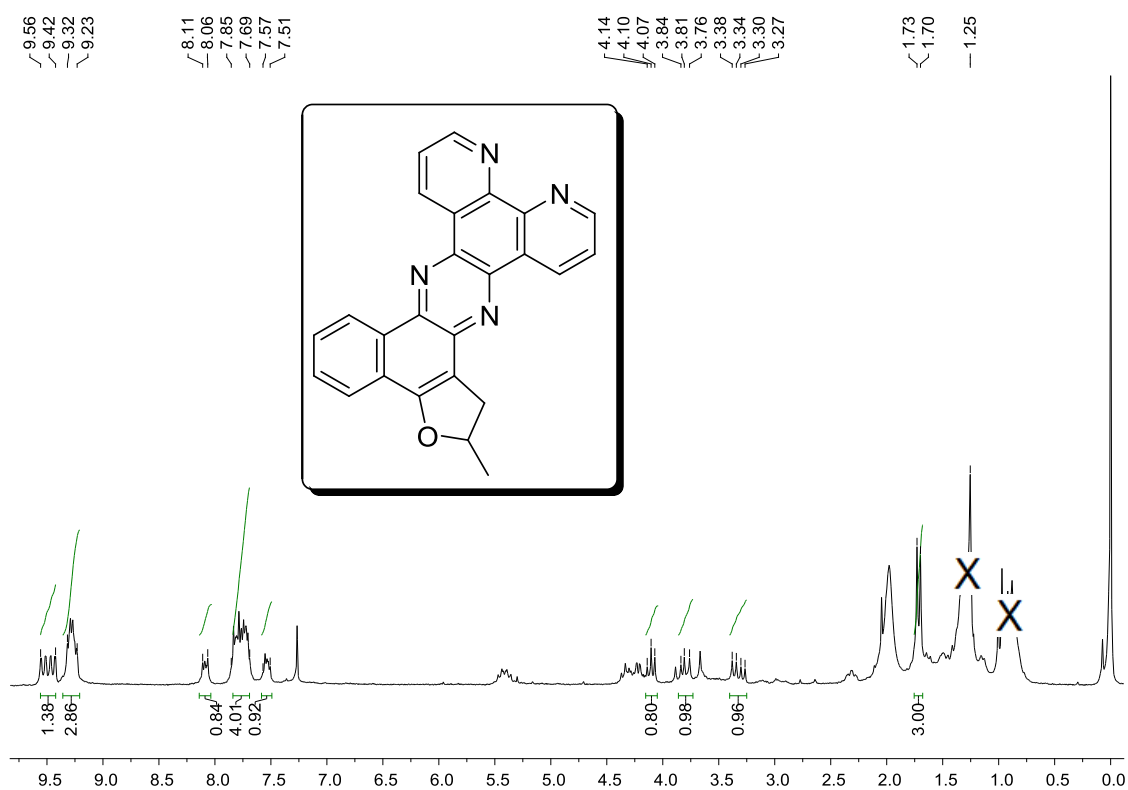


Figura A24: Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) da substância **54**.

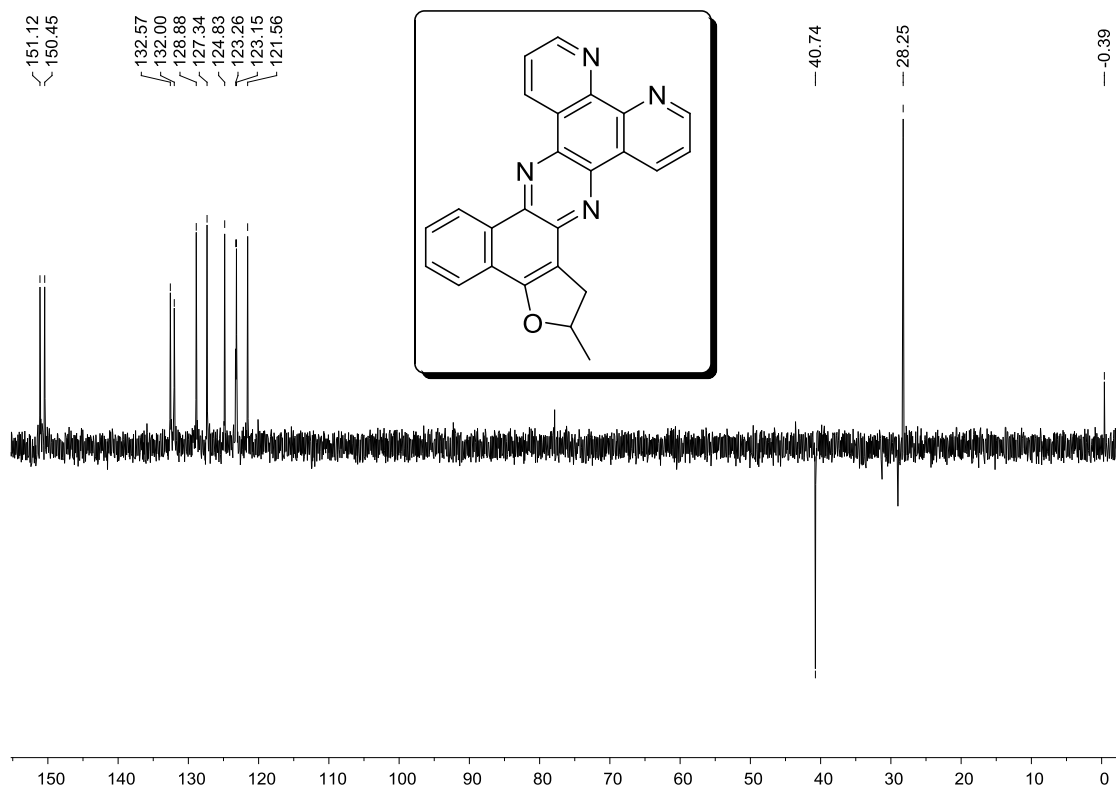


Figura A25: Espectro de RMN de DEPT (50 MHz, CDCl_3) da substância **54**.

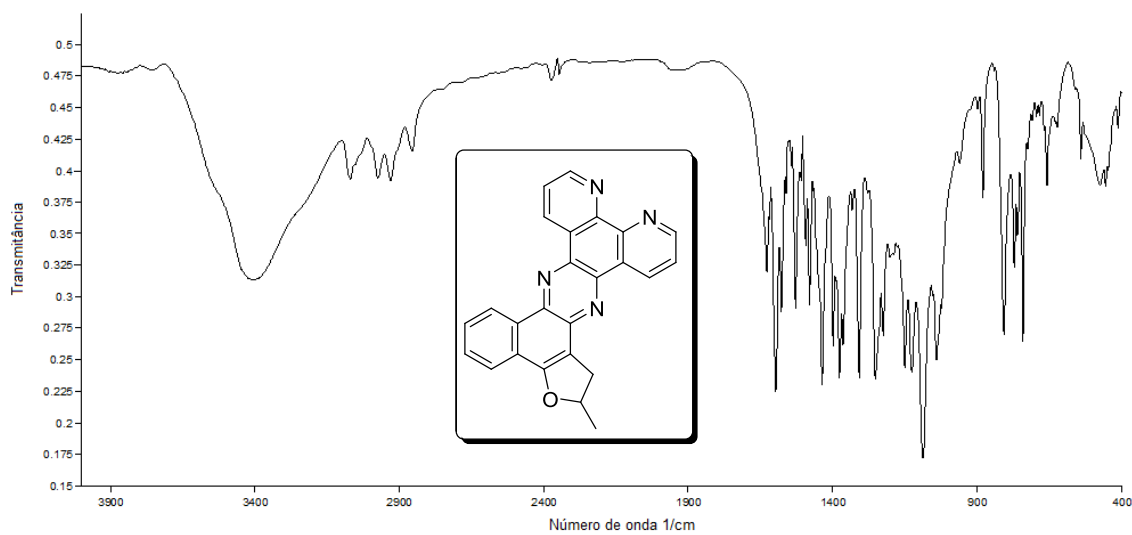


Figura A26: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **54**.

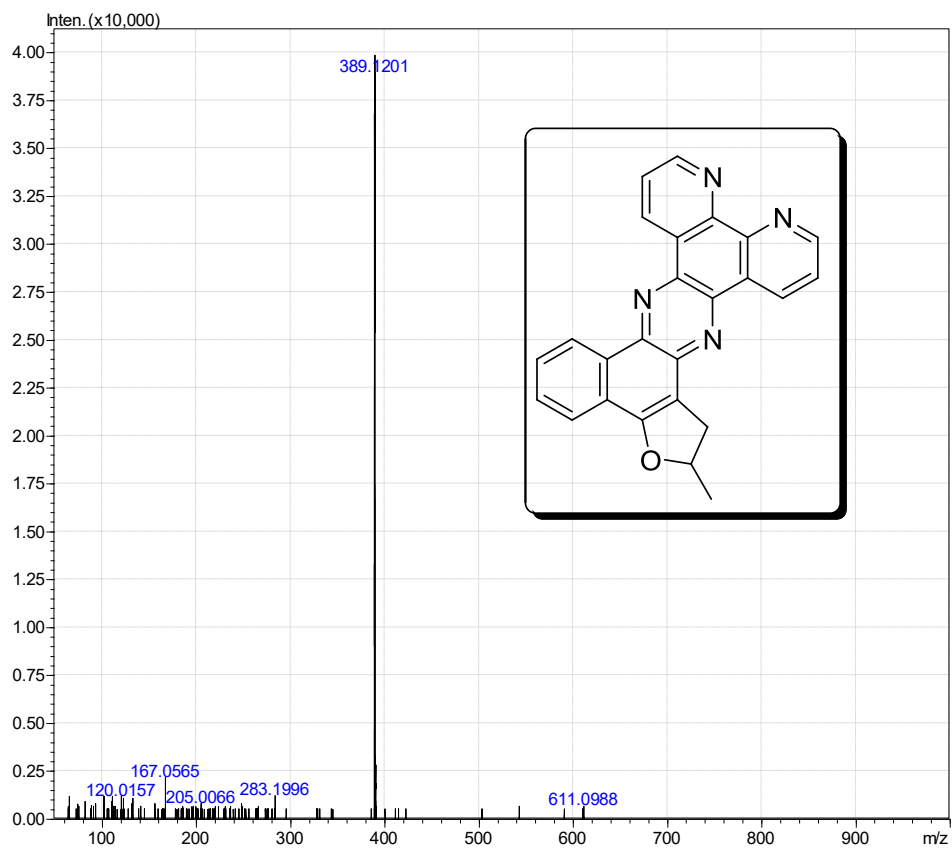


Figura A27: Espectro de Massa da substância **54**.

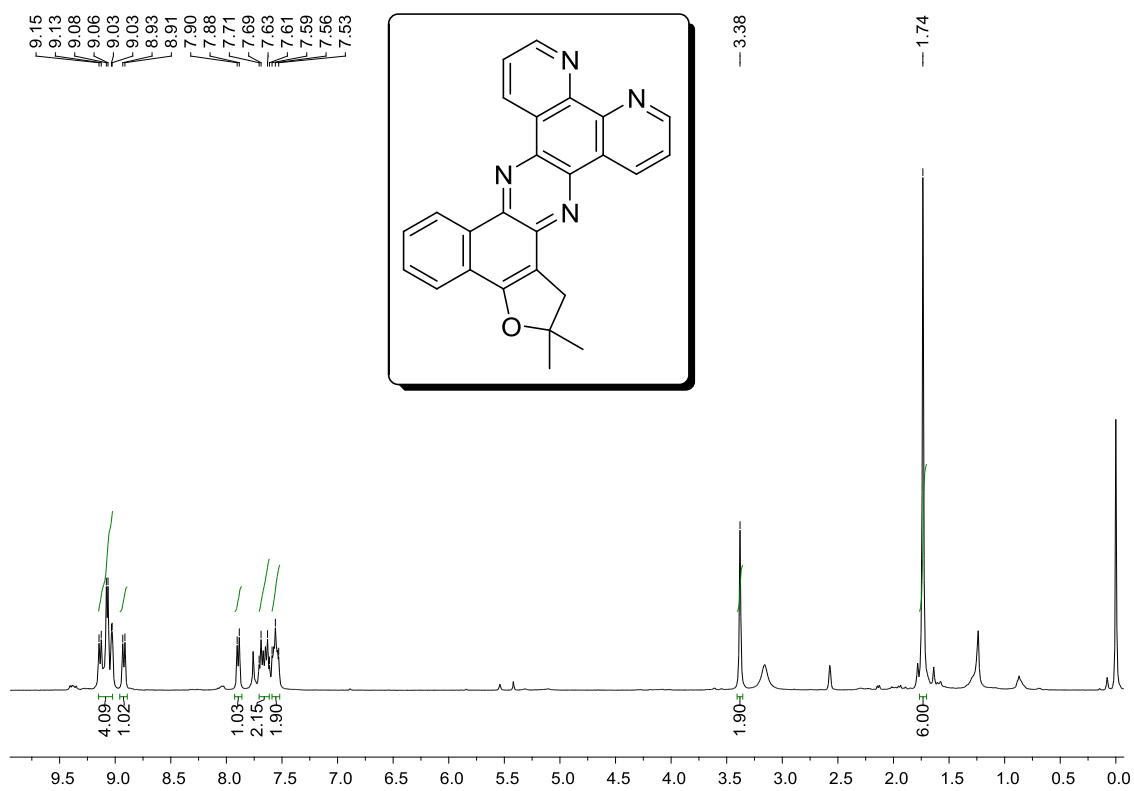


Figura A28: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da substância **55**.

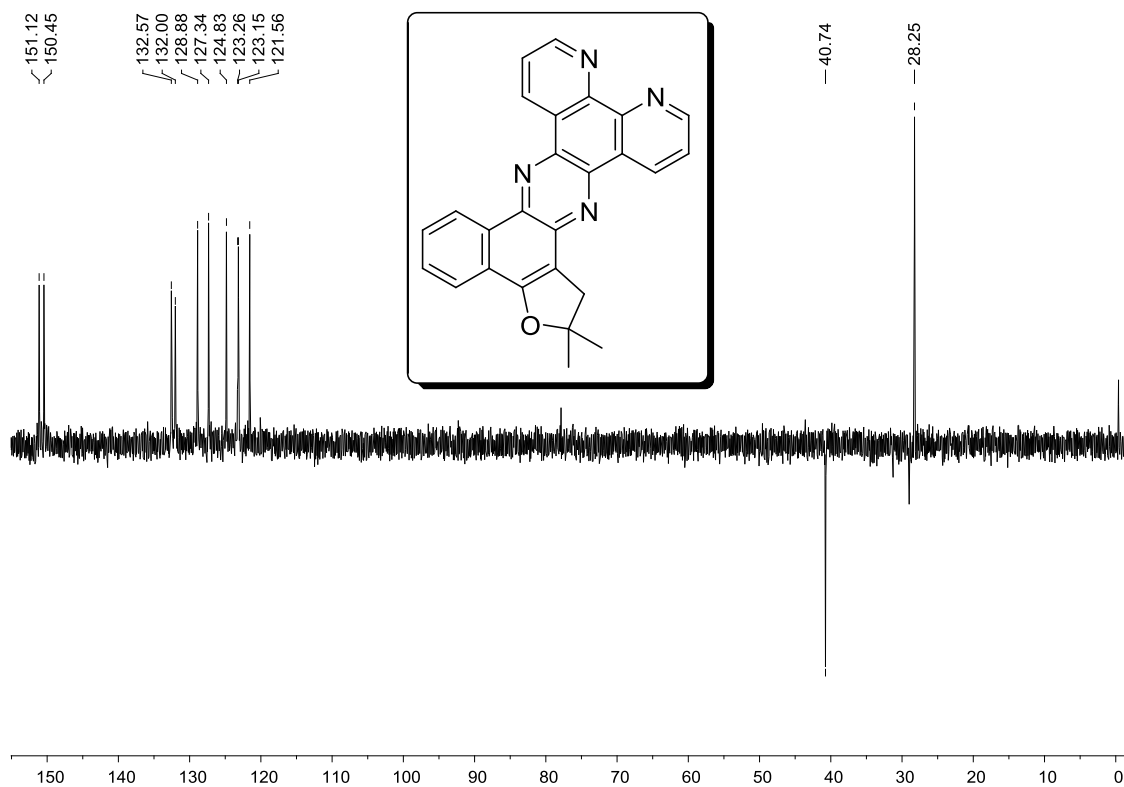


Figura A29: Espectro de RMN de DEPT (50 MHz, CDCl_3) da substância **55**.

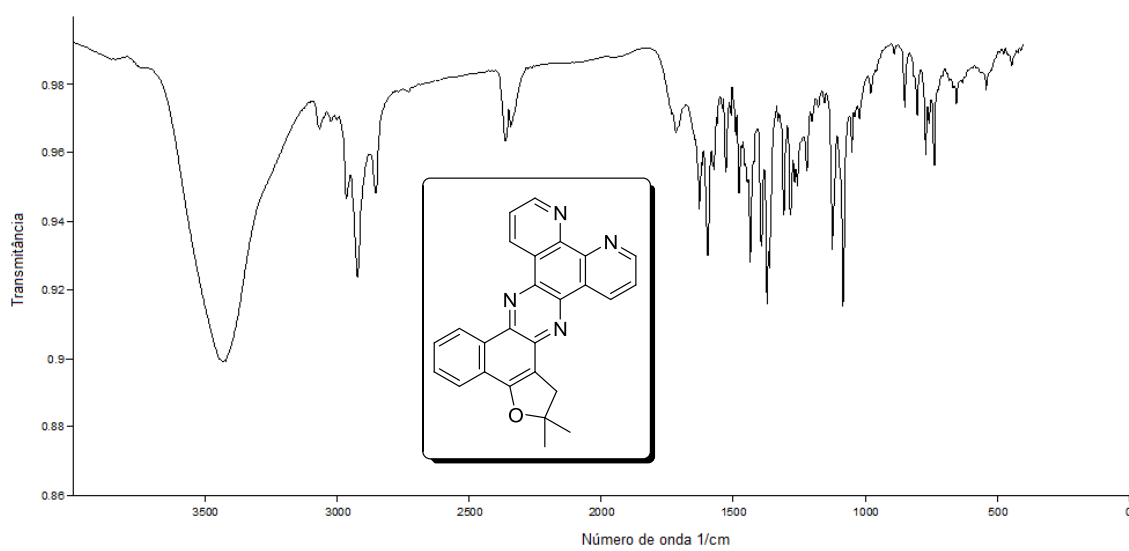


Figura A30: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **55**.

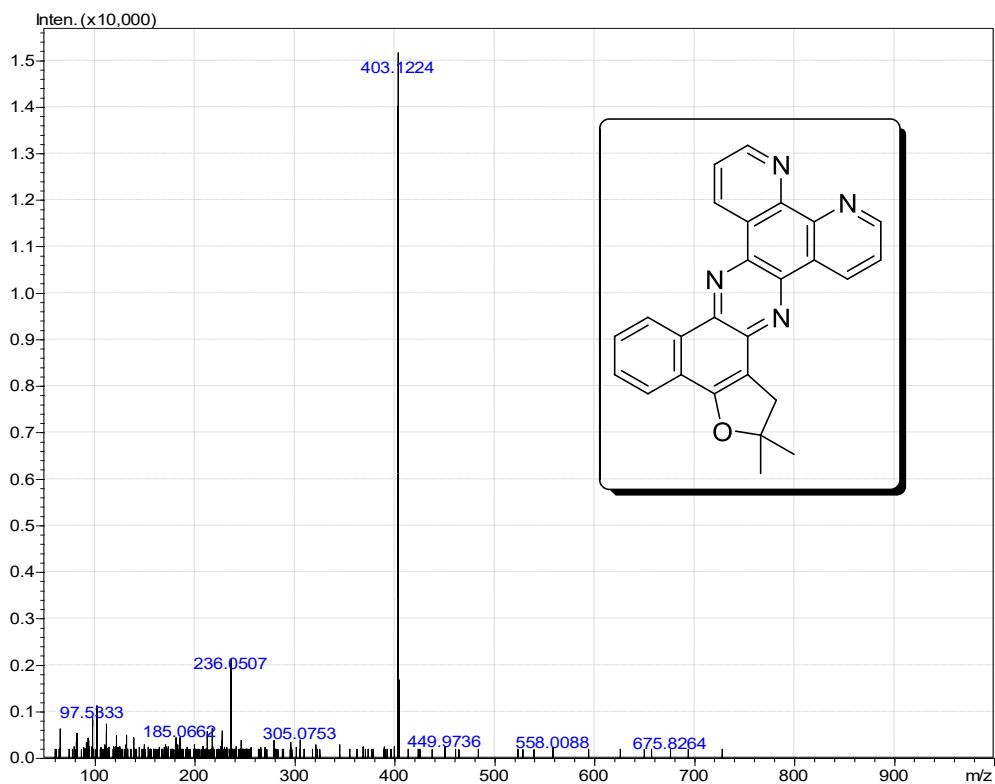


Figura A31: Espectro de Massa da substância 55.

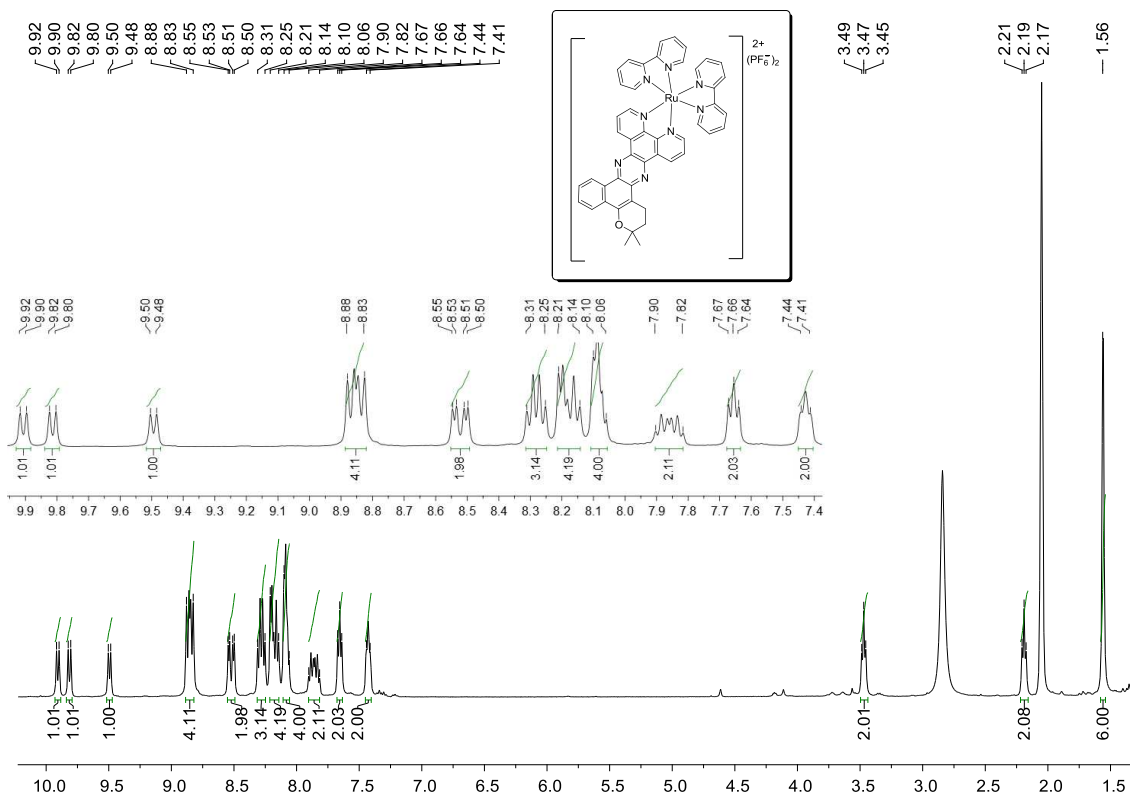


Figura A32: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância 57.

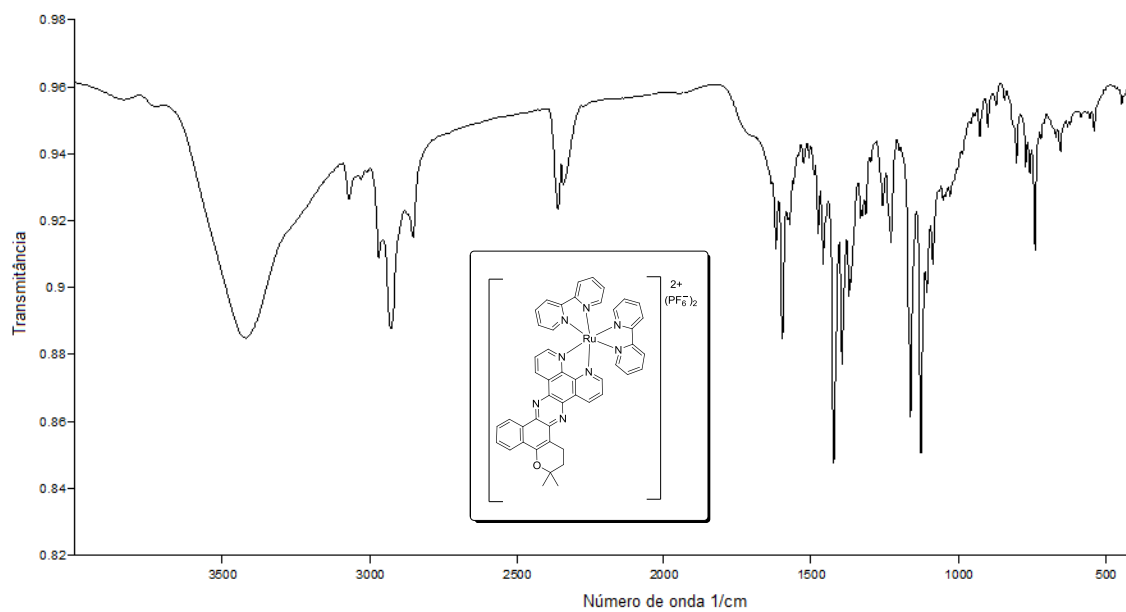


Figura A33: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **57**.

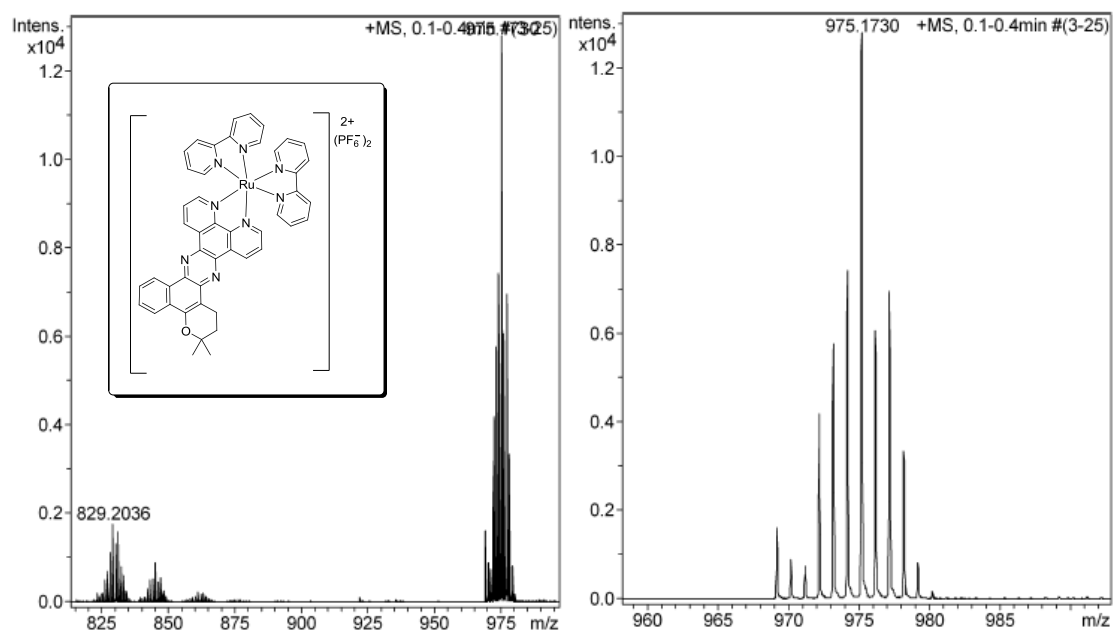


Figura A34: Espectro de Massa da substância **57**.

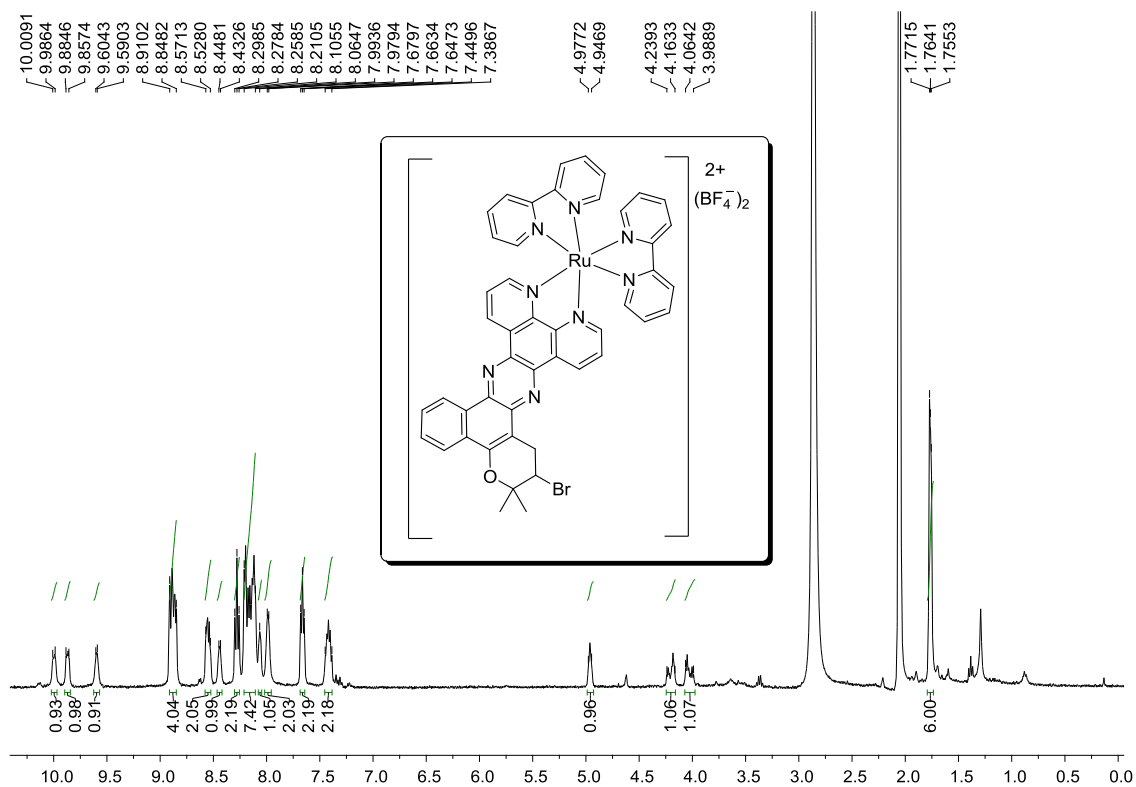


Figura A35: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância **58**.

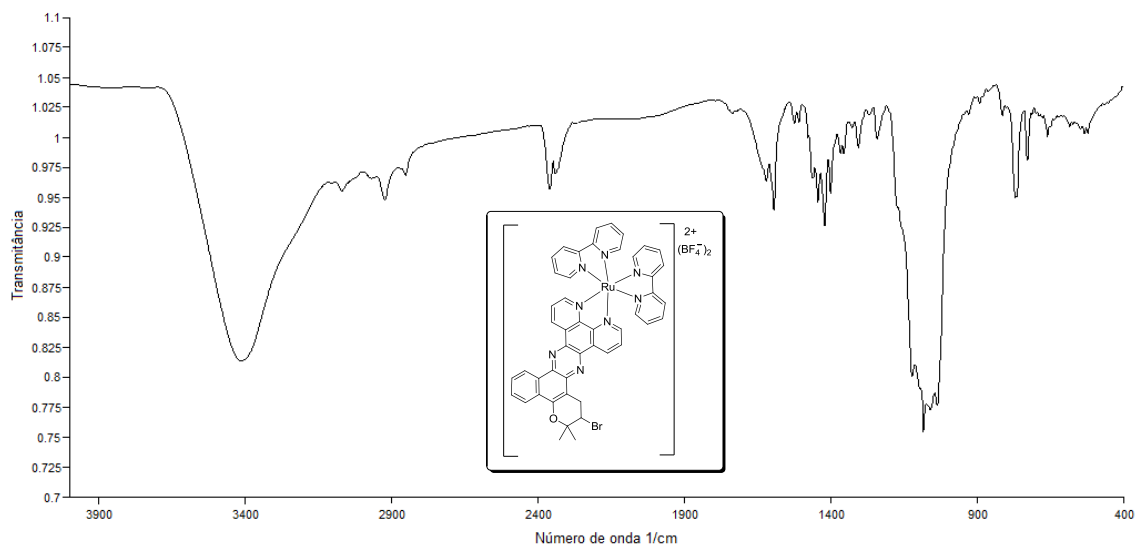


Figura A36: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **58**.

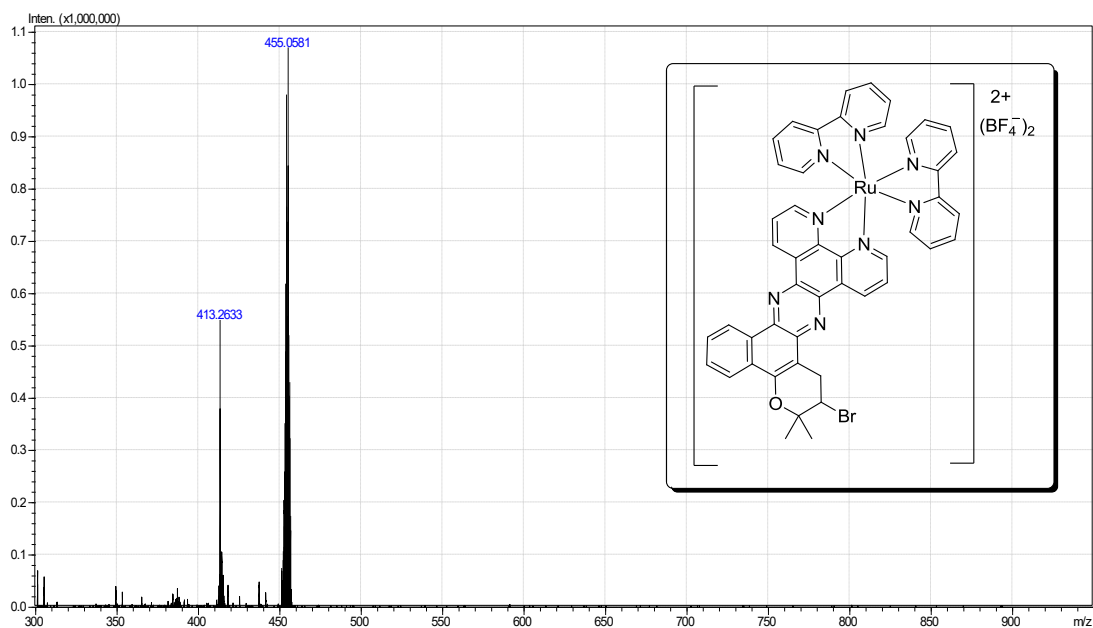


Figura A37: Espectro de Massa da substância **58**.

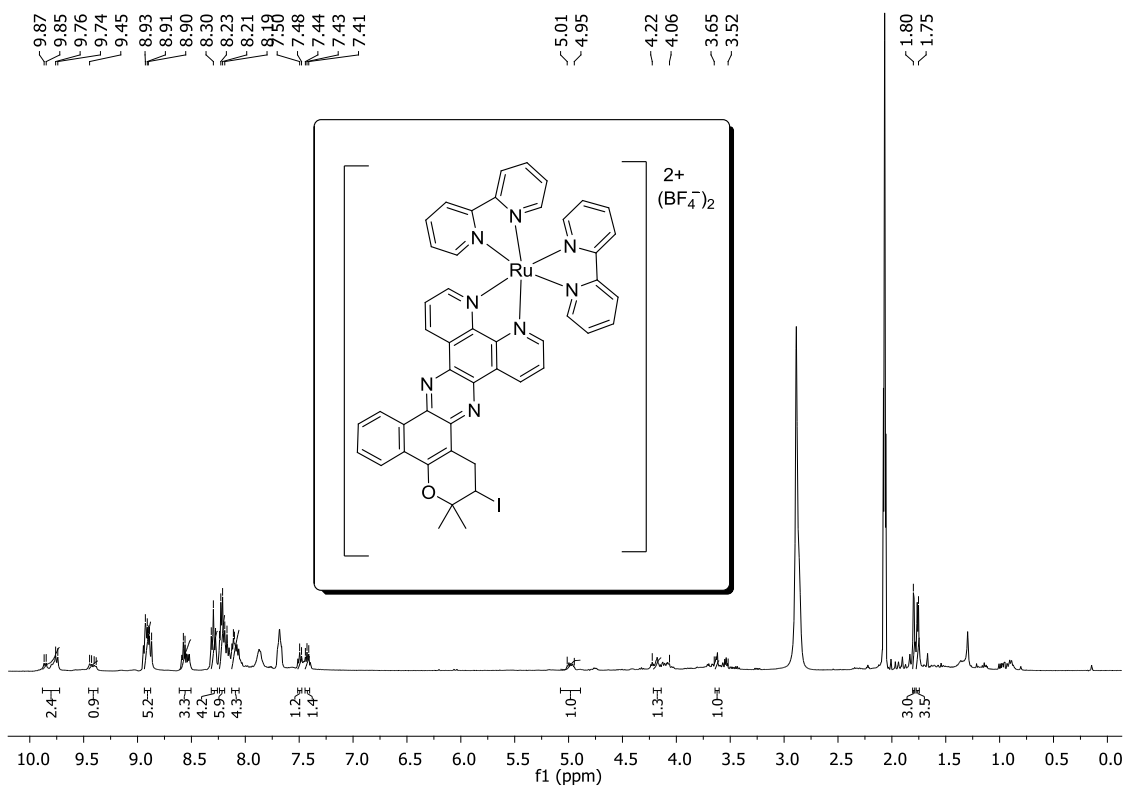


Figura A38: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância **59**.

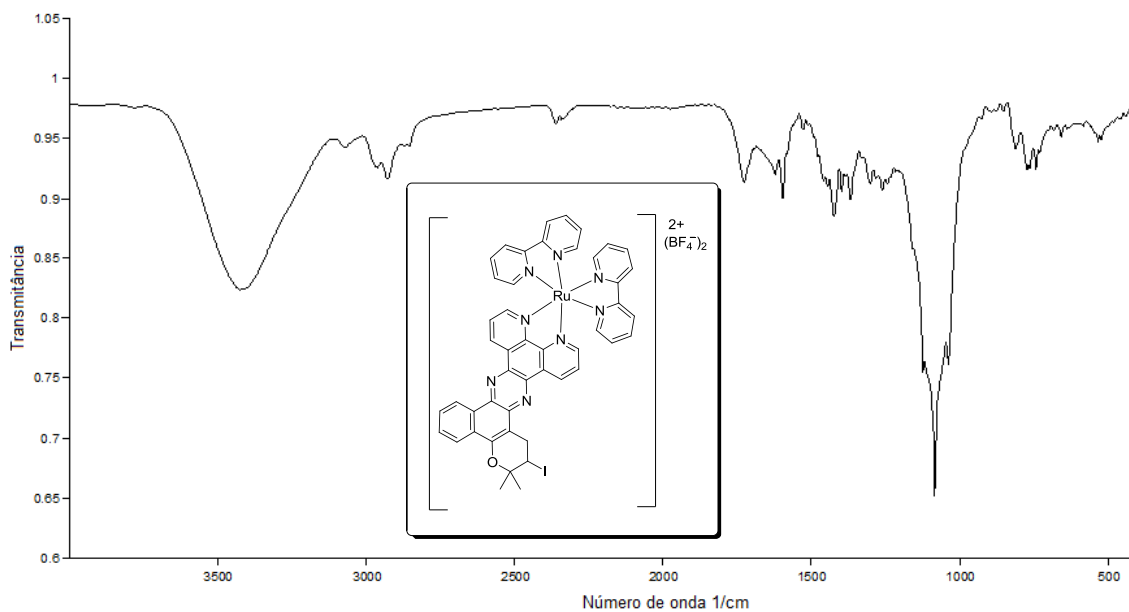


Figura A39: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **59**.

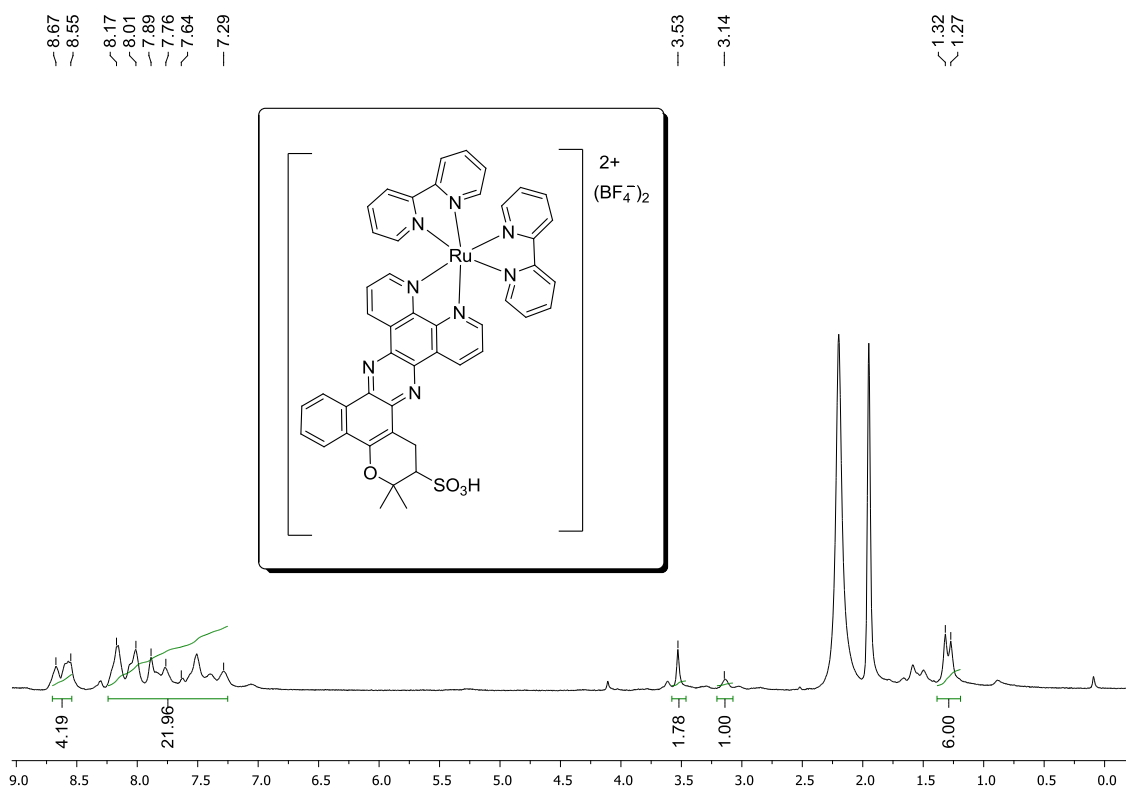


Figura A40: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância **60**.

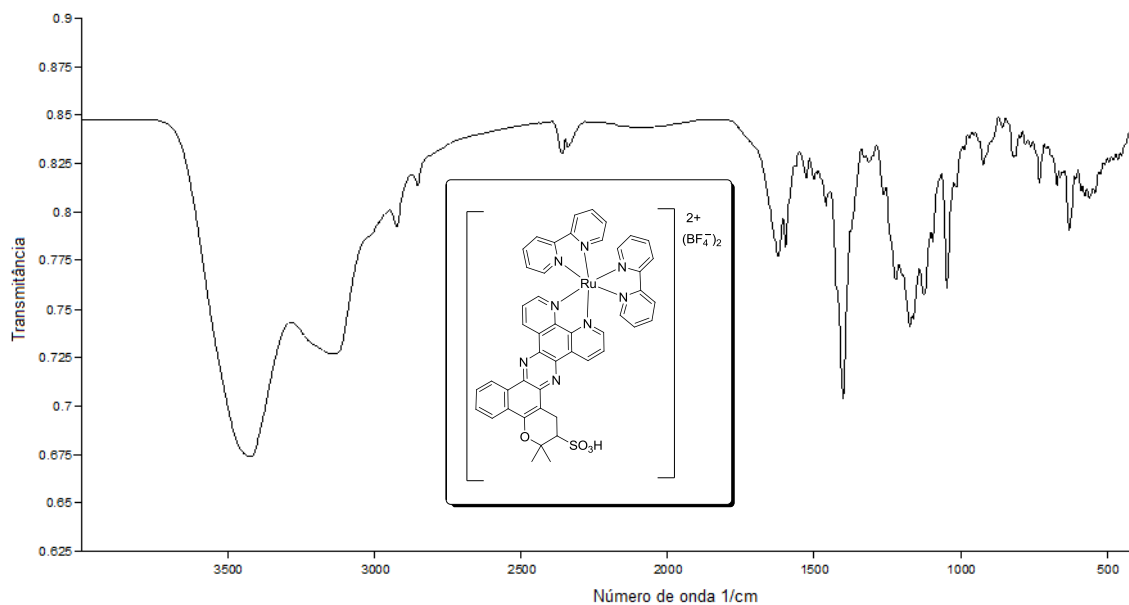


Figura A41: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **60**.

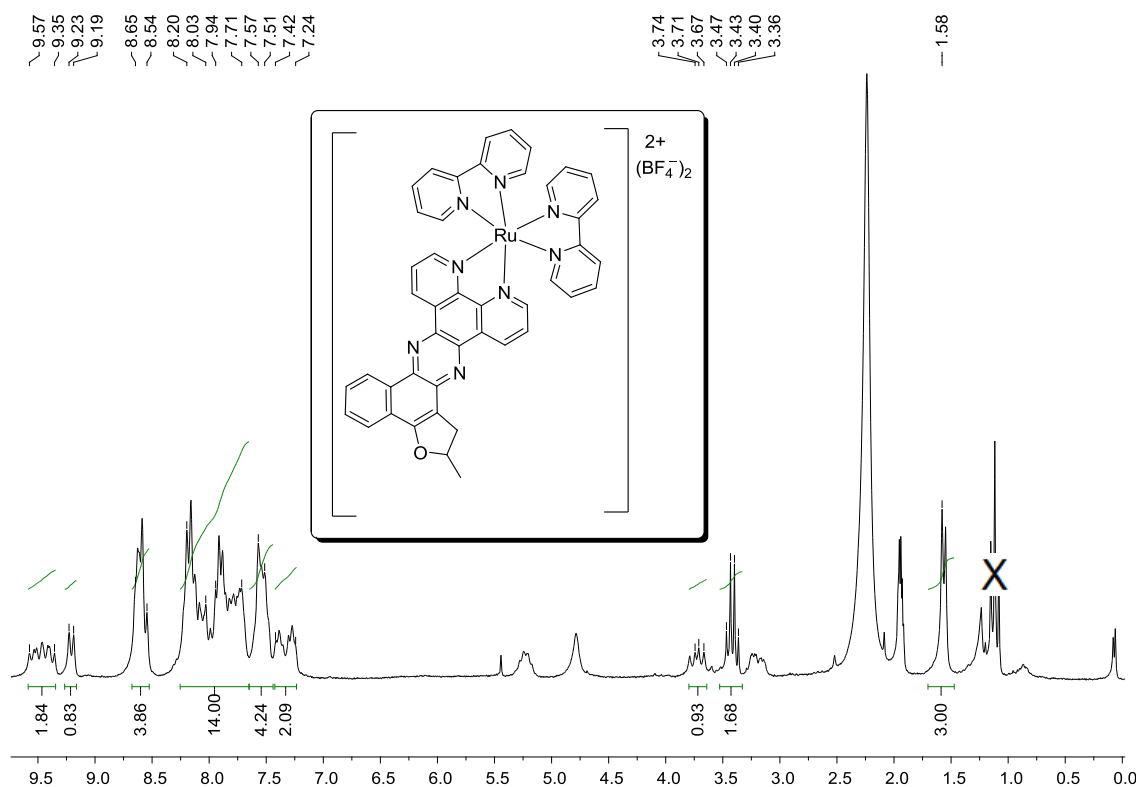


Figura A42: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância **61**.

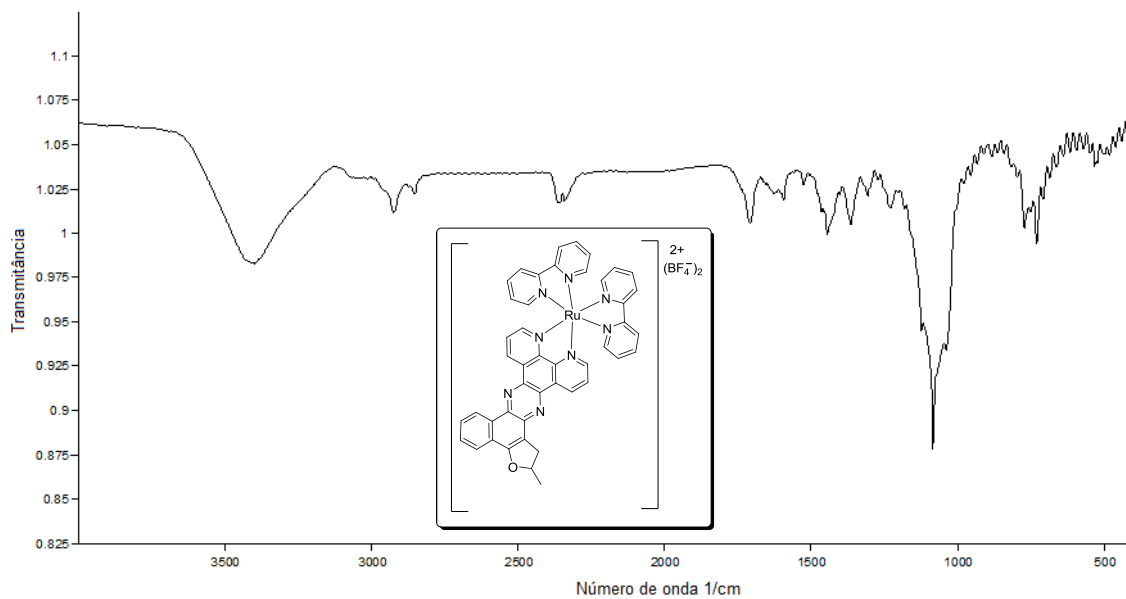


Figura A43: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **61**.

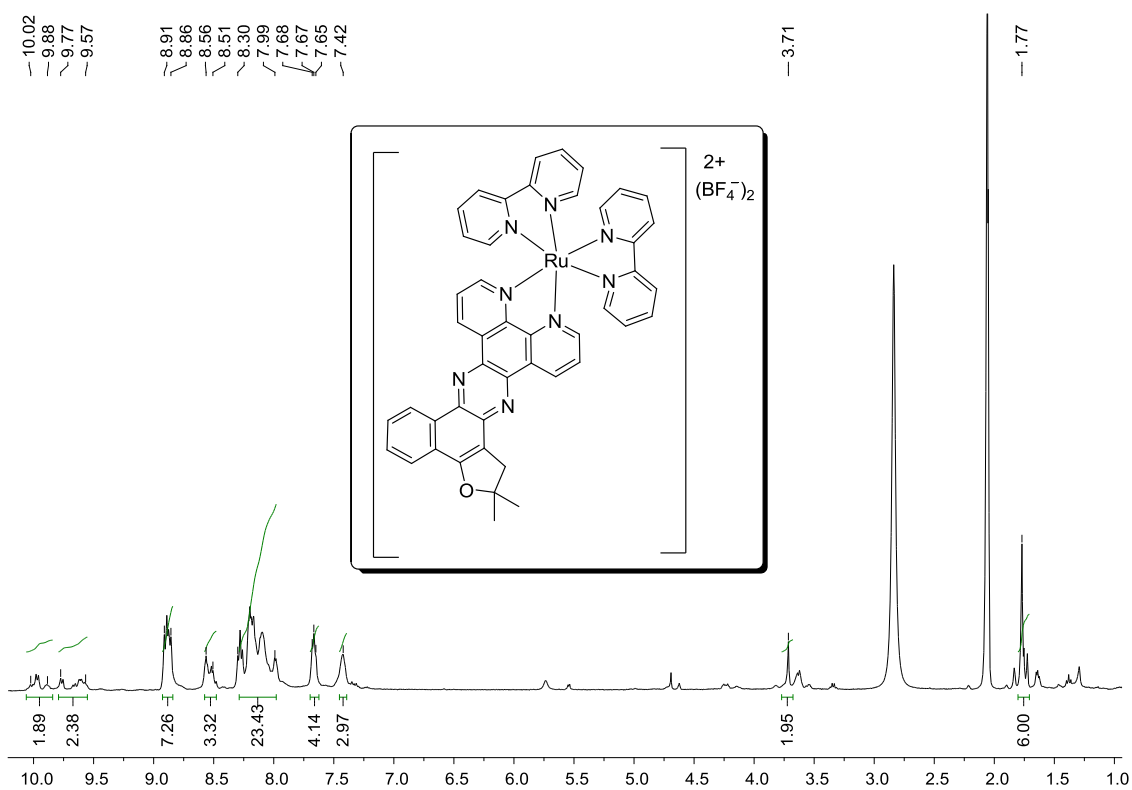


Figura A44: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) da substância **62**.

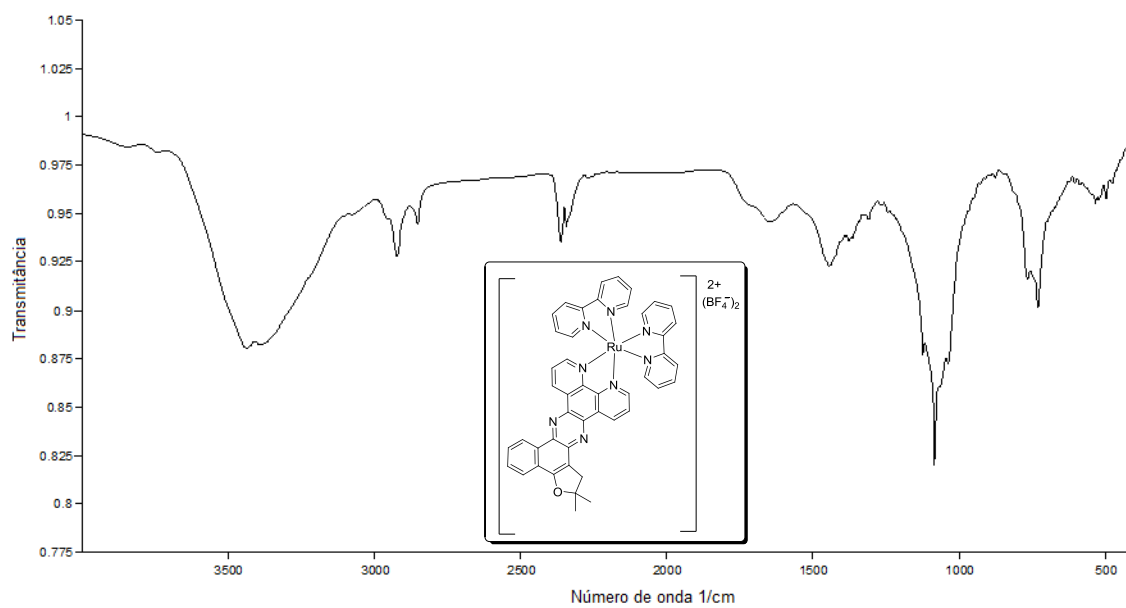


Figura A45: Espectro de absorção na região do infravermelho (pastilha KBr) da substância **62**.

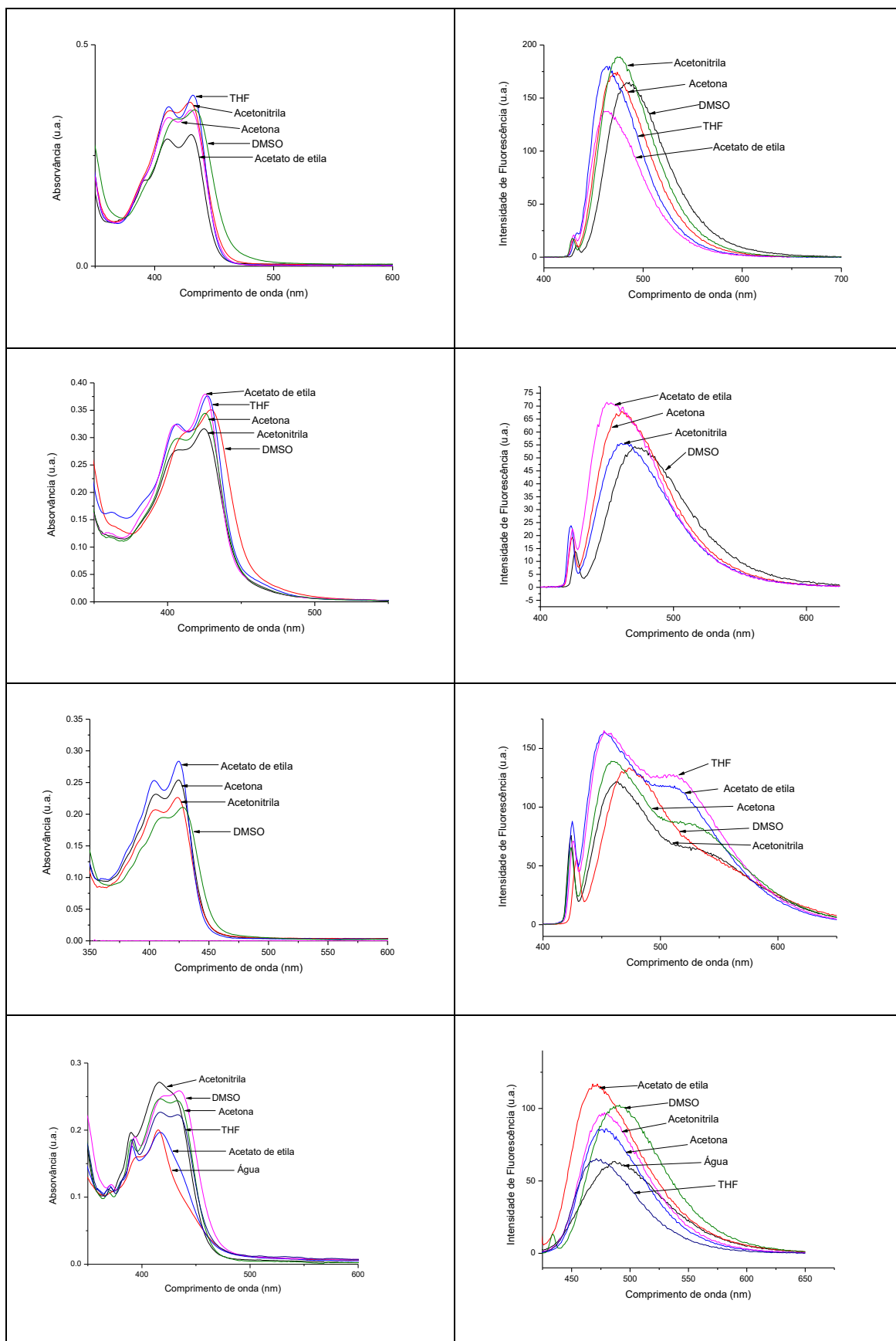


Figura A46: Espectros de absorção e emissão das substâncias (50)-(53).

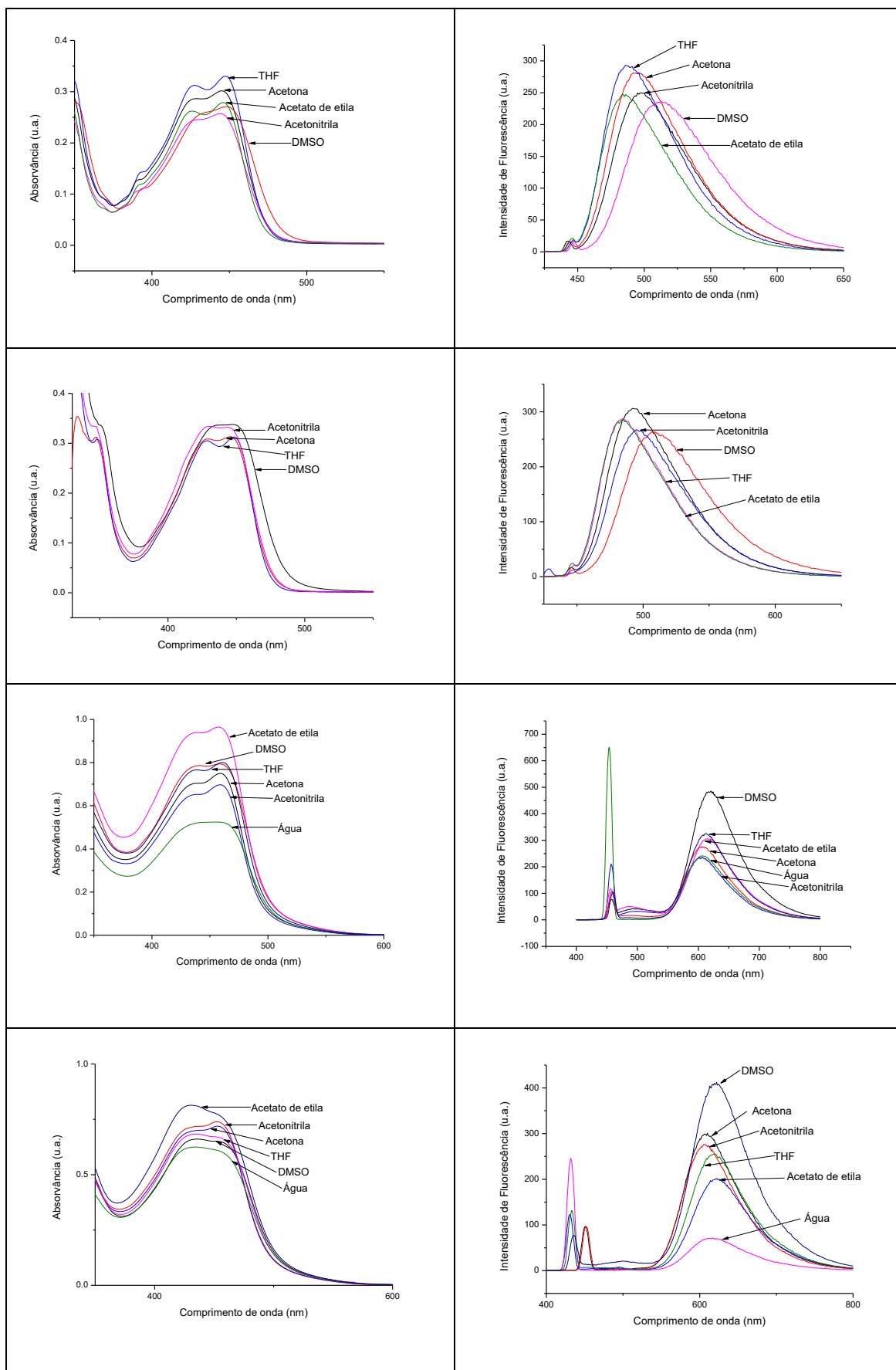


Figura A47: Espectros de absorção e emissão das substâncias (54), (55), (57) e (58).

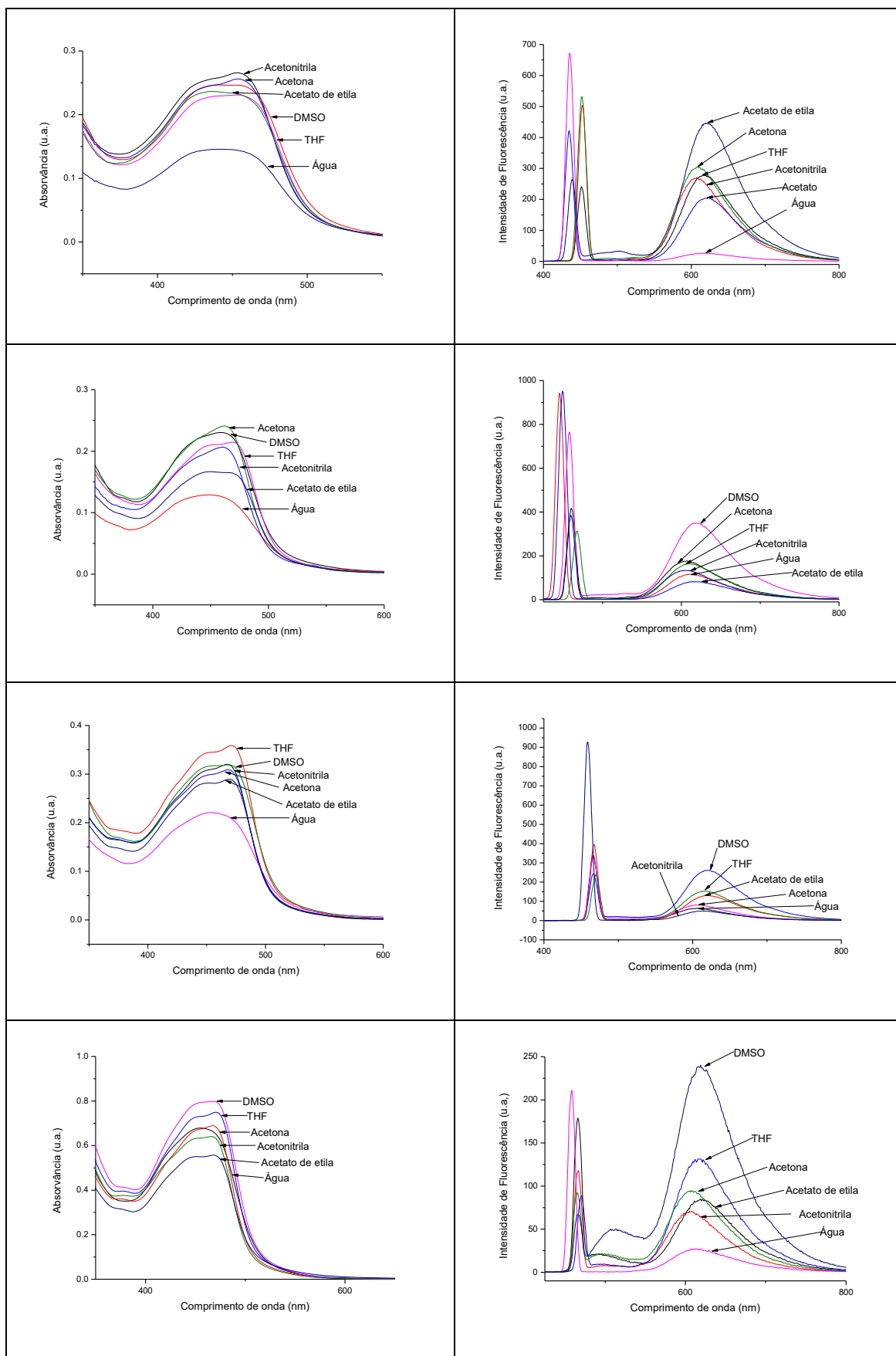


Figura A48: Espectros de absorção e emissão das substâncias (59)-(62).

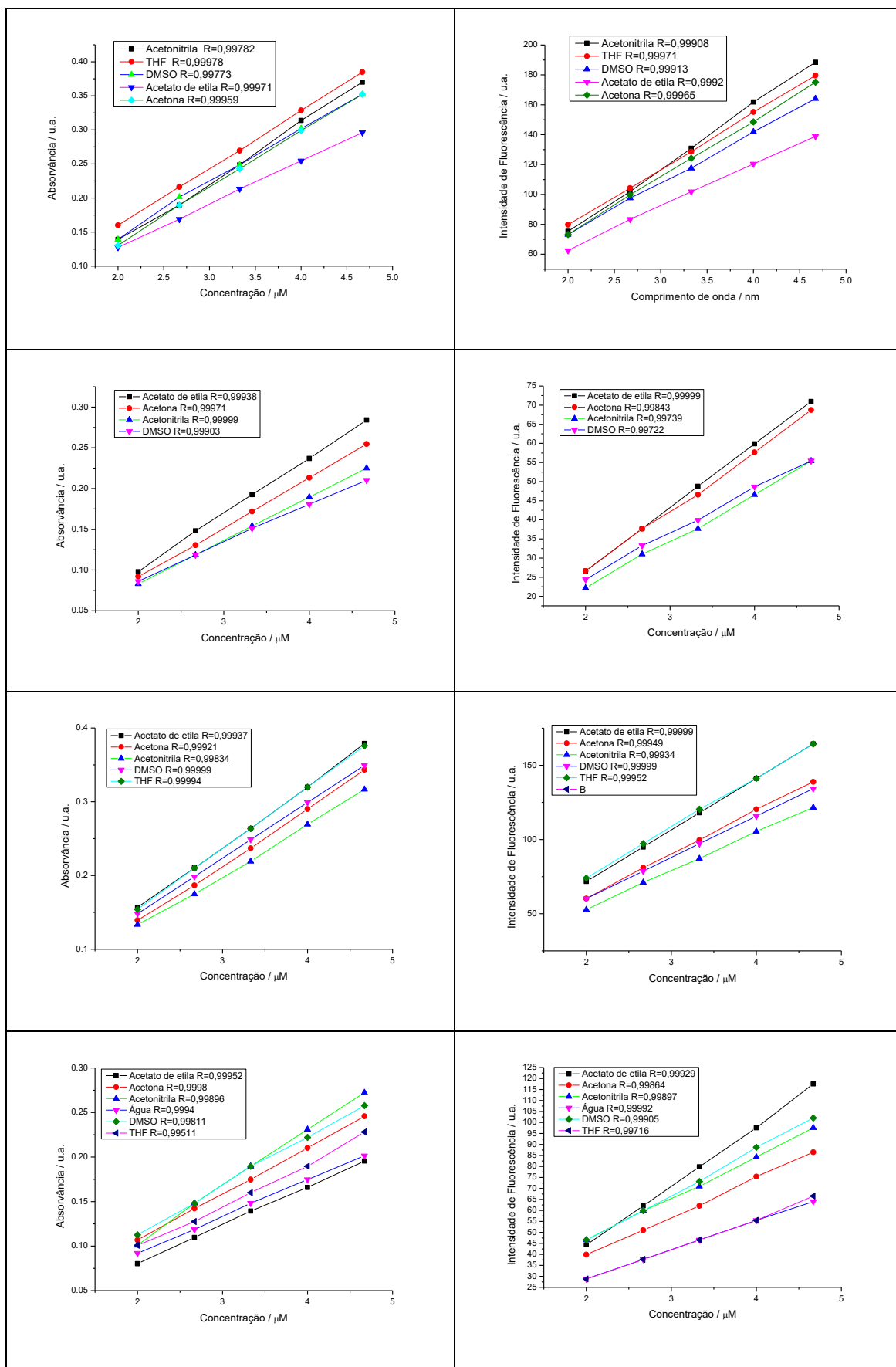


Figura A49: Curvas analíticas para determinação dos coeficientes de absorção e emissão para as substâncias (50)-(53).

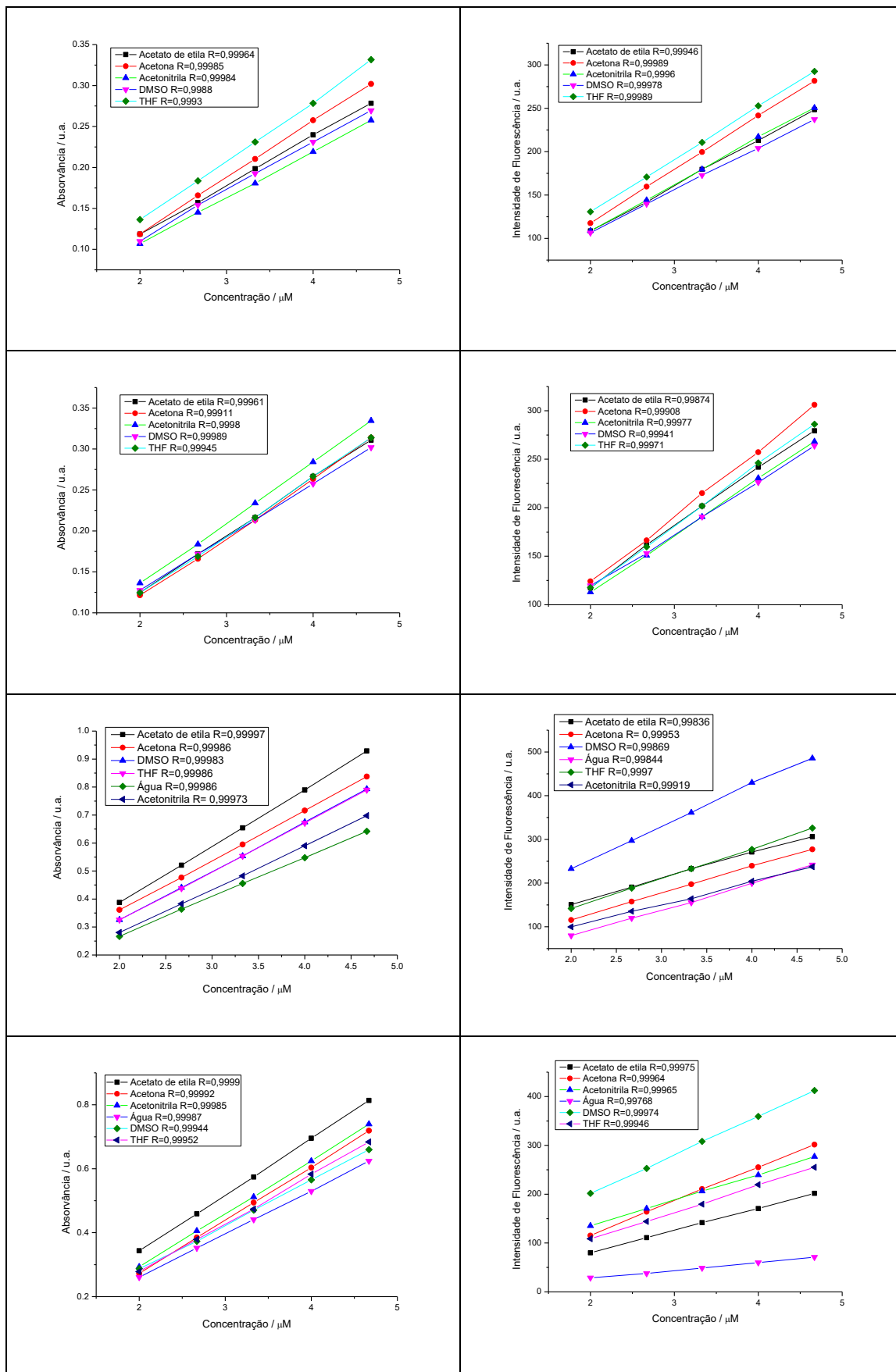


Figura A50: Curvas analíticas para determinação dos coeficientes de absorção e emissão para as substâncias (54), (55), (57) e (58).

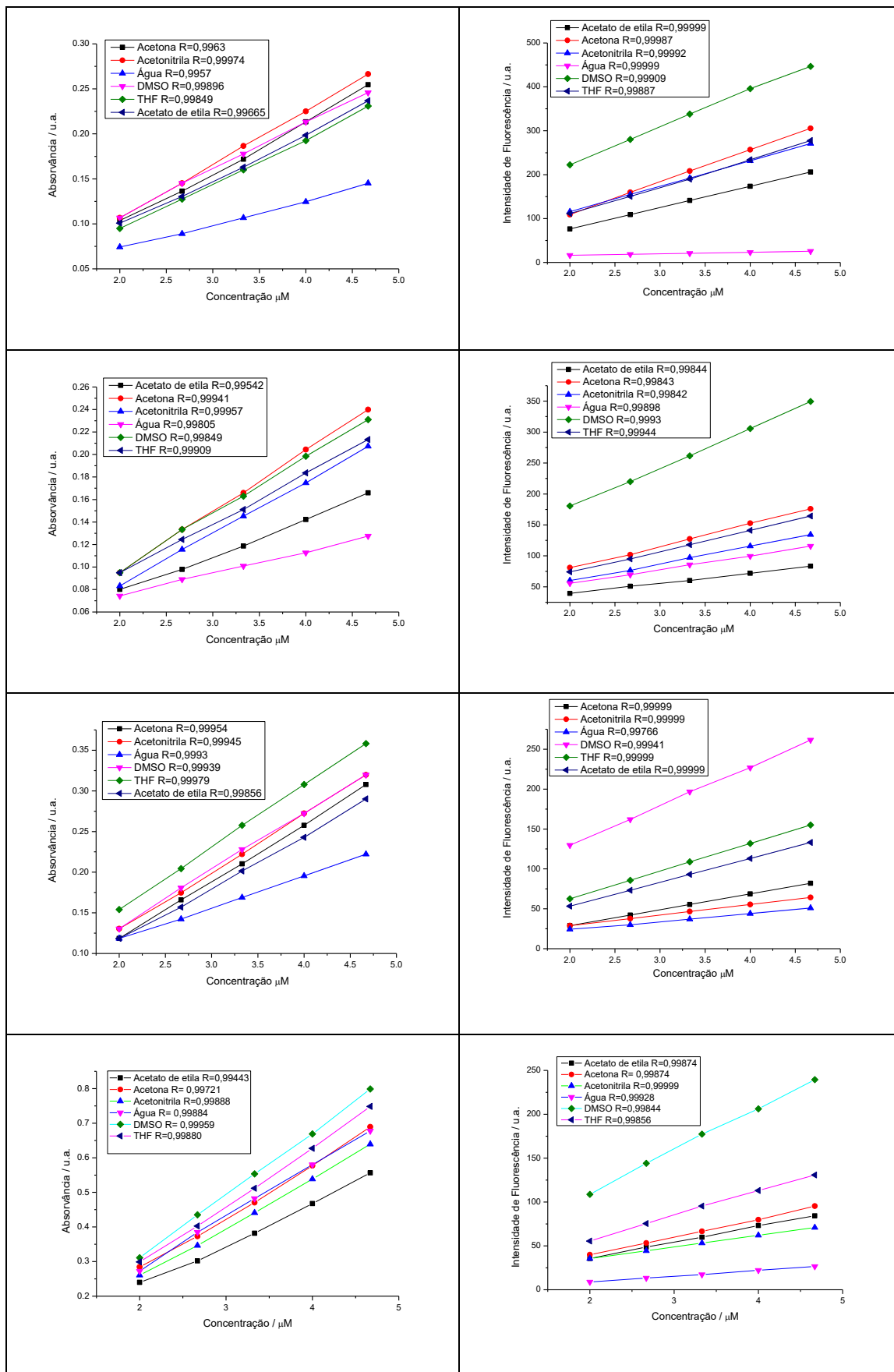


Figura A51: Curvas analíticas para determinação dos coeficientes de absorção e emissão para as substâncias (59)-(62).