



**André Miguel Lopes Seco**

Licenciado em Química Aplicada

## **Estabilidade e Controlo de Estruturas Supramoleculares Multirresponsivas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Química Bioorgânica**

Orientador: Doutor Nuno Miguel Jesuino Basílio,  
Investigador Auxiliar,  
Universidade NOVA de Lisboa

Co-orientador: Doutor Fernando Jorge da Silva Pina,  
Professor Catedrático Jubilado,  
Universidade NOVA de Lisboa

Júri

Presidente: Professora Doutora Paula Cristina de Sérgio Branco  
Arguente: Professor Doutor Eurico José da Silva Cabrita  
Vogal: Doutor Nuno Miguel Jesuino Basílio



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Setembro, 2019**



## **Estabilidade e Controlo de Estruturas Supramoleculares Multirresponsivas**

Copyright © André Miguel Lopes Seco, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## AGRADECIMENTOS

Chegada que está a hora da entrega, não o poderia fazer sem deixar alguns agradecimentos. Em primeiro lugar, ao Nuno Basílio pela sua orientação ao longo deste trabalho, por sempre ter encorajado o pensamento crítico e independente, fundamentais para que seja possível evoluir. Ao Professor Fernando Pina, que sempre me brindou com sábias e amigáveis palavras. Aos professores Jorge Parola e João Lima que, para além do interesse demonstrado, sempre arranjaram algum tempo quando foi necessário.

E porque uma pessoa não trabalha sozinha, importa agradecer a quem esteve envolvido nos projectos que desenvolvi: à Ana Marta pelo trabalho de síntese no composto que viria a originar o artigo, ao Hugo Cruz por partilhar a sua experiência com electroquímica, sempre de forma tão paciente. Ao Dr. Nathan McClenaghan e respectivo grupo de investigação em *Bordeaux* que sintetizaram os dois flavílios com vista à operação dos vaivéns moleculares.

Importa ainda agradecer ao projecto PTDC/QUI-COL/32351/2017 pelo suporte técnico e financeiro para algumas das experiências e materiais e no âmbito do qual esta tese foi desenvolvida.

Agradeço ainda ao grupo de fotoquímica que desde o início me acolheu da forma mais amigável que eu poderia esperar. Ao Artur (para quem sempre tudo esteve a 100%), ao Tiago, à Ana Lúcia e à Andreia, ao contingente internacional: o Antoine que me muito me ensinou sobre estar num laboratório de síntese, o Jack e o Massimo com as suas infundáveis colunas: ao grande mestre do HPLC, Alfonso, ao Johan, o nosso mexicano; ao Vesselin, o grande Químico-Informático-Matemático que sempre esteve disponível para dar uma ajuda.

E agora, um agradecimento um pouco diferente: à FCT, ao DQ, pelos últimos anos. Se não só de trabalho, digamos, curricular vive um homem, não me posso queixar de não ter tido uma vida bem rica. Desde a Praxe à grande aventura que foi e é o Núcleo de Química Aplicada, muitas foram as horas, os dias e os meses aplicados no “extra-curricular” e que, apesar de por vezes com algum prejuízo no curricular, sempre valeu a pena por tudo o que conseguimos alcançar e pela escola que deixámos.

À sempre presente família: aos meus pais, Rosália e Carlos; à minha irmã, Catarina; e aos meus avós, Guilhermina e Sabino. Se hoje aqui estou é graças a todos eles. Não querendo correr o risco de me estar a esquecer de alguém, podia ficar por umas palavras gerais mas não me sentiria bem se não os nomear por isso paciência.

---

Ao small council, onde nos últimos 5 anos decorreram inúmeras discussões de todo o tipo, ao Fernando Nunes, Henrique Mourão, João Sarrato e Hugo da Paz (nas várias formas que pode tomar [Rita de Jesus]). Ao meu Excelentíssimo Veterano Carlos Rafael, o enorme Cascais pelo grande exemplo que sempre foi. À Maria Viana que apesar de ter mais que fazer, nunca disse que não a um bom desafio e se não fosse isso, isto não teria tido metade da graça e, claro, ao Micael Paulino, Agradeço também, e muito especialmente, à Liliana Gomes por tudo o que aprendi, muitas vezes ensinando, como a importância de contrariar o *overthinking* :-) e por fim, mas não menos importante: à inestimável Rita Anastácio que, mais que tudo, tem uma paciência de santa.

## RESUMO

---

Nos últimos anos o campo das máquinas moleculares tem ganho bastante notoriedade uma vez que se trata de um ramo de investigação que, apesar de ainda bastante fundamental, pode vir a ter tradução expressiva no modo de vida actual. Este ramo está intimamente ligado à Química Supramolecular e faz uso do seu conhecimento sobre interacções não covalentes aplicando-o no desenho de moléculas (ou supra-moléculas) funcionais. Neste trabalho foram estudados complexos supramoleculares da família dos rotaxanos usando compostos análogos às antocianinas (os flavílios) como eixos, tirando partido das suas propriedades de fotocomutação.

Assim, foram sintetizados alguns compostos como um bisflavílio cuja afinidade para com os cucurbiturilos de 7 e 8 unidades foi estudada, tendo sido verificada a formação de complexos do tipo 1:2 com o CB8 revelando uma emissão inesperada. Foi também sintetizado um outro composto no qual se ligou um bipyridínio ao flavílio, o que tornou o sistema electrorresponsivo. Este composto mostrou-se adequado como componente activo num pseudo-rotaxano formado com CB7. Graças à fotocomutação flavílio-chalcona foi possível direccionar o CB7 entre o núcleo de flavílio e o bipyridínio. Por fim, foram analisados quanto ao potencial para formar um vaivém molecular, dois compostos também baseados em flavílios.

Estes estudos, bem como a caracterização dos flavílios *per se*, foram realizados com o auxílio de diversas técnicas, designadamente espectroscopias de absorção e emissão, ressonância magnética nuclear, dicroísmo circular, voltametria cíclica, HPLC e espectrometria de massa. Foram ainda efectuados alguns cálculos teóricos com vista à potencial aplicação das moléculas.

**Palavras-chave:** Máquinas moleculares; Fotocomutadores; Antocianinas; Receptores; Ligandos; Espectroscopia.

---



## ABSTRACT

---

In the last few years the field of molecular machines has gained quite a lot of popularity since, although it is a field of research still very fundamental, its potential applications in our way of life are thrilling. This area is closely related to Supramolecular Chemistry making use of the developed knowledge on non-covalent interactions and applying it on the design of new functional molecules (or supra-molecules). In this work were studied some anthocyanin based rotaxanes, supramolecular complexes that take advantage of the photoswitching properties of flavylia.

With this in mind, bisflavylium type compounds synthesis and characterization was performed and the formation of complexes with macrocycles like cucurbit[7,8]urils was also studied. CB8, that forms 2:1 type complexes, revealed some unexpected properties on emission studies. An electroresponsive axle was also synthesized by connecting a flavylium unit with a bipyridinium. This new compound proved to be adequate in the formation of a pseudo-rotaxane with CB7 that was thoroughly characterized. Thanks to the photoswitching between flavylium and chalcone forms it was possible to direct the CB7 from the flavylium to the bipyridinium moiety. At last two flavylium based compounds were studied regarding their potential to form a molecular shuttle type of device.

The above mentioned studies were performed using of a number of techniques like absorption and emission spectroscopies, nuclear magnetic resonance, circular dichroism, cyclic voltametry, HPLC and mass spectrometry. In addition, some theoretical calculations were also performed providing useful information about the potential of application of the molecules.

**Keywords:** Molecular Machines; Photoswitches; Anthocyanins; Host-Guest; Spectroscopy.

---



# ÍNDICE

|                                                       |              |
|-------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Lista de Figuras</b>                               | <b>xiii</b>  |
| <b>Lista de Tabelas</b>                               | <b>xxi</b>   |
| <b>Glossário</b>                                      | <b>xxiii</b> |
| <b>Siglas</b>                                         | <b>xxv</b>   |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b>                                   | <b>1</b>     |
| 1.1 AS GRANDES QUESTÕES . . . . .                     | 1            |
| 1.1.1 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR . . . . .                | 2            |
| 1.1.2 RECETORES E LIGANDOS . . . . .                  | 2            |
| 1.1.3 MÁQUINAS MOLECULARES . . . . .                  | 3            |
| 1.2 FLAVÍLIOS: O SISTEMA MULTIESTADO . . . . .        | 4            |
| 1.2.1 COMPREENSÃO DO MULTIESTADO . . . . .            | 5            |
| 1.2.2 ESTABILIDADE RELATIVA E FOTOCOMUTAÇÃO . . . . . | 6            |
| 1.3 O VAIVÉM MOLECULAR . . . . .                      | 7            |
| 1.3.1 O EIXO . . . . .                                | 7            |
| 1.3.2 O MACROCICLO . . . . .                          | 8            |
| 1.4 TÉCNICAS GERAIS DE CARACTERIZAÇÃO . . . . .       | 10           |
| 1.4.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO . . . . .            | 10           |
| 1.4.2 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO . . . . .             | 11           |
| 1.4.3 FOTOQUÍMICA . . . . .                           | 13           |
| 1.4.4 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR . . . . .         | 15           |
| <b>2 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                       | <b>17</b>    |
| 2.1 PREÂMBULO . . . . .                               | 17           |
| 2.2 INTERAÇÕES RECEPTOR-LIGANDO . . . . .             | 18           |
| 2.2.1 SÍNTESE . . . . .                               | 18           |
| 2.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO . . . . .            | 20           |
| 2.2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS . . . . .          | 20           |
| 2.3 MÁQUINAS MOLECULARES: O PSEUDO-ROTAXANO . . . . . | 23           |
| 2.3.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA . . . . .        | 23           |

|           |                                                    |            |
|-----------|----------------------------------------------------|------------|
| 2.3.2     | CARACTERIZAÇÃO ELECTROQUÍMICA . . . . .            | 26         |
| 2.3.3     | CARACTERIZAÇÃO POR RMN . . . . .                   | 27         |
| 2.3.4     | FOTOQUÍMICA . . . . .                              | 27         |
| 2.4       | MÁQUINAS MOLECULARES: O VAIVÉM MOLECULAR . . . . . | 29         |
| 2.4.1     | CÁLCULOS TEÓRICOS . . . . .                        | 30         |
| 2.4.2     | A MISTURA . . . . .                                | 31         |
| 2.4.3     | CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS 3 E 4 . . . . .       | 34         |
| 2.4.4     | ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS . . . . .    | 36         |
| <b>3</b>  | <b>CONCLUSÃO</b>                                   | <b>45</b>  |
| <b>4</b>  | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>                         | <b>47</b>  |
| 4.1       | MATERIAIS . . . . .                                | 47         |
| 4.1.1     | REAGENTES . . . . .                                | 47         |
| 4.1.2     | EQUIPAMENTOS . . . . .                             | 47         |
| 4.2       | MÉTODOS . . . . .                                  | 49         |
| 4.2.1     | SÍNTESE . . . . .                                  | 49         |
| 4.2.2     | CARACTERIZAÇÃO . . . . .                           | 54         |
|           | <b>Bibliografia</b>                                | <b>59</b>  |
| <b>A</b>  | <b>MULTIESTADO DO CATIÃO FLAVÍLIO</b>              | <b>61</b>  |
| A.1       | ESPÉCIES NO EQUILÍBRIO . . . . .                   | 61         |
| A.2       | AJUSTE A DADOS EXPERIMENTAIS . . . . .             | 65         |
| <b>B</b>  | <b>MODELOS DE INTERAÇÃO RECEPTOR-LIGANDO</b>       | <b>67</b>  |
| B.1       | COMPLEXOS 1:1 . . . . .                            | 67         |
| B.2       | COMPLEXOS 2:1 . . . . .                            | 69         |
| B.3       | ENSAIOS DE DESLOCAMENTO POR PADRÃO . . . . .       | 71         |
| B.4       | AJUSTE A DADOS EXPERIMENTAIS . . . . .             | 73         |
| <b>I</b>  |                                                    | <b>75</b>  |
| I.1       | SUPORTE À SECÇÃO 2.2 . . . . .                     | 75         |
| I.2       | SUPORTE À SECÇÃO 2.3 . . . . .                     | 78         |
| I.3       | SUPORTE À SECÇÃO 2.4 . . . . .                     | 79         |
| <b>II</b> | <b>TRABALHOS ORIGINADOS POR ESTA TESE</b>          | <b>101</b> |
| II.1      | EM PAINEL . . . . .                                | 101        |
| II.2      | APRESENTAÇÕES ORAIS . . . . .                      | 101        |
| II.3      | ARTIGOS . . . . .                                  | 102        |

## LISTA DE FIGURAS

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1  | Complexação de um ião de potássio por um poliéter cíclico. A complexação induz uma alteração de cor notória (adaptado de [2]). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 2  |
| 1.2  | No início do séc. Fritz Kahn imaginou o ser humano como contendo uma série de máquinas e operários. (CC-BY) . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 3  |
| 1.3  | Uma antocianina natural . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 4  |
| 1.4  | A cascata de reações do catião flavílio . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 5  |
| 1.5  | Diagrama de energias relativas das espécies presentes no multiestado. Não está à escala. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 6  |
| 1.6  | Esquema simplificado do fotocomutador. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 7  |
| 1.7  | Esquema do funcionamento do “vaivém molecular”, um rotaxano cujo macrociclo oscila entre duas posições como resposta a estímulos externos de luz, calor ou pH. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                    | 8  |
| 1.8  | a) Mapa de potencial electrostático da “Caixa Azul de Stoddart” e respectiva estrutura em b); c) Estrutura base das CicloDextrinas. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                               | 9  |
| 1.9  | a) Estrutura dos cucurbiturilos e comparação com a família das abóboras <i>cucurbitaceae</i> ; b) Mapa de potencial electrostático de uma molécula de CB de vários pontos de vista (adaptado de [9]). . . . .                                                                                                                                                                                                             | 9  |
| 1.10 | Esquema simplificado de funcionamento de um espectrofotómetro em que: A-Fonte de luz; B-Lente para focar a luz dispersa; C-Monocromador para separar a luz branca nos vários comprimentos de onda; D- Fenda para seleccionar apenas um intervalo muito reduzido de comprimentos de onda; E- Amostra; F-Fotodetector, converte a luz recebida num sinal eléctrico que envia para o computador para processamento . . . . . | 10 |
| 1.11 | Diagrama de Jablonski. As setas a tracejado representam processos não radiativos. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 11 |
| 1.12 | Esquema simplificado de funcionamento de um espectrofluorímetro em que: A-E, igual à figura 1.10; F-Monocromador de emissão, para analisar a intensidade da luz emitida a cada comprimento de onda; G-Fotodetector, converte a luz recebida num sinal eléctrico que envia para o computador para processamento . . . . .                                                                                                  | 12 |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.13 | Efeito de filtro interno. À esquerda, uma solução diluída que é uniformemente atravessada pelo feixe de irradiação. À direita, uma solução mais concentrada que absorve logo toda a luz do feixe, impedindo que a metade direita da célula seja irradiada de igual forma. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 13 |
| 1.14 | Representação de um cucurbiturilo indicando as zonas que induzem blindagem ou desblindagem nos ligandos, de acordo com [11]. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 16 |
| 2.1  | Compostos 1a e 1b, Bis(7-propanoxi-il,4'-(metoxi)trietilenoglicol-flavílio) . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 18 |
| 2.2  | a) Sequência de espectros de RMN obtidos ao longo do tempo como forma de monitorização da reacção. Nesta sequência, o tempo progride de cima para baixo, de acordo com a seta b) Gráfico que relaciona o valor dos integrais dos sinais a 9,34 (cor clara) e a 8,96 (cor escura), característicos do reagente (protão do aldeído) e do produto (protão 8 do flavílio): a vermelho para 2,3 equivalentes de acetofenona e a azul para 11 equivalentes (largo excesso). Na secção c), o espectro de $^1H$ RMN do composto 1a, após a síntese e purificação.                 | 19 |
| 2.3  | Espectro de $^1H$ RMN do composto 1b obtido após purificação. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 20 |
| 2.4  | Espectros de absorção de várias soluções do composto 1b ( $5\mu M$ ) a diferentes valores de pH que permitem a determinação dos valor de $pK'_a$ do composto (em <i>inset</i> ), com $pK'_{a1} = 0,39$ e $pK'_{a2} = 3,71$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 21 |
| 2.5  | Titulação do composto 1b ( $1\mu M$ ) com CB8. À esquerda os espectros de emissão resultantes ( $\lambda_{ex} = 460nm$ ) com o respectivo ajuste em <i>inset</i> ( $K_{11} = 2,93 \times 10^7 M^{-1}$ , $K_{21} = 3,94 \times 10^4 M^{-1}$ ). À direita uma fotografia com células contendo a mesma concentração de flavílio e concentrações progressivamente maiores de CB8. . . . .                                                                                                                                                                                     | 22 |
| 2.6  | Composto 2, 7-metoxi-4'-(N-(N-metilviologénio))Flavílio . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 23 |
| 2.7  | Espectros de absorção de soluções de composto 2 ( $18\mu M$ ) equilibradas a vários pHs. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar $pK'_a = 2,0$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 24 |
| 2.8  | Titulações do compostos 2 com CB7 a $pH = 1$ por absorção, à esquerda ( $39\mu M$ ), e por emissão, à direita ( $5\mu M$ ), usando $\lambda_{ex} = 445nm$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 24 |
| 2.9  | Ensaio por deslocamento de padrão para determinação da constante de associação do composto 2 com CB7 ( $24\mu M$ ) a $pH = 6,3$ . Como padrão, adicionado gradualmente, foi usado o tetrametilamónio. À esquerda, a titulação com uma chalcona ( $20\mu M$ , 2b, [15]) cuja constante é conhecida ( $K_{ass} = 2,3 \times 10^5 M^{-1}$ , $pH = 7$ ) e que permitiu determinar a constante de associação com o TMA ( $K_{TMA} = 1,53 \times 10^6 M^{-1}$ ); e à direita a titulação com o composto 2 ( $19\mu M$ ) para determinar $K_{2:Cb7} = 5,3 \times 10^7$ . . . . . | 26 |
| 2.10 | Voltamogramas cíclicos (velocidade de varredura a $100mV/s$ ). a) do flavílio 2 ( $0,5mM$ ) a $pH = 1$ <i>per si</i> (linha completa), com 0,5 e 1 equivalentes de CB7 (linhas a tracejado e a pontilhado, respectivamente). b) da chalcona 2 ( $0,5mM$ ) a $pH = 6$ para várias concentrações de CB7 (0 a 2,5eq.). . . . .                                                                                                                                                                                                                                               | 27 |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.11 | Titulações do composto 2 com CB7 seguidas por RMN. Em cima, a $pH = 1$ (0,5mM, $D_2O/DCI$ , $pD = 1$ ) a) sem CB7, b) e c) com 0,5 e 1 equivalentes, respectivamente. Em baixo, a $pD = 6$ (0,5mM, $D_2O/NaOD$ , $pD = 6$ ) e) sem CB7 e d) com 1,5 equivalentes. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 28 |
| 2.12 | a) Irradiação do composto 2 (10 $\mu$ M) a $pH = 4,48$ com 1 equivalente de CB7 a $\lambda_{ex} = 365nm$ . As linhas coloridas representam o espectro da chalcona e do flavílio complexados com CB7 para fins comparativos. b) Esquema simplificado do funcionamento do pseudo-rotaxano como fotocomutador. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 29 |
| 2.13 | Compostos 3 e 4, 4'-7-bis( <i>m,m</i> -dimetilo-pirídinio-N-propanoxi)-flavílio, 7-( <i>m,m</i> -dimetilo-pirídinio-N-propanoxi)-4'( <i>m,m</i> -dimetilo-pirídinio-N-propanoxi)- <i>p</i> -fenil-propano(bis)oxi)-flavílio, respectivamente . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 29 |
| 2.14 | Mapas de potencial electrostático para o composto 4, nas formas de flavílio e chalcona para as conformações de energia mínima. Entre os traços está indicada a respectiva zona da molécula para melhor compreensão. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 30 |
| 2.15 | Espectro de $^1H$ RMN ( $D_2O/DCI$ 0,1M) do "composto 3" com o sinal correspondente ao protão 4 evidenciado. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 31 |
| 2.16 | Cromatograma resultante da injeção de uma solução de composto 3. O eluente usado foi uma mistura de $H_2O$ ácida (5% $HClO_4$ ) e Metanol (gradiente 93-7% inicial para 0-100% final, respectivamente). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 32 |
| 2.17 | Estrutura proposta para explicar os resultados obtidos por LC-MS. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 33 |
| 2.18 | Comparação entre os espectros de $^1H$ RMN ( $D_2O/DCI$ 0,1M, 400MHz) de i) mistura inicial; ii) extracto purificado do 1º pico; iii) extracto purificado do 2º pico . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 33 |
| 2.19 | Espectros resultantes dos saltos de pH efectuados para o composto 3 (22,5 $\mu$ M), de pH muito ácido a pH neutro para determinação do $pK'_a$ e em <i>inset</i> , o mesmo para pHs neutros a básicos para determinação do $pK''_a$ (33,5 $\mu$ M) . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 35 |
| 2.20 | Dados experimentais obtidos para o composto 3 e respectivo ajuste ao modelo teórico. Em <i>inset</i> : distribuição das fracções molares de cada espécie em função do pH, de acordo com o modelo teórico ajustado. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 36 |
| 2.21 | Espectros resultantes da irradiação dos compostos 3 (29,61 $\mu$ M) e 4 (17,2 $\mu$ M, em <i>inset</i> ). Neles podemos ver as variações espectrais induzidas pela luz ( $\lambda_{irr} = 366nm$ ) que resultam na transformação da chalcona <i>trans</i> em flavílio a um pH próximo de 3,5. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 37 |
| 2.22 | À esquerda: titulação do composto 3 (25,7 $\mu$ M) com $\alpha CD$ por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 10694M^{-1}$ , $K_{21} = 1,5M^{-1}$ e a mesma titulação seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 420nm$ ) em que não se observaram alterações significativas. À direita: titulação do composto 4 (2,1 $\mu$ M) com $\alpha CD$ por emissão ( $\lambda_{ex} = 460nm$ ). Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 631M^{-1}$ , $K_{21} = 33,2M^{-1}$ e a mesma titulação seguida por absorção em que não se observaram alterações significativas. . . . . | 38 |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.23 | Titulação do composto 3 ( $1,72\mu\text{M}$ ) a $\text{pH} = 1$ com CB7 seguida por emissão ( $\lambda_{\text{ex}} = 420\text{nm}$ ). Em <i>inset</i> representa-se a mesma titulação seguida por absorção ( $[\text{C3}] = 16,3\mu\text{M}$ ) e também os ajustes aos pontos experimentais de ambas: a vermelho os dados de emissão e a azul os de absorção, com $K_{11} = 1 \times 10^7 \text{M}^{-1}$ , $K_{21} = 1,5 \times 10^4 \text{M}^{-1}$ . . . . . | 39 |
| 2.24 | Distribuição das frações molares dos complexos formados entre os macrociclos CB7 (tracejado), $\alpha\text{CD}$ (pontilhado) e $\beta\text{CD}$ (tracejado/pontilhado), e os compostos 3 (à esquerda) e 4 (à direita). Para comparação estão também as frações molares do composto livre (linha completa). . . . .                                                                                                                                            | 41 |
| 2.25 | Espectros de absorção obtidos por dicroísmo circular. À esquerda, um teste com a chalcona 3 complexada com CB7 (a vermelho), com $\beta\text{CD}$ (laranja) e a verde e a azul um teste em que foram adicionados ambos os macrociclos, mas por ordens diferentes. À direita, uma titulação da chalcona 4 com $\beta\text{CD}$ seguida por dicroísmo circular em que a concentração de macrociclo aumenta de acordo com o sentido da seta. . . . .             | 42 |
| 2.26 | Titulações do composto 3 com CB7 seguidas por RMN. Em cima, a $\text{pH} = 1$ ( $0,5\text{mM}$ , $\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$ , $\text{pD} = 1$ ) a) sem CB7, b) e c) com 0,5 e 1 equivalentes, respectivamente. Em baixo, a $\text{pD} = 6$ ( $0,5\text{mM}$ , $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ , $\text{pD} = 6$ ) e) sem CB7, d) e f) com 0,5 e 1 equivalentes, respectivamente. . . . .                                                                | 43 |
| 4.1  | Esquema sintético seguido com vista à obtenção dos compostos 1a e 1b. . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 49 |
| 4.2  | Estrutura do Bis(1-propanoxi-il,(3-hidroxi)4-benzaldeído) . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 50 |
| 4.3  | Estrutura da 4-(6'-metoxitrietenoglicol)Acetofenona . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 50 |
| 4.4  | Estrutura do Bis(7-propanoxi-il,4'-(17metoxitrietenoglicol)Flavílio) . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 51 |
| 4.5  | Estrutura da 4-(6'-hidroxitrietenoglicol)Acetofenona . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 52 |
| 4.6  | Estrutura do Bis(7-propanoxi-il,4'-(17hidroxitrietenoglicol)Flavílio) . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 52 |
| 4.7  | Estrutura do 7-metoxi-4'-(N-(N-metilviologénio))Flavílio . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 53 |
| 4.8  | Estrutura do Laranja de Acridina . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 55 |
| A.1  | A cascata de reacções do catião flavílio. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 61 |
| A.2  | Simulação da distribuição de espécies do multiestado no equilíbrio, considerando $\text{pK}'_a = 3$ e $\text{pK}''_a = 8$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 63 |
| A.3  | Simulação da distribuição de espécies do multiestado no equilíbrio usando $K_h = 2 \times 10^{-3}$ , $K_t = 0,1$ , $K_i = 3$   $\text{pK}'_a = 2,55$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 65 |
| B.1  | Simulação da variação das concentrações de [R], [L] e [RL] obtidas a partir das equações B.9, B.7 e B.2 nos casos em que o $K_{11}$ seja baixo (esq., $5 \times 10^4 \text{M}^{-1}$ ) e alto (dir., $1 \times 10^7 \text{M}^{-1}$ ) com $[\text{L}]_0 = 5\mu\text{M}$ . . . . .                                                                                                                                                                               | 68 |
| B.2  | Simulação da variação das concentrações de [L], [RL] e $[\text{R}_2\text{L}]$ com a adição de [R] para os casos em que $K_{21} \gg K_{11}$ (esq.) e o inverso (dir.), ambos em $\text{M}^{-1}$ , considerando $[\text{L}]_0 = 20\mu\text{M}$ . . . . .                                                                                                                                                                                                        | 70 |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| B.3  | Simulação da variação de concentrações das várias espécies com a adição do padrão. Neste caso considerou-se $H_0 = 100\mu M$ , $G_0 = 5\mu M$ , $K_L = 1 \times 10^5 M^{-1}$ e $K_I = 1 \times 10^6 M^{-1}$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 72 |
| I.1  | a) Sequência de espectros de RMN obtidos ao longo do tempo como forma de monitorização da reacção. Nesta sequência, o tempo progride de cima para baixo, de acordo com a seta b) Gráfico que relaciona o valor dos integrais dos sinais a 9,40 (cor clara) e a 8,99 (cor escura), característicos do reagente (protão do aldeído) e do produto (protão 8 do flavílio), ambos com 11 equivalentes de acetofenona, mas a vermelho para 25°C e a azul para 60°C. Na secção c), o espectro de $^1H$ RMN do composto 1b, após a síntese e purificação. . . . . | 75 |
| I.2  | Espectro de massa do composto 1a obtido após purificação. Destaca-se a estrutura atribuída ao pico a $m/z=407,6956$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 76 |
| I.3  | Espectro de massa do composto 1b obtido após purificação. Destaca-se a estrutura atribuída ao pico a $m/z=394,1834$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 76 |
| I.4  | Titulação do composto 1b ( $7,99\mu M$ ) a $pH = 1$ com CB7 seguida por absorção. Em <i>inset</i> também os ajustes aos pontos experimentais com $K_{11} = 1 \times 10^6 M^{-1}$ , $K_{21} = 1 \times 10^4 M^{-1}$ ). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 76 |
| I.5  | Titulação do composto 1b ( $0,63\mu M$ ) a $pH = 1$ com CB7 seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 482nm$ ). Em <i>inset</i> também os ajustes aos pontos experimentais com $K_{11} = 1 \times 10^6 M^{-1}$ , $K_{21} = 1 \times 10^4 M^{-1}$ ). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 77 |
| I.6  | Titulação do composto 1b ( $3,23\mu M$ ) a $pH = 1$ com CB8 seguida por absorção. Em <i>inset</i> também os ajustes aos pontos experimentais com $K_{11} = 2,93 \times 10^7 M^{-1}$ , $K_{21} = 3,94 \times 10^4 M^{-1}$ ). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 77 |
| I.7  | Espectros de absorção de várias soluções de composto 2 ( $34\mu M$ ) complexado com 1 equivalente de CB7 equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar o $pK'_a$ do complexo (4,13). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 78 |
| I.8  | Titulação do composto 2 ( $10\mu M$ ) a $pH = 6,3$ com CB7. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais. Uma vez que é elevada, o sistema não tem sensibilidade suficiente para fazer uma determinação rigorosa pelo que se diz apenas que é superior a $3 \times 10^6 M^{-1}$ . . . . .                                                                                                                                                                                                                                              | 78 |
| I.9  | Mapas de potencial electrostático para o composto 4, nas formas de flavílio e chalcona para as conformações de energia mínima. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 79 |
| I.10 | Cromatograma resultante da injeção de uma solução de composto 4. O eluente usado foi uma mistura de $H_2O$ ácida ( $5\%HClO_4$ ) e metanol (gradiente 93-7% inicial para 0-100% final, respectivamente). . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 80 |
| I.11 | Cromatograma obtido para o composto 3 através de LC-MS. À esquerda o cromatograma de iões totais, obtido através dos dados de massa. À direita o cromatograma em função da absorção a 380nm. Embora tenha seguida a 460nm, não revelou nenhum pico. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 85 |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.12 | Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 22,99 minutos de eluição em modo positivo. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 86 |
| I.13 | Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 22,99 minutos de eluição em modo negativo. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 86 |
| I.14 | Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 24,80 minutos de eluição em modo positivo. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 87 |
| I.15 | Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 24,80 minutos de eluição em modo negativo. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 87 |
| I.16 | Amplificação do espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 24,80 minutos de eluição em modo negativo. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 88 |
| I.17 | Transições electrónicas calculadas para o composto 3 (na forma de flavílio), pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 88 |
| I.18 | Transições electrónicas calculadas para a estrutura proposta como contaminação do composto 3 (na forma de flavílio), pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água. . . . .                                                                                                                                                                                                                                                                       | 90 |
| I.19 | Espectros resultantes dos saltos de pH efectuados para o composto 4 ( $12,8\mu\text{M}$ ), de pH muito ácido a pH neutro, para determinação do $pK'_a$ e, em <i>inset</i> , o mesmo para pHs neutros a básicos para determinação do $pK_{Ct}$ [ $\text{C4}$ ]= $9.04\mu\text{M}$ . . . . .                                                                                                                                                                      | 90 |
| I.20 | Dados experimentais obtidos para o composto 4 e respectivo ajuste ao modelo teórico. Em <i>inset</i> : distribuição das fracções molares de cada espécie em função do pH, de acordo com o modelo teórico ajustado. . . . .                                                                                                                                                                                                                                      | 91 |
| I.21 | Titulação do composto 3 ( $30\mu\text{M}$ ), a $\text{pH} = 1$ , com $\beta\text{CD}$ seguida por absorção. Em <i>inset</i> , representa-se o ajuste aos pontos experimentais ( $K_{11} = 51,4\text{ M}^{-1}$ e a mesma titulação seguida por emissão ( $[\text{C3}] = 3\mu\text{M}$ , $\lambda_{ex} = 410\text{nm}$ ) na qual não se verificaram mudanças significativas. . . . .                                                                              | 91 |
| I.22 | Titulação do composto 4 ( $2,1\mu\text{M}$ ), a $\text{pH} = 1$ , com $\beta\text{CD}$ seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 450\text{nm}$ ). Em <i>inset</i> , representa-se o ajuste aos pontos experimentais ( $K_{11} = 1150\text{M}^{-1}$ e a mesma titulação seguida por absorção ( $[\text{C4}] = 11,4\mu\text{M}$ ) na qual não se verificaram mudanças significativas. . . . .                                                                         | 92 |
| I.23 | Titulação do composto 4 ( $3,57\mu\text{M}$ ), a $\text{pH} = 1$ , com $\text{CB7}$ seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 415\text{nm}$ ). Em <i>inset</i> , representa-se a mesma titulação seguida por absorção ( $[\text{C4}] = 6,5\mu\text{M}$ ) e também os ajustes aos pontos experimentais de ambas: a vermelho os dados de emissão e a azul os de absorção com $K_{11} = 2 \times 10^6\text{M}^{-1}$ , $K_{21} = 2 \times 10^3\text{M}^{-1}$ ). . . . . | 92 |
| I.24 | Espectros de absorção de várias soluções de composto 3 ( $6\mu\text{M}$ ) complexado com $\text{CB7}$ (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de $pK'_a$ e $pK''_a$ do complexo. . . . .                                                                                                                                                                        | 93 |

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.25 | Espectros de absorção de várias soluções de composto 3 ( $6\mu M$ ) complexado com $\alpha CD$ (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de $pK'_a$ e $pK''_a$ do complexo. . . . .  | 93 |
| I.26 | Espectros de absorção de várias soluções de composto 3 ( $6\mu M$ ) complexado com $\beta CD$ (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de $pK'_a$ e $pK''_a$ do complexo. . . . .   | 94 |
| I.27 | Espectros de absorção de várias soluções de composto 4 ( $12\mu M$ ) complexado com CB7 (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de $pK'_a$ e $pK''_a$ do complexo. . . . .         | 94 |
| I.28 | Espectros de absorção de várias soluções de composto 4 ( $12\mu M$ ) complexado com $\alpha CD$ (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de $pK'_a$ e $pK''_a$ do complexo. . . . . | 95 |
| I.29 | Espectros de absorção de várias soluções de composto 4 ( $12\mu M$ ) complexado com $\beta CD$ (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em <i>inset</i> , o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de $pK'_a$ e $pK''_a$ do complexo. . . . .  | 95 |
| I.30 | Titulação do composto 3 ( $25,2\mu M$ ) a $pH = 5,9$ com $\alpha CD$ seguida por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 1,62 \times 10^2 M^{-1}$ , $K_{21} = 1,70 \times 10^1 M^{-1}$ . . . . .                                   | 96 |
| I.31 | Titulação do composto 3 ( $26,0\mu M$ ) a $pH = 5,8$ com $\beta CD$ seguida por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 9,08 \times 10^3 M^{-1}$ , $K_{21} = 1,41 \times 10^3 M^{-1}$ . . . . .                                    | 96 |
| I.32 | Titulação do composto 3 ( $19,8\mu M$ ) a $pH = 5,5$ com CB7 seguida por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 2,00 \times 10^5 M^{-1}$ , $K_{21} = 8,00 \times 10^3 M^{-1}$ . . . . .                                           | 97 |
| I.33 | Titulação do composto 4 ( $13,5\mu M$ ) a $pH = 5,8$ com $\alpha CD$ seguida por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 2,66 \times 10^1 M^{-1}$ , $K_{21} = 1,14 \times 10^2 M^{-1}$ . . . . .                                   | 97 |
| I.34 | Titulação do composto 4 ( $11,4\mu M$ ) a $pH = 5,0$ com $\beta CD$ seguida por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 2,00 \times 10^5 M^{-1}$ , $K_{21} = 4,92 \times 10^3 M^{-1}$ . . . . .                                    | 98 |
| I.35 | Titulação do composto 4 ( $13,9\mu M$ ) a $pH = 6,2$ com CB7 seguida por absorção. Em <i>inset</i> representa-se o ajuste aos pontos experimentais com $K_{11} = 4,56 \times 10^3 M^{-1}$ , $K_{21} = 1,01 \times 10^4 M^{-1}$ . . . . .                                           | 98 |
| I.36 | Espectro 2D de $^1H$ RMN, COSY do composto 3. . . . .                                                                                                                                                                                                                              | 99 |
| I.37 | Espectro 2D de $^1H$ RMN, ROESY do composto 3 com 0,5 equivalentes de CB7. . . . .                                                                                                                                                                                                 | 99 |



## LISTA DE TABELAS

|     |                                                                                                                                                                                                    |    |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1 | Valores de $\epsilon$ (em $M^{-1}cm^{-1}$ ), de $pK'_a$ e $pK''_a$ e de Fotoconversão para os compostos 3 e 4 (*a pH $\sim 3,5$ ). . . . .                                                         | 36 |
| 2.2 | Quadro-resumo dos valores de rendimento quântico de fluorescência obtidos para os complexos formados entre os compostos 3 e 4 com os macrociclos CB7, $\alpha CD$ e $\beta CD$ , a pH = 1. . . . . | 39 |
| 2.3 | Quadro-resumo dos pKas aparentes dos complexos formados entre os compostos 3 e 4 com os macrociclos CB7, $\alpha CD$ e $\beta CD$ . . . . .                                                        | 40 |
| 4.1 | Composição do eluente (v/v), usado em gradiente, nas análises por HPLC. . . . .                                                                                                                    | 58 |
| I.1 | Matriz de coordenadas dos atômicas do composto 3 (na forma de flavílio), otimizada pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água . . . . .                                           | 81 |
| I.2 | Matriz de coordenadas dos atômicas do composto 3 (na forma de chalcona), otimizada pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água . . . . .                                           | 82 |
| I.3 | Matriz de coordenadas dos atômicas do composto 4 (na forma de flavílio), otimizada pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água . . . . .                                           | 83 |
| I.4 | Matriz de coordenadas dos atômicas do composto 4 (na forma de chalcona), otimizada pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água . . . . .                                           | 84 |
| I.5 | Matriz de coordenadas dos atômicas da estrutura proposta como contaminação do composto 3 (na forma de flavílio), otimizada pelo software <i>Gaussian09</i> por TDF (CAM-B3LYP) em água . . . . .   | 89 |



## GLOSSÁRIO

|                         |                                                                                                                                                      |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actinometria            | Método relativo para a medição do rendimento quântico de uma reação fotoquímica.                                                                     |
| Cromóforo               | Região da molécula responsável pela absorção de luz.                                                                                                 |
| Estado Fotoestacionário | Estado em que por mais que uma amostra seja irradiada não se verificam alterações espectrais.                                                        |
| Flavílio                | 2-fenil-benzopirílio.                                                                                                                                |
| Fluoróforo              | Região da molécula responsável pela emissão de luz.                                                                                                  |
| Vaivém Molecular        | Dispositivo Molecular constituído por uma molécula longitudinal (eixo) e um macrociclo que oscila entre duas zonas do eixo, num movimento de vaivém. |



## SIGLAS

|           |                                                                                    |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------|
| $\lambda$ | Comprimento de Onda.                                                               |
| A@B       | Complexo de inclusão entre A e B.                                                  |
| abs       | Absorvância.                                                                       |
| AcOEt     | Acetato de Etilo.                                                                  |
| c.c.f.    | Cromatografia em camada fina.                                                      |
| CBn       | Cucurbiturilo constituído por n unidades. Também abreviado por “Cucurbit[n]urilo”. |
| CD        | Ciclodextrina.                                                                     |
| Cn        | Composto n.                                                                        |
| DCM       | Diclorometano.                                                                     |
| DMF       | N,N-dimetilformamida.                                                              |
| n-Hex     | n-Hexano.                                                                          |
| RMN       | Ressonância Magnética Nuclear.                                                     |
| SCE       | Electrodo Saturado de Calomelanos (do inglês “Saturated Calomel Electrode”).       |
| TMA       | Tetrametilamónio.                                                                  |



## INTRODUÇÃO

*“A investigação em ciências aplicadas conduz a reformas,  
a investigação em ciência pura conduz a revoluções”*

*J. J. Thomson*

### 1.1 AS GRANDES QUESTÕES

Que leis regem o universo? Quais são as regras pelas quais funciona a vida? Se são estas as grandes questões da Física e da Biologia, onde está então a grande questão da Química? De facto, e perante a ausência de uma “grande questão”, poder-se-ia pensar que a Química é uma ciência de somenos importância. Que existe apenas para fazer a ponte entre os domínios da Física e da Biologia. É, no entanto, precisamente para isso que servimos, estando a imprecisão no termo “apenas” já que essa é uma ponte de extrema importância e complexidade. A Física é a ciência do *big bang*, das partículas elementares, estuda e enuncia as leis fundamentais, e por vezes abstratas, leis. A Biologia procura perceber aquilo que regula a vida como a conhecemos. E é a Química que, pegando nos limites da Física, nos elementos fundamentais, vai explicar como estes se ligaram entre si, se associaram mais ainda, ganharam agência, e por fim a inteligência de se questionarem a si próprios, chegando assim aos limites da biologia.

A química é, portanto, a ciência transversal. De origem eminentemente prática ganhou nos últimos anos a necessária profundidade teórica. Para, em diálogo com as outras ciências poder responder à sua grande questão, mesmo sem a ter formulada. A química está no centro das ciências já que nos leva desde os átomos isolados estudados pelos físicos até complexas estruturas *quasi-biológicas*.

### 1.1.1 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

Numa definição um pouco redutora, a Química é a ciência que estuda a forma como a matéria interage entre si, como os átomos se ligam uns aos outros para formar moléculas. É essa a química molecular. A sua ligação de excelência é a covalente, uma ligação forte que manterá a molécula coesa. Mas existem vários outros tipos de ligações, mais fracas, como as pontes de hidrogénio, as interações dipolo-dipolo ou ião-dipolo e, claro, as forças de Van Der Waals. Estas são ligações que se podem estabelecer entre moléculas distintas (ou até dentro de uma mesma molécula) e dar origem a uma estrutura maior e mais complexa. Esta estrutura mais complexa é aquilo a que chamamos de supramolécula, geralmente abreviada por “complexo”. O ramo da Química que estuda este tipo de associações denomina-se por Química Supramolecular tendo sido praticamente criado e impulsionado por Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn e Charles J. Pedersen, vencedores do prémio Nobel da Química em 1987 [1]. O termo “Supramolecular” tem a sua raiz etimológica no grego “*Supra*” que significa “para além de” pelo que Química Supramolecular se pode traduzir pela “Química para além da molécula”.

### 1.1.2 RECETORES E LIGANDOS

Um dos primeiros capítulos da Química Supramolecular a ser desenvolvido foi o da complexação de ligandos por receptores. Com diversas aplicações, por exemplo no campo dos sensores químicos para deteção de iões metálicos em misturas complexas. Os primeiros a serem desenvolvidos terão sido os poliéteres para deteção de catiões vários. Se o poliéter estiver ligado a um fluoróforo sensível, podemos ter um sensor que liga ou desliga a fluorescência consoante a presença ou não de um determinado ião, detetado pela unidade de poliéter [2], como representado esquematicamente na figura 1.1.

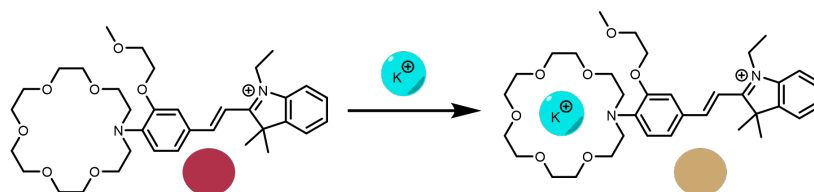


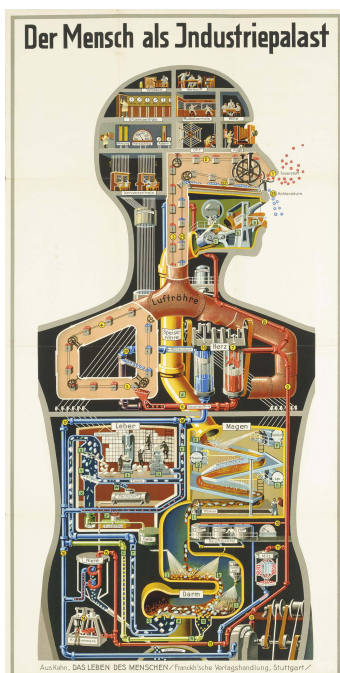
Figura 1.1: Complexação de um ião de potássio por um poliéter cíclico. A complexação induz uma alteração de cor notória (adaptado de [2]).

Desde então a química de receptores e ligandos conheceu inúmeros desenvolvimentos como a utilização de receptores electrodeficientes, sinteticamente mais desafiantes [3]. E têm vindo a ser desenvolvidos vários tipos de complexos que podem assumir diversas formas e até ser controlados por estímulos externos como a luz, o pH ou a eletricidade. Existem vários tipos de complexos receptor ligando, como sejam os rotaxanos, os calixarenos, os carcerandos, os foldâmeros, os criptandos. Enquanto alguns se limitam a capturar o ligando (como os carcerandos, cujo nome deriva de “carcer” – prisão), outros podem

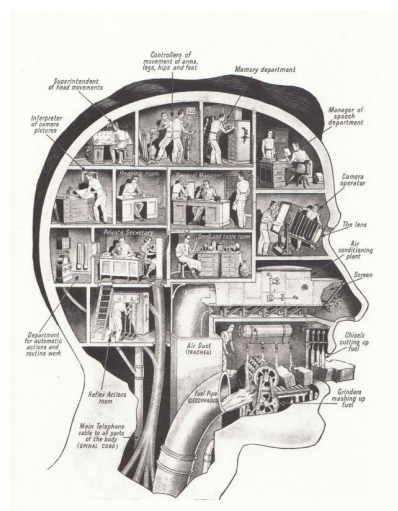
ser manipulados de forma a que depois de complexarem o ligando, o complexo sofra algum tipo de alteração conformacional ou estrutural [4]. Uma das grandes dificuldades no controlo dessas alterações passa pela seletividade, quer do receptor, quer do ligando. Nas últimas décadas, vários grupos de investigação por todo o mundo têm vindo a trabalhar no desenho e síntese de complexos cada vez mais eficientes o que levou ao surgimento de um novo ramo na Química Supramolecular: o ramo das máquinas moleculares.

### 1.1.3 MÁQUINAS MOLECULARES

Desde o advento das mais básicas tecnologias, e principalmente aquando da revolução industrial, que o pensamento de Homens engenhosos se virou para o desenvolvimento de maquinismos cada vez mais complexos. De um “simples” relógio de corda a um robô humanoide, o ser humano sempre tentou criar máquinas que fossem capazes de desenvolver trabalho para poder auxiliar ou substituir o trabalho humano. No início do séc XX, e reflexo do deslumbramento industrial, Fritz Kahn desenhou o ser humano como uma enorme fábrica repleta de máquinas e operários responsáveis por nos fazer movimentar, pensar e viver.



(a) O corpo humano como uma enorme fábrica



(b) O cérebro com os seus “trabalhadores”

Figura 1.2: No início do séc. Fritz Kahn imaginou o ser humano como contendo uma série de máquinas e operários. (CC-BY)

Mas não será de facto o ser humano uma enorme máquina? Alimentada a “energia biológica” em vez de queimar carvão? Levados às últimas consequências, todos os fenómenos biológicos têm uma explicação química subjacente pelo que poder-se-ia pensar que

a máquina biológica não passa de uma máquina química, uma máquina supramolecular altamente aperfeiçoada. Efetivamente um dos ramos da Química Supramolecular que tem ganho maior notoriedade nos últimos anos, tem sido o das máquinas moleculares com o prêmio Nobel da Química de 2016 a ser atribuído a este tema. Nesse ano o prêmio foi atribuído a Jean-Pierre Sauvage, Bernard Feringa e J. Fraser Stoddart pelo desenho e conceção de máquinas moleculares [5]. Estruturas supramoleculares já com alguma complexidade e acima de tudo, capazes de realizar algumas tarefas ou movimentos. Foram já apresentados vários tipos de dispositivos capazes, por exemplo, de fazer um movimento de vaivém, ou de pegar num dado “bloco” e de o mover para outro local. Chegou até a ser apresentado um modelo de um “carro molecular”. Essencialmente um eixo central com quatro ramificações em cujas pontas estavam unidades capazes de aderir a uma superfície e de acordo com o estímulo apropriado, rodar sobre si próprias fazendo o carro deslocar-se.

## 1.2 FLAVÍLIOS: O SISTEMA MULTIESTADO

Presentes um pouco por toda a parte as quintessenciais antocianinas são uma das principais famílias de compostos responsáveis por colorir a natureza. Desde os azuis, amarelos ou vermelhos das flores, aos vários tons de vermelho a rubi do vinho tinto, as antocianinas estão em todo o lado. Mas como pode ser possível que apenas uma família de compostos seja responsável por uma tão diversa paleta de cores? Tal deve-se à enorme versatilidade destes compostos. Na figura 1.3 apresenta-se a estrutura de uma antocianina, a oenina. A laranja encontra-se destacado o núcleo de 2-fenil-benzopirílio, conhecido como catião flavílio.

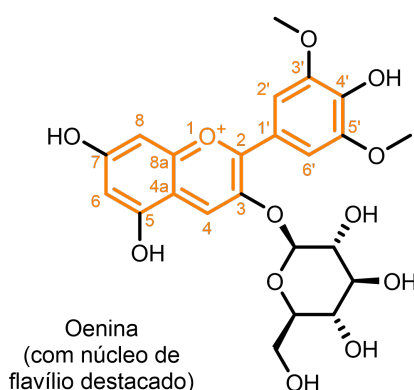


Figura 1.3: Uma antocianina natural

É este núcleo o responsável pela enorme versatilidade das antocianinas e antocianidinas (análogos não glucosidados) já que pode sofrer várias transformações que originam espécies com diferentes cores, além claro da variedade de compostos análogos que podem existir. Na figura 1.4 apresenta-se o esquema das transformações que o catião flavílio pode

sofrer. Estas dependem, de um ponto de vista termodinâmico, do pH do meio, já que o catião flavílio é estável apenas a pHs muito ácidos (cerca de 2 ou menor). Sem pretender descrever exaustivamente o esquema, o que ocorre com a subida do pH é que a posição 2, eletrofílica, sofre uma hidratação formando o hemicetal (B). Este produto não é muito estável e facilmente tautomeriza para dar a chalcona *cis* (Cc) que por sua vez isomeriza a dupla ligação para se obter a chalcona *trans* (Ct), a mais estável e é esta cascata de reacções que começa com o catião flavílio a pH ácido que chamamos de “Sistema Multiestado” [6]. No caso de alguns flavílios que tenham um grupo hidroxilo nas posições 7 ou 4', a primeira espécie a ser formada é aquela que resulta da desprotonação desse hidroxilo com a consequente deslocalização da carga para o anel de pirílio. Esta espécie designa-se por *base quinooidal* (A) e apesar de ser relativamente comum, não será discutida nesta tese, já que não é possível de ser formada nos compostos estudados.

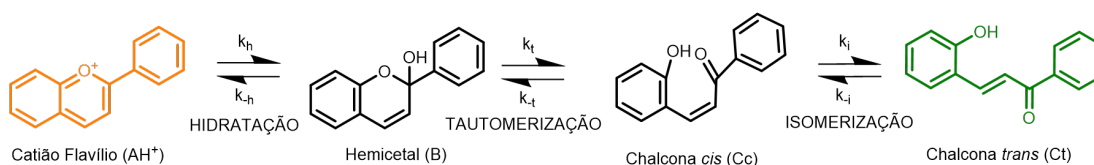
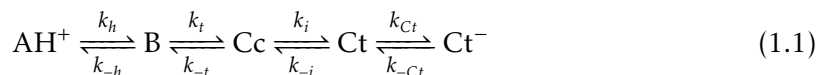


Figura 1.4: A cascata de reações do catião flavílio

### 1.2.1 COMPREENSÃO DO MULTIESTADO

Quando analisamos o multiestado das antocianinas há que considerar uma outra espécie que apenas surge a pHs mais elevados (geralmente acima de 8), trata-se da chalcona *trans* ionizada ( $Ct^-$ ). Podemos assim considerar os seguintes equilíbrios entre o catião flavílio e as espécies derivadas (com  $K_n = \frac{[n]}{[n]}$ ).



Uma vez que a Ct é a espécie mais estável termodinamicamente e a tautomerização  $B \rightleftharpoons Cc$  é muito rápida, podemos simplificar o equilíbrio considerando que B, Cc e Ct actuam como uma base conjugada, BC, de  $AH^+$  com a respectiva forma desprotonada que inclui as formas  $B^-$  e  $Cc^-$ . Isto resume o equilíbrio a:



Se agora tivermos em conta os balanços de massas para cada espécie ( $AH^+$ , BC e  $BC^-$ ), vem que:

$$\chi_{AH^+} = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K'_a[H^+] + K'_aK''_a} \quad \chi_{BC} = \frac{K'_a[H^+]}{[H^+]^2 + K'_a[H^+] + K'_aK''_a} \quad \chi_{BC^-} = \frac{K'_aK''_a}{[H^+]^2 + K'_a[H^+] + K'_aK''_a} \quad (1.3)$$

As deduções mais completas que levam a estas expressões podem ser encontradas no apêndice A. Uma consideração que pode ser feita é que quando a Ct é a espécie termodinamicamente mais estável, no equilíbrio toda a base conjugada estará nessa forma pelo que se considera  $BC = Ct$  e  $BC^- = Ct^-$ .

Outra simplificação que pode ser feita é para os casos em que se trabalha apenas na gama de pHs ácida a neutra em que não surge a forma ionizada. Neste caso as expressões para cálculo das fracções molares de  $AH^+$  e Ct resumem-se a [7]:

$$\chi_{AH^+} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K'_a} \quad \chi_{Ct} = \frac{K'_a}{[H^+] + K'_a} \quad (1.4)$$

### 1.2.2 ESTABILIDADE RELATIVA E FOTOCOMUTAÇÃO

Como referido anteriormente o catião flavílio é estável apenas a pHs muito ácidos. Por estável entenda-se o produto termodinâmico da cascata de reacções. Assim que se sobe o pH, a chalcona *trans* torna-se a espécie mais estável e, com o tempo, todo o flavílio se converterá em chalcona. Na figura 1.5 pode ver-se um esquema com as energias relativas de cada espécie para um flavílio genérico.

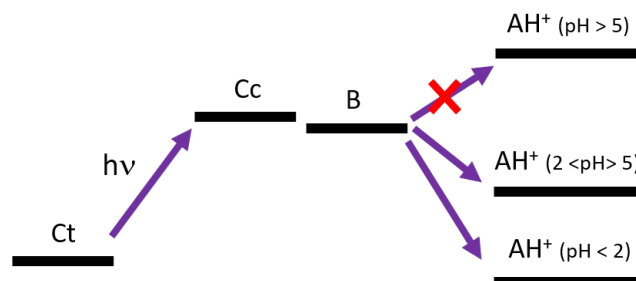


Figura 1.5: Diagrama de energias relativas das espécies presentes no multiestado. Não está à escala.

Analisando este diagrama de energias relativas, ficamos com uma ideia do potencial de aplicação da família das antocianinas como fotocomutadores já que, apesar de estarem presentes quatro espécies, se o composto e as condições forem as adequadas, apenas duas acabam por ser relevantes. Podemos imaginar um flavílio a  $pH = 1$ , estável, que sofre um aumento de pH para um valor onde a espécie mais estável já é a chalcona pelo que após algum tempo ter-se-á convertido em Ct. Uma das características que torna este sistema particularmente interessante é o facto de a isomerização *cis-trans* da dupla ligação da chalcona ser muito frequentemente fotoactiva. Ou seja, apesar da chalcona *trans* ser o produto termodinâmico, é possível transformá-la de volta em chalcona *cis* apenas com a irradiação ao comprimento de onda adequado.

É então que em vez de permanecer nessa forma indefinidamente, sendo fotorrespon-siva, pode isomerizar de volta a chalcona *cis* que por sua vez (e graças ao princípio de LeChatelier) tautomeriza para formar o hemiacetal que desidrata para recuperar o flavílio. Apesar de não ser estável a este pH, o flavílio é meta-estável pelo que se mantém nessa forma durante algum tempo, após o qual retornará à forma de chalcona como ilustrado pela figura 1.6. O que importa reter deste sistema é que nos compostos em que a Ct é a espécie mais estável, a aparentemente complexa cascata de reações do multiestado fica simplificada a apenas dois compostos, intercambiáveis com a luz, o calor ou o pH. Temos assim o nosso fotocomutador a funcionar com a comunicação Flavílio/Chalcona *trans* via chalcona *cis* e hemiacetal e o controlo a ser feito pela luz/calor.

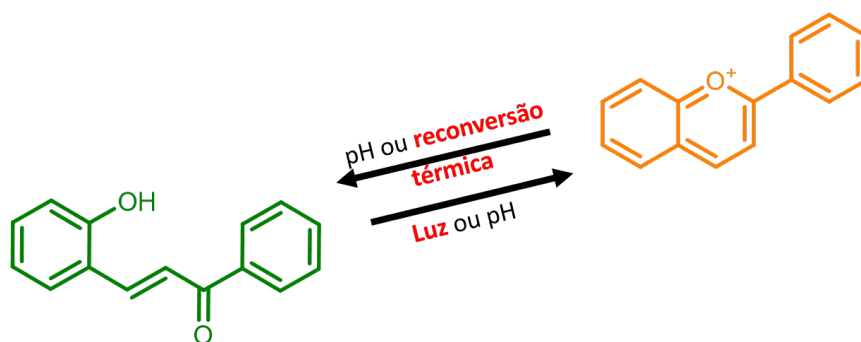


Figura 1.6: Esquema simplificado do fotocomutador.

## 1.3 O VAIVÉM MOLECULAR

Fruto da inspiração da química de receptor-ligando com os seus rotaxanos, supramoléculas constituídas por uma molécula longitudinal ao longo da qual um macrociclo oscila sem conseguir escapar. Em 1991, Pier Anelli, Neil Spencer e J. Fraser Stoddart apresentaram o primeiro “Vaivém Molecular” [8] uma estrutura que não é mais do que um rotaxano modificado para ter duas “estações” no seu eixo, cada uma com um ambiente químico distinto (fig. 1.7). Assim, o macrociclo pode estar numa estação e perante um estímulo externo que altere a sua afinidade relativa, deslocar-se para a outra estação. Se a primeira estação voltar ao estado inicial e a afinidade relativa voltar a mudar, podemos ter o regresso do macrociclo à estação de partida, num movimento de vaivém.

### 1.3.1 O EIXO

A escolha do eixo é de importância vital na construção do rotaxano para que funcione como tal. Se o desejado for o desenho de um vaivém molecular que tenha a capacidade de voltar à estação de partida, teremos de ter um eixo com duas zonas com ambientes químicos distintos sendo que um deles terá de ser intermutável por intermédio de um estímulo externo e essa alteração deve ser de amplitude suficiente de modo a que as características da segunda zona sejam intermédias mas ainda assim suficientemente distintas quer do

estado inicial, quer do estado final. Esta explicação tornar-se-á mais clara depois de ser analisado um exemplo.

De qualquer forma, o que há a reter é que o eixo desejado deverá ter uma unidade intermutável e responsiva a estímulos externos. E que melhor estímulo que a luz? A luz não obriga a que seja adicionado nenhum reagente ou a fazer qualquer tipo de manipulação, além de que pode ser altamente seletiva e quantificável. Portanto o que precisamos é de um fotocomutador, uma molécula cuja resposta à luz seja uma alteração conformacional.

Pelos motivos já apresentados, a família dos derivados das antocianinas apresenta-se como um candidato ideal. Se desenharmos um eixo que inclua um catião flavílio como uma das estações, teremos uma zona electrodeficiente à qual se poderão ligar macrociclos negativamente carregados. Por aumento do pH transformamos o flavílio em chalcona *trans*, já de características neutras o que pode levar a que o macrociclo se desloque para a segunda estação se a afinidade para com esta for maior que para a chalcona (mas menor que para o flavílio ou ligar-se-lhe-ia logo em primeiro lugar) depois e por irradiação ao comprimento de onda certo, podemos recuperar o flavílio e o macrociclo regressa a este, já que é onde tem mais afinidade. E assim temos o nosso vaivém molecular a oscilar entre estas duas estações e controlado essencialmente pela luz e pelo calor como ilustrado na figura 1.7.

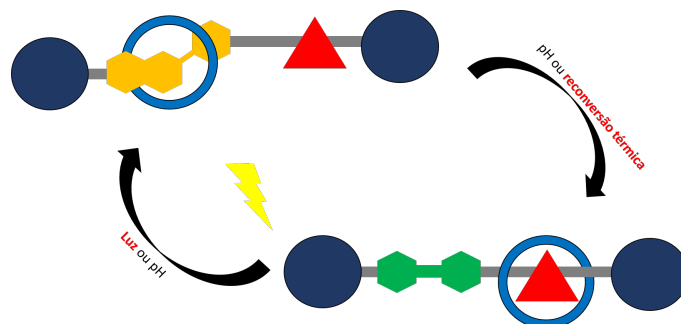


Figura 1.7: Esquema do funcionamento do “vaivém molecular”, um rotaxano cujo macrociclo oscila entre duas posições como resposta a estímulos externos de luz, calor ou pH.

### 1.3.2 O MACROCICLO

Existem várias famílias de macrociclos que são frequentemente utilizados e que podem ser classificadas de acordo com uma característica bastante importante: a densidade eletrónica das cavidades. Podemos assim ter macrociclos como o tetracatiónico Ciclobis(paraquat-*p*-fenileno), conhecido como a caixa azul de Stoddart, de carácter electrodeficiente, as ciclodextrinas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  (condensação de 6, 7 ou 8 unidades de glucose, respectivamente) de carácter neutro. A figura 1.8 ilustra estes dois tipos de macrociclo, bem como a sua representação pictórica muitas vezes utilizada em esquemas. Uma característica particular das ciclodextrinas é que a sua cavidade não é simétrica, mas sim cónica como exemplificado também na figura 1.8c).

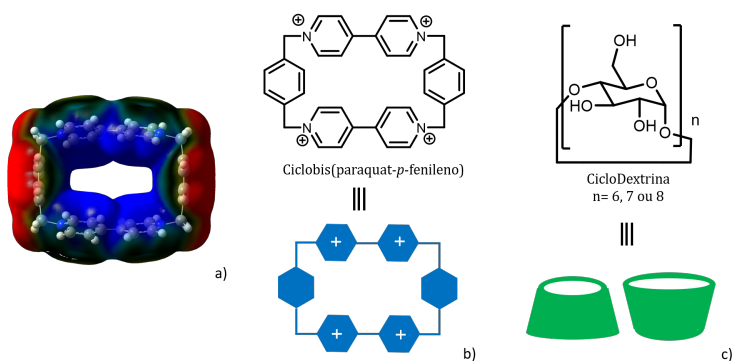


Figura 1.8: a) Mapa de potencial electrostático da “Caixa Azul de Stoddart” e respectiva estrutura em b); c) Estrutura base das Ciclodextrinas.

Outra família de macrociclos que foi extensivamente estudada ao longo deste trabalho é a família dos cucurbiturilos (CB). Estas moléculas são formadas pela condensação de várias unidades de glicourilo para formar macrociclos com 5, 6, 7, 8 ou 10 unidades (chamados  $CB_n$  conforme o número de unidades). Ao contrário das ciclodextrinas, os cucurbiturilos possuem uma cavidade simétrica e a sua forma pode ser melhor descrita como assemelhando-se a uma abóbora da família *cucurbitaceae* exemplificada na figura 1.9a). Ao contrário da caixa azul de stoddart, os CBs possuem um carácter mais electronegativo já que os portais de entrada possuem elevada densidade electrónica fruto dos grupos carbonilo, como se pode ver na figura 1.9b). Neste trabalho apenas foram estudados os complexos com CB7 e CB8.

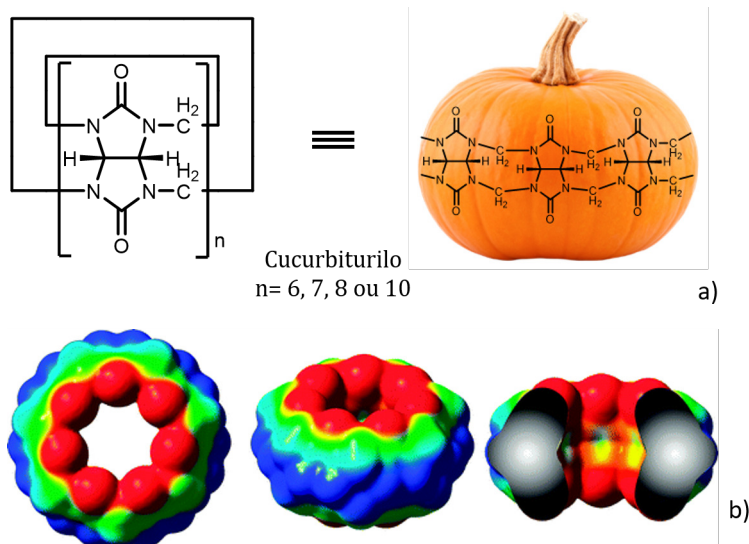


Figura 1.9: a) Estrutura dos cucurbiturilos e comparação com a família das abóboras *cucurbitaceae*; b) Mapa de potencial electrostático de uma molécula de CB de vários pontos de vista (adaptado de [9]).

## 1.4 TÉCNICAS GERAIS DE CARACTERIZAÇÃO

Quando se lida com a Química da formação de complexos, existem várias formas de seguir experimentalmente essa formação. Seja monitorizando as alterações no espectros de absorção ou de emissão, seja seguindo os desvios químicos por RMN ou ainda por técnicas como calorimetria, dicroísmo circular, etc. O mesmo se aplica à compreensão do multiestado das antocianinas e a variadíssimas áreas da Química em que é sempre necessário fazer corresponder os dados obtidos experimentalmente a um modelo teórico que permita verdadeiramente compreender o sistema. É necessário encontrar uma expressão que possa ser ajustada aos dados experimentais com o maior rigor possível e, fundamentalmente, cujas variáveis tenham um significado físico concreto e conhecido.

### 1.4.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO

A espectroscopia de absorção baseia-se no fenómeno da absorção de luz pela matéria. Como sabemos as moléculas são constituídas por átomos ligados entre si (quer as moléculas, quer as supra-moléculas, o que varia é o tipo de ligações). Individualmente cada átomo possui os seus electrões que, numa visão simplista, são partilhados com outros átomos da molécula, originando orbitais moleculares. Estas orbitais terão energias diferentes de acordo com variadíssimos factores entre os quais se encontram a natureza das ligações e átomos envolvidos na partilha. Tudo isto faz com que cada molécula tenha transições electrónicas a comprimentos de onda característicos pelo que essa pode ser uma forma de estudar os sistemas.

Para tal é utilizado um espectrofotómetro, um aparelho que faz passar selectivamente luz numa gama de comprimentos de onda e “vê” quanta dessa luz “não chega” ao detector. E se não chega, é porque foi absorvida pela amostra, como exemplificado na figura 1.10.

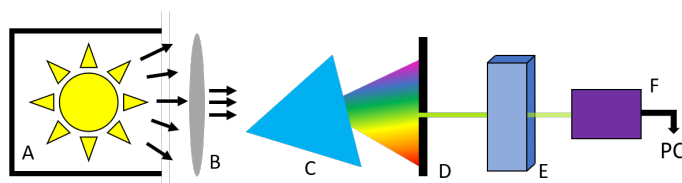


Figura 1.10: Esquema simplificado de funcionamento de um espectrofotómetro em que: A-Fonte de luz; B-Lente para focar a luz dispersa; C-Monocromador para separar a luz branca nos vários comprimentos de onda; D- Fenda para seleccionar apenas um intervalo muito reduzido de comprimentos de onda; E- Amostra; F-Fotodetector, converte a luz recebida num sinal elétrico que envia para o computador para processamento

O detector medirá assim uma razão entre a luz que passou pela amostra  $I$  e a luz que a amostra recebeu ( $I_0$ ). A esta grandeza chamamos transmitância ( $T$ ).

$$T(\lambda) = \frac{I}{I_0} \quad (1.5)$$

A transmitância é uma grandeza que varia entre 0% e 100%, sendo muito mais utilizada outra grandeza que dela varia, a absorvância ( $A$ ), e que é definida por:

$$A(\lambda) = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) \quad (1.6)$$

Uma propriedade que torna esta técnica particularmente útil é a de que a absorvância é directamente proporcional à concentração da espécie que absorve, de acordo com a lei de *Lambert-Beer*:

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l \quad (1.7)$$

em que  $\epsilon$  corresponde ao coeficiente de extinção molar da espécie (é, se quisermos, a constante de proporcionalidade),  $c$  é a concentração efectiva e  $l$  é o comprimento do percurso óptico da amostra.

### 1.4.2 ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO

Quando uma molécula está no estado fundamental, os seus electrões estão organizados numa forma de energia mínima, no estado singleto de nível 0,  $S_0$ . Se a molécula é irradiada com luz de energia adequada, pode ocorrer absorção de luz. Nesse caso, a molécula passará para o estado  $S_1$  onde não é estável pelo que tenderá a relaxar de volta para o estado fundamental. E o que acontece pelo percurso é que se pode revelar de extremo interesse. Isto porque existem várias hipóteses, desde logo: nada. O electrão relaxa por processos não radiativos e fica no estado fundamental, sendo isto o mais comum. No entanto, algumas moléculas têm a capacidade de relaxar através de outras formas, como ilustra o diagrama de *Jablonski* na figura 1.11.

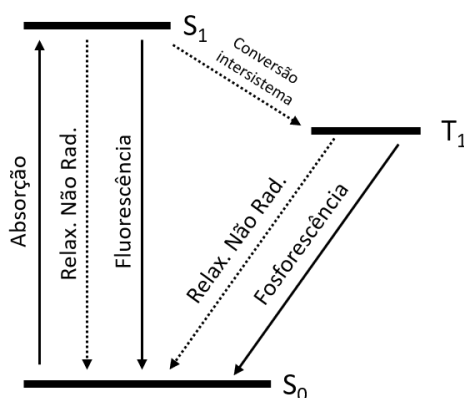


Figura 1.11: Diagrama de Jablonski. As setas a tracejado representam processos não radiativos.

Como vemos neste diagrama, quando a molécula está no estado  $S_1$  pode decair directamente para o estado fundamental emitindo luz, a este processo chama-se *Fluorescência* alternativamente pode sofrer um processo de conversão e ficar no estado tripleto ( $T_1$ ) de

onde poderá posteriormente decair para o estado fundamental. Caso haja emissão neste decaimento, estamos perante Fosforescência. A ambos os casos é comum dar a designação mais genérica de *Fotoluminescência* que se traduz por “luminescência induzida pela luz”. Essencialmente luz que gera outra luz.

Quando se lida com compostos fotoluminescentes pode ser do nosso interesse estudar essas propriedades ou usá-las como ferramenta de monitorização de um outro fenómeno qualquer. Para isso é necessário um aparelho capaz de excitar seletivamente uma amostra e depois medir a luz emitida por esta. Este aparelho é o espectrofluorímetro e tem um design semelhante ao espectrofotómetro (fig. 1.12) até chegar à amostra. A principal diferença está depois na capacidade de medir seletivamente a intensidade da luz emitida.

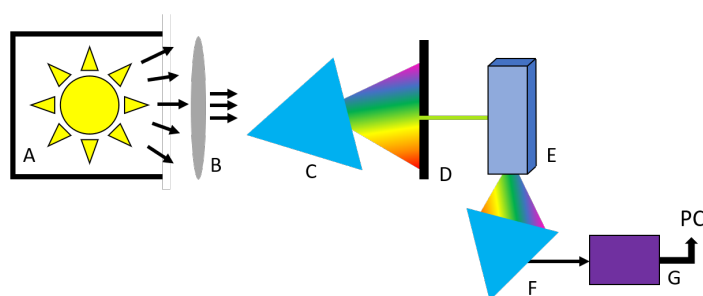


Figura 1.12: Esquema simplificado de funcionamento de um espectrofluorímetro em que: A-E, igual à figura 1.10; F-Monocromador de emissão, para analisar a intensidade da luz emitida a cada comprimento de onda; G-Fotodetector, converte a luz recebida num sinal eléctrico que envia para o computador para processamento

Ao contrário da espectroscopia de absorção, não é tão directa a relação entre a intensidade de luz emitida e a concentração de uma espécie. Isto porque como vimos em 1.11 o processo de emissão de luz é bastante mais complexo, podendo existir fenómenos cruzados a contribuir para a emissão ou para a ausência dela. No entanto, para concentrações baixas, verifica-se uma relação de proporcionalidade sendo frequente a determinação de concentrações ou afins usando retas de calibração por emissão. Além de que ao contrário da espectroscopia de absorção, não utiliza um método relativo de comparação com células de referência, pelo que os valores obtidos numa experiência são absolutos e dependem de vários factores como a geometria da experiência por isso é que os resultados de um dado equipamento não podem facilmente ser comparados com os de um equipamento diferente, no que ao valor absoluto da intensidade diz respeito.

Um cuidado importante a ter em medidas de emissão é o de utilizar sempre soluções diluídas, idealmente com absorvâncias inferiores a 0,1. Esta preocupação está relacionada com o chamado “*Efeito de Filtro Interno*”, exemplificado na figura 1.13. Como podemos ver, apenas quando se usam soluções diluídas é possível garantir que toda a largura da célula é atravessada pelo feixe de igual forma e só assim o detector poderá fazer uma medida rigorosa.

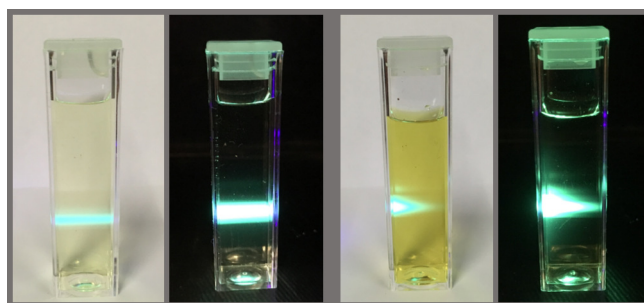


Figura 1.13: Efeito de filtro interno. À esquerda, uma solução diluída que é uniformemente atravessada pelo feixe de irradiação. À direita, uma solução mais concentrada que absorve logo toda a luz do feixe, impedindo que a metade direita da célula seja irradiada de igual forma.

Existe ainda uma grandeza que pode ser determinada, que é independente do equipamento e que permite saber qual é efectivamente a capacidade emissiva de uma dada espécie. Falamos do rendimento quântico de fluorescência ( $\phi_f$ ):

$$\phi_f = \frac{\text{Nº fotões emitidos}}{\text{Nº fotões absorvidos}} \quad (1.8)$$

O rendimento quântico é assim definido como a razão entre o número de fotões emitidos e o número de fotões absorvidos. Como, aliás, qualquer rendimento é definido (razão entre a quantidade produzida e a quantidade máxima teórica que seria possível produzir). Frequentemente utilizam-se padrões cujo rendimento quântico é conhecido com rigor e determina-se o da amostra por comparação, através da equação 1.9[10].

$$\phi_f = \phi_R \frac{I}{I_R} \frac{A_R}{A} \frac{n^2}{n_R^2} \quad (1.9)$$

Em que  $\phi_f$  é o rendimento quântico;  $I$ , o integral do espectro de emissão;  $A$ , a absorvância ao comprimento de onda de excitação e  $n$  o índice de refração do meio. Os termos com “R” são os que respeitam ao composto de referência, ou seja, com o rendimento quântico já conhecido.

### 1.4.3 FOTOQUÍMICA

Como mostra a figura 1.11, existem várias formas de uma molécula responder à absorção de luz. Para além dos fenómenos de luminescência já analisados, uma possibilidade é que a luz promova uma reacção química. Geralmente em síntese orgânica é utilizado o aquecimento para fornecer energia suficiente para os reagentes ultrapassarem a barreira de activação; no entanto, esta energia também pode provir da luz. No caso das antocianinas, a reacção fotoquímica de excelência e na qual é baseada o funcionamento do fotocomutador flavílio/chalcona trans é a isomerização cis/trans da ligação dupla para formar a chalcona cis que depois pode evoluir para o flavílio.

A fim de poder ser quantificada a eficiência destes sistemas, é necessário medir o rendimento quântico da reacção ( $\phi_{Foto}$ ). Este rendimento tem em conta a chamada Regra de Ouro da Fotoquímica que diz que:

*Para existir Fotoquímica, tem de existir absorção de luz*

isto porque o que é medido é a quantidade de produto formado em relação aos fotões que foram absorvidos, de acordo com a equação 1.10.

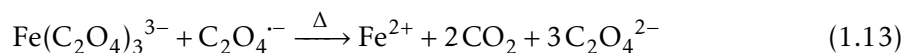
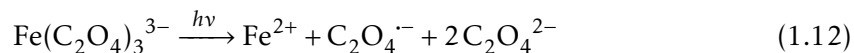
$$\phi_{FOTO} = \frac{\text{moles de produto formado}}{\text{moles de fotões absorvidos}} \quad (1.10)$$

Importa ressaltar que ambos os termos se referem a um mesmo intervalo de tempo. Geralmente as irradiações são conduzidas até se atingir o estado fotoestacionário, o estado em que por mais luz que a amostra receba, já não se observam alterações espectrais. Isto também permite determinar a percentagem de fotoconversão de acordo a equação 1.11

$$\%_{Fotoconversão} = \frac{[c]_{final} - [c]_{inicial}}{C_0} \quad (1.11)$$

Sendo que ambas as concentrações (inicial e final) podem ser conhecidas através da lei de *Lambert-Beer*. Este indicador é útil para saber a eficiência da conversão fotoquímica em termos práticos. Mas voltando ao rendimento quântico, enquanto as moles de produto formado são relativamente fáceis de determinar, da mesma forma que no caso anterior, as moles de fotões absorvidos já não são tão triviais e requerem outras experiências.

Para determinar a quantidade de fotões absorvidos, é necessário conhecer o fluxo fotónico da fonte de irradiação. O método mais comum para esta determinação é o método de Actinometria, um método relativo que usa um composto fotossensível com um rendimento quântico bem conhecido. Um dos compostos mais frequentemente usados é o ferrioxalato de potássio que quando irradiado se decompõem de acordo com as equações 1.12 e 1.13.



A actinometria baseia-se portanto em expor uma solução de actinómetro (neste caso o  $\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3^{3-}$ ) e depois medir quanto produto se forma por unidade de tempo para poder isolar a variável  $I_0$  da equação 1.14. Uma vez isolada esta variável, podemos aplicá-la na nossa irradiação para saber a quantidade de fotões absorvidos pela amostra e, consequentemente, o rendimento quântico fotoquímico.

$$I_0 = \frac{\text{moles de Fe}^{2+}}{\phi_{FOTO} \times t \times F} \quad (1.14)$$

Em que:  $I_0$  corresponde ao fluxo da lâmpada (ou seja, moles de fótons por unidade de tempo);  $\phi_{FOTO}$  ao rendimento quântico do actinómetro, ao comprimento de onda de irradiação;  $t$  ao tempo de irradiação e  $F$  à fração de luz absorvida. Frequentemente trabalham-se com soluções de absorvância superior a 2 (99% da luz absorvida) e o termo  $F$  torna-se desprezável.

#### 1.4.4 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A Ressonância Magnética Nuclear é uma das mais poderosas técnicas de elucidação estrutural que podemos utilizar no dia-a-dia no laboratório. Baseia-se na excitação selectiva dos núcleos dos átomos que relaxarão de forma diferenciada de acordo com a sua vizinhança quando sujeitos à influência de um campo magnético externo ( $B_0$ ). Isto permite-nos saber qual o ambiente químico que cada átomo experiencia. No entanto, nem todos os núcleos são passíveis de ser analisados. Apenas aqueles que tenham spin nuclear ( $l$ ) diferente de 0 são “excitáveis” por pulsos de radio-frequências e os mais comuns têm spin nuclear 1/2 (aqueles que têm número de massa ímpar,  $^1H$ ,  $^{13}C$ ,  $^{15}N$ , etc...). Tal como com a multiplicidade de spin electrónico, um núcleo com spin “ $n$ ” terá  $2n + 1$  estados possíveis de spin ( $m_l$ ), assim e no caso de spin  $l = 1/2$  existirão 2 estados possíveis,  $\alpha$  e  $\beta$ . O efeito de RMN tira partido da diferença energética que se estabelece entre estes dois estados graças ao efeito de *Zeeman*, uma vez que o momento magnético ( $\mu$ ) é proporcional ao momento de spin ( $S$ ), através da constante giromagnética ( $\gamma$ ) como mostra a equação 1.15

$$\mu = \gamma \times S \quad (1.15)$$

Assim, podemos relacionar que quanto maior for a constante giromagnética do núcleo, maior será o seu momento magnético. E isto torna-se relevante porque o momento magnético será a constante de proporcionalidade entre a intensidade do campo magnético total,  $B_T$  (com  $B_T = B_0 + B_{Local}$ ) e a diferença energética ( $\Delta E$ ) entre os dois estados, como mostra a equação 1.16 (em que  $h$  é a constante de Planck).

$$\Delta E = \frac{\gamma h B_T}{2\pi} \quad (1.16)$$

E uma vez que é desta diferença energética que provém o efeito de RMN que serve para depois obter um espectro analisável, é de todo o interesse que seja maximizada. O parâmetro que podemos controlar é o  $B_0$ , a força do magnete e dependendo do núcleo, pode ou não ser necessário (quando possível) usar um campo muito forte. No caso do protão, com  $\gamma_{^1H} = 267 \times 10^6 \text{ rad.s}^{-1} \text{ T}^{-1}$ , um campo na ordem dos 7T já permite obter bons resultados em pouco tempo; no entanto no caso do núcleo de carbono 13, não só a constante é de cerca de 1/4 da do protão ( $\gamma_{^{13}C} = 67 \times 10^6 \text{ rad.s}^{-1} \text{ T}^{-1}$ ), como a sua abundância natural também é muito reduzida pelo que se torna difícil e moroso obter bons resultados se o campo não for mais forte.

Neste trabalho, para além de ter sido utilizada a técnica para aferir a qualidade e pureza das estruturas sintetizadas e recebidas, foi também utilizado para elucidar a estrutura supramolecular de alguns dos complexos formados já que a sensibilidade do RMN não se limita às ligações covalentes mas sim a todo o ambiente químico em que o núcleo está inserido, o que inclui correlações espaciais.

É assim possível perceber se o ligando está ou não complexado e permite ainda ir ao nível de detalhe de saber que átomos e zonas da molécula de ligando estão a interagir mais ou menos fortemente com o receptor. Sabemos que quando os sinais do ligando sofrem um desvio isso indica que estão a complexar e no caso particular dos complexos com cucurbiturilos sabemos que se o desvio for para campo mais alto, são átomos que estão localizados na zona dos portais de entrada/saída. Já se for para campo mais baixo, estão dentro da cavidade do cucurbiturilo [11]. Isto porque a cavidade do CB blinda os prótons que lhe estiverem próximos enquanto a zona dos portais, com os carbonilos promove uma desblindagem, de acordo com a figura 1.14. Apesar de ainda não estar elucidado o mecanismo de blindagem/desblindagem, o mais provável é tratar-se do efeito combinado dos resíduos do tipo ureia que compõem o cucurbiturilo[11].

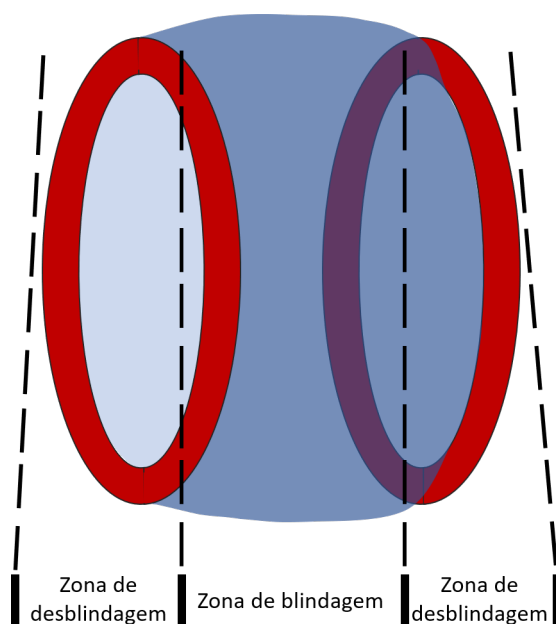


Figura 1.14: Representação de um cucurbiturilo indicando as zonas que induzem blindagem ou desblindagem nos ligandos, de acordo com [11].

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.1 PREÂMBULO

Neste capítulo encontram-se os resultados obtidos nas várias experiências que foram realizadas ao longo desta tese assim como a respectiva discussão e interpretação. Foram efectuados vários ajustes de pontos experimentais a modelos teóricos usando os modelos referidos na introdução e explicados em maior detalhe nos apêndices A e B. Este capítulo encontra-se dividido em três secções principais: “Interações Receptor Ligado”; “Máquinas Moleculares: O Pseudo-Rotaxano” e “Máquinas Moleculares: O Vaivém Molecular”. Enquanto a primeira lida com a síntese e caracterização de um composto da família dos flavílios capaz de formar complexos receptor-ligando com cucurbit[7,8]urilos, a segunda e terceira lidam com a formação de complexos do tipo pseudo-rotaxano e rotaxano fotocomutáveis. No segundo caso foi estudado um pseudo-rotaxano que, por conter uma unidade de bipyridínio, é electrorresponsivo e no terceiro foram estudados dois compostos que continham já os grupos terminais com vista à formação do rotaxano completo em que a posição do macrociclo pudesse ser controlada.

A descrição de algumas das técnicas usadas, bem como a enumeração de todo o material utilizado encontram-se no último capítulo: “Materiais e Métodos”.

## 2.2 INTERAÇÕES RECEPTOR-LIGANDO

A fim de estudar as interações estabelecidas entre cucurbiturilos e compostos derivados da família das antocianinas capazes de formar estruturas supramoleculares mais complexas, foi desenhado um composto que, com base na experiência adquirida no grupo de investigação, teria essa capacidade. O composto em questão (fig. 2.1), é um bisflavílio simétrico pelo que o esperado é que complexa com duas moléculas de cucurbiturilo.

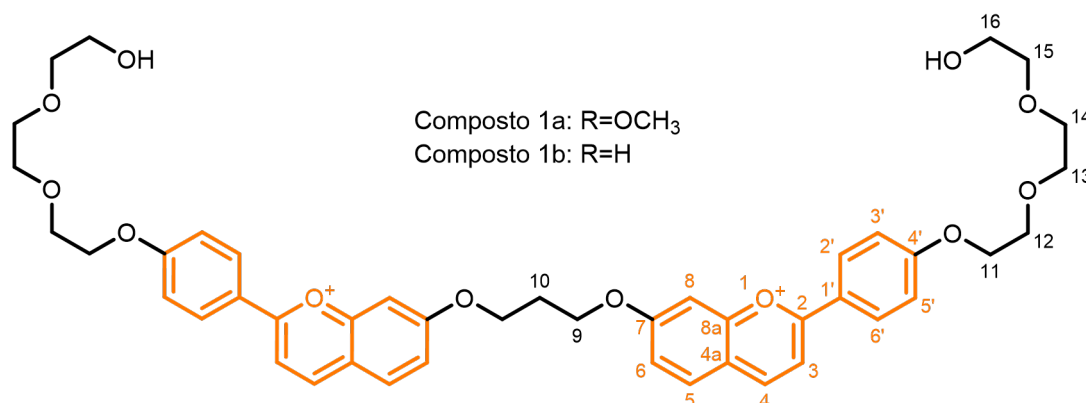


Figura 2.1: Compostos 1a e 1b, Bis(7-propanoxi-il,4'-(metoxi)triethilenoglicol-flavílio)

### 2.2.1 SÍNTESE

A síntese destes bisflavílios foi feita de acordo com o esquema sintético apresentado em 4.1 e como podemos ver estes compostos possuem duas cadeias de triethilenoglicol. O seu propósito é aumentar a sua solubilidade em meio aquoso. No entanto, durante a sua síntese poder-se-à ter desenvolvido algum tipo de produto secundário que não foi eficazmente removido, já que após a purificação continuavam a existir alguns sinais no espectro de RMN que não eram claros. Enquanto a primeira síntese, de acordo com o procedimento reportado em 4.2.1.3, foi conduzida à temperatura ambiente durante cerca de 72h com um ligeiro excesso de acetofenona sobre a quantidade estequiométrica, numa segunda reacção resolvemos testar o efeito que a quantidade de acetofenona teria sobre o progresso.

Assim, e a fim de perceber se um largo excesso faria com que a reacção se completasse mais rapidamente, foi feito um teste em pequena escala nas mesmas condições, utilizando ácidos acético e sulfúrico deuterados por forma a seguir o progresso da reacção por RMN. Na figura 2.2a) ilustra-se a sequência de espectros decorrentes da reacção bem como o gráfico (2.2b) ) que traduz a variação (desaparecimento/surgimento) de dois sinais característicos do reagente/produto, o que permitiu monitorizar e saber quando a reacção estaria terminada (quando se atinge o equilíbrio).

Ao analisar a figura 2.2b) quando é usado um largo excesso (linhas a azul), a reacção progride quase três vezes mais rapidamente, estando completa em menos de 20 horas.

Esta última amostra foi depois sujeita a precipitação, lavagens com éter e análise por ESI-MS (I.2) tendo sido identificado o ião molecular com uma massa muito ligeiramente diferente da calculada. Verificou-se a troca de alguns dos protões por deutério, o que se explica facilmente com as condições extremamente ácidas da síntese. Além de que como a deuteração não é homogênea, pode ser por isso que a massa calculada difere um pouco da massa exata obtida ( $m/z_{calc} = 407,6956$ ;  $m/z_{exp} = 407,6959$ ). Para além do ião molecular, surgiu um outro pico que não pôde ser facilmente atribuído a nenhuma forma da estrutura pelo que se deverá tratar de uma impureza que tendo em conta a intensidade, será ainda expressiva. Como ainda assim e após purificação continuavam a existir algumas impurezas (figura 2.2c), resolveu-se tentar uma síntese em tudo semelhante, removendo apenas os grupos metóxido nos *terminus* das cadeias de trietilenoglicol, o que também poderia trazer vantagens do ponto de vista de solubilidade. Antes de tentar a reacção em escala normal, fez-se um novo teste em pequena escala seguindo o progresso por RMN. Desta vez, estudou-se a influência da temperatura conduzindo-se duas reacções, uma a 25°C e outra a 60°C.

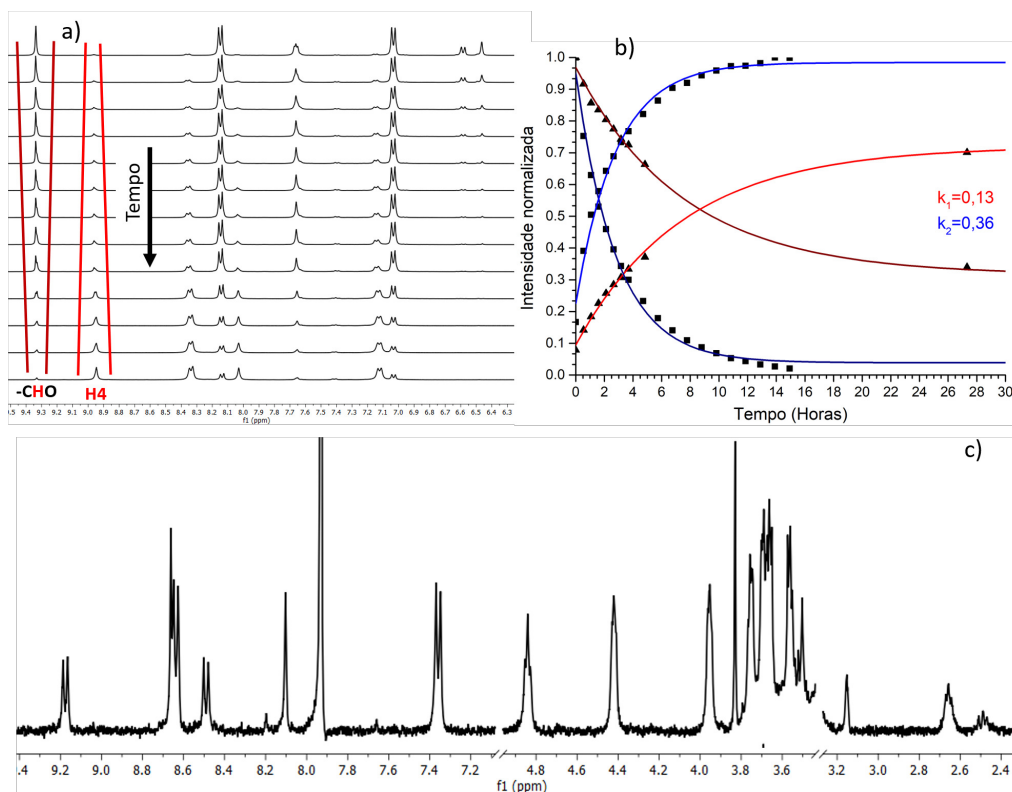


Figura 2.2: a) Sequência de espectros de RMN obtidos ao longo do tempo como forma de monitorização da reacção. Nesta sequência, o tempo progride de cima para baixo, de acordo com a seta b) Gráfico que relaciona o valor dos integrais dos sinais a 9,34 (cor clara) e a 8,96 (cor escura), característicos do reagente (protão do aldeído) e do produto (protão 8 do flavílio): a vermelho para 2,3 equivalentes de acetofenona e a azul para 11 equivalentes (largo excesso). Na secção c), o espectro de  $^1H$  RMN do composto 1a, após a síntese e purificação.

Com este teste verificou-se que em ambos os casos se obtêm resultados semelhantes porém, a temperatura mais elevada diminui consideravelmente o tempo de reacção, de mais de 15 para cerca de 2 horas pelo que foi aproximadamente nestas condições que foi realizada a síntese a uma escala normal para obter produto em quantidade suficiente para ser caracterizado. Como podemos ver pela figura 2.3 desta vez foi obtido um espectro limpo e bem resolvido após purificação que consistiu em lavagens sucessivas com éter, de acordo com o procedimento em 4.2.1.5. A amostra resultante da última síntese por RMN (a 60°C) foi também precipitada e à semelhança da anterior, sujeita a uma análise por ESI-MS. Desta vez e considerando a troca de 6 protões por deutérios (3 por flavílio) obteve-se uma estrutura cuja razão massa/carga calculada corresponde exactamente ao valor obtido por ESI-MS para a massa exata do composto ( $m/z = 394,1834$ ), até à quarta casa decimal.

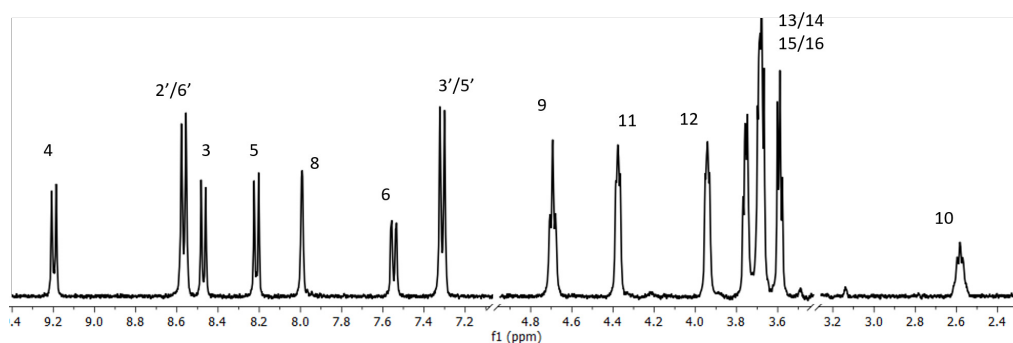


Figura 2.3: Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto 1b obtido após purificação.

### 2.2.2 CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO

Uma vez obtido o composto puro, procedeu-se à determinação do seu  $pK'_a$  através da técnica de saltos de pH (descrita em 4.2.2.1) cujos resultados se apresentam na figura 2.4. Para obter o espectro do flavílio no patamar foi necessário atingir concentrações muito elevadas de ácido (clorídrico) já que este composto revelou ter duas constantes de acidez aparentes (0,39 e 3,71). Este facto está de acordo com o reportado em [12] uma vez que apesar de os dois núcleos de flavílio não comunicarem electronicamente, quando se considera a molécula como um todo, a dicatión não é muito estável e facilmente hidrata para formar a chalcona. Uma vez formada a chalcona e com o aumento do pH a molécula mantém-se relativamente estável, com um flavílio e uma chalcona, até um valor de pH superior ao típico  $pK'_a$  observado em flavílios com este padrão de substituição ( $pK'_a$  entre 1 e 2 [7]). Acima de  $pH = 3,71$  predomina a forma de bis-chalcona.

### 2.2.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

Numa primeira fase, não se procurou caracterizar exaustivamente o composto 1b pelo que antes de medir outros parâmetros procurou conhecer-se a afinidade do composto

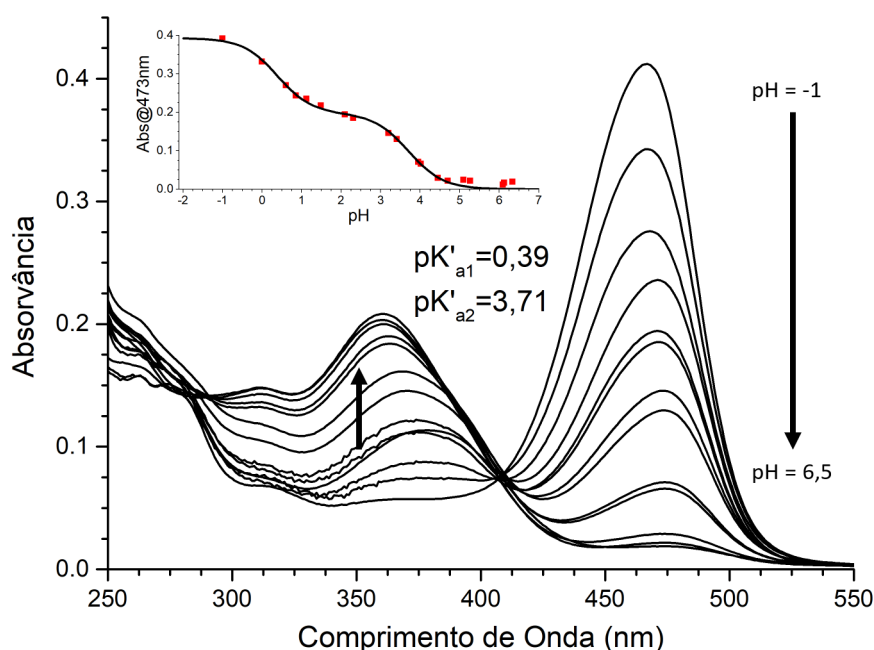


Figura 2.4: Espectros de absorção de várias soluções do composto 1b ( $5\mu\text{M}$ ) a diferentes valores de pH que permitem a determinação dos valor de  $pK'_a$  do composto (em *inset*), com  $pK'_{a1} = 0,39$  e  $pK'_{a2} = 3,71$ .

para com os cucurbiturilos de 7 e 8 unidades. Para isso, foram feitas titulações, seguidas por espectroscopia de absorção, com ambos os macrociclos e uma vez que se verificou que se tratava de um composto altamente emissivo, com uma fluorescência verde bastante intensa, as titulações foram também seguidas por emissão.

Na figura 2.5 encontram-se representados os dados relativos à titulação por emissão do composto 1b com CB8. A titulação por absorção e as efectuadas com CB7 encontram-se em anexo (I.4-I.6) Como podemos ver na fotografia incluída na figura 2.5, com o aumento da concentração de CB8 verifica-se um fenómeno interessante no que respeita à cor da emissão observada. De acordo com os dados espectrais da titulação (por emissão), a emissão do composto *per si* é uma banda centrada a 505nm, correspondente à cor verde, e quando se adiciona CB8, verifica-se o desaparecimento dessa banda e o surgimento de uma centrada a 570nm, amarela; com um largo excesso de CB8 volta a surgir uma banda na zona do verde pelo que, tal como observado na fotografia, a cor corresponde a uma mistura entre amarelo e verde. Isto sugere-nos que no caso da complexação com CB8 são formados complexos com estequiometrias diferentes já que o surgimento da banda deslocada para o vermelho é característica de um fenómeno de emissão excimérica, o que nos sugere que não só se formam complexos do tipo 2:1 (em que cada flavílio inclui dois cucurbiturilos) mas muito provavelmente formar-se-ão complexos do tipo 1:2 (dois flavílios dentro de um mesmo CB8) sendo esses os responsáveis pela emissão amarela.

Como cada molécula possui dois flavílios existem duas possibilidades: pode tratar-se de um dímero intramolecular em que a molécula “dobra” pela ponte de propano e fica “fechada” pelo cucurbiturilo ou em alternativa ser um processo intermolecular em que se forma essencialmente um polímero supramolecular de poli-pseudo-rotaxanos com os cucurbiturilos a servirem de “cola” para reforçar as ligações  $\pi - \pi$  dos dímeros de flavílio.

À luz desta suposição, as constantes obtidas pelo modelo 2:1 para o complexo com CB8 (1b@CB8:  $K_{11} = 2,93 \times 10^7 M^{-1}$ ,  $K_{21} = 3,94 \times 10^4 M^{-1}$ ) devem ser interpretadas apenas como constantes aparentes já apesar de se obter um bom ajuste, é possível que o mecanismo não seja o mesmo. Outra indicação para a formação de complexos com estequiometrias diferentes é a recuperação da banda verde quando se atingem concentrações mais elevadas de macrociclo. Uma explicação possível para este fenómeno é a de que, assumindo a formação destes complexos 1:2 intra ou intermoleculares, quando começa a existir muito macrociclo livre, existe como que uma redistribuição dos ligandos, recuperando os complexos 1:1, de fluorescência verde.

No caso do CB7 os resultados são mais claros e o modelo 2:1 parece explicar bem o sistema uma vez que se verifica apenas um aumento na intensidade de fluorescência, sem ser acompanhado de um desvio no máximo, comportamento típico da rigidificação induzida pelo cucurbit[7]urilo. Além disso as constantes obtidas ( $K_{11} = 1 \times 10^6 M^{-1}$ ,  $K_{21} = 1 \times 10^4 M^{-1}$ ) estão dentro do esperado para este tipo de complexos [13].

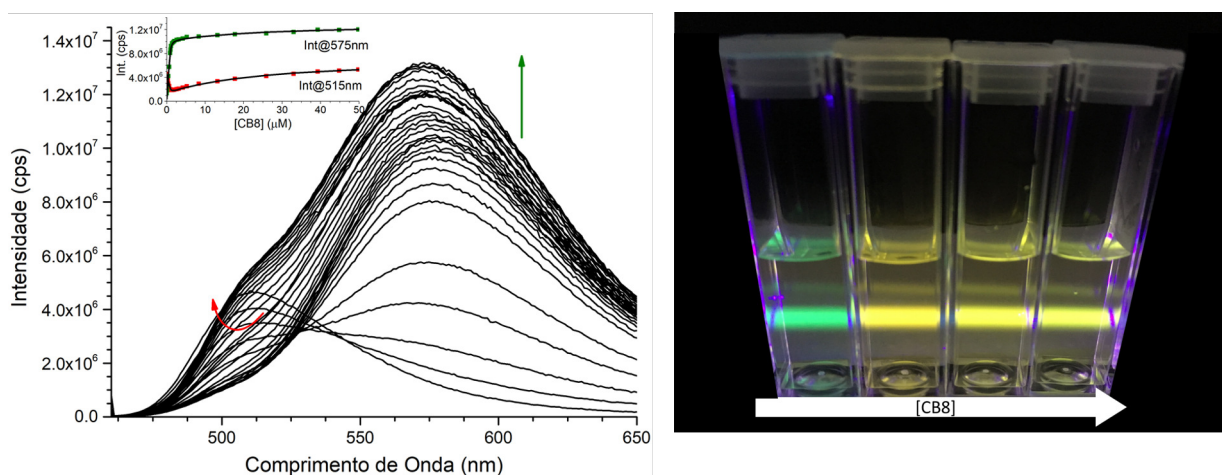


Figura 2.5: Titulação do composto 1b ( $1 \mu M$ ) com CB8. À esquerda os espectros de emissão resultantes ( $\lambda_{ex} = 460 nm$ ) com o respectivo ajuste em *inset* ( $K_{11} = 2,93 \times 10^7 M^{-1}$ ,  $K_{21} = 3,94 \times 10^4 M^{-1}$ ). À direita uma fotografia com células contendo a mesma concentração de flavílio e concentrações progressivamente maiores de CB8.

## 2.3 MÁQUINAS MOLECULARES: O PSEUDO-ROTAXANO

Uma vez familiarizados com as estruturas e o comportamento dos flavílios na presença dos cucurbiturilos, e tendo em vista o desenho de um dispositivo molecular baseado num rotaxano com duas “estações” fomos primeiro estudar um pseudo-rotaxano: um complexo semelhante cuja única diferença é a ausência de grupos terminais que impediriam o macrociclo de sair. Esta abordagem foi seguida por forma a poder estudar primeiro apenas o comportamento do macrociclo com o eixo (contendo o flavílio) sem a possível interferência dos grupos terminais. Isto porque apesar de servirem para que o macrociclo esteja restringido ao eixo, pode acontecer que impeçam a própria entrada e não se chegue a formar o complexo. Nos casos em que isso ocorre, existem outras alternativas para formar o pseudo-rotaxano, como por exemplo trancar o macrociclo por via de síntese, ligando os grupos terminais apenas depois do complexo estar formado. O pseudo-rotaxano desenhado seria assim o complexo formado entre o CB7 e o composto 2, representado na figura 2.6

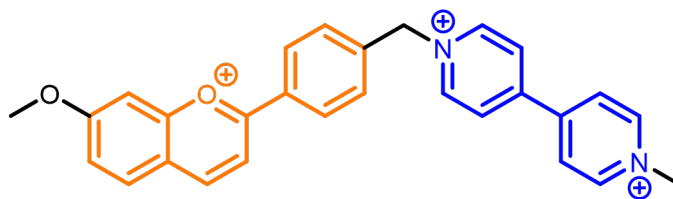


Figura 2.6: Composto 2, 7-metoxi-4'-(N-(N-metilviologénio))Flavílio

### 2.3.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA

Para poder estudar a formação do complexo com rigor, bem como melhor monitorizar as alterações que esta formação induz no comportamento da molécula isolada, foi primeiramente caracterizado o composto 2. Para além da caracterização por RMN, feita no final da síntese, foi determinado o seu  $pK'_a$  usando a técnica de saltos de pH, descrita em 4.2.2.1.

Uma vez determinado o  $pK'_a$  do composto (2,0) partiu-se para a caracterização do complexo formado entre o composto 2 e o CB7. Para isso foi primeiro titulado o flavílio a  $pH = 1$  tanto por absorção como por emissão. Na figura 2.8 representam-se as variações espectrais observadas para ambos os casos e ainda uma fotografia onde é notório o aumento na intensidade da fluorescência com o aumento da concentração de CB7. Através destas titulações foi possível determinar aproximadamente a constante de associação do flavílio para com o CB7 ( $K_{AH^+} = 5 \times 10^6 M^{-1}$ ). Por ser muito elevada, o método não tem sensibilidade suficiente no ajuste para saber com rigor o valor exato. Por isso, sabemos que é superior a  $5 \times 10^7 M^{-1}$ , de acordo com a titulação por emissão, mais rigorosa que a efectuada por absorção.

Seguidamente foram preparadas várias células com composto 2 ( $10 \mu M$ ) e um equivalente de CB7 a diferentes pHs a fim de determinar o  $pK'_a$  do complexo, numa experiência

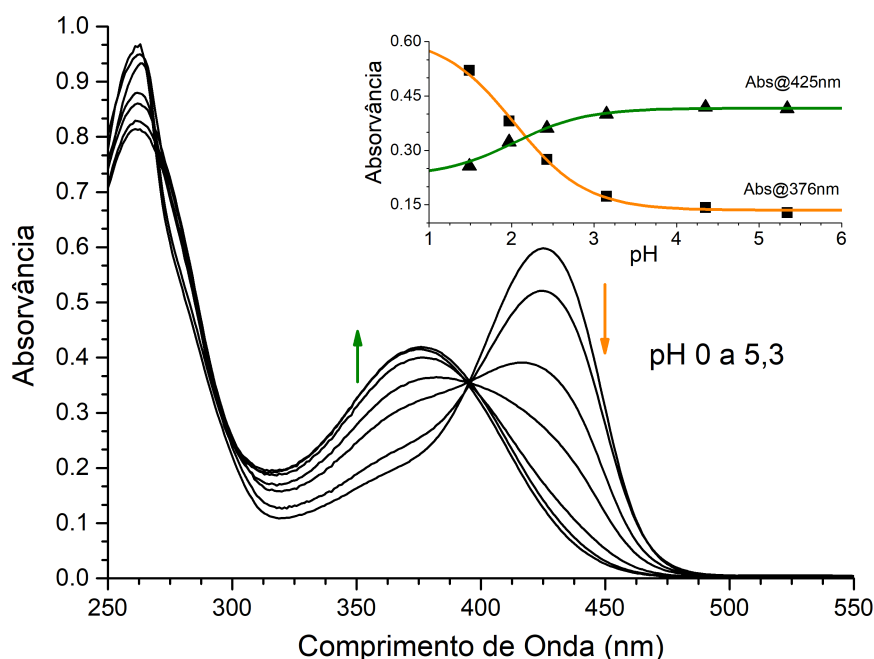


Figura 2.7: Espectros de absorção de soluções de composto 2 ( $18\mu\text{M}$ ) equilibradas a vários pHs. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar  $pK'_a = 2,0$ .

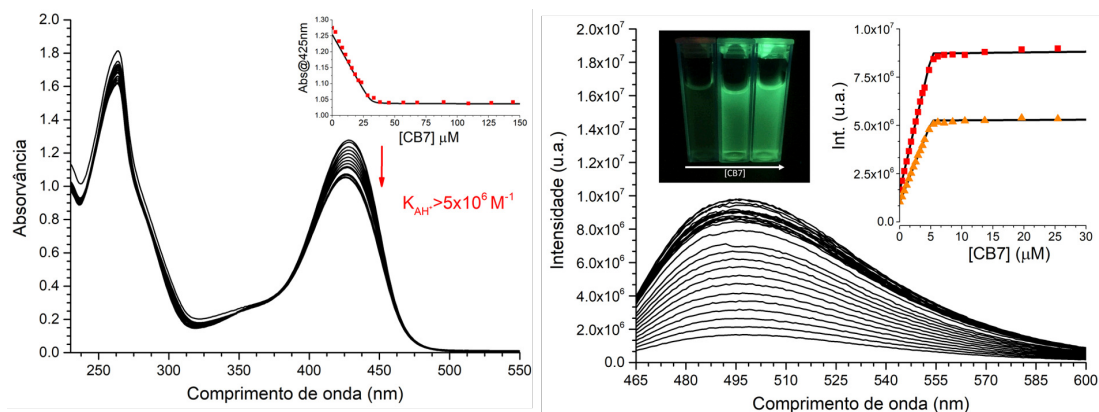


Figura 2.8: Titrções do compostos 2 com CB7 a  $pH = 1$  por absorção, à esquerda ( $39\mu\text{M}$ ), e por emissão, à direita ( $5\mu\text{M}$ ), usando  $\lambda_{ex} = 445\text{nm}$ .

em tudo semelhante à efectuada anteriormente. Os dados espectrais encontram-se em anexo (I.7) e o  $pK'_a$  obtido foi de 4,13, o que sugere que existe complexação com o flavílio (em vez de com a unidade de bipyridínio), já que a subida do  $pK'_a$  em 2,13 unidades é indicativa da estabilização do catião. Determinado o  $pK'_a$  do complexo, partiu-se para a titulação por absorção da chalcona (ver anexo I.8); no entanto, surgiu o mesmo problema de se obter uma constante elevada de tal forma que supera a sensibilidade do método.

O problema da sensibilidade é que neste caso foi obtido do ajuste o valor de  $3 \times 10^6 M^{-1}$ ; contudo, o modelo ajustar-se-ia igualmente bem aos dados experimentais com uma constante na ordem de  $10^8 M^{-1}$  ou até de  $10^{11} M^{-1}$ , pelo que apenas podemos afirmar que  $K_{Ct} \geq 3 \times 10^6 M^{-1}$ . Para contornar este problema e determinar a constante de forma mais rigorosa, foi usado um método diferente: um ensaio de deslocamento por padrão. Consiste num método competitivo em que se usa um segundo ligando para competir com o “nosso” ligando pelo receptor. Assim, e como a constante deste segundo ligando deve ser conhecida com rigor, podemos saber a “nossa” constante através de um modelo cuja racionalização é muito semelhante à do modelo “simples” e cuja dedução se encontra em apêndice (B.3).

Por conseguinte, foi escolhido tetrametilamónio, TMA, (na forma de brometo) que tem a vantagem de não absorver na mesma zona do composto em estudo e ter afinidade para com os cucurbiturilos [14]. No entanto, e uma vez que também não conhecemos a constante da afinidade para com o TMA nas condições em estudo, foi necessário proceder primeiro a essa determinação pelo mesmo método e, para isso, foi utilizada uma chalcona cuja constante de afinidade para com o CB7 já era conhecida ( $K_{ass} = 2,3 \times 10^5 M^{-1}$ , composto 2b, [15]) pelo que a experiência global, cujos resultados se apresentam na figura 2.9, consistiu em duas partes:

1. Fez-se um ensaio de deslocamento por padrão usando TMA para competir com a chalcona (com  $K_{ass}$  conhecida =  $2,3 \times 10^5 M^{-1}$ ) pelo CB7 e assim ficámos a saber que o TMA possui uma  $K_{ass} = 1,5 \times 10^6 M^{-1}$ , ligeiramente superior (talvez devido ao pH) mas comparável à encontrada na literatura [14].
2. Conhecida a  $K_{ass}$  do TMA, fez-se um novo ensaio, adicionando TMA ao complexo Composto2@CB7 e determinando-se assim a  $K_{ass} = 5,3 \times 10^7 M^{-1}$  para a chalcona 2.

Uma vez conhecida a constante de associação da chalcona com o CB7 ( $K_{Ct} = 5,3 \times 10^7 M^{-1}$ , e como conhecemos os valores de  $pK'_a$  tanto do composto livre como do complexo (2,0 e 4,13 respectivamente), podemos deduzir que a constante de associação do flavílio para com o CB7 será cerca de duas ordens de grandeza superior à da chalcona, pelo que se deverá situar nos  $5 \times 10^9 M^{-1}$ .

Analisando as titulações do flavílio e da chalcona, podemos constatar o perfil bastante diferente das variações espectrais. Enquanto no caso do flavílio se verifica uma diminuição da absorção a 425nm, no caso da chalcona a variação observada é a 260nm (diminuição). Enquanto a variação a 425nm é previsível, já que se trata da zona em que absorve o núcleo de flavílio, 260nm não é a zona em que absorve a chalcona mas sim o bipyridínio, pelo que estas titulações nos fornecem uma indicação acerca da estrutura do complexo: quando a  $pH = 1$ , o macrociclo deve encontrar-se ligado na zona do flavílio e a  $pH$  neutro prefere ligar-se ao bipyridínio.

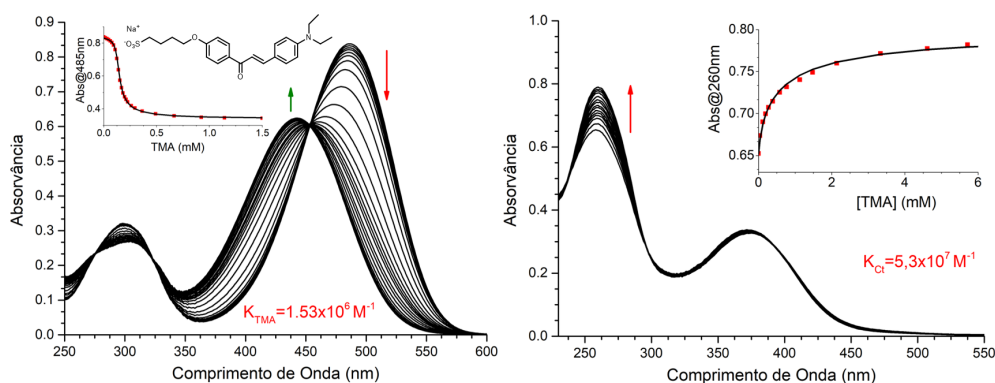


Figura 2.9: Ensaio por deslocamento de padrão para determinação da constante de associação do composto 2 com CB7 ( $24\mu\text{M}$ ) a  $p\text{H} = 6,3$ . Como padrão, adicionado gradualmente, foi usado o tetrametilamónio. À esquerda, a titulação com uma chalcona ( $20\mu\text{M}$ , 2b, [15]) cuja constante é conhecida ( $K_{\text{ass}} = 2,3 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $p\text{H} = 7$ ) e que permitiu determinar a constante de associação com o TMA ( $K_{\text{TMA}} = 1,53 \times 10^6 \text{M}^{-1}$ ); e à direita a titulação com o composto 2 ( $19\mu\text{M}$ ) para determinar  $K_{2:\text{Ct}} = 5,3 \times 10^7$ .

### 2.3.2 CARACTERIZAÇÃO ELECTROQUÍMICA

Uma das características do bipiridínio é ser electrorresponsivo, apresentando duas bandas de redução a  $-1,0\text{V}$  e a  $-0,72\text{V}$  vs SCE [16], pelo que foram também investigadas as propriedades *redox* deste composto/complexo tendo sido efectuadas titulações entre o composto a  $p\text{H} = 1$  e  $p\text{H} = 6$  seguidas por voltametria cíclica. Na figura 2.10 representam-se os voltamogramas resultantes destas titulações. No caso da titulação a  $p\text{H} = 1$ , podemos ver que existem duas bandas de redução a ca.  $-0,5$  e  $-1,0\text{V}$ . Enquanto a de  $-1,0\text{V}$  está de acordo com o observado no composto modelo, um bipiridínio simples [16], a de  $-0,5\text{V}$  encontra-se relativamente desviada ( $0,22\text{V}$ ) para potenciais menos negativos. Este facto está relacionado com o bipiridínio estar ligado ao flavílio que por ser electrodeiciente, estabiliza a forma reduzida (do bipiridínio), o que faz com que seja necessária menos energia para o primeiro processo de redução.

No entanto, e contrariamente ao bipiridínio *per si* [16], no caso do flavílio a redução mostrou-se irreversível pelo que na figura apenas são apresentados os primeiros ciclos de cada experiência. Quando se analisa apenas a primeira redução, ainda se chega a observar alguma reversibilidade porém, ocorre adsorção do composto à superfície do eléctrodo. Isto sugere que o composto pode sofrer algum tipo de degradação quando são aplicados potenciais mais negativos. O próprio flavílio também apresenta ligeira electrorresponsividade, que neste caso pode ser atribuída a um ombro da primeira transição do bipiridínio centrado a  $-0,4\text{V}$ . O problema de estudar as propriedades *redox* deste tipo de compostos é a sobreposição dos potenciais de redução do flavílio e do bipiridínio. Quando se adiciona CB7 observa-se o desaparecimento da banda a  $-0,5\text{V}$  e o surgimento de uma  $-0,7\text{V}$ . Uma vez que se supõe que o CB7 se liga no flavílio, isto pode significar que com a adição de CB7 deixa de se manifestar o efeito do flavílio no bipiridínio uma vez que voltamos a ter as transições a  $-0,7$  e  $-1\text{V}$  (a de  $-1\text{V}$  não sofre alterações). No caso dos voltamogramas da

chalcona, verifica-se que com a adição de cucurbiturilo os potenciais de redução tornam-se mais negativos, à semelhança do que ocorre com o flavílio. Isto está relacionado com a preferência do cucurbiturilo pelas formas oxidadas dos ligandos [16].

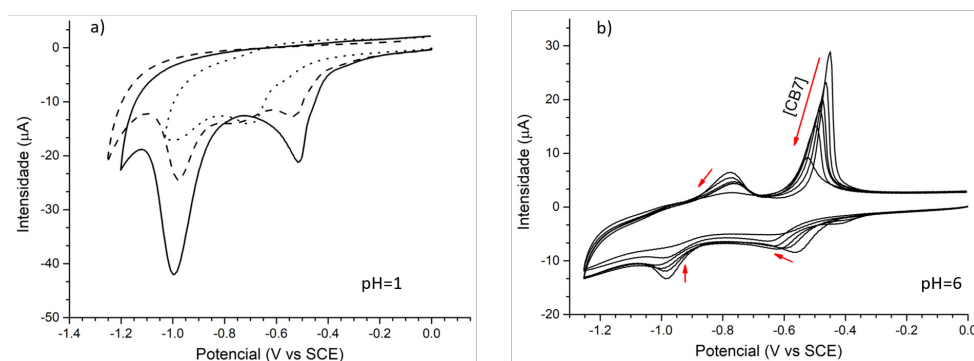


Figura 2.10: Voltamogramas cíclicos (velocidade de varredura a  $100\text{ mV/s}$ ). a) do flavílio 2 ( $0,5\text{ mM}$ ) a  $\text{pH} = 1$  *per si* (linha completa), com 0,5 e 1 equivalentes de CB7 (linhas a tracejado e a pontilhado, respectivamente). b) da chalcona 2 ( $0,5\text{ mM}$ ) a  $\text{pH} = 6$  para várias concentrações de CB7 (0 a  $2,5\text{ eq.}$ ).

### 2.3.3 CARACTERIZAÇÃO POR RMN

A fim de elucidar com maior certeza a estrutura do complexo a  $\text{pH} = 1$  e a  $\text{pH} = 6$  foram feitas titulações seguidas por RMN (a  $\text{pD} = 1$  e a  $\text{pD} = 6$ ) cujos espectros se apresentam na figura 2.11. Deles podemos concluir que as observações retiradas anteriormente estavam correctas, uma vez que no caso da titulação a  $\text{pH} = 1$  se observam desvios para campo alto nos sinais dos prótons correspondentes aos anéis B e C do flavílio que é o comportamento característico dos prótons quando estão dentro da cavidade do cucurbiturilo; e desvios para campo baixo dos sinais correspondentes ao anel A e à ponte metilénica que une o flavílio e o biperidínio, o que indica que estarão nas vizinhanças dos portais [11]. Isto confirma-nos que na forma de catião, o CB7 se localiza no núcleo de flavílio, com algum dinamismo já que oscila entre os anéis B e C. No caso da chalcona a  $\text{pH}$  neutro, as variações são mais simples de interpretar já que a maior parte dos sinais não sofre alterações. Verifica-se apenas o desvio para campo alto dos prótons 12 e 13 dos anéis D e E e para campo baixo os do metilo terminal (15) o que nos indica que a  $\text{pH}$  neutro o CB7 se desloca preferencialmente para os anéis D e E do biperidínio, ficando aí restringido.

### 2.3.4 FOTOQUÍMICA

Analizadas que estão as estruturas dos complexos formados entre o composto 2 e o CB7 nas formas de flavílio e de chalcona, resta saber se estas são intercambiáveis quando controladas por estímulos externos. Para isso, foi estudada a resposta fotoquímica do complexo através da irradiação de uma célula a  $\text{pH} = 4,48$  e monitorização das variações espectrais. O resultado desta experiência encontra-se representado na figura 2.12a).

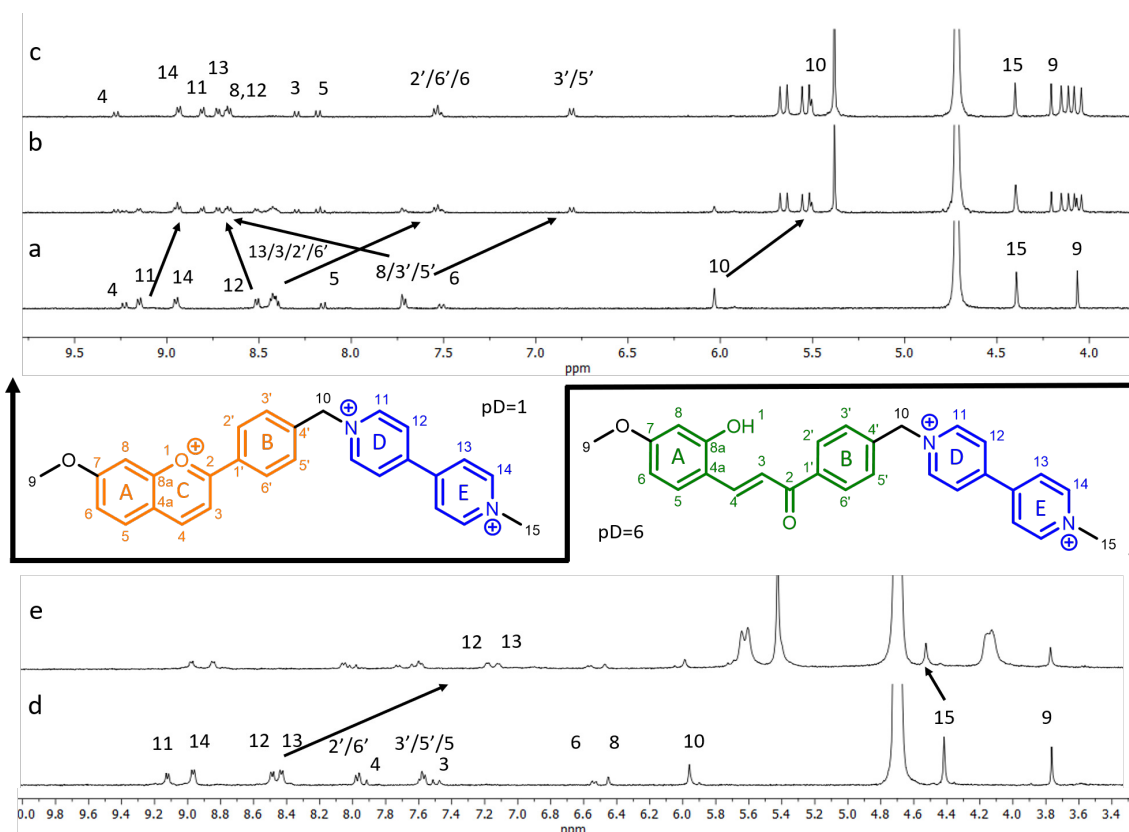


Figura 2.11: Titulações do composto 2 com CB7 seguidas por RMN. Em cima, a  $pH = 1$  (0,5mM,  $D_2O/DCl$ ,  $pD = 1$ ) a) sem CB7, b) e c) com 0,5 e 1 equivalentes, respectivamente. Em baixo, a  $pD = 6$  (0,5mM,  $D_2O/NaOD$ ,  $pD = 6$ ) e) sem CB7 e d) com 1,5 equivalentes.

Quando irradiada a 365nm, zona em que absorve a chalcona, verifica-se uma diminuição na absorvância da Ct e um aumento na zona de absorção do flavílio, o que nos indica que o composto 2 actua de facto como fotocomutador. No entanto, dos cerca de 70% de percentagem de chalcona existente inicialmente (antes de iniciar a irradiação), cerca de 58% continuam a existir no estado fotoestacionário, o que nos diz que apenas se converteu 12% de Ct, o que não traduz uma eficiência muito elevada.

Apesar disso, estes dados são encorajadores para prosseguir o estudos dos (pseudo-)rotaxanos incorporando unidades de flavílio como fotocomutadores. Na figura 2.12b) representa-se o esquema de funcionamento deste pseudo-rotaxano com as duas formas possíveis e como variar entre elas (luz, calor ou pH), assim como a localização preferida para o macrociclo em cada uma delas.

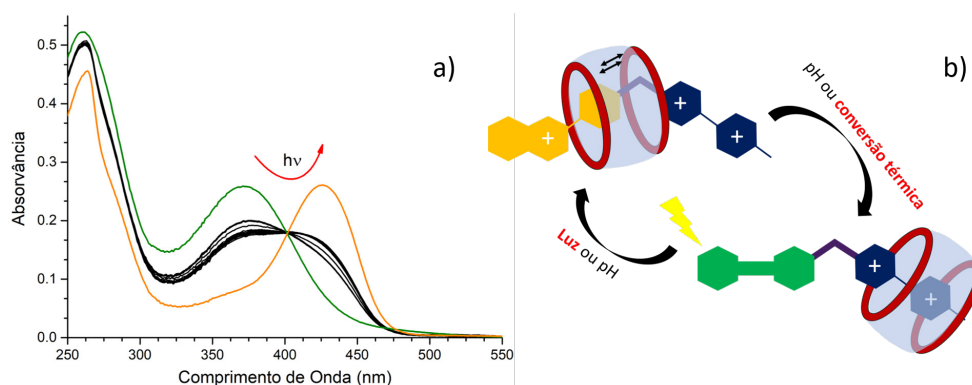


Figura 2.12: a) Irradiação do composto 2 ( $10\mu M$ ) a  $pH = 4,48$  com 1 equivalente de CB7 a  $\lambda_{ex} = 365nm$ . As linhas coloridas representam o espectro da chalcona e do flavílio complexados com CB7 para fins comparativos. b) Esquema simplificado do funcionamento do pseudo-rotaxano como fotocomutador.

## 2.4 MÁQUINAS MOLECULARES: O VAIVÉM MOLECULAR

Tendo em conta os resultados promissores obtidos com o composto 2, foram desenhados os compostos 3 e 4 (fig. 2.13) para estudar se ocorrerá ou não inclusão do macrociclo e formação do rotaxano (composto 3) e depois se se poderá ou não formar o “vaivém molecular” com um movimento controlado entre duas estações (composto 4). Neste último caso, optou-se por uma segunda estação rica em electrões que, de acordo com alguns cálculos realizados, se situará entre o flavílio e a chalcona em termos de densidade electrónica.

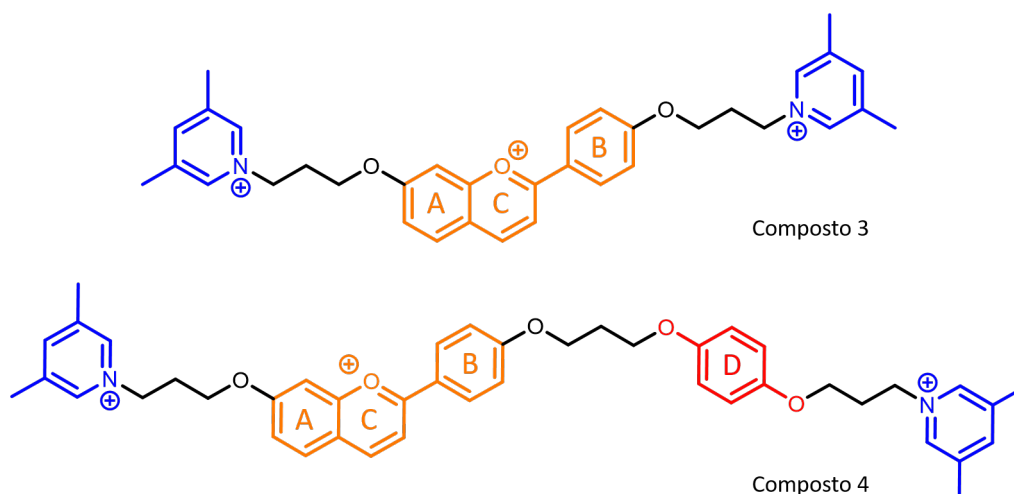


Figura 2.13: Compostos 3 e 4, 4'-7-bis(*m,m*-dimetilo-pirídínio-N-propanoxi)-flavílio, 7-(*m,m*-dimetilo-pirídínio-N-propanoxi)-4'(*m,m*-dimetilo-pirídínio-N-propanoxi-*p*-fenil-propano(bis)oxi)-flavílio, respectivamente

### 2.4.1 CÁLCULOS TEÓRICOS

As estruturas de ambas as moléculas foram otimizadas usando a teoria de densidade funcional (TDF) com a base de funções 6-31g. Este cálculo permitiu-nos também obter os mapas de densidade electrónica de ambas as moléculas quer para a forma em que temos o catião flavílio, quer para a forma em que temos a chalcona. Na figura 2.14 podemos ver as diferenças na distribuição do potencial electrostático entre o flavílio e a chalcona do composto 4. No primeiro caso, uma vez que o catião flavílio é relativamente electrode-ficiente, a carga está mais deslocada para o anel aromático que se encontra isolado (D). Apesar de ser suportada pela teoria, esta já seria uma noção bastante intuitiva já que esse segundo anel aromático possui dois oxigénios que lhe podem doar carga por contraste com o flavílio que tem até uma carga formal positiva, devido à deslocalização dos electrões do oxigénio do pirílio. No entanto, quando se forma a chalcona temos uma situação bastante diferente. Com a presença de um grupo carbonilo altamente conjugado e de um hidroxilo no anel A, a chalcona passa a ser a zona da molécula mais densamente carregada, se bem que agora haja uma distribuição maior da carga negativa.

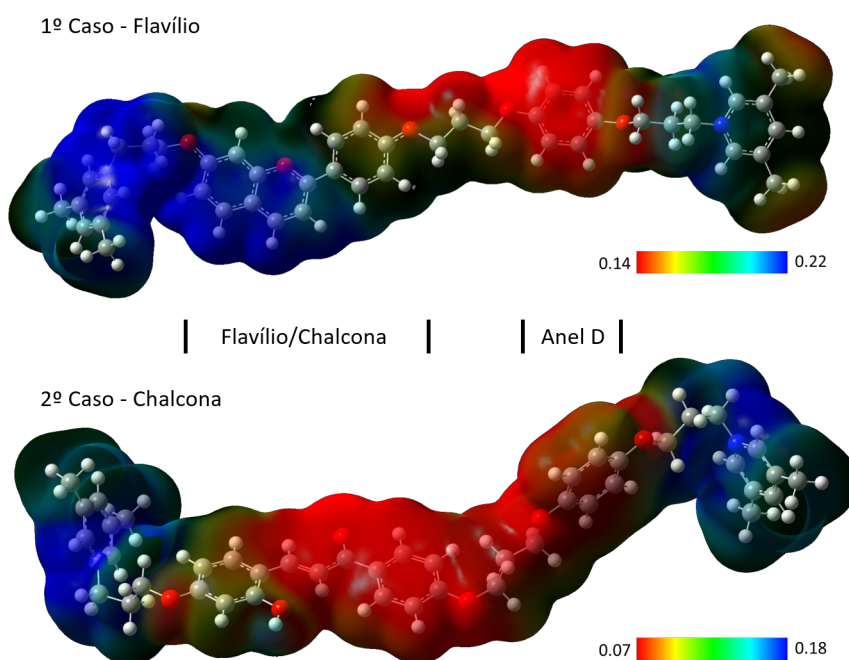


Figura 2.14: Mapas de potencial electrostático para o composto 4, nas formas de flavílio e chalcona para as conformações de energia mínima. Entre os traços está indicada a respectiva zona da molécula para melhor compreensão.

No caso do composto 3, observam-se resultados semelhantes (em anexo) só que perante a ausência do anel D, no caso do flavílio a carga fica mais centrada na extremidade do anel B do flavílio e desloca-se para a zona entre a dupla ligação conjugada e o anel B quando se forma a chalcona. Vemos assim o interesse destes compostos e a sua potencialidade para funcionar como rotaxanos.

### 2.4.2 A MISTURA

Tendo em conta potencial aplicação das estruturas pensadas, a sua síntese foi desenhada em colaboração com o grupo de investigação do Dr. Nathan McClenaghan do *Institut Des Sciences Moleculaires*, em *Bordeaux* que sintetizou ambos os compostos. Quando se iniciou o seu estudo, verificou-se por RMN a presença de sinais inesperados que sugerem que o composto tenha sofrido alguma degradação já que pareciam estar presentes os sinais correspondentes a uma mistura de dois flavílios semelhantes mas distintos como se pode ver na figura 2.15. Perante esta evidência, foi preparada uma solução em HCl 0.1M e

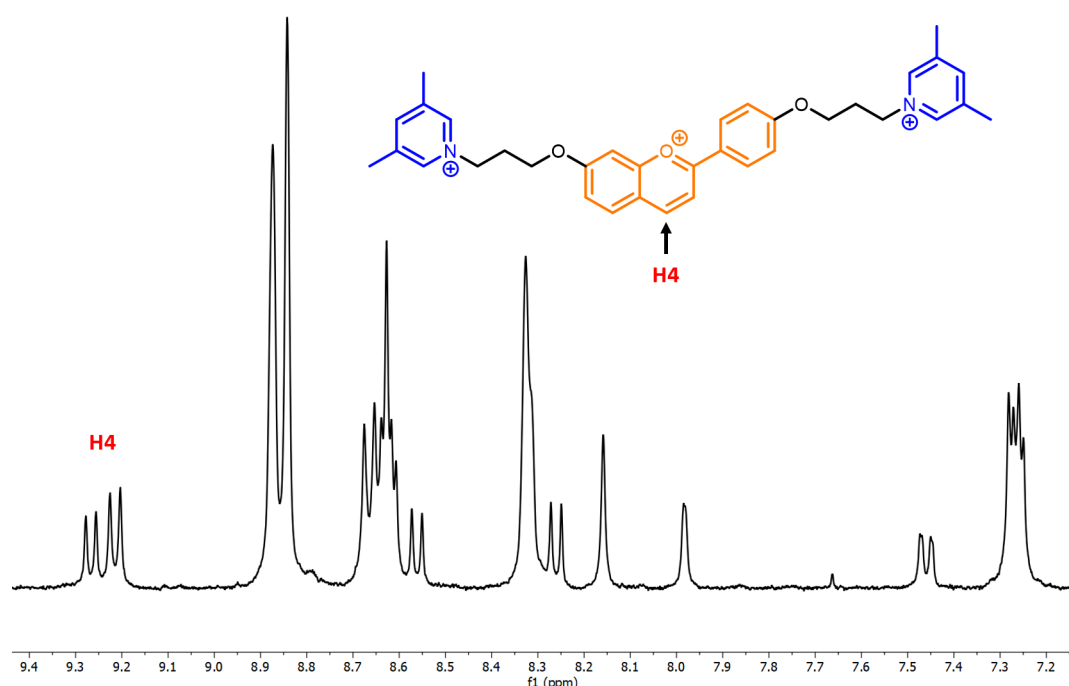


Figura 2.15: Espectro de  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}/\text{DCl}$  0,1M) do “composto 3” com o sinal correspondente ao protão 4 evidenciado.

traçado o seu espectro de absorção que indicou a presença de apenas uma banda bastante bem definida. Perante estes indícios contraditórios, foi feita uma análise por HPLC-DAD (4.2.2.5) cujo cromatograma se apresenta na figura 2.16.

Através deste cromatograma, é claro que existem dois compostos, que são eluídos com menos de 2 minutos de separação, pelo que deverão ser semelhantes (como sugere o RMN). Porém e muito curiosamente, possuem o mesmo espectro de absorção, o que explica porque não se observaram diferenças nessa experiência.

Com esta informação em mãos, foi tentada a separação da mistura por coluna cromatográfica de fase reversa, utilizando condições aproximadas às das usadas no método de HPLC. Usou-se inicialmente HCl ( $\text{pH} = 1$ ) com uma pequena percentagem de metanol e, ao longo da eluição, foi sendo aumentada até no fim se usar apenas metanol, para garantir que não ficaria nenhum produto na coluna.

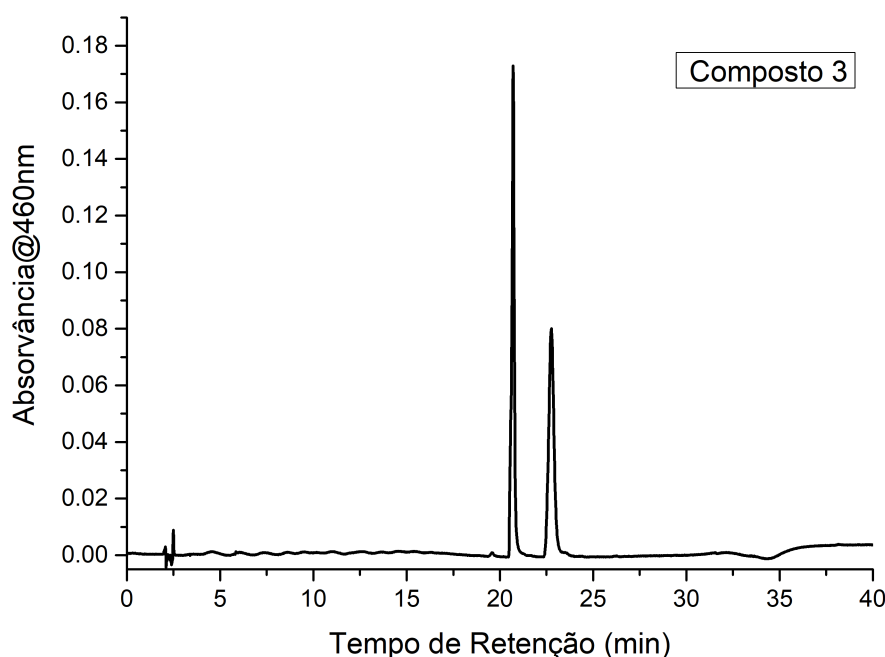


Figura 2.16: Cromatograma resultante da injeção de uma solução de composto 3. O eluente usado foi uma mistura de  $H_2O$  ácida (5%  $HClO_4$ ) e Metanol (gradiente 93-7% inicial para 0-100% final, respectivamente).

Nesta coluna foram aplicadas 32mg e, após cuidada análise de cada fracção por HPLC, foram isolados dois conjuntos correspondentes aos dois picos observados no cromatograma inicial. Isolaram-se 12mg do primeiro e 6mg do segundo pico. Cada um destes conjuntos foi analisado por RMN e verificou-se que a sua soma correspondia ao espectro inicial, pelo que a separação foi efectiva e existiam de facto dois compostos. O extracto correspondente ao primeiro pico coincidia com o esperado para o composto 3. Pelo contrário os sinais do extracto correspondente ao segundo não conseguiam ser explicados, uma vez que, apesar de em solução apresentar o comportamento típico de um flavílio em tudo idêntico ao primeiro extracto, o espectro de RMN sugeria um padrão de substituição do anel de pirílio diferente, o que devia influenciar o comportamento em solução. Para tentar esclarecer devidamente esta questão, foi feita uma segunda corrida no HPLC da mesma mistura inicial mas desta vez usando um analisador de massa.

Os espectros de massa e cromatograma obtidos (I.11-I.15) permitiram confirmar que o primeiro pico na eluição da coluna correspondia efectivamente ao composto esperado e permitiram ainda obter um dado crucial para a elucidação do composto correspondente do segundo pico. Após cuidada análise do espectro em modo negativo, foi possível perceber o padrão característico da distribuição isotópica do bromo, o que nos sugere que a molécula tenha incluído um destes átomos. Efectivamente e após várias tentativas, foi possível propor uma estrutura (2.17) que nas condições da coluna poderia originar os

sinais que foram obtidos.

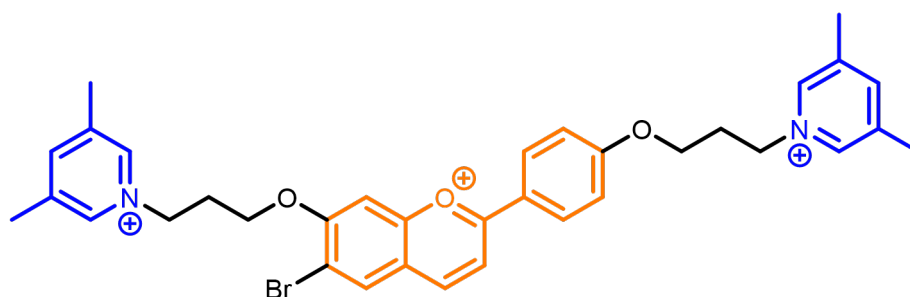


Figura 2.17: Estrutura proposta para explicar os resultados obtidos por LC-MS.

Esta estrutura não só poderia explicar os picos obtidos em massa, como também os sinais aparentemente incompreensíveis obtidos por RMN. Já que como não possui o próton 6, não se verifica acoplamento do próton 5 (que passa a ser um singuleto) e o próprio próton 8 deixa de ter acoplamento *meta*.

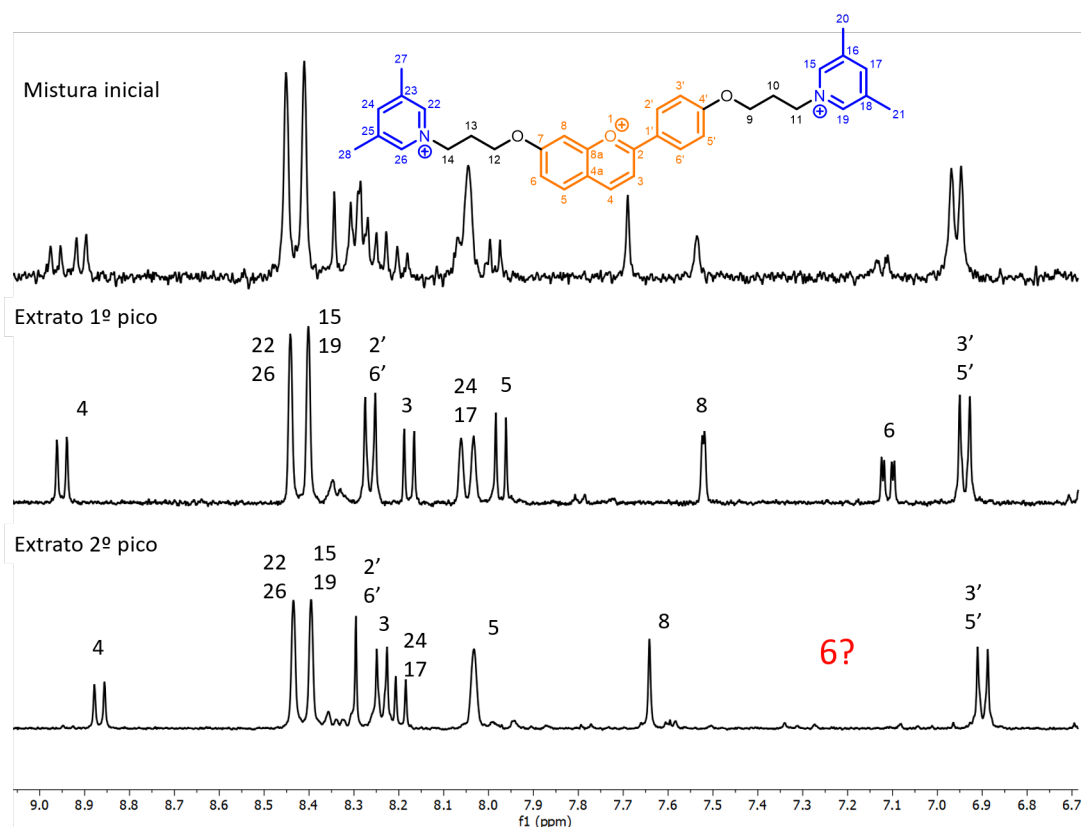


Figura 2.18: Comparação entre os espectros de  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}/\text{DCI}$  0,1M, 400MHz) de i) mistura inicial; ii) extracto purificado do 1º pico; iii) extracto purificado do 2º pico

Assim, verifica-se que esta estrutura é também apoiada pelos dados de RMN. Já tínhamos verificado que o espectro de absorção de ambos os picos era idêntico pelo que se torna difícil usar esse dado como termo de comparação. No entanto, e com o auxílio de

alguns cálculos teóricos de TDF, foi possível verificar que as transições electrónicas calculadas para ambas as estruturas são bastante semelhantes, havendo um desvio de cerca de 2nm que é imperceptível em condições experimentais mas que nos permite confirmar que o mais provável é que o segundo pico se trate do composto 3 bromado na posição 6. Isto pode dever-se às condições reaccionais que são extremamente ácidas, sendo portanto um meio relativamente “agressivo”. Nestas condições, e uma vez que a posição 6 é relativamente electrofílica (como verificado pelos cálculos teóricos) poderá ter ocorrido uma bromação do anel aromático. Muito provavelmente o mesmo tipo de reacção lateral terá ocorrido na síntese do composto 4, em tudo semelhante à do composto 3.

### 2.4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS 3 E 4

Com a questão esclarecida e uma vez purificado o composto, partiu-se para a sua caracterização por espectroscopia de absorção. Primeiramente efectuaram-se os saltos de pH para se proceder a uma determinação rigorosa do  $pK'_a$  e do  $pK''_a$  do composto, indispensáveis para os estudos seguintes. Para esta determinação, foram preparadas 32 soluções equilibradas a pHs diferentes (entre 0.93 e 9.57) de acordo com o procedimento indicado em 4.2.2.1. Estas soluções foram preparadas directamente em células de absorção que foram sendo monitorizadas desde algumas horas a alguns dias (consoante o pH) até que não se registassem alterações, o que indica que se chegou ao estado de equilíbrio. Na figura 2.19 estão representados os espectros resultantes desta experiência para o caso do composto 3, tendo sido obtidos os valores de  $pK'_a = 1,78$  e  $pK''_a = 7,44$ . A experiência foi replicada para o composto 4 e esses resultados, relativamente semelhantes a estes, encontram-se em anexo (I.19) com  $pK'_a = 1,61$  e  $pK''_a = 7,83$ . Como podemos ver, são valores próximos dos calculados para o composto 3 o que se explica tendo em conta o mesmo padrão de substituição do flavílio.

Uma vez tendo estes dados, podemos analisá-los de acordo com o procedimento descrito em A.2, pelo que escolhemos os valores de absorvância aos comprimentos de onda correspondentes aos máximos de absorção do flavílio e da chalcona *trans* (459nm e 373nm, respectivamente). Na figura 2.20 encontram-se representados os pontos experimentais e as respectivas curvas obtidas através da equação A.21 para o caso do composto 3. Os mesmos dados, relativos ao composto 4 encontram-se em anexo (I.20). Como podemos ver através da distribuição de espécies, os  $pK'_a$ s de ambos os compostos são relativamente baixos o que nos indica que estes flavílios não são particularmente estáveis na forma de catião. Isso pode dever-se à presença dos grupos terminais, também catiónicos que fazem desta molécula um tricatão, justificando os baixos valores de  $pK_a$  quando comparados com flavílios com padrões de substituição semelhantes[7].

Uma vez conhecido o  $pK'_a$ , podemos agora estudar a resposta à luz destes compostos e saber se poderão funcionar eficazmente como fotocomutadores. Para isso escolheu-se um pH ao qual já só exista chalcona *trans* e fez-se a irradiação dessa solução até se atingir o estado fotoestacionário, ou seja, quando independentemente do tempo de irradiação

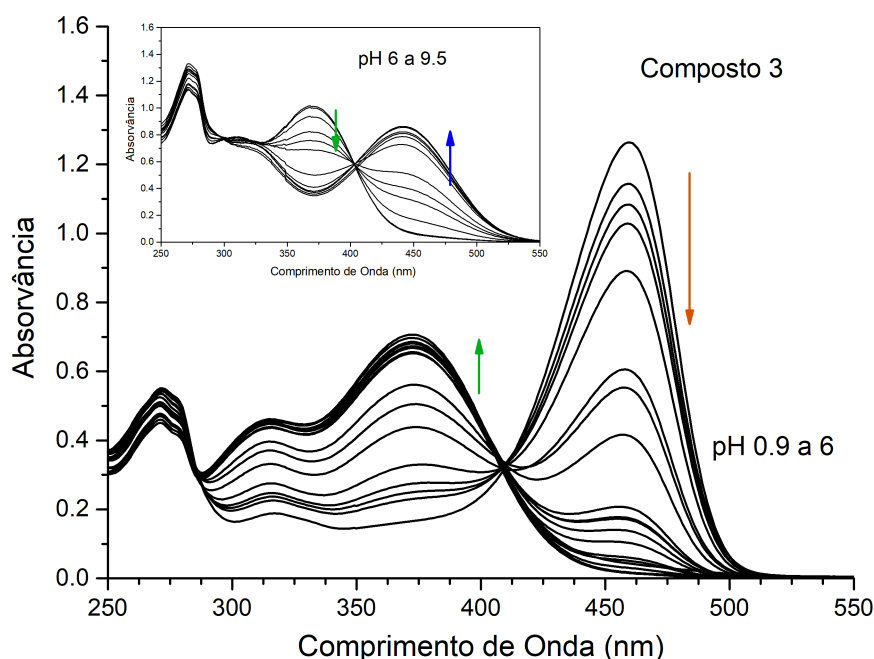


Figura 2.19: Espectros resultantes dos saltos de pH efectuados para o composto 3 ( $22,5\mu M$ ), de pH muito ácido a pH neutro para determinação do  $pK'_a$  e em *inset*, o mesmo para pHs neutros a básicos para determinação do  $pK''_a$  ( $33,5\mu M$ )

já não se observam mudanças espectrais. Na figura 2.21 representam-se os resultados desta irradiação. No caso do composto 3, o estado fotoestacionário foi atingido ao fim de cerca de 30 minutos. Já o composto 4 demorou cerca de 20 minutos. Através dos dados obtidos com estas experiências foi possível determinar o rendimento quântico fotoquímico da formação de  $AH^+$ . Para isso, foi usado o método relativo da actinometria tendo sido obtidos os valores de 0,042 e 0,028 para os compostos 3 e 4, respectivamente ao pH próximo de 3,50. Com este valor, e tendo em consideração as concentrações iniciais e finais de flavílio, foi possível apurar também as percentagens de fotoconversão (49% e 21% para os compostos 3 e 4, respectivamente, a esse pH). Estes valores dão-nos uma ideia da eficiência do sistema enquanto fotocomutadores. Uma vez que esta eficiência depende da estabilidade relativa dos componentes do multisistema, os valores obtidos só são válidos nesta gama de pHs.

Observadas as notórias propriedades luminescentes destes compostos, foram traçados espectros de emissão que revelam uma banda centrada a 492nm para 3 e a 498nm 4. Como referido na Introdução, a grandeza a ter em conta para comparar a emissividade de um composto é o seu rendimento quântico de fluorescência (ou luminescência). Assim, este foi determinado por aplicação da equação 1.9, e de acordo com o procedimento descrito em 4.2.2.2, tendo sido obtidos os valores de 0,20 e 0,17 para os compostos 3 e 4,

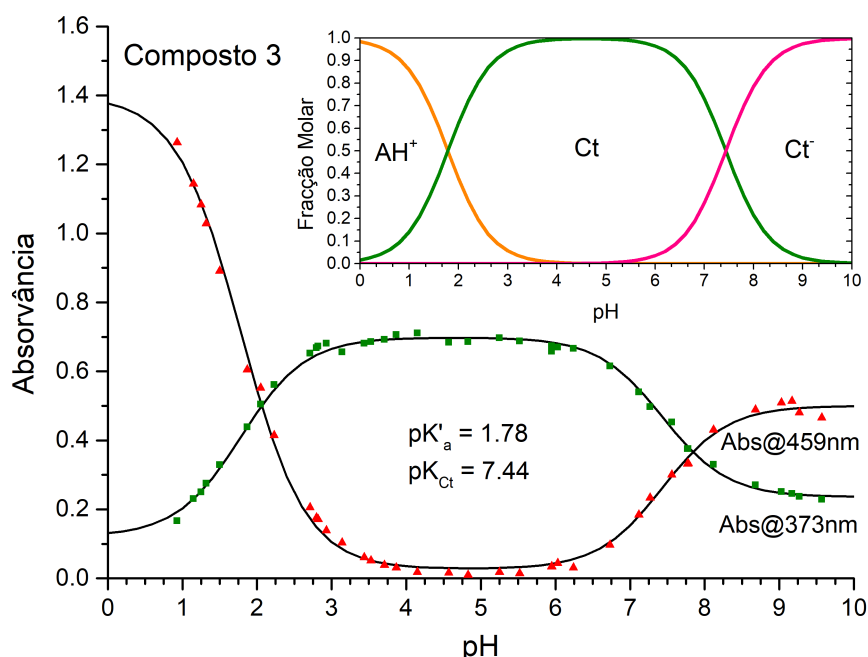


Figura 2.20: Dados experimentais obtidos para o composto 3 e respectivo ajuste ao modelo teórico. Em *inset*: distribuição das frações molares de cada espécie em função do pH, de acordo com o modelo teórico ajustado.

respectivamente.

Em jeito de resumo, a tabela 2.1 sumariza os valores de  $\epsilon$ ,  $pK'_a$ ,  $pK''_a$ ,  $\%_{\text{Fotoconversão}}$  e rendimento quântico de fluorescência ( $\phi_{\text{Fluor}}$ ) encontrados para os compostos 3 e 4. É com base nestes valores que serão conduzidos os estudos de complexação com os vários macrociclos apresentados na secção seguinte.

| Composto | $\epsilon_{\text{AH}^+}$ | $\epsilon_{\text{Ct}}$ | $pK'_a$ | $pK''_a$ | $\phi_{\text{FOTO}^*}$ | $\%_{\text{Fotoconversão}^*}$ | $\phi_{\text{Fluor}}$ |
|----------|--------------------------|------------------------|---------|----------|------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| 3        | 56168                    | 29796                  | 1,78    | 7,44     | 0,042                  | 49                            | 0,20                  |
| 4        | 56913                    | 23670                  | 1,61    | 7,83     | 0,028                  | 21                            | 0,17                  |

Tabela 2.1: Valores de  $\epsilon$  (em  $M^{-1}cm^{-1}$ ), de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  e de Fotoconversão para os compostos 3 e 4 (\*a pH  $\sim 3,5$ ).

#### 2.4.4 ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

Uma vez caracterizados espectroscopicamente os compostos *per se*, partimos para testar a formação ou não de complexos entre os compostos e os macrociclos cucurbit[7]urilo e ciclodextrinas ( $\alpha$  e  $\beta$ ). Em primeiro lugar foram titulados os flavílios a pH = 1 com os três macrociclos. Na figura 2.22 podemos observar as titulações de ambos os compostos

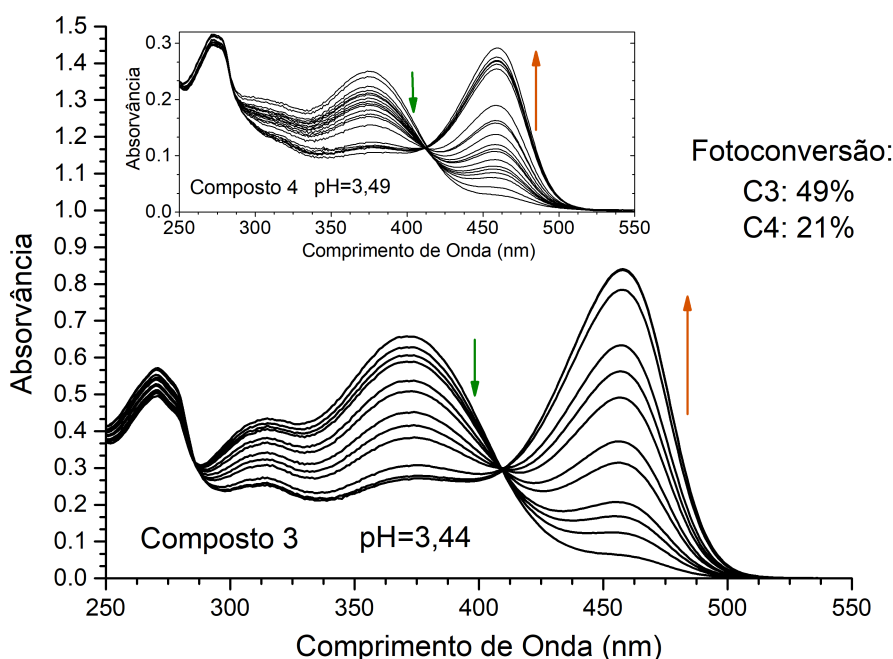


Figura 2.21: Espectros resultantes da irradiação dos compostos 3 ( $29,61\mu M$ ) e 4 ( $17,2\mu M$ , em *inset*). Neles podemos ver as variações espectrais induzidas pela luz ( $\lambda_{irr} = 366nm$ ) que resultam na transformação da chalcona *trans* em flavílio a um pH próximo de 3,5.

com a  $\alpha$ -ciclodextrina. É muito interessante notar que, no caso do composto 3, praticamente não se observam alterações no espectro de emissão com a adição de  $\alpha CD$ , tendo o ajuste e determinação das constantes sido feitas pela titulação por absorção, enquanto no caso do composto 4 acontece o preciso oposto. Em ambos os casos se obtêm constantes relativamente baixas ( $10694 M^{-1}$  e  $631 M^{-1}$  para C3 e C4, respectivamente) e formação maioritária de complexos 1:1. Uma possível explicação para esta diferença de comportamentos pode estar relacionada com o local de ligação da ciclodextrina já que o mesmo comportamento é observado para a  $\beta$ -ciclodextrina (figuras I.21 e I.22 em anexo).

Uma possibilidade é que a ciclodextrina, não tendo muita afinidade para o núcleo de flavílio, prefira ligar-se ao anel D no caso do composto 4 e que, nesse caso, quer pela rigidificação da estrutura, quer pelo anulamento de algum efeito de auto-extinção que o anel D pudesse ter sobre a fluorescência da molécula, exista um aumento da fluorescência da molécula. No caso do composto 3, como não existe outro local preferencial para ligação da CD, acaba por ligar-se ao núcleo de flavílio, afectando a respectiva absorvância; porém, com constantes muito baixas, na ordem dos  $10^4$  para a formação dos complexos 1:1. Outra possível explicação está relacionada com o possível enrolamento da molécula de C4, causando uma extinção da fluorescência. A complexação com a CD obrigaria a molécula a adoptar uma conformação estendida o que anularia esse efeito de auto-extinção, aumentando assim a intensidade de fluorescência, como observado. Isso também explicaria

a constante obtida para o composto 4 ser duas ordens de grandeza inferior à obtida para o composto 3.

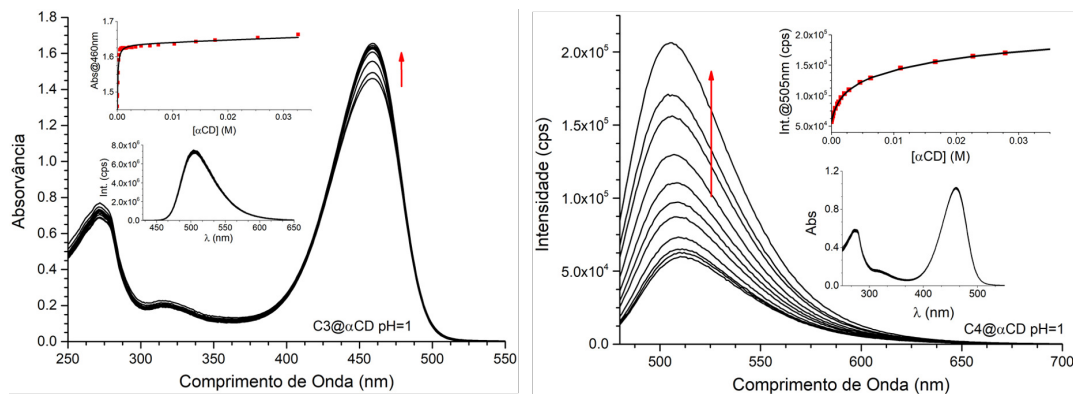


Figura 2.22: À esquerda: titulação do composto 3 ( $25,7\mu\text{M}$ ) com  $\alpha\text{CD}$  por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 10694\text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1,5\text{M}^{-1}$  e a mesma titulação seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 420\text{nm}$ ) em que não se observaram alterações significativas. À direita: titulação do composto 4 ( $2,1\mu\text{M}$ ) com  $\alpha\text{CD}$  por emissão ( $\lambda_{ex} = 460\text{nm}$ ). Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 631\text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 33,2\text{M}^{-1}$  e a mesma titulação seguida por absorção em que não se observaram alterações significativas.

No caso das interacções com o cucurbit[7]urilo, o comportamento já é mais semelhante entre os dois compostos. Na figura 2.23 representa-se a titulação para o composto 3 e em anexo (I.23) a relativa ao composto 4. Em ambos os casos se registam constantes de associação bastante elevadas ( $K_{11} = 1 \times 10^7$ ;  $K_{21} = 1,5 \times 10^4$  e  $K_{11} = 2 \times 10^6$ ;  $K_{21} = 2 \times 10^3$  para os compostos 3 e 4 respectivamente), assim como a formação maioritária de complexos do tipo 2:1 quando se aumenta a concentração de macrociclo. Para além do patente aumento de intensidade de fluorescência, típico da interacção com cucurbiturilos, verifica-se um ligeiro desvio para o azul dos máximos de emissão de ambos os compostos. Isto juntamente com o perfil da curva do máximo de absorção são indicações da formação de complexos 2:1 com o cucurbiturilo que, contrariamente às ciclodextrinas, se liga preferencial e directamente na zona do núcleo de flavílio. Essa ligação também é explicada intuitivamente já que o CB7 é relativamente electronegativo, pelo que terá alguma atracção electrostática pelo catião.

Foram também medidos os rendimentos quânticos de fluorescência dos complexos, para ter uma ideia de como são afectados pela complexação. Na tabela 2.2 são apresentados os valores obtidos bem como os dos compostos livres para comparação. Como podemos ver, os valores dos flavílios livres (0,20 e 0,17) são relativamente baixos e quando lhes é adicionado CB7 aumentam mais de 4 vezes. Isto é consistente com o observado nas titulações seguidas por fluorescência e estará quase certamente relacionado com a rigidez induzida pelo cucurbiturilo na complexação com o núcleo de flavílio. Já com as ciclodextrinas, o caso é diferente e mais complexo de analisar. Verifica-se que em ambos

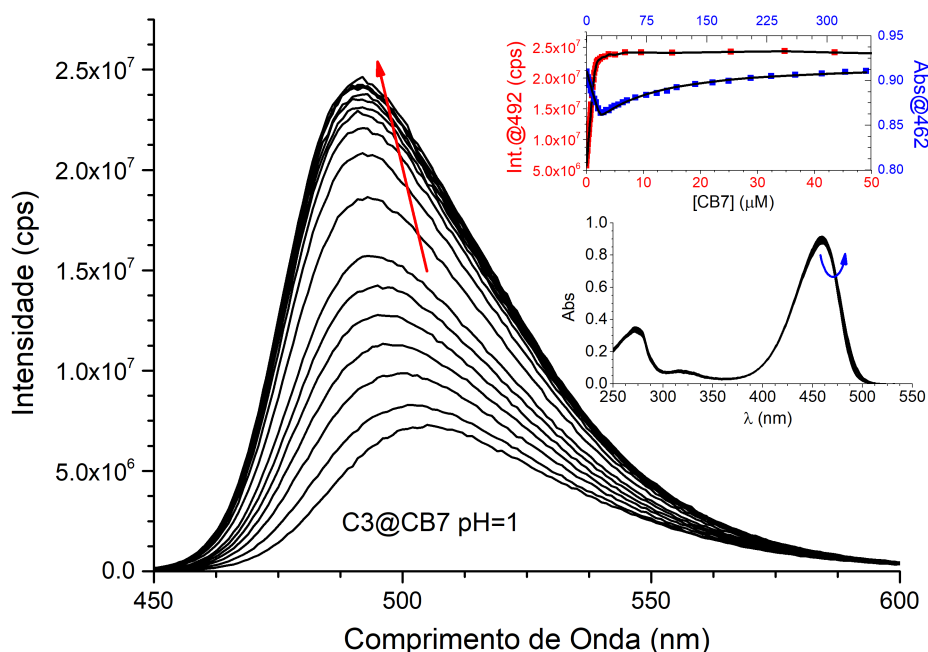


Figura 2.23: Titulação do composto 3 ( $1,72\mu\text{M}$ ) a  $\text{pH} = 1$  com  $\text{CB7}$  seguida por emissão ( $\lambda_{\text{ex}} = 420\text{nm}$ ). Em *inset* representa-se a mesma titulação seguida por absorção ( $[\text{C3}] = 16,3\mu\text{M}$ ) e também os ajustes aos pontos experimentais de ambas: a vermelho os dados de emissão e a azul os de absorção, com  $K_{11} = 1 \times 10^7 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1,5 \times 10^4 \text{M}^{-1}$ ).

no caso do composto 3 a complexação não parece afectar significativamente os rendimentos quânticos enquanto no caso do composto 4 se verifica um aumento expressivo, concordante com o observado nas titulações.

|                     | Composto 3 | Composto 4 |
|---------------------|------------|------------|
| <i>per si</i>       | 0,20       | 0,17       |
| @CB7                | 0,84       | 0,77       |
| @ $\alpha\text{CD}$ | 0,23       | 0,39       |
| @ $\beta\text{CD}$  | 0,21       | 0,38       |

Tabela 2.2: Quadro-resumo dos valores de rendimento quântico de fluorescência obtidos para os complexos formados entre os compostos 3 e 4 com os macrociclos  $\text{CB7}$ ,  $\alpha\text{CD}$  e  $\beta\text{CD}$ , a  $\text{pH} = 1$ .

Estudado o comportamento destes 3 macrociclos com o composto na forma de flavílio, interessa agora estudar a afinidade relativa para com a forma de chalcona, para ver se estes complexos podem ou não funcionar como dispositivos supramoleculares, tirando partido da fotocomutação flavílio/chalcona. Para estudar a interacção com a chalcona, importa primeiro conhecer os valores de  $\text{p}K'_a$  e  $\text{p}K''_a$  dos complexos já que quando os macrociclos se ligam às moléculas, naturalmente vão afectar a sua estabilidade e consequentemente

os valores de  $pK_a$ . Para determinar essas constantes, foram feitas várias experiências de saltos de pH em série, para a determinação do  $pK'_a$  (na gama de pHs ácidos/neutros) e em contínuo para o  $pK''_a$  (na gama neutra/básica). Foi adoptada esta estratégia porque contrariamente ao equilíbrio flavílio/chalcona ( $pK'_a$ ), o  $pK''_a$  depende apenas da protonação/desprotonação da chalcona *trans* pelo que é uma reacção extremamente rápida e o equilíbrio é atingido imediatamente após a alteração de pH. Em anexo estão as figuras correspondentes aos equilíbrios a vários pHs e respectivos ajustes para determinação das constantes (I.24-I.29). A tabela 2.3 sumariza os valores obtidos e apresenta os dos compostos livres para comparação.

|                     | Composto 3 |          | Composto 4 |          |
|---------------------|------------|----------|------------|----------|
|                     | $pK'_a$    | $pK''_a$ | $pK'_a$    | $pK''_a$ |
| <i>Comp. per si</i> | 1,78       | 7,44     | 1,61       | 7,83     |
| @CB7                | 4,55       | 8,50     | 3,70       | 8,38     |
| @ $\alpha$ CD       | 1,42       | 7,85     | 1,93       | 8,33     |
| @ $\beta$ CD        | 1,05       | 8,12     | 1,58       | 8,50     |

Tabela 2.3: Quadro-resumo dos pKas aparentes dos complexos formados entre os compostos 3 e 4 com os macrociclos CB7,  $\alpha$ CD e  $\beta$ CD.

Não tão curiosamente, observa-se que apenas no caso do cucurbiturilo existe um aumento expressivo do  $pK'_a$ . Com as ciclodextrinas, a tendência é de diminuição do  $pK'_a$  no caso do composto 3 ou de não alteração no caso do composto 4. Mais uma vez isto apoia a nossa suposição de que as ciclodextrinas não se ligam no núcleo de flavílio do composto 4 mas sim no mais electronegativo anel D (daí não afectarem muito significativamente o  $pK'_a$ ) e no composto 3 como não têm outra opção, ligam-se ao núcleo de flavílio, embora prefiram a forma de chalcona, de carácter mais neutro que o flavílio, daí que baixe o  $pK'_a$ , uma vez que a chalcona é estabilizada em relação ao flavílio. Com os complexos com cucurbiturilo acontece o oposto, pois tal como referido anteriormente, o CB7 tem carácter electronegativo pelo que prefere ligar-se ao catião flavílio e, ao fazê-lo, estabiliza-o. Daí que o catão flavílio se mantenha estável até pHs muito superiores, neste caso um aumento de 2,77 e 2,1 unidades de pH para C3 e C4 respectivamente. No caso do  $pK''_a$ , o que se verifica é que qualquer dos macrociclos aqui estudados prefere a forma neutra da Ct à forma ionizada ( $Ct^-$ ) logo todos aumentam o  $pK''_a$  especialmente o cucurbiturilo.

A figura 2.24 ilustra, em jeito de resumo, a distribuição de fracções molares para cada composto e respectivos complexos para que se possam comparar os desvios relativos e a estabilidade de cada espécie em cada complexo.

Uma vez conhecidos os valores das constantes de acidez, podemos desenhar e executar a experiência de titular as chalconas *trans* com os macrociclos. Estas titulações (em anexo: I.30-I.35) permitiram concluir que, no caso do CB7, a afinidade é várias ordens de grandeza menor do que no caso do flavílio a  $pH = 1$ , sendo ligeiramente inferior no C4 o que pode dever-se à presença do anel D. No caso das ciclodextrinas, as constantes e associação

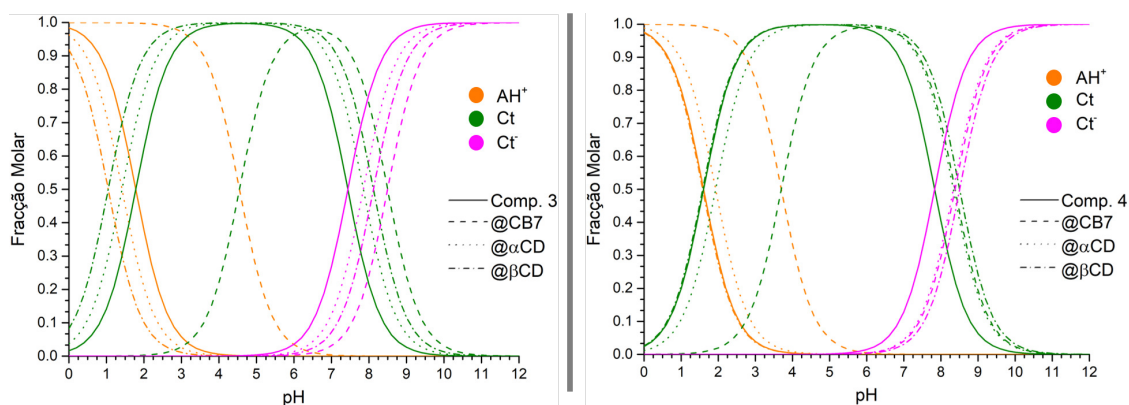


Figura 2.24: Distribuição das frações molares dos complexos formados entre os macrociclos CB7 (tracejado),  $\alpha$ CD (pontilhado) e  $\beta$ CD (tracejado/pontilhado), e os compostos 3 (à esquerda) e 4 (à direita). Para comparação estão também as fracções molares do composto livre (linha completa).

são muito superiores às registadas para os flavílios, o que já seria previsível; no entanto, não se verificou um desempenho tão bom da  $\alpha$ CD como da  $\beta$ CD. Isto pode ser devido a vários factores, embora seja provável que esteja relacionado com alguma precipitação que foi observada na célula durante a titulação.

De acordo com os dados obtidos dos saltos de pH com os complexos, sumarizados na figura 2.24, os valores mais baixos de  $pK'_a$  foram obtidos com a  $\beta$ CD o que nos sugere que seja com esta que existe a maior afinidade para com as Cts. Assim foram realizados alguns testes por dicroísmo circular por forma a tentar obter mais alguma informação sobre o sistema. A técnica de dicroísmo circular mede a interacção dos compostos com a luz polarizada, sendo portanto particularmente útil para compostos quirais. No nosso caso, apesar de os compostos 3 e 4 não serem quirais, quando estão dentro das ciclodextrinas, a interacção dos momentos dipolares gera um sinal de dicroísmo circular induzido [17]. Isto permite obter uma evidência da formação de complexos com ciclodextrinas, uma vez que, como estas não absorvem na mesma região, se surgir sinal na zona onde absorvem os compostos, isso indica que estão dentro da cavidade da ciclodextrina.

Na figura 2.25 encontram-se representados os resultados de uma titulação efectuada entre o composto 4 e a  $\beta$ CD, em que é visível o surgimento do sinal na zona de absorção da chalcona. Isso indica-nos que ocorre a ligação da ciclodextrina nessa zona da molécula. Com o composto 3 foi também testada a resposta no dicroísmo circular dos complexos  $C3@CB7$  e  $C3@βCD$  nas respectivas formas de chalcona. Como seria esperado, o primeiro não mostrou qualquer sinal e o segundo mostrou duas bandas bem definidas correspondentes à chalcona, indicando a ligação da ciclodextrina nesse local.

Para além disso, foi feito um outro teste para ver quão estáveis seriam os complexos na presença do outro macrociclo. Ou seja, ao complexo  $C3@CB7$  foi adicionada  $\beta$ CD e ao complexo  $C3@βCD$  adicionou-se CB7. O que se verificou foi que quando é adicionada  $\beta$ CD ao complexo  $C3@CB7$ , que *per si* não tem sinal no dicroísmo circular, surge

uma banda em tudo semelhante à observada para o complexo  $C3@βCD$ , apenas não tão forte. Isto sugere-nos que pelo menos parte dos cucurbiturilos nos complexos iniciais foram desalojados para dar lugar a ciclodextrinas, formando novos complexos. Fenómeno semelhante ocorre na experiência inversa.

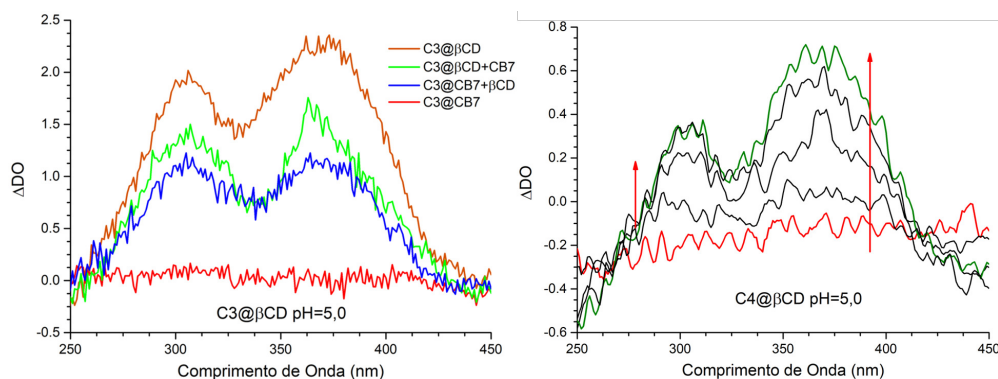


Figura 2.25: Espectros de absorção obtidos por dicroísmo circular. À esquerda, um teste com a chalcona 3 complexada com CB7 (a vermelho), com  $βCD$  (laranja) e a verde e a azul um teste em que foram adicionados ambos os macrociclos, mas por ordens diferentes. À direita, uma titulação da chalcona 4 com  $βCD$  seguida por dicroísmo circular em que a concentração de macrociclo aumenta de acordo com o sentido da seta.

A fim de elucidar com maior rigor a estrutura do complexo formado entre o cucurbit[7]urilo e o composto 3, foi feita uma titulação seguida por RMN. Tirando partido do desvio selectivo induzido pelo macrociclo nos protões da molécula, podemos saber exactamente onde se localiza o cucurbit[7]urilo. Assim, e analisando a figura 2.26, podemos ver que no caso da titulação a  $pH = 1$  se verificam várias alterações no espectro, com a adição de CB7. As atribuições dos sinais bem como o seguimento dos desvios induzidos pela complexação foram possíveis pela análise conjunta dos espectros unidimensionais representados nesta figura e de experiências bidimensionais que se apresentam em anexo, designadamente um COSY da amostra inicial (I.36), sem CB7, e um ROESY da amostra correspondente ao espectro b, com 0,5 equivalentes de CB7 (I.37). Enquanto o COSY é útil para identificar sistemas de spin, evidenciando que protões acoplam com que protões, a experiência de ROESY permite conhecer duas informações: que protões estão espacialmente próximos (apresentam sinal oposto ao da diagonal) e, nos casos em que existe permuta lenta, permite saber quais são os sinais correspondentes a essas permutas (mesmo sinal que a diagonal). No nosso caso, tiramos partido dessa permuta lenta entre os sinais do composto complexado e os do composto livre. Assim e como sabemos as atribuições do composto livre, ficamos também a conhecer as do composto complexado e podemos desta forma seguir as alterações.

Tendo em conta o que conhecemos sobre como a complexação com cucurbiturilos afecta os sinais, sabemos agora que, à semelhança do observado para o composto 2, no caso da titulação a  $pD = 1$ , o macrociclo se localiza principalmente no anel B, não estando muito restringido já que os sinais correspondentes aos protões 15, 19 e 8 sofrem desvios

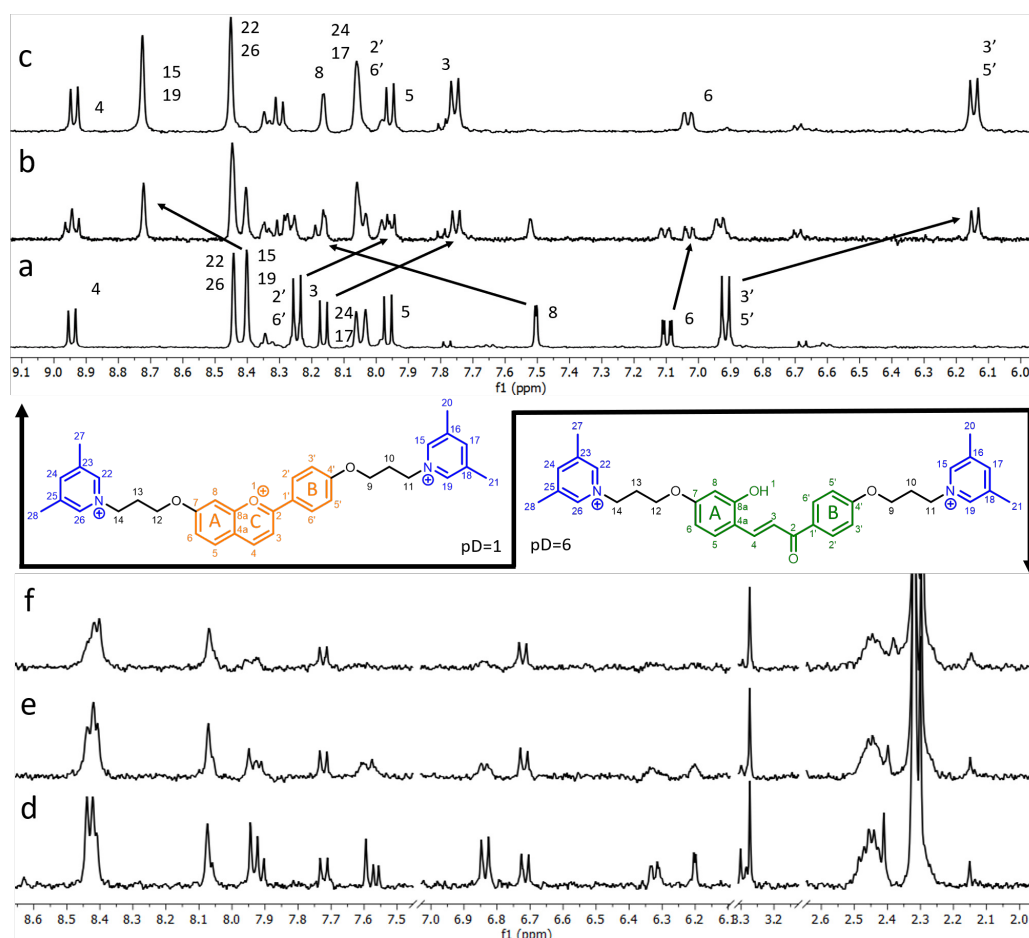


Figura 2.26: Titulações do composto 3 com CB7 seguidas por RMN. Em cima, a  $pH = 1$  (0,5mM,  $D_2O/DCl$ ,  $pD = 1$ ) a) sem CB7, b) e c) com 0,5 e 1 equivalentes, respectivamente. Em baixo, a  $pD = 6$  (0,5mM,  $D_2O/NaOD$ ,  $pD = 6$ ) e) sem CB7, d) e f) com 0,5 e 1 equivalentes, respectivamente.

para campo baixo o que indica que estão na zona de desblindagem dos portais do CB7. Ao invés, os sinais correspondentes aos prótons 2', 3', 5', 6' e 3 são desviados para campo alto, indicando que estão dentro da cavidade, muito à semelhança do observado para o composto 2. No caso da titulação a  $pD = 6$ , apenas se observa o desaparecimento de alguns sinais o que sugere que estão em permuta (entre o composto livre e o complexo) e nas condições da experiência não foi possível obter um espectro com os sinais mais definidos pelo que a indicação que nos dá o RMN a  $pD = 6$  é a de que o macrociclo interaje com a chalcona mas não está restrito a um local específico, possuindo alguma liberdade de movimento.



## CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu caracterizar a afinidade de compostos derivados dos flavílios com diferentes tipos de macrociclos, como as  $\alpha$  e  $\beta$  ciclodextrinas e os cucurbit[7,8]urilos.

Em relação aos primeiros resultados analisados, os relativos às interações entre os bisflavílios e os cucurbit[7,8]urilos, ficámos a saber que, no caso do CB7, são formados complexos do tipo 2:1, acompanhados de um expressivo aumento na intensidade de fluorescência. Com o CB8, os resultados sugerem a formação de complexos com estequiometrias mais variadas que implicam complexos do tipo 1:2 (dois flavílios dentro de um cucurbiturilo) uma vez que se verifica o surgimento de uma banda larga e deslocada para o vermelho, típica da formação de excímeros. Futuramente será importante caracterizar melhor este sistema com o CB8, assim como completar a caracterização fundamental do composto *per si*.

Relativamente ao pseudo-rotaxano, foi possível proceder a uma caracterização bastante completa do sistema, tendo a sua viabilidade como dispositivo fotocomutável ficado um pouco aquém do desejado (com uma eficiência de conversão de apenas 12%). Ainda assim, mostrou-se bastante adequado como composto modelo para estudar e para além disso, é um possível ponto de partida no desenho e estudo de novas estruturas.

Por fim, os compostos 3 e 4 constituem um trabalho ainda inacabado. Apesar de terem sido já caracterizadas as suas afinidades para com as ciclodextrinas, que exibiram em ambos os casos preferência pela forma de chalcona, e o CB7 que como esperado prefere a forma de flavílio; seria agora importante estudar a viabilidade do macrociclo de Stoddart na formação de um vaivém molecular, assim como esclarecer melhor, através de experiências de RMN ou outras equivalentes, o local de ligação do cucurbiturilo na forma de chalcona no composto 3. Seria também muito importante efectuar a mesma elucidação para o composto 4 que, por incluir um outro anel aromático, pode render resultados interessantes.



## MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

#### 4.1.1 REAGENTES

Os reagentes usados nas sínteses foram adquiridos com grau de pureza  $\geq 98\%$  às marcas *Sigma-Aldrich*, *Merck*, *TCI*, *AlfaAesar* e *Panreac* e usados sem purificações adicionais. No caso com composto com bipyridínio, o material de partida já existia disponível no laboratório. Os solventes foram usados conforme recebidos, sem secagem.

Nos estudos realizados foram usadas algumas moléculas comerciais, como as ciclodextrinas (*CycloLab*). Também neste caso foram usadas sem purificações adicionais. Foi usada água Milipore Ultrapura, com condutividade  $\leq 20\mu\Omega$ . Os macrociclos CB7, CB8 e CAS já haviam sido sintetizados no laboratório em trabalhos anteriores. Os cucurbiturilos foram usados tal como estavam e a CAS foi submetida a uma troca de contra-íão (de hexafluorofosfato para cloreto) para aumentar a sua solubilidade em água, de acordo com o descrito em [3].

#### 4.1.2 EQUIPAMENTOS

##### 4.1.2.1 Aquecimento e Agitação

Para aquecimento e agitação de soluções/reacções, foram utilizadas placas de aquecimento com agitação magnética da marca *VWR*, modelo VMS-C4 advanced. Para agitação de cuvetes ou soluções em frascos (pequenos volumes) foram também utilizadas placas de agitação da *IKA*, modelo LabDisk. Para agitação e homogeneização por ultra-sons, foi utilizado um banho termostaticável *Elma*, modelo Elmasonic S-100H com a temperatura regulada de acordo com o necessário. Quando necessária, foi ainda utilizada uma centrífuga *Centric 150* (máx 5000RPM)

#### 4.1.2.2 Pesagem e Medição

Para pesagens foram usadas balanças analíticas *Sartorius*, modelos Research R200D ou Analytic A100S de acordo com a precisão requerida. Para quantidades maiores (superiores a 1g e sem necessidade de grande precisão) foi também usada uma balança *Sartorius* Basic B610. Para medição de pequenos volumes, foram usadas pipetas volumétricas/graduadas de vidro ou micropipetas, de acordo com a necessidade. As micropipetas usadas foram da marca *Eppendorf*, modelo Research Plus.

#### 4.1.2.3 Análise e Caracterização

Os espectros de massa foram obtidos num aparelho *Bruker* Impact HD usando ionização por electro-spray. As separações por HPLC foram efectuadas usando um aparelho *Merck*, modelo L6200A com detector UV-Visível *Merck* L-4500 DAD ou um aparelho LC-MS *Agilent*, 1200 series com detector de massa (*Agilent* 6130B, single quadropole) acoplado. As soluções a injectar foram filtradas usando filtros de seringa *Membrane Solutions* MS PP de 0,45 $\mu$ L e injectadas com uma microseringa *Exmire* MS-R100 de 100 $\mu$ L. Os solventes foram filtrados usando membranas de Nylon com porosidade de 0,22 $\mu$ L. Foi usada uma coluna de fase reversa (RP18) *Purospher* 5 $\mu$ m. Os valores de pH das várias soluções foram medidos num aparelho *Crison* pH-Meter Basic 20+.

As experiências de dicroísmo circular foram feitas num equipamento *Applied Photophysics* Chirascan qCD spectrometer. Os voltamogramas foram adquiridos usando um aparelho *Autolab*, modelo PGStat 12 numa célula cilíndrica de 5mL para três eléctrodos. Como eléctrodo de trabalho, foi usado um eléctrodo de carbono vítreo MF-2013, f=16mm. Foi também usado um fio de Platina como eléctrodo auxiliar e os potenciais foram medidos tendo por referência um eléctrodo de calomelanos saturado em KCl 3M (SCE). No polimento foram usadas suspensões aquosas de alumina *Beuhler* de 1,0 e 0,3mm sobre uma superfície de polimento *Beuhler*.

Os espectros de absorção foram adquiridos num espectrofotómetro *Cary* 100bio ou *Varian Cary* 5000, consoante a experiência. Já as medidas de emissão foram conduzidas em espectrofluorímetros *SPEX*, modelos Fluorolog1681 0.22m ou Fluorolog 3-22. Foram usadas células de quartzo *Innovative Lab Supply* QS-214 ou de plástico descartáveis *Sigma-Aldrich* consoante a experiência a realizar, sempre com 1cm de percurso óptico e 4mL de volume excepto quando indicado em contrário. Para as experiências de RMN foram utilizados dois espectrómetros *Bruker* Avance III, ambos com um campo de 9,4T.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 SÍNTESE

Enquanto a síntese do composto 2 foi efectuada partindo de reagentes já disponíveis no laboratório, a síntese dos compostos 1a e 1b foi efectuada de acordo com o seguinte esquema sintético:

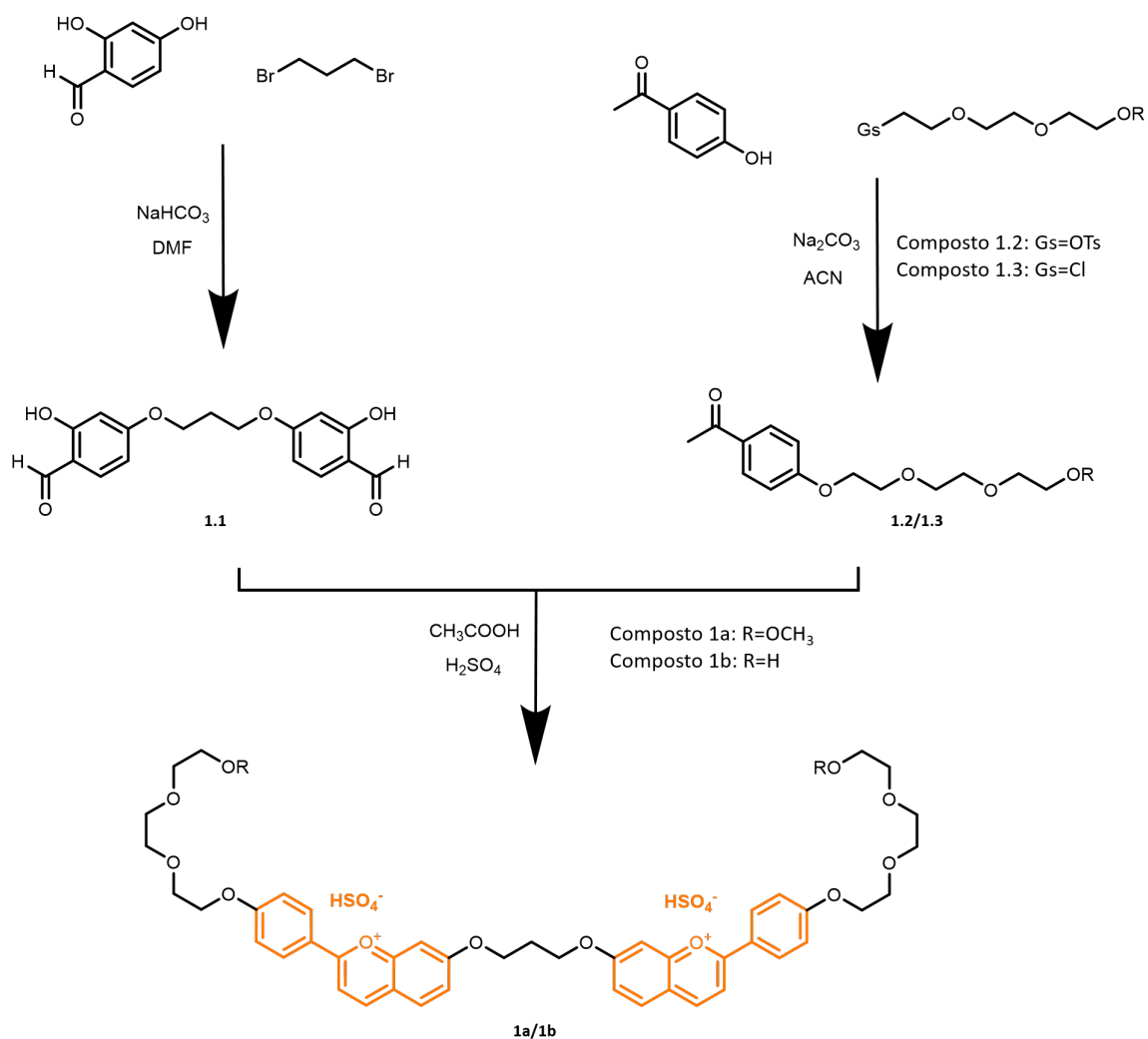


Figura 4.1: Esquema sintético seguido com vista à obtenção dos compostos 1a e 1b.

## 4.2.1.1 COMPOSTO 1.1

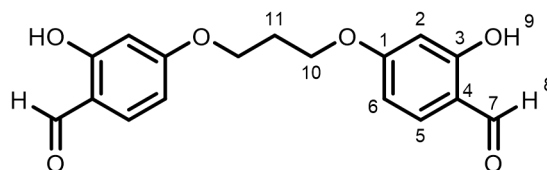


Figura 4.2: Estrutura do Bis(1-propanoxy-il,(3-hidroxi)4-benzaldeído)

Foram adicionados, sob agitação, 1,93mL (19,02mmol) de 1,3-dibromopropano a 6,97g (47,55mmol, 2,5eq) de 2,4-dihidroxibenzaldeído dissolvidos em 60mL de DMF. Após aquecimento a 40°C, foram acrescentados 3,99g (47,55mmol, 2,5eq) de hidrogenocarbonato de sódio, após o que a temperatura foi elevada até 80°C. Após 20 horas a reação, foi arrefecida até à temperatura ambiente e vertida sobre água gelada, verificando-se a formação de um precipitado. Após filtração, este precipitado foi redissolvido em diclorometano, seco com sulfato de sódio anidro e levado à secar num rotavapor. Neste ponto exibía uma tonalidade acastanhada. O produto obtido foi purificado por cromatografia *flash* em coluna usando sílica como fase estacionária e diclorometano como eluente. O produto obtido da coluna foi ainda purificado por precipitação selectiva em etanol com 3,99% de rendimento global (240,0mg).  $R_f$ (em DCM)=0,63.  $P_f$ =141°C.  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm): 11,49 (s, 1H, H9); 9,74 (s, 1H, H8); 7,46 (d,  $J$ =8,7Hz, 1H, H5); 6,57 (dd,  $J$ =8,7; 2,2Hz, 1H, H6); 6,47 (d,  $J$ =2,0Hz, 1H, H2); 4,24 (t,  $J$ =6,0Hz, 2H, H10); 2,33 (p,  $J$ =6,9Hz, 1H, H11).  $^{13}C$  RMN (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm): 194,40; 165,89; 164,49; 135,31; 115,30; 108,61; 101,21; 64,60; 28,72.

## 4.2.1.2 COMPOSTO 1.2

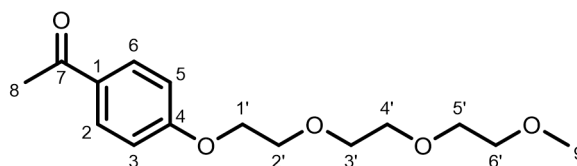


Figura 4.3: Estrutura da 4-(6'-metoxitrietenoglicol)Acetofenona

Num balão de fundo redondo de 50mL contendo 20mL de acetonitrilo foram adicionados 500mg (3,67mmol) de metil-tosil-trietilenoglicol a 1,35g (4,24mmol, 1,15eq.) de 4-hidroxiacetofenona e 1,17g (11,02mmol, 4eq.) de carbonato de sódio. A temperatura da placa foi definida para 80°C e a mistura foi deixada a reagir durante 18 horas. Após controlo por c.c.f. foram adicionados mais 200mg de metil-tosil-etilenoglicol para tentar que a reacção se completasse, o que aconteceu ao fim de mais 48 horas. Após este tempo, os sais em suspensão foram filtrados usando acetonitrilo frio para lavar os resíduos e todo o solvente foi removido por evaporação rotativa. O produto obtido foi então redissolvido

em diclorometano e lavado extensivamente com água/salmoura. A fase orgânica foi então seca com sulfato de magnésio anidro e o solvente removido. O produto foi sujeito a cromatografia *flash* por coluna usando sílica e como eluente uma mistura de acetato de etilo/n-hexano (8/2,  $R_f=0,405$ ). Após concentração das frações seleccionadas e secagem em vácuo, o produto final foi obtido com um rendimento de 59,31% (615mg).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7,92 (d,  $J=8,9\text{Hz}$ , 2H, H2, H6); 6,95 (d,  $J=8,8\text{Hz}$ , 2H, H3, H5); 4,20 (t,  $J=4,8\text{Hz}$ , 2H, H1'); 3,88 (t,  $J=4,8\text{Hz}$ , 2H, H2'); 3,75 (dd,  $J=6,2$ ; 3,6Hz, 2H, H5'); 3,71 – 3,63 (m, 4H, H3', 4'); 3,55 (dd,  $J=5,8$ ; 3,6Hz, 2H, H6'); 3,38 (s, 3H, H8); 2,55 (s, 3H, H9).  $^{13}\text{C}$  RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 196,78; 162,72; 130,54; 130,41; 114,26; 71,90; 70,87; 70,63; 70,56; 69,51; 67,60; 59,02; 26,33.

#### 4.2.1.3 COMPOSTO 1a

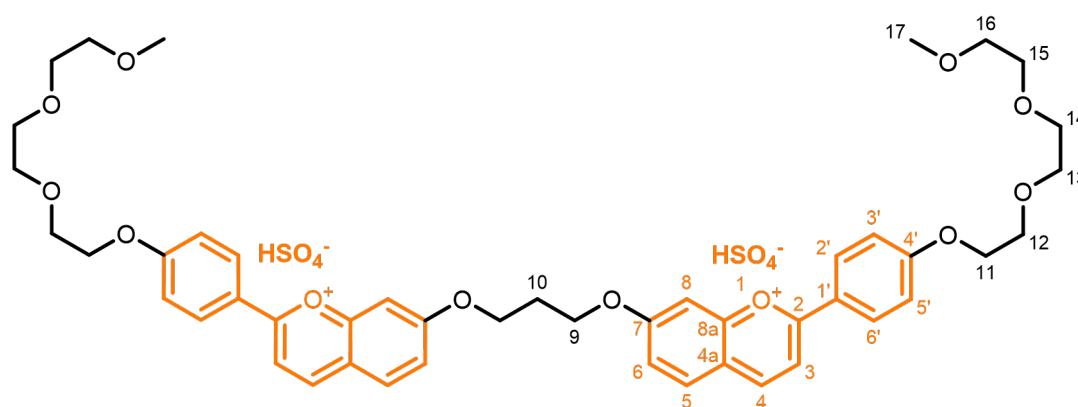


Figura 4.4: Estrutura do Bis(7-propanoxi-il,4'-(17metoxitrietenoglicol)Flavílio)

Em 5mL de ácido acético glacial foram dissolvidos 205,30mg (727,14  $\mu\text{mol}$ , 2,3eq.) de acetofenona obtida em 4.2.1.2 e a esta solução foram adicionados 100mg (316,15  $\mu\text{mol}$ ) de aldeído obtido em 4.2.1.1. Após aquecimento da solução a fim de dissolver todo o aldeído, foi adicionado sob agitação e muito lentamente, 1mL de ácido sulfúrico concentrado. Imediatamente a solução começou a mudar de cor: de incolor para vermelho vivo. A mistura foi deixada a reagir à temperatura ambiente durante 3 dias. Após este tempo, foi vertida sobre acetato de etilo verificando-se a formação imediata de um precipitado que foi depois filtrado e lavado abundantemente com éter dietílico. Após cuidadosa secagem sob vácuo, foram obtidos 140mg (54,61%) de um sólido vermelho escuro.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DCI/MeOD}$ )  $\delta$  (ppm): 9,21 (d,  $J=8,7\text{Hz}$ , 1H, H4); 8,65 (m, 3H, H3, H2', H6'); 8,53 (d,  $J=8,7\text{Hz}$ , 1H, H5); 8,13 (s, 1H, H8); 7,34 (d,  $J=8,5\text{Hz}$ , 2H, H3', H5'); 6,92 (m, 1H, H6); 4,84 (m, 2H, H9); 4,41 (m, 2H, H11); 3,96 (s, 2H, H12); 3,78 – 3,74 (m, 2H, H13); 3,69 – 3,65 (m, 4H, H14, H15); 3,57 (m, 2H, H16); 3,37 (s, 3H, H17); 2,64 (s, 1H, H10).

## 4.2.1.4 COMPOSTO 1.3

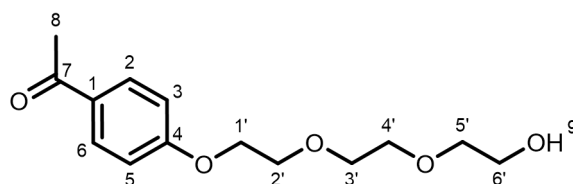


Figura 4.5: Estrutura da 4-(6'-hidroxitrietenoglicol)Acetofenona

A 60mL de acetonitrilo foram adicionados 5,00g (36,72mmol) de 4-hidroxiaacetofenona, 6,41mL (44,07mmol, 1,2eq.) de cloro-trietilenoglicol e 9,14g (110,17, 3eq.) de carbonato de sódio. A reacção foi aquecida a 85°C e acrescentou-se uma quantidade catalítica de iodeto de potássio. Após 72h, arrefeceu-se e filtrou-se a mistura reaccional. O filtrado foi concentrado num evaporador rotativo e o resíduo foi redissolvido em diclorometano sendo lavado várias vezes com água/salmoura para remover restos de sais. A fase orgânica foi então seca com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi removido e o produto seco sob vácuo. Este produto foi ainda purificado por cromatografia *flash* em coluna de sílica usando como eluente uma mistura de acetato de etilo e n-hexano (16/1). Após concentração e evaporação do eluente das fracções seleccionadas, o produto foi obtido sob a forma de um óleo amarelo pálido que foi seco em vácuo a 40°C durante 24 horas, tendo sido obtidos 4,50g (rendimento de 45,67%).  $R_f$ (em AcOEt/n-Hex - 16/1)=0,29.  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm): 7,90 (d,  $J=8,9$ Hz, 2H, H2, H6); 6,93 (d,  $J=8,8$ Hz, 2H, H3, H5); 4,17 (t,  $J=4,70$ Hz, 2H, H1'); 3,86 (t,  $J=4,70$ Hz 2H, H2'); 3,74 – 3,65 (m, 6H, H3'-5'); 3,63 – 3,56 (m, 2H, H6'); 2,69 (s, 1H, H9); 2,53 (s, 3H, H8).  $^{13}C$  RMN (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm): 196,80; 162,63; 130,54; 130,44; 114,24; 72,51; 70,83; 70,31; 69,47; 67,52; 61,66; 26,31.

## 4.2.1.5 COMPOSTO 1b

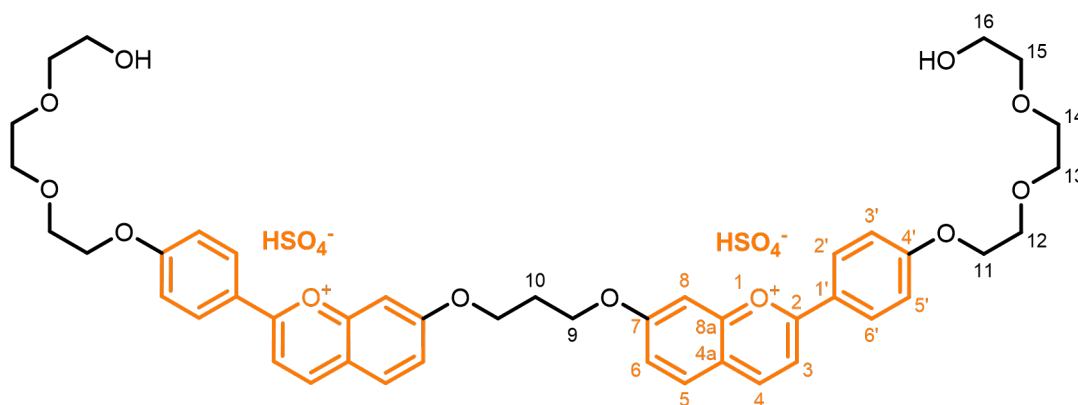


Figura 4.6: Estrutura do Bis(7-propanoxi-il,4'-(17hidroxitrietenoglicol)Flavílio)

508,95mg (1,89 mmol, 10eq.) da acetofenona obtida em 4.2.1.4 foram dissolvidos em

5mL de ácido acético glacial. A esta solução, foram adicionados cuidadosamente 60,00mg (189.69  $\mu$ mol) do aldeído obtido em 4.2.1.1. Para garantir a completa dissolução do aldeído, foi aplicado calor ao balão de fundo redondo. Após homogeneização da solução foi adicionado 1mL de ácido sulfúrico e a mistura foi deixada a reagir durante 18 horas a 60°C. Após este tempo foi arrefecida à temperatura ambiente e vertida sobre acetato de etilo, tendo-se verificado a precipitação imediata de um sólido vermelho. A suspensão foi filtrada e lavada abundantemente com éter dietílico. O produto final, depois de seco sob vácuo, foi obtido sob a forma de um sólido vermelho vivo com um rendimento de 72,36% (107,45mg).  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DCl/MeOD)  $\delta$  (ppm): 9,21 (d,  $J=8,7\text{Hz}$ , 1H, H4), 8,57 (d,  $J=8,6\text{Hz}$ , 2H, H2', H6'); 8,48 (d,  $J=8,7\text{Hz}$ , 1H, H3); 8,22 (d,  $J=9,0\text{Hz}$ , 1H, H5); 8,01 (s, 1H, H8); 7,56 (d,  $J=8,9\text{Hz}$ , 1H, H6); 7,32 (d,  $J=8,5\text{Hz}$ , 2H, H3', H5'); 4,71 (m, 2H, H9); 4,38 (t,  $J=4,5\text{Hz}$ , 2H, H11); 3,99 – 3,90 (m, 2H, H12); 3,80 – 3,57 (m, 8H, H13, H14, H15, H16); 2,59 (m, 1H, H10).  $^{13}\text{C RMN}$  (101 MHz, MeOD)  $\delta$  (ppm): 172,60; 168,42; 166,67; 159,03; 153,86; 132,64; 131,90; 121,56; 121,17; 119,56; 116,38; 113,41; 101,06; 72,19; 70,41; 70,00; 69,04; 68,38; 66,86; 60,78; 28,23.

#### 4.2.1.6 COMPOSTO 2

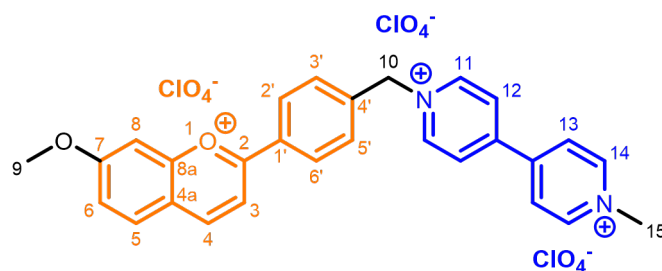


Figura 4.7: Estrutura do 7-metoxi-4'-(N-(N-metilviologênio))Flavílio

Em 5mL de ácido acético glacial, foram dissolvidos 150mg (0,25mmol) de hexafluorofosfato de 1-metil-1'[(acetofenona-4-il)metil]-4,4'-bipiridínio e 38,4mg (0,25mmol, 1eq.) de 2-hidroxi-4-metoxibenzaldeído. Após homogeneização, foi adicionado 1,5mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura reaccional foi deixada durante 18 horas ao fim das quais foi deitada sobre uma solução diluída de ácido perclórico, tendo-se verificado a precipitação de um sólido vermelho-acastanhado. A suspensão foi centrifugada e o sólido obtido foi lavado extensivamente com acetato de etilo e éter dietílico. Foi assim obtido o composto 2 quantitativamente, na forma de sal de perclorato.  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz, DCl/D<sub>2</sub>O,  $pD = 1$ )  $\delta$  (ppm): 9,16 (d,  $J=8,4\text{Hz}$ , 1H); 9,08 (d,  $J=6,4\text{Hz}$ , 2H); 8,88 (d,  $J=6,3\text{Hz}$ , 3H); 8,45 (d,  $J=6,4\text{Hz}$ , 2H); 8,41-8,30 (m, 5H); 8,08 (d,  $J=9,2\text{Hz}$ , 1H); 7,73-7,60 (m, 3H); 7,43 (dd,  $J=9,7\text{Hz}$ , 1H); 5,96 (s, 2H); 4,33 (s, 3H), 3,99 (s, 3H).

### 4.2.2 CARACTERIZAÇÃO

Exceptuando os casos em que é indicada informação em contrário, todos os estudos e técnicas descritas abaixo e usadas neste trabalho, foram conduzidos utilizando água como solvente. Foi usado HCl ou NaOH, consoante o caso, para ajustar o pH do meio para o desejado na experiência.

#### 4.2.2.1 Saltos de pH

Quando se estuda a distribuição de espécies no multiestado, é comum utilizar-se a técnica de saltos de pH, já que esta permite obter informações quer de natureza cinética, quer de natureza termodinâmica. Esta técnica é baseada no seguinte procedimento:

- Prepara-se uma solução mãe a pH muito ácido (1 ou 0, consoante o  $pK'_a$ ). Isto serve para garantir que todo o composto está apenas numa única forma (de catião flavílio)
- Numa célula, coloca-se tampão ao pH final desejado. Pode ser acertado com pequenas alíquotas de ácido ou base.
- Na mesma célula, coloca-se base suficiente para neutralizar o ácido da quantidade de solução mãe que será usada.
- Quando está tudo pronto para começar a medição, junta-se a solução mãe e começa-se a leitura. Consoante a cinética de cada composto e o pH em questão, o equilíbrio poderá ser atingido em segundos, minutos ou horas.

Uma típica distribuição destes componentes é numa célula de 3mL, encher com 1mL de tampão, 1mL de NaOH 0,1M e 1mL da solução mãe, a pH 1. A técnica descrita é a dos saltos de pH directos, em que vamos de um pH muito baixo para um ou vários pHs mais elevados. No entanto, também é frequente usar saltos de pH inversos em que temos uma solução equilibrada a um pH elevado e “saltamos” para vários pH mais ácidos.

Embora seja uma técnica muito simples experimentalmente, é muito poderosa já que se aplica a qualquer tipo de compostos que exibam estes equilíbrios ou outros semelhantes e pode ser aplicada não só em espectroscopia de absorção como também virtualmente em qualquer técnica espectroscópica que tenha resolução temporal para monitorizar a evolução do sistema.

#### 4.2.2.2 RENDIMENTOS QUÂNTICOS

- DE FLUORESCÊNCIA

Apesar de o rendimento quântico ser definido como a razão entre o número de fótons emitidos e absorvidos, experimentalmente isso não é trivial de se medir. Uma vez que essa medição requer técnicas mais trabalhosas, é frequente utilizar-se uma medição relativa,

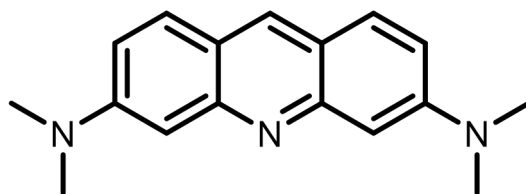


Figura 4.8: Estrutura do Laranja de Acridina

como descrito na Introdução. Utiliza-se um composto padrão de rendimento quântico conhecido, neste caso o laranja de acridina (figura 4.8).

Foi preparada uma solução mãe de laranja de acridina a 5,5mM em etanol básico que foi depois diluída de forma a ficar com uma absorvância menor ou igual a 0,1. O mesmo cuidado foi tido para o composto a medir. Portanto, e de acordo com a equação 1.9 referida na Introdução para o cálculo do rendimento quântico por comparação, para determinar o rendimento quântico por este método, foram traçados os espectros de absorção e emissão tanto do composto como do padrão. Foi usado como comprimento de onda de excitação 440nm. Uma vez que os compostos estavam em soluções aquosas e o padrão em etanol, foi necessário ter em conta o termo da equação que refere os índices de refração, tendo sido usados os valores de 1,34 e 1.36 [18] para a água e etanol, respectivamente.

#### • DE REACÇÃO FOTOQUÍMICA

Quando se mede o rendimento quântico de um processo fotoquímico, é comum usar-se a técnica de actinometria. Esta é baseada em duas medições: primeiro um padrão de rendimento quântico conhecido permite-nos saber o fluxo fotónico da fonte de irradiação (isto é, quantos fotões são emitidos por segundo). A segunda medição é a do composto/- reacção em causa e tem de ser feita nas exatas condições da primeira medição.

Experimentalmente, prepara-se uma célula de absorção, de quartzo, e traça-se o espectro de absorção de uma solução de complexo  $Fe^{2+}$  com fenantrolina. Este complexo é formado entre a fenantrolina livre e o  $Fe^{2+}$ , produto da reacção fotoquímica sofrida pelo ferrioxalato (de acordo com a referência [10]) depois de irradiado a 365nm durante um dado tempo. Após este tempo, prepara-se nova célula e irradia-se durante mais ou menos tempo, e repete-se este procedimento para 3/4 tempos diferentes de irradiação (e também uma solução que não tenha sido irradiada,  $t_{irr} = 0s$ ), registando-se a absorvância a 510nm ( $\epsilon = 11100M^{-1}cm^{-1}$ ). Com estes dados, e analisando a absorvância em função do tempo, sabemos o número de moles formados por unidade de tempo. Como o rendimento do ferrioxalato é conhecido ( $\phi_{FOTO} = 1,23$  a  $\lambda = 365nm$ [10]), por aplicação da equação 1.10 sabemos o fluxo fotónico da lâmpada. Conhecido este parâmetro, podemos prosseguir e irradiar a amostra até que seja atingido o estado fotoestacionário. Analisando o regime linear (primeiros pontos da irradiação), e considerando o coeficiente de extinção molar do composto, torna-se fácil determinar a quantidade de produto formado e como já é sabido o fluxo da lâmpada, podemos também determinar o número de fotões absorvidos pela

amostra. Fazendo a razão destes dois termos, é possível obter o rendimento quântico de reacção fotoquímica.

#### 4.2.2.3 Titulações Recetor-Ligando

- SEGUIDAS POR ESPECTROSCOPIA ÓPTICA

Existe mais do que uma metodologia nas titulações entre receptores e ligandos. Nas experiências efectuadas nesta tese foi sempre adoptada a seguinte:

- Preparam-se 3 células de absorção/emissão (A, B e C), tendo a célula A tem apenas composto ao pH desejado. Nas titulações a  $pH = 1$ , usou-se HCl; para as titulações a pH neutro (para as Cts), usou-se tampão citrato à concentração de 10mM e, quando necessário um meio básico, foi usado o tampão borato, também a 10mM. As células B e C têm o mesmo que a célula A e é-lhes acrescentado o macrociclo a titular com uma delas (C) à concentração máxima possível;
- No início da experiência, começa-se por traçar o espectro das três células para tentar perceber que variações espectrais são esperadas no limite;
- De seguida, vão-se adicionando volumes cada vez maiores de solução com macrociclo menos concentrado e quando as variações já não são muito expressivas, muda-se para a solução com macrociclo concentrado.

Este método tem a vantagem de manter constante a concentração de composto já que está presente a mesma quantidade em todas as células e ir apenas aumentado a de macrociclo na célula titulada. Depois de se atingir o patamar, não se verificando mais variações espectrais, ou se se tiver atingido a concentração máxima possível, dá-se por terminada a experiência e representam-se os dados da zona em que o espectro mais varia contra a concentração total de macrociclo e aplicam-se os modelos definidos em 1.1.2. Esta metodologia é válida para titulações seguidas por absorção, emissão ou outras semelhantes como dicroísmo circular. No caso da espectroscopia de emissão, existe a vantagem de que como é necessário trabalhar a concentrações muito baixas de composto, isso permite usar maior quantidade (relativa) de macrociclo, permitindo por vezes ver fenómenos que não são visíveis por outras técnicas.

- SEGUIDAS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

De filosofia bastante semelhante às seguidas por espectroscopia óptica, as titulações seguidas por ressonância magnética nuclear consistem na aquisição sucessiva de espectros de uma dada solução de composto preparada em solvente deuterado e à qual vão sendo adicionadas aliquotas de outra solução em tudo idêntica à que está dentro do tubo de RMN sendo a única diferença a presença de macrociclo em excesso. São então adicionadas aliquotas de 10 – 50  $\mu L$  consoante as concentrações. Após cada adição o tubo deve ser vigorosamente agitado para garantir a homogeneização. O pD das soluções usadas em RMN é determinado usando um eléctrodo de pH e de acordo com a equação  $pD = pH + 0,4$ , sendo pH o valor medido pelo aparelho.

## 4.2.2.4 ELECTROQUÍMICA

Antes de cada medição, o eléctrodo de trabalho foi extensivamente polido em suspensões aquosas de alumina *Beuhler* de 1.0 e 0.3mm (por essa ordem) sobre uma superfície de polimento *Beuhler* usando a técnica dos 8. Sendo depois lavado com água mili-q e seco antes de ser usado novamente.

## 4.2.2.5 HPLC

As análises por HPLC foram feitas usando um método já desenvolvido para compostos da família das antocianinas. Este método usa três solventes em gradiente: 1-Água ácida (3% $HClO_4$ ); 2-Metanol (grau de pureza: HPLC); 3-Água mili-q. A percentagem de cada solvente ao longo do programa de eluição vai variando de acordo com a tabela 4.1.

| Tempo | 1-% $H_2O$ ácida | 2-% $MeOH$ | 3-% $H_2O$ | Fluxo (mL/min) |
|-------|------------------|------------|------------|----------------|
| 0,0   | 93               | 7          | 0          | 1,0            |
| 2,0   | 93               | 7          | 0          |                |
| 8,0   | 85               | 15         | 0          |                |
| 25,0  | 25               | 75         | 0          |                |
| 27,0  | 20               | 80         | 0          |                |
| 29,0  | 0                | 100        | 0          |                |
| 35,0  | 0                | 100        | 0          |                |
| 40,0  | 0                | 100        | 0          |                |
| 41,0  | 0                | 7          | 93         |                |

Tabela 4.1: Composição do eluente (v/v), usado em gradiente, nas análises por HPLC.

Todas as amostras excepto as fracções retiradas directamente das colunas de cromatografia foram sujeitas a filtração prévia com um filtro de seringa.

## 4.2.2.6 CÁLCULOS TEÓRICOS

Os cálculos teóricos como optimização de geometrias, cálculo de potenciais electrostáticos e determinação de energias de transição electrónica foram todos realizados usando o programa *Gaussian09* de 2009 com o apoio do programa *GaussView5.0.9*.

As estruturas foram optimizadas ao nível de teoria 6-31g, usando o funcional *CAM-B3LYP* da teoria de densidade funcional. As superfícies de potencial foram calculadas partindo dos valores de potencial electrostático obtidos com o modelo de contínuo polarizável considerando como solvente a água (com constante dieléctrica,  $\epsilon = 78.3553$ ). As transições electrónicas foram calculadas usando a teoria de densidade funcional variável no tempo ao nível de teoria 6-311g, usando a mesma base de funções (*CAM-B3LYP*) e considerando igualmente a água como solvente. Foi assim possível obter resultados bastante próximos dos obtidos experimentalmente. As matrizes de coordenadas optimizadas pelo programa podem ser consultadas em anexo (I.1-I.4 e I.5)

## BIBLIOGRAFIA

- [1] P. Nobel. *The Nobel Prize in Chemistry* 1987. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1987/summary/>. (acedido em: 01.09.2019).
- [2] G. Song, R. Sun, J. Du, M. Chen e Y. Tian. "A highly selective, colorimetric, and environmentsensitive optical potassium ion sensor". Em: *Chem. Commun.* 53.41 (2017), pp. 5602–5605. DOI: [10.1039/c7cc00598a](https://doi.org/10.1039/c7cc00598a).
- [3] B. Odell, M. Reddington, A. Slawin, N. Spencer, J. F. Stoddart e D. J. Williams. "Cyclobis(paraquat-p-phenylene): A Tetracationic Multipurpose Receptor". Em: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 27.11 (1988), pp. 1547–1550. DOI: [10.1002/anie.198815471](https://doi.org/10.1002/anie.198815471).
- [4] F. Pina. "O que há de Novo na Química Supramolecular". Em: *Química* 60 (1996), pp. 20–24.
- [5] P. Nobel. *The Nobel Prize in Chemistry* 2016. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2016/summary/>. (acedido em: 01.09.2019).
- [6] F. Pina, M. J. Melo, C. A. T. Laia, A. J. Parola e J. C. Lima. "Chemistry and applications of flavylum compounds: a handful of colours". Em: *Chem Soc Rev* 41 (2012), pp. 869–908. DOI: [10.1039/c1cs15126f](https://doi.org/10.1039/c1cs15126f).
- [7] N. Basílio e F. Pina. "Chemistry and Photochemistry of Anthocyanins and Related Compounds: A Thermodynamic and Kinetic Approach". Em: *Molecules* 21.1502 (2016), pp. 1–25. DOI: [10.3390/molecules21111502](https://doi.org/10.3390/molecules21111502).
- [8] P. L. Anelli, N. Spencer e J. F. Stoddart. "A Molecular Shuttle". Em: *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991), pp. 5131–5133. DOI: [10.1021/ja00013a096](https://doi.org/10.1021/ja00013a096).
- [9] K. I. Assaf e W. M. Nau. "Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis". Em: *Chem. Soc. Rev.* 44 (2014), pp. 394–418. DOI: [10.1039/C4CS00273C](https://doi.org/10.1039/C4CS00273C).
- [10] M. Montalti, A. Credi, L. Prodi e M. T. Gandolfi. *Handbook of Photochemistry*. 3ª ed. CRC Press, 2016. ISBN: 9780824723774.
- [11] W. L. Mock e N.-Y. Shih. "Structure and Selectivity in Host-Guest Complexes of Cucurbituril". Em: *J. Org. Chem.* 51.23 (1986), pp. 4440–4446. DOI: [10.1021/jo00373a018](https://doi.org/10.1021/jo00373a018).

- [12] N. Basílio, T. Garnier, J. Avó, M. Danel, S. Chassaing e F. Pina. “Synthesis and multistate characterization of bis-flavylium dications-symmetric resorcinol- and phloroglucinol-type derivatives as stochastic systems”. Em: *RSC Advances* 6.74 (2016), pp. 69698–69707. DOI: [10.1039/c6ra12017b](https://doi.org/10.1039/c6ra12017b).
- [13] N. Basílio, V. Petrov e F. Pina. “Host–Guest Complexes of Flavylium Cations and Cucurbit[7]uril: The Influence of Flavylium Substituents on the Structure and Stability of the Complex”. Em: *ChemPlusChem* 80.12 (2015), pp. 1779–1785. DOI: [10.1002/cplu.201500304](https://doi.org/10.1002/cplu.201500304).
- [14] A. D. St-Jacques, I. W. Wyman e D. H. Macartney. “Encapsulation of charge-diffuse peralkylated onium cations in the cavity of cucurbit[7]uril”. Em: *Chemcomm* 40 (2008), 4936—4938. DOI: [10.1039/B811823J](https://doi.org/10.1039/B811823J).
- [15] N. Basílio, S. Gago, A. J. Parola e F. Pina. “Contrasting pKa Shifts in Cucurbit[7]uril HostGuest Complexes Governed by an Interplay of Hydrophobic Effects and Electrostatic Interactions”. Em: *ACS Omega* 2 (2017), pp. 70–75. DOI: [10.1021/acsomega.6b00427](https://doi.org/10.1021/acsomega.6b00427).
- [16] H.-J. Kim, W. S. Jeon, Y. H. Ko e K. Kim. “Inclusion of methylviologen in cucurbit[7]uril”. Em: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 8.9 (2002), pp. 5007–5011. DOI: [10.1073/pnas.062656699](https://doi.org/10.1073/pnas.062656699).
- [17] M. M. Bobek, D. Krois e U. H. Brinker. “Induced Circular Dichroism of Cyclodextrin Inclusion Complexes: Examining the Cavity with a Bilateral Probe”. Em: *Organic Letters* 2.14 (2000), pp. 1999–2002. DOI: [10.1021/o1005923d](https://doi.org/10.1021/o1005923d).
- [18] J. Rheims, J. Koser e T. Wriedt. “Refractive-index measurements in the near-IR using an Abbe refractometer”. Em: *Meas. Sci. Technol* 8 (1997), pp. 601–605. DOI: [10.1088/0957-0233/8/6/003](https://doi.org/10.1088/0957-0233/8/6/003).



## MULTIESTADO DO CATIÃO FLAVÍLIO

### A.1 ESPÉCIES NO EQUILÍBRIO

Como referido na Introdução, o catião flavílio é susceptível de sofrer uma série de reacções que levam à formação de outras espécies: o hemiacetal (B), a chalcona *cis* (Cc) e a chalcona *trans* (Ct), A.1. Neste apêndice serão apresentadas as deduções matemáticas conducentes às expressões que permitem calcular as fracções molares das várias espécies em equilíbrio, dependendo do pH e das constantes de equilíbrio (adaptado de [7]).

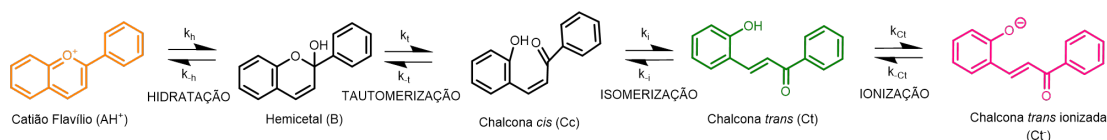
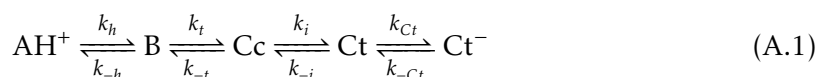


Figura A.1: A cascata de reacções do catião flavílio.

Consideremos o seguinte equilíbrio, estabelecido entre o catião flavílio e as espécies derivadas.



A partir desta equação, podemos escrever as expressões das constantes de equilíbrio (considerando  $K_n = k_n/k_{-n}$ , sendo “n” a constante em causa):

$$K_h = \frac{[B][H^+]}{[AH^+]} \quad K_t = \frac{[Cc]}{[B]} \quad K_i = \frac{[Ct]}{[Cc]} \quad K_{Ct} = \frac{[Ct^-][H^+]}{[Ct]} \quad (A.2)$$

Para simplificar os cálculos, podemos considerar que  $AH^+$  está em equilíbrio com uma base conjugada,  $BC$ , correspondente a  $B + Cc + Ct$ , adoptando assim uma constante de acidez aparente,  $K'_a$ , o que resume o sistema multiestado ao seguinte:



Em que:

$$K'_a = \frac{[BC][H^+]}{[AH^+]} \quad K''_a = \frac{[BC^-][H^+]}{[BC]} \quad (A.4)$$

Para compreender o sistema, é importante conhecer a distribuição de espécies no equilíbrio. Isso pode ser obtido através das respectivas fracções molares, pelo que se torna necessário encontrar expressões para as determinar. Se fizermos o balanço de massas do sistema, verificamos que a concentração total ( $C_0$ ) é definida da seguinte forma:

$$C_0 = [AH^+] + [BC] + [BC^-] \quad (A.5)$$

Usando as equações das constantes definidas em A.3, podemos definir  $C_0$  apenas em função de  $[AH^+]$ :

$$C_0 = [AH^+](1 + \frac{K'_a}{[H^+]} + \frac{K'_a K''_a}{[H^+]^2}) \quad (A.6)$$

Analogamente, para  $BC$  e  $BC^-$ , teremos:

$$C_0 = [BC](1 + \frac{H^+}{K'_a} + \frac{K''_a}{[H^+]}) \quad C_0 = [BC^-](1 + \frac{H^+}{K''_a} + \frac{[H^+]^2}{K'_a K''_a}) \quad (A.7)$$

Uma vez que a fracção molar de uma espécie é definida pela razão entre a concentração dessa espécie particular e a concentração total de todas as espécies ( $\chi_n = [n]/C_0$ ), e usando as expressões de  $C_0$  definidas em A.6 e A.7), vem que:

$$\chi_{AH^+} = \frac{[AH^+]}{[AH^+](1 + \frac{K'_a}{[H^+]} + \frac{K'_a K''_a}{[H^+]^2})} \quad \chi_{BC} = \frac{[BC]}{[BC](1 + \frac{[H^+]}{K'_a} + \frac{K''_a}{[H^+]})} \quad \chi_{BC^-} = \frac{[BC^-]}{[BC^-](1 + \frac{[H^+]}{K''_a} + \frac{[H^+]^2}{K'_a K''_a})} \quad (A.8)$$

Estas expressões podem agora ser simplificadas para resultar nas equações que permitem calcular as várias fracções molares, dependendo apenas das constantes de acidez definidas e do pH.

$$\chi_{AH^+} = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K'_a[H^+] + K'_a K''_a} \quad \chi_{BC} = \frac{K'_a[H^+]}{[H^+]^2 + K'_a[H^+] + K'_a K''_a} \quad \chi_{BC^-} = \frac{K'_a K''_a}{[H^+]^2 + K'_a[H^+] + K'_a K''_a} \quad (A.9)$$

Nos casos em que a chalcona *trans* (Ct) é o produto termodinâmico do multiestado, todas as espécies acabarão por se converter nela, pelo que no equilíbrio acabamos por ter apenas Ct presente, e assim, podemos considerar  $BC = Ct$ .

A figura A.2 ilustra a distribuição de espécies que resulta da aplicação das equações em A.9 até pHs mais elevados e com a particular vantagem de apenas ser necessário conhecer os valores de  $pK'_a$ , de  $pK''_a$  e de  $pH$ .

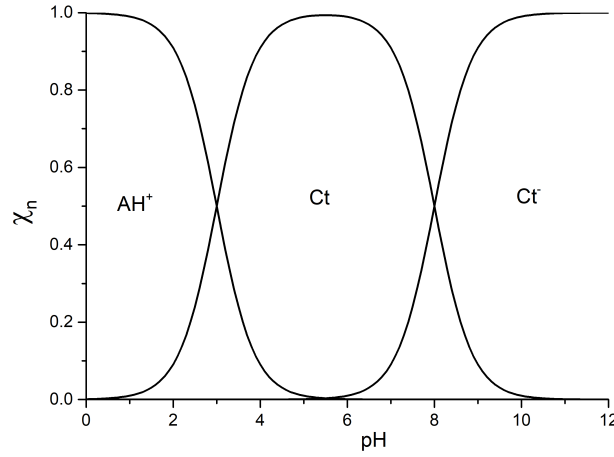


Figura A.2: Simulação da distribuição de espécies do multiestado no equilíbrio, considerando  $pK'_a = 3$  e  $pK''_a = 8$ .

Outra simplificação que pode ser feita neste ponto é para os casos em que se trabalha apenas na gama de pHs ácida a neutra, na qual não surge a forma ionizada. Neste caso, podemos eliminar o termo  $[BC^-]$  na expressão A.5, pelo que as expressões para o cálculo das fracções molares de  $AH^+$  e  $Ct$  se resumem a:

$$\chi_{AH^+} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K'_a} \quad \chi_{Ct} = \frac{K'_a}{[H^+] + K'_a} \quad (A.10)$$

A título de exemplo, para a gama de pH neutro (sem formação de  $Ct^-$ ), podemos também determinar as fracções molares das espécies que compõem a nossa “base conjugada”, ou seja,  $B$ ,  $Cc$ , e  $Ct$  individualmente, sem fazer aproximações. Partindo da expressão A.4, substituímos  $[BC]$  pela soma de  $B$ ,  $Cc$  e  $Ct$ , obtendo assim a seguinte expressão:

$$K'_a = \frac{([B] + [Cc] + [Ct])[H^+]}{[AH^+]} \quad (A.11)$$

desmultiplicando obtemos:

$$K'_a = \frac{[B][H^+]}{[AH^+]} + \frac{[Cc][H^+]}{[AH^+]} + \frac{[Ct][H^+]}{[AH^+]} \quad (A.12)$$

se combinarmos as equações de  $K_h$ ,  $K_t$  e  $K_i$  definidas em A.2, podemos substituir os termos  $B$ ,  $Cc$  e  $Ct$ , obtendo assim a expressão que define  $K'_a$ :

$$K'_a = K_h + K_h K_t + K_h K_t K_i \quad (A.13)$$

Torna-se agora necessário redefinir a concentração total ( $C_0$ ):

$$C_0 = [AH^+] + [B] + [Cc] + [Ct] \quad (A.14)$$

Usando as equações em A.2, podemos expressar a concentração total apenas em função de  $[AH^+]$

$$C_0 = [AH^+](1 + \frac{K_h}{[H^+]} + \frac{K_h K_t}{[H^+]} + \frac{K_h K_t K_i}{[H^+]}) \quad (A.15)$$

E aplicando a constante de acidez aparente definida em A.13, vem que:

$$C_0 = [AH^+](1 + \frac{K'_a}{[H^+]}) \quad (A.16)$$

O que resulta na mesma expressão para a fracção molar de  $AH^+$  obtida anteriormente, em A.10:

$$\chi_{AH^+} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K'_a} \quad (A.17)$$

Fazendo o mesmo procedimento (desde A.15) para  $B$ ,  $Cc$  e  $Ct$ , obtemos as expressões para determinar as fracções molares de cada uma destas espécies:

$$\chi_B = \frac{K_h}{[H^+] + K'_a} \quad \chi_{Cc} = \frac{K_h K_t}{[H^+] + K'_a} \quad \chi_{Ct} = \frac{K_h K_t K_i}{[H^+] + K'_a} \quad (A.18)$$

Como curiosidade, se fizermos a soma das fracções molares individuais de  $B$ ,  $Cc$  e  $Ct$ , vamos obter a mesma expressão definida em A.10 para  $\chi_{BC}$ :

$$\chi_{BC} = \chi_B + \chi_{Cc} + \chi_{Ct} = \frac{K_h + K_h K_t + K_h K_t K_i}{[H^+] + K'_a} = \frac{K'_a}{[H^+] + K'_a} \quad (A.19)$$

Adicionalmente, na figura A.3 podemos ver uma simulação da distribuição das frações molares das várias espécies, de acordo com a aplicação das equações em A.17 e A.18.

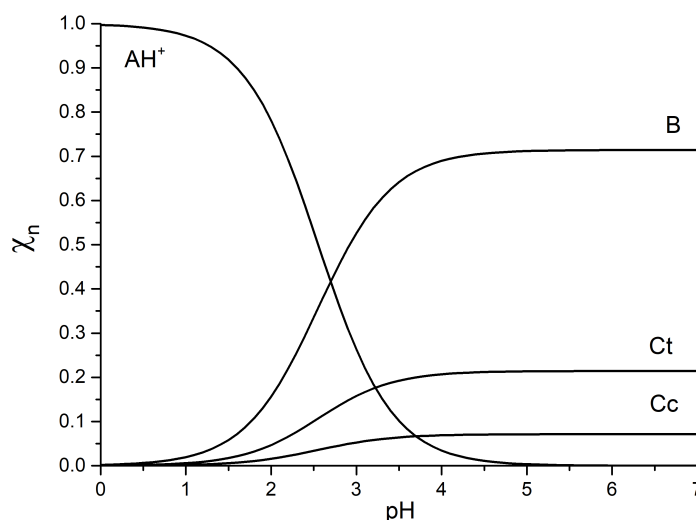


Figura A.3: Simulação da distribuição de espécies do multiestado no equilíbrio usando  $K_h = 2 \times 10^{-3}$ ,  $K_t = 0,1$ ,  $K_i = 3$  |  $pK'_a = 2,55$ .

## A.2 AJUSTE A DADOS EXPERIMENTAIS

Frequentemente a determinação do  $pK'_a$  de um flavílio é feita utilizando várias soluções equilibradas a diferentes pHs cujas absorvâncias são medidas pelo menos aos comprimentos de onda máximos de absorção do catião flavílio e da chalcona-*trans* (Ct).

Como sabemos, a absorvância é aditiva pelo que a absorvância observada a um dado comprimento de onda é a soma das absorvâncias a esse mesmo comprimento de onda das várias espécies presentes:

$$A_{obs} = A_1 + A_2 + A_3 + (\dots) \quad (\text{A.20})$$

Para determinar por ajuste os valores de  $pK'_a$  e  $pK'_{Ct}$ , podemos considerar também o valor máximo que a absorvância de cada espécie tomaria a um dado comprimento de onda ( $\lambda$ ) se o equilíbrio estivesse completamente deslocado para essa espécie ( $\chi_n = 1$ ). No entanto como esse nem sempre é o caso, é necessário “ponderar” esse valor máximo pela respectiva fração (molar), calculada através das expressões deduzidas em A.9/A.10, de acordo com a equação A.21 que considera as três espécies geralmente observadas: o catião flavílio, a chalcona *trans* e a chalcona *trans* ionizada.

$$A_{obs}^\lambda = A_{AH^+}^\lambda \chi_{AH^+} + A_{Ct}^\lambda \chi_{Ct} + A_{Ct^-}^\lambda \chi_{Ct^-} \quad (\text{A.21})$$



## MODELOS DE INTERAÇÃO RECEPTOR-LIGANDO

### B.1 COMPLEXOS 1:1

Quando se lida com a Química da formação de complexos, é muito frequente titular o receptor com o ligando e vice-versa a fim de obter a(s) constante(s) de associação.

O sistema Receptor-Ligando mais simples de analisar é aquele em que um receptor (R) “recebe” apenas um ligando (L) que por sua vez não se liga a mais nenhum receptor, ou seja:



em que:

$$K_{11} = \frac{[RL]}{[R][L]} \quad (B.2)$$

A dificuldade neste sistema é a determinação das concentrações de receptor e ligando livres ( $[R]$  e  $[L]$ ). No entanto através de uma simples dedução e sabendo as concentrações totais ( $[R]_0$  e  $[L]_0$ ), isso torna-se bastante fácil. Começamos por analisar os balanços de massas quer do receptor quer do ligando.

$$[R]_0 = [R] + [RL] \quad (B.3) \qquad [L]_0 = [L] + [RL] \quad (B.4)$$

Sendo que podemos substituir o termo  $[RL]$  usando a equação B.2.

$$[R]_0 = [R] + K_{11}[R][L] \quad (\text{B.5})$$

$$[L]_0 = [L] + K_{11}[R][L] \quad (\text{B.6})$$

Se agora isolarmos o termo  $[R]$  na equação B.5,

$$[R] = \frac{[R]_0}{1 + K_{11}[L]} \quad (\text{B.7})$$

e se incluirmos esta expressão na equação B.6, vem que:

$$[L]_0 = [L] + \frac{K_{11}[R]_0[L]}{1 + K_{11}[L]} \quad (\text{B.8})$$

desenvolvendo, obtém-se uma expressão de segunda ordem para determinar a concentração de ligando livre  $[L]$  que apenas depende das concentrações totais e de  $K_{11}$ . Torna-se assim bastante fácil determinar  $[L]$  usando a equação B.9.

$$[L] = \frac{-b + \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} \quad (\text{B.9})$$

em que:

$$a = K_{11} \quad b = K_{11}[R]_0 - K_{11}[L]_0 + 1 \quad c = -[L]_0$$

Uma vez encontrado  $[L]$ , podemos resolver também a equação B.7 e determinar  $[R]$ .  $[RL]$  pode ser determinado depois de serem conhecidos  $[R]$  e  $[L]$ , através da equação B.2. Temos, assim, o sistema resolvido e conhecemos as concentrações de todas as espécies em questão.

A figura B.1 exemplifica uma distribuição típica de receptores, ligandos e complexos (RL), num caso em que  $K_{11}$  seja alto ( $> 10^6$ ) e outro em que  $K_{11}$  seja mais baixo ( $< 10^4$ ).

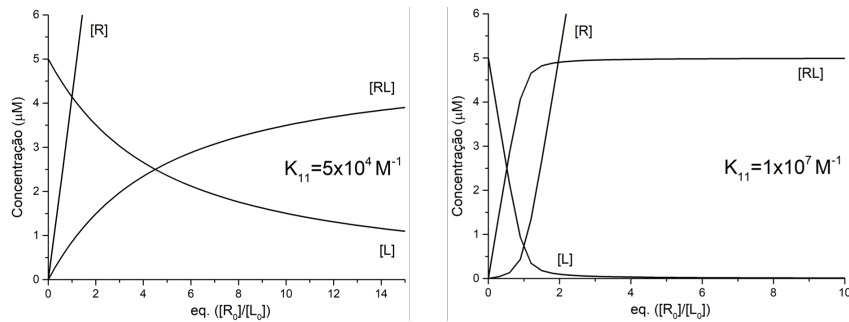


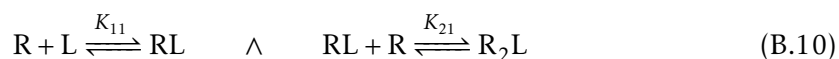
Figura B.1: Simulação da variação das concentrações de  $[R]$ ,  $[L]$  e  $[RL]$  obtidas a partir das equações B.9, B.7 e B.2 nos casos em que o  $K_{11}$  seja baixo (esq.,  $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ ) e alto (dir.,  $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) com  $[L]_0 = 5 \mu\text{M}$ .

Rapidamente vemos que quanto maior a constante, mais facilmente se formam os complexos, já que enquanto no primeiro caso, com  $K_{11}$  baixo, até aos 15 equivalentes não se chega a atingir o patamar e continua a existir ligando livre; no segundo caso, o patamar é atingido ainda antes dos 3 equivalentes.

## B.2 COMPLEXOS 2:1

Analisámos anteriormente a formação de complexos 1:1, em que apenas um ligando se liga a apenas um receptor. No entanto, é muito comum formarem-se complexos com estequiometrias diferentes devido quer às características do receptor, que pode acomodar mais que um ligando, quer às características do ligando, que pode ter mais que uma zona de ligação a receptores. Um caso muito frequente e que foi encontrado várias vezes ao longo deste trabalho, é o dos complexos 2:1, ou seja, em que um ligando é “partilhado” por dois receptores,  $R_2L$ . Matematicamente é semelhante ao caso oposto (um receptor a acolher dois ligandos,  $RL_2$ ), razão pela qual apenas um dos casos é apresentado.

Assumindo que a formação dos complexos 2:1 ocorre por um processo do tipo



e tal como anteriormente, as constantes são definidas como

$$K_{11} = \frac{[RL]}{[R][L]} \quad \wedge \quad K_{21} = \frac{[R_2L]}{[RL][L]} \quad (B.11)$$

reescrevendo e combinando, obtemos as expressões de  $[RL]$  e  $[R_2L]$  em função de  $[R]$  e  $[L]$ ,

$$[RL] = K_{11}[R][L] \quad \wedge \quad [R_2L] = K_{21}K_{11}[R]^2[L] \quad (B.12)$$

Se olharmos agora para os balanços de massas, começando pelo do ligando, podemos uma vez mais expressar a concentração de ligando livre em função da de ligando total, da de receptor livre e das constantes de associação:

$$[L]_0 = [L] + [RL] + [R_2L] \quad (B.13)$$

substituindo os termos  $[RL]$  e  $[R_2L]$  pelas equações em B.12, vem que:

$$[L] = \frac{[L]_0}{1 + K_{11}[R] + K_{21}K_{11}[R]^2} \quad (B.14)$$

Considerando agora o balanço de massas para o receptor:

$$[R]_0 = [R] + [RL] + 2[R_2L] \quad (B.15)$$

Uma vez mais, usando as equações em B.12 e substituindo a variável  $[L]$  pela equação B.14, teremos

$$[R]_0 = [R] + K_{11}[R] \frac{[L]_0}{1 + K_{11}[R] + K_{21}K_{11}[R]^2} + 2K_{21}K_{11}[R]^2 \frac{[L]_0}{1 + K_{11}[R] + K_{21}K_{11}[R]^2} \quad (B.16)$$

O desenvolvimento desta expressão resulta numa equação cúbica com a seguinte forma:

$$a[R]^3 + b[R]^2 + c[R] + d = 0 \quad (\text{B.17})$$

em que

$$a = K_{21}K_{11} \quad b = K_{11}(1 + 2K_{21}[L]_0 - K_{21}) \quad c = 1 + K_{11}([L]_0 + [R]_0) \quad d = -[R]_0$$

Em termos de cálculo, uma equação cúbica representa um desafio, já que não é tão simples encontrar as suas raízes como numa equação quadrática. Um método muito utilizado, de natureza numérica, é o método iterativo de Newton. Este baseia-se na função e na sua derivada, de acordo com a equação B.18. Uma das suas principais vantagens é que é bastante fácil de implementar em programas de cálculo.

$$[R]_{n+1} = [R]_n - \left( \frac{f([R]_n)}{f'([R]_n)} \right) \quad (\text{B.18})$$

em que “n” representa o número da iteração e a função  $f([R]_n)$  é a definida em B.17 tomando os valores de  $[R]$  para cada iteração. À partida, o palpite inicial pode tomar qualquer valor mas se for um valor “plausível” isso ajuda a que o cálculo seja resolvido em menos passos. O cálculo termina quando se obtiverem dois resultados consecutivos de igual valor (ou com diferenças dentro do erro aceitável).

Uma vez determinada  $[R]$ , é bastante fácil determinar  $[L]$ ,  $[RL]$  e  $[R_2L]$ , para tal usando as equações B.14 e B.12. Na figura B.2 podemos ver uma simulação da variação das concentrações de  $[L]$ ,  $[RL]$  e  $[R_2L]$ , à medida que aumenta a concentração de  $[R]$ .

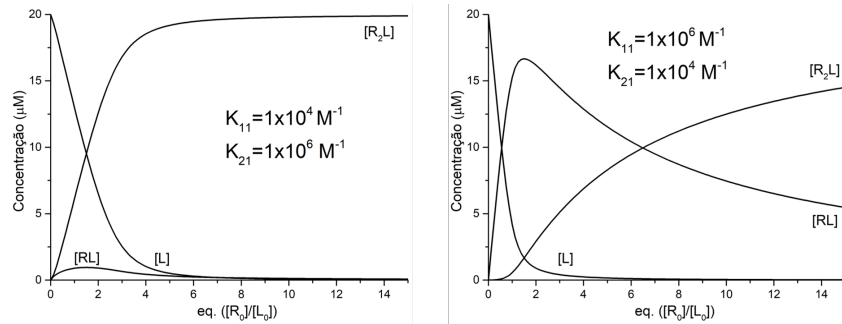


Figura B.2: Simulação da variação das concentrações de  $[L]$ ,  $[RL]$  e  $[R_2L]$  com a adição de  $[R]$  para os casos em que  $K_{21} \gg K_{11}$  (esq.) e o inverso (dir.), ambos em  $M^{-1}$ , considerando  $[L]_0 = 20 \mu M$ .

Como podemos ver, no caso em que  $K_{21}$  é superior ao  $K_{11}$ , a formação de complexos 2:1 é muito favorável já que assim que aumenta a concentração de  $R_0$ , os complexos  $R_2L$  predominam imediatamente sobre os complexos  $RL$ , que nunca se tornam muito expressivos. O mesmo já não acontece no segundo caso, em que  $K_{11}$  é maior que  $K_{21}$  e no qual chega mesmo a existir uma zona em que “quase” só existem complexos do tipo 1:1 e só a partir dos 7 equivalentes é que os complexos 2:1 se tornam maioritários.

### B.3 ENSAIOS DE DESLOCAMENTO POR PADRÃO

Quando as constantes determinadas pelos métodos descritos anteriormente, titulações Receptor-Ligando “simples”, são de ordem muito elevada (cerca de  $K \geq 10^6$ ) o modelo deixa de ter sensibilidade suficiente de modo que não é possível determinar com rigor a constante real. A título de exemplo, chega a observar-se que alterações de várias ordens de grandeza quase não têm tradução prática no ajuste. Assim, um procedimento que se torna comum são os ensaios de deslocamento por padrão, que consistem essencialmente no inverso de uma titulação já que começamos com o complexo formado e vamos adicionando um outro composto cuja afinidade para com o receptor é mais forte e bem conhecida que o nosso ligando de “teste”.

A equação B.19 mostra o que sucede no ensaio de deslocamento por padrão. A experiência inicia-se com o complexo formado, ao qual é adicionado o padrão que compete com o ligando e, por ter uma maior afinidade, acaba por deslocar o ligando do receptor e ficar ele ligado.



Analisemos então os equilíbrios estabelecidos nestes ensaios. Considerando que as complexações (quer com o ligando quer com o padrão) seguem modelos 1:1, podemos estabelecer os seguintes equilíbrios para o ligando (L) e para o padrão (P) com o receptor (R):



em que  $K_L$  e  $K_P$  correspondem às constantes de associação do tipo  $K_{11}$  para a formação de complexos com o ligando e o receptor, respectivamente. A partir destas fórmulas, podemos escrever as equações que definem as constantes de equilíbrio  $K_L$  e  $K_P$ :

$$K_L = \frac{[RL]}{[R][L]} \quad K_P = \frac{[RP]}{[R][P]} \quad (B.22)$$

Tendo em conta os balanços de massa para as espécies de ligando, padrão e receptor:

$$[L]_0 = [L] + [RL] \quad [P]_0 = [P] + [RP] \quad [R]_0 = [R] + [RL] + [RP] \quad (B.23)$$

Se na expressão de  $[R]_0$  incluirmos as equações definidas em B.22 para as constantes de associação, podemos escrever que:

$$[R]_0 = [R] + K_L[R][L] + K_P[R][P] \quad (B.24)$$

Combinando as equações de B.23 e B.22, vem que:

$$[R]_0 = [R] + \frac{K_L[R][L]_0}{1 + K_L[R]} + \frac{K_P[R][P]_0}{1 + K_P[R]} \quad (\text{B.25})$$

Desenvolvendo esta expressão, obtém-se uma equação cúbica, da forma:

$$a[R]^3 + b[R]^2 + c[R] + d = 0 \quad (\text{B.26})$$

em que

$$\begin{aligned} a &= K_L K_P & b &= K_L K_P ([L]_0 + [P]_0 - [R]_0) + K_L + K_P \\ c &= 1 + K_L ([L]_0 - [R]_0) + K_P ([P]_0 - [R]_0) & d &= -[R]_0 \end{aligned}$$

Na figura B.3 podemos ver a aplicação das equações deduzidas anteriormente numa simulação que mostra a variação das várias espécies em equilíbrio ao longo da titulação. Podemos ver que com o aumento  $[I]$ , começa imediatamente a ser consumido o receptor livre, sendo depois sacrificado o complexo RL para formar mais complexo RP. Com um largo excesso, já praticamente não existe o complexo RL inicial, estando todo o receptor ligado ao padrão e o ligando livre.

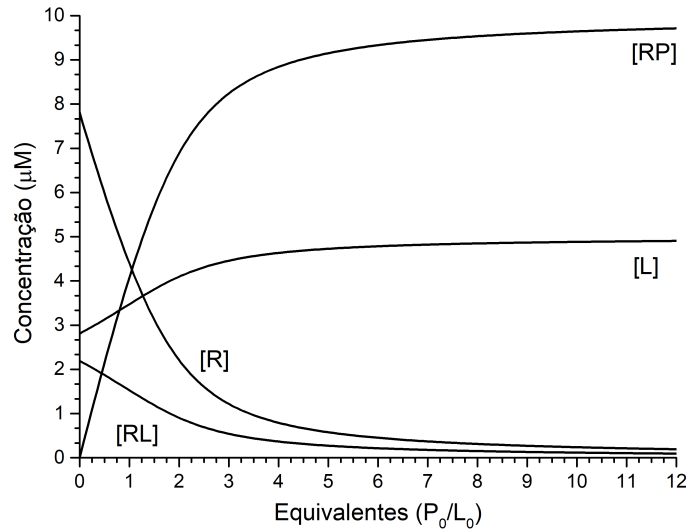


Figura B.3: Simulação da variação de concentrações das várias espécies com a adição do padrão. Neste caso considerou-se  $H_0 = 100\mu M$ ,  $G_0 = 5\mu M$ ,  $K_L = 1 \times 10^5 M^{-1}$  e  $K_I = 1 \times 10^6 M^{-1}$ .

## B.4 AJUSTE A DADOS EXPERIMENTAIS

À semelhança do caso anterior, com as espécies presentes no multiestado, o ajuste dos dados de titulações receptor-ligando tira partido das propriedades aditivas quer da absorção, quer da emissão (se não existirem outros fenómenos) e até do RMN.

Assim, o ajuste dos pontos é conseguido através de uma equação do tipo:

$$A_{obs} = \epsilon_L[L] + \epsilon_{RL}[RL] + \epsilon_{R_2L}[R_2L] \quad (B.27)$$

Na qual apenas se consideram as espécies em que o ligando está presente já que geralmente é através deste que são seguidas as experiências, neste caso para um ajuste do tipo 2:1. Uma vez que os vários valores de  $\epsilon$  não costumam ser conhecidos, estes podem ser estimados e ajustados; porém, deve ser um procedimento a adoptar com cautela.

No caso das titulações seguidas por emissão, o ajuste é um pouco diferente uma vez que não é tão directa a relação entre a intensidade emissiva e a concentração. Nesse caso, é adoptado um procedimento semelhante ao do apêndice A em que estimamos um valor máximo de intensidade a um dado  $\lambda$  para cada espécie e ponderamos para a fracção da espécie presente:

$$I_{obs}^\lambda = I_{[L]}^\lambda \chi_{[L]} + I_{[RL]}^\lambda \chi_{[RL]} + I_{[R_2L]}^\lambda \chi_{[R_2L]} \quad (B.28)$$

Sendo p.e.

$$\chi_{[L]} = \frac{[L]}{[L] + [RL] + [R_2L]} \quad (B.29)$$

Não foi considerada a concentração de receptor, uma vez que apenas são contabilizadas as espécies emissivas.

### • ENSAIOS DE DESLOCAMENTO POR PADRÃO

O ajuste aos pontos experimentais deste modelo é feito pela mesma filosofia dos modelos simples apresentados anteriormente. Ou seja, com base no pressuposto da absorvância aditiva e considerando que apenas o ligando (e o respectivo complexo) absorvem ao comprimento de onda considerado no ajuste, é utilizada a seguinte equação:

$$A_{obs} = \epsilon_L[L] + \epsilon_{RL}[RL] \quad (B.30)$$



## I.1 SUPORTE À SECÇÃO 2.2

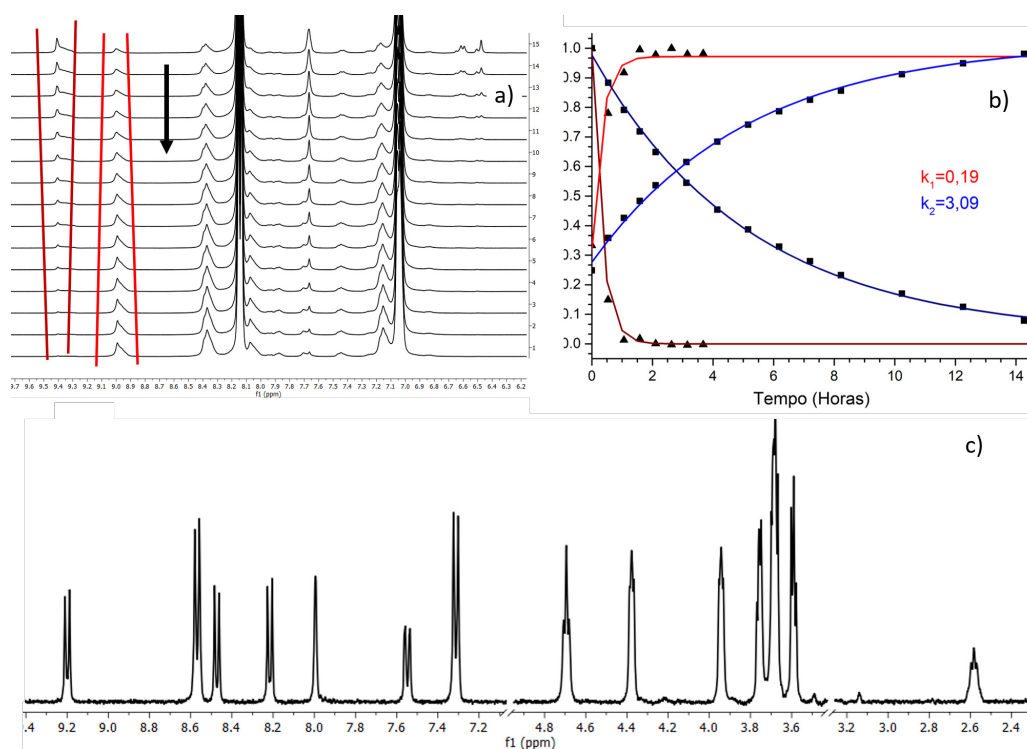


Figura I.1: a) Sequência de espectros de RMN obtidos ao longo do tempo como forma de monitorização da reacção. Nesta sequência, o tempo progride de cima para baixo, de acordo com a seta b) Gráfico que relaciona o valor dos integrais dos sinais a 9,40 (cor clara) e a 8,99 (cor escura), característicos do reagente (protão do aldeído) e do produto (protão 8 do flavílio), ambos com 11 equivalentes de acetofenona, mas a vermelho para 25°C e a azul para 60°C. Na secção c), o espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto 1b, após a síntese e purificação.

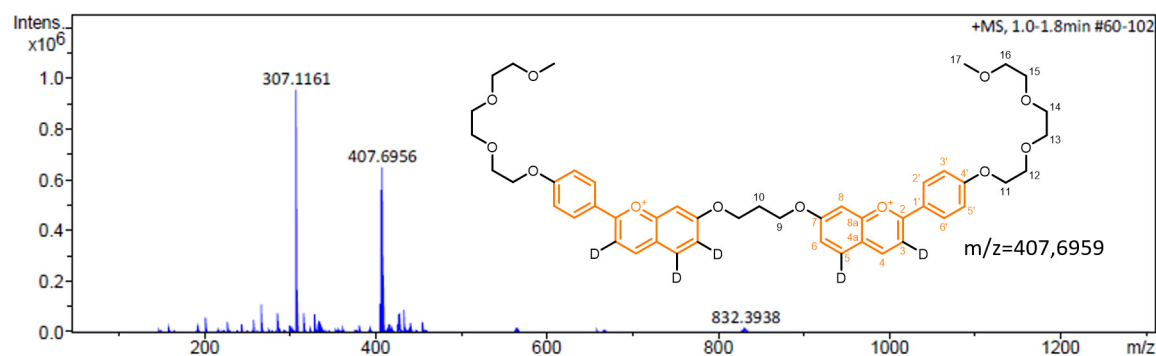


Figura I.2: Espectro de massa do composto 1a obtido após purificação. Destaca-se a estrutura atribuída ao pico a  $m/z=407,6956$ .

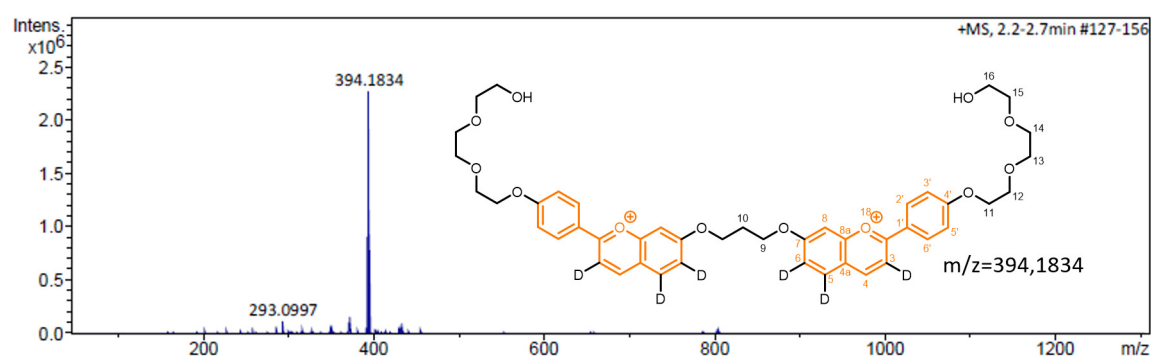


Figura I.3: Espectro de massa do composto 1b obtido após purificação. Destaca-se a estrutura atribuída ao pico a  $m/z=394,1834$ .

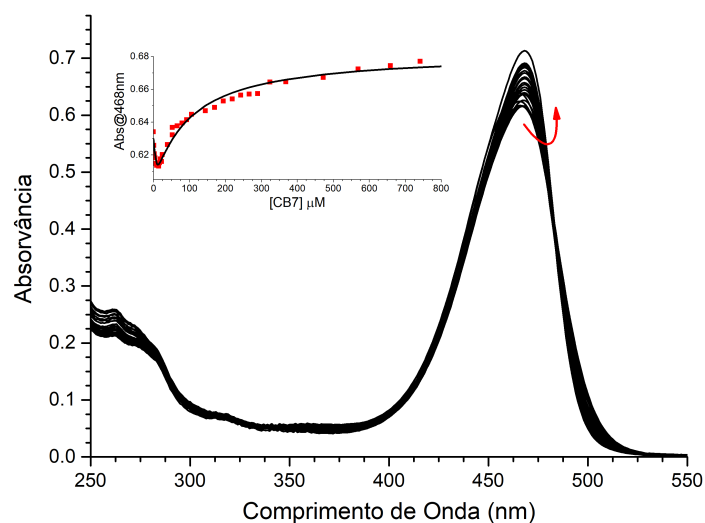


Figura I.4: Titulação do composto 1b ( $7,99 \mu\text{M}$ ) a  $pH = 1$  com CB7 seguida por absorção. Em *inset* também os ajustes aos pontos experimentais com  $K_{11} = 1 \times 10^6 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1 \times 10^4 \text{M}^{-1}$ ).

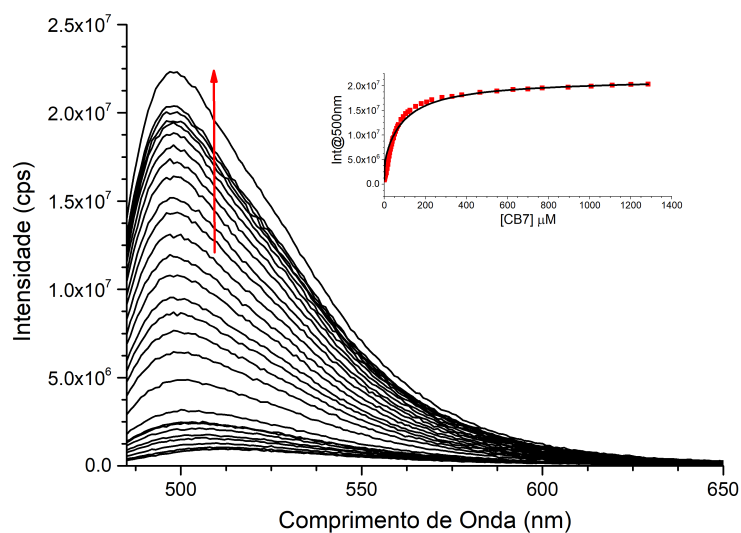


Figura I.5: Titulação do composto 1b ( $0,63\mu M$ ) a  $pH = 1$  com CB7 seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 482nm$ ). Em *inset* também os ajustes aos pontos experimentais com  $K_{11} = 1 \times 10^6 M^{-1}$ ,  $K_{21} = 1 \times 10^4 M^{-1}$ ).

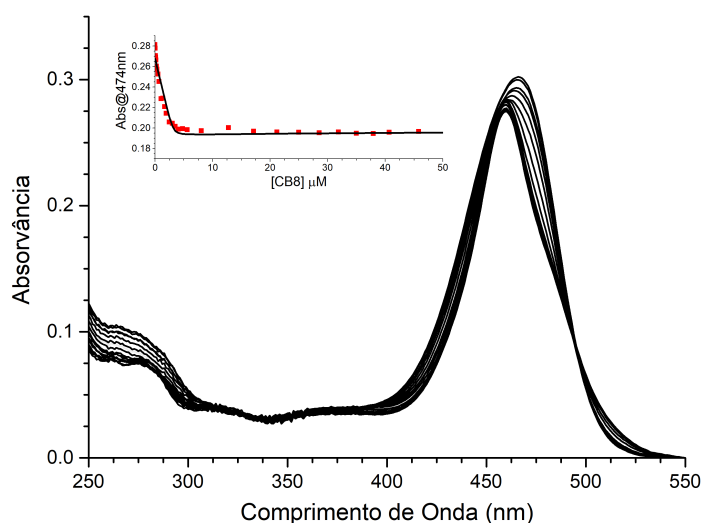


Figura I.6: Titulação do composto 1b ( $3,23\mu M$ ) a  $pH = 1$  com CB8 seguida por absorção. Em *inset* também os ajustes aos pontos experimentais com  $K_{11} = 2,93 \times 10^7 M^{-1}$ ,  $K_{21} = 3,94 \times 10^4 M^{-1}$ ).

## I.2 SUPORTE À SECÇÃO 2.3

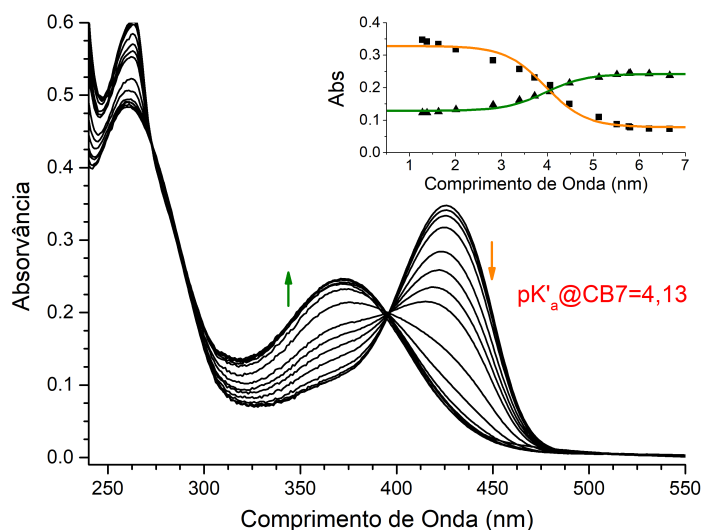


Figura I.7: Espectros de absorção de várias soluções de composto 2 ( $34\mu M$ ) complexado com 1 equivalente de CB7 equilibradas a vários valores de pH. Em inset, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar o  $pK'_a$  do complexo (4,13).

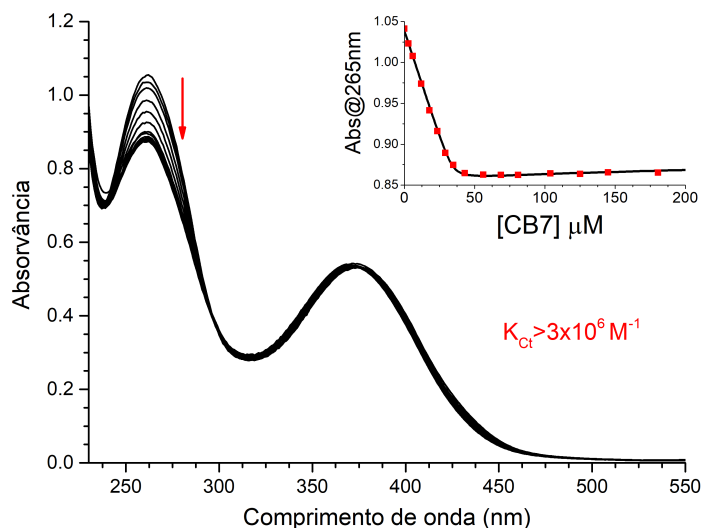
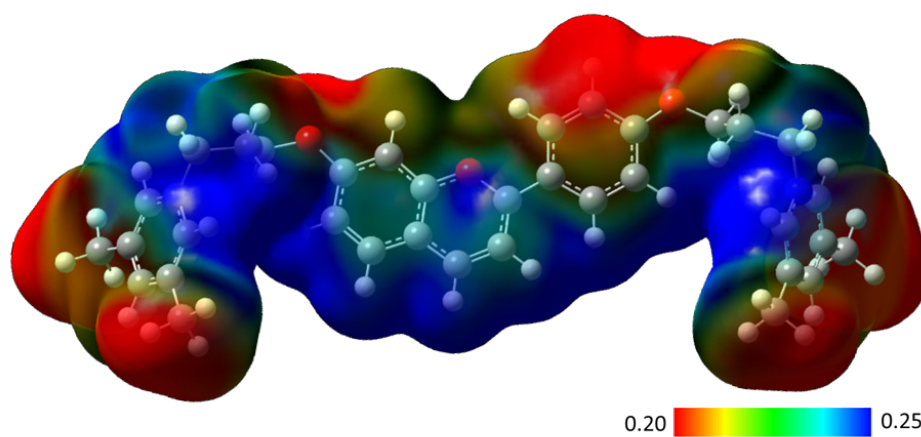


Figura I.8: Titulação do composto 2 ( $10\mu M$ ) a  $pH = 6,3$  com CB7. Em inset representa-se o ajuste aos pontos experimentais. Uma vez que é elevada, o sistema não tem sensibilidade suficiente para fazer uma determinação rigorosa pelo que se diz apenas que é superior a  $3 \times 10^6 M^{-1}$ .

## I.3 SUPORTE À SECÇÃO 2.4

## 1º Caso - Flavílio



## 2º Caso - Chalcona

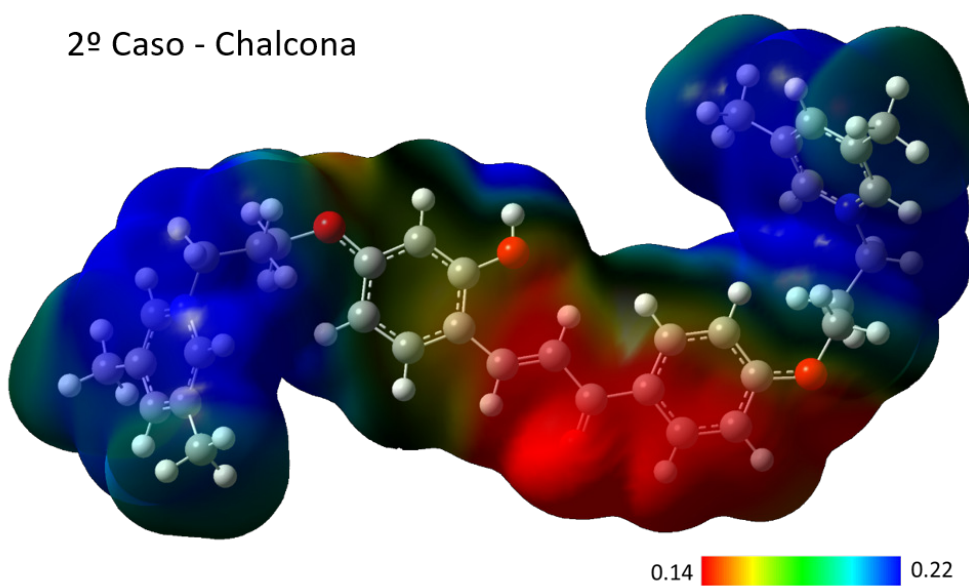


Figura I.9: Mapas de potencial electrostático para o composto 4, nas formas de flavílio e chalcona para as conformações de energia mínima.

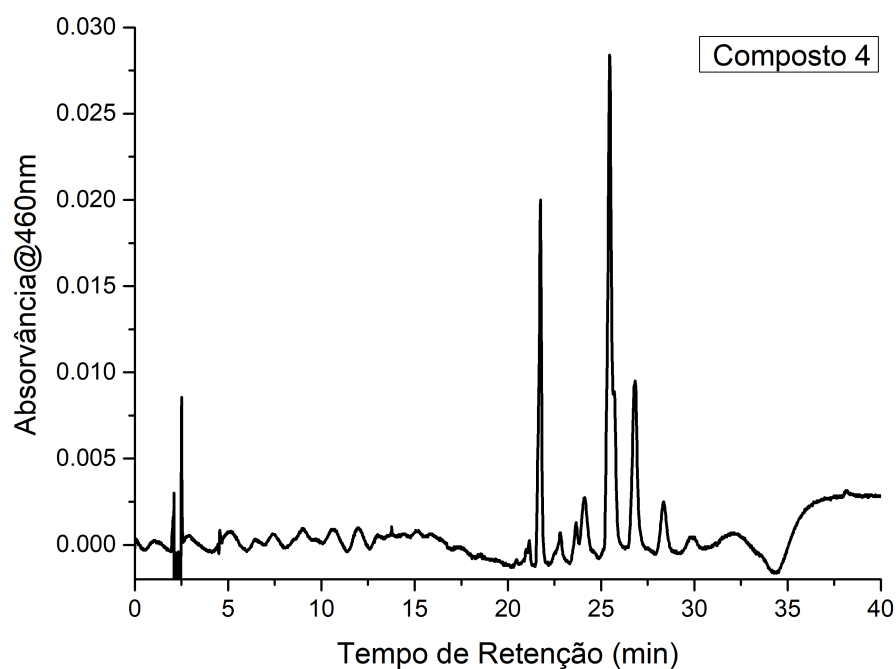


Figura I.10: Cromatograma resultante da injeção de uma solução de composto 4. O eluente usado foi uma mistura de  $H_2O$  ácida (5%  $HClO_4$ ) e metanol (gradiente 93-7% inicial para 0-100% final, respectivamente).

|   |           |           |           |   |            |           |           |
|---|-----------|-----------|-----------|---|------------|-----------|-----------|
| C | -4.354354 | 0.346667  | 0.227912  | C | -9.676813  | -0.446375 | 0.531013  |
| C | -3.342633 | 1.276373  | 0.212978  | C | -8.820686  | 0.839025  | -1.250838 |
| C | -1.977472 | 0.888357  | 0.19615   | C | -10.211018 | 0.678868  | 1.135999  |
| C | -1.703527 | -0.51003  | 0.194015  | H | -9.781781  | -1.431534 | 0.952569  |
| C | -2.693644 | -1.452097 | 0.211051  | C | -9.327535  | 2.004756  | -0.706091 |
| C | -4.03311  | -1.028593 | 0.229719  | H | -8.280143  | 0.824881  | -2.182309 |
| H | -1.078518 | 2.860031  | 0.185216  | C | -10.023841 | 1.905756  | 0.500045  |
| H | -5.379156 | 0.678501  | 0.239648  | H | -10.430963 | 2.800505  | 0.949007  |
| H | -3.580162 | 2.329594  | 0.212529  | C | -10.967531 | 0.570378  | 2.427644  |
| C | -0.893847 | 1.798474  | 0.183513  | H | -10.524175 | 1.210735  | 3.188952  |
| H | -2.462708 | -2.504352 | 0.211941  | H | -12.002242 | 0.884582  | 2.294914  |
| C | 0.679145  | -0.061837 | 0.166233  | H | -10.971372 | -0.449096 | 2.804499  |
| C | 0.405833  | 1.308497  | 0.170619  | C | -9.137612  | 3.323608  | -1.396543 |
| H | 1.230919  | 2.001046  | 0.162393  | H | -10.09875  | 3.752441  | -1.678057 |
| C | 1.949053  | -0.696063 | 0.150711  | H | -8.640318  | 4.034795  | -0.738427 |
| C | 3.16419   | 0.054534  | 0.159479  | H | -8.537974  | 3.220939  | -2.297252 |
| C | 2.044269  | -2.121559 | 0.12612   | C | 7.392695   | -1.748189 | -1.24732  |
| C | 4.385895  | -0.567804 | 0.14721   | H | 6.733003   | -1.013693 | -1.709338 |
| H | 3.135926  | 1.132199  | 0.176153  | H | 7.327403   | -2.652201 | -1.851571 |
| C | 3.263392  | -2.74067  | 0.112368  | C | 8.840588   | -1.268178 | -1.307849 |
| H | 1.138891  | -2.704294 | 0.119057  | H | 9.1556     | -1.152807 | -2.340441 |
| C | 4.450197  | -1.976669 | 0.125582  | H | 9.512869   | -1.97619  | -0.833365 |
| H | 5.281153  | 0.031416  | 0.154962  | N | 9.0412     | 0.050138  | -0.63236  |
| H | 3.350408  | -3.815518 | 0.095247  | C | 8.539014   | 1.162388  | -1.216375 |
| O | -0.39374  | -0.966006 | 0.174499  | C | 9.717821   | 0.113751  | 0.53594   |
| O | -4.946178 | -2.031499 | 0.253545  | C | 8.693136   | 2.405075  | -0.629748 |
| O | 5.598092  | -2.693982 | 0.120171  | H | 8.026526   | 1.026107  | -2.153849 |
| C | -6.391278 | -1.790556 | 0.263758  | C | 9.908497   | 1.323315  | 1.182568  |
| H | -6.796872 | -2.680899 | 0.732609  | H | 10.095745  | -0.815144 | 0.927606  |
| H | -6.613944 | -0.93194  | 0.893922  | C | 9.384665   | 2.467555  | 0.581707  |
| C | 6.926071  | -2.07457  | 0.163691  | H | 9.520885   | 3.425862  | 1.062475  |
| H | 7.550423  | -2.836705 | 0.617767  | C | 8.138221   | 3.637867  | -1.280902 |
| H | 6.89924   | -1.206621 | 0.819254  | H | 7.422174   | 4.130711  | -0.624401 |
| C | -6.898397 | -1.639221 | -1.162943 | H | 8.933308   | 4.350987  | -1.494839 |
| H | -6.453881 | -0.763938 | -1.636878 | H | 7.634129   | 3.404493  | -2.21517  |
| H | -6.573344 | -2.50575  | -1.737646 | C | 10.650202  | 1.388843  | 2.485677  |
| C | -8.419992 | -1.57867  | -1.262592 | H | 11.465473  | 2.108434  | 2.430159  |
| H | -8.728987 | -1.580351 | -2.303235 | H | 9.985885   | 1.705002  | 3.289558  |
| H | -8.882076 | -2.432784 | -0.777646 | H | 11.069382  | 0.423267  | 2.756625  |
| N | -8.994761 | -0.3514   | -0.632119 |   |            |           |           |

Tabela I.1: Matriz de coordenadas dos átomos do composto 3 (na forma de flavílio), otimizada pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água

|   |           |           |           |   |            |           |           |
|---|-----------|-----------|-----------|---|------------|-----------|-----------|
| C | 4.298043  | -0.211266 | -0.16483  | H | 10.342943  | 2.182844  | -0.79443  |
| C | 3.30441   | 0.75396   | -0.071303 | C | 10.785706  | 0.018181  | -2.410483 |
| C | 1.934058  | 0.447018  | -0.088008 | H | 10.33846   | 0.708667  | -3.130752 |
| C | 1.591958  | -0.919173 | -0.205159 | H | 11.833442  | 0.305915  | -2.284828 |
| C | 2.568357  | -1.899625 | -0.302042 | H | 10.758891  | -0.984788 | -2.839169 |
| C | 3.918552  | -1.550275 | -0.283353 | C | 9.107671   | 2.598231  | 1.610433  |
| H | 5.336017  | 0.089035  | -0.143831 | H | 10.089102  | 3.024883  | 1.835306  |
| H | 3.594066  | 1.794979  | 0.020026  | H | 8.552169   | 3.338856  | 1.028092  |
| H | 2.302751  | -2.945702 | -0.395782 | H | 8.580624   | 2.443223  | 2.553046  |
| C | -2.598526 | 2.748624  | 0.107275  | C | -7.855466  | 1.289884  | -1.284262 |
| C | -3.349591 | 1.568673  | 0.125726  | H | -6.903569  | 0.939061  | -1.696086 |
| C | -3.285496 | 3.974988  | 0.093684  | H | -8.190677  | 2.111109  | -1.924946 |
| C | -4.742251 | 1.598979  | 0.127419  | C | -8.909151  | 0.187596  | -1.377908 |
| H | -2.86469  | 0.601744  | 0.145442  | H | -9.082297  | -0.086617 | -2.418709 |
| C | -4.6666   | 4.019975  | 0.092389  | H | -9.860182  | 0.509611  | -0.95335  |
| H | -2.705235 | 4.888833  | 0.08286   | N | -8.50801   | -1.059584 | -0.655008 |
| C | -5.401897 | 2.828349  | 0.109457  | C | -7.557375  | -1.852857 | -1.203045 |
| H | -5.286919 | 0.66509   | 0.141929  | C | -9.092497  | -1.372699 | 0.524303  |
| H | -5.202674 | 4.960498  | 0.079832  | C | -7.141902  | -3.011718 | -0.565895 |
| O | 4.794752  | -2.611177 | -0.397738 | H | -7.151064  | -1.537296 | -2.153348 |
| O | -6.774148 | 2.984477  | 0.115626  | C | -8.726622  | -2.516116 | 1.220368  |
| C | 6.232444  | -2.398494 | -0.364148 | H | -9.852114  | -0.695202 | 0.886383  |
| H | 6.645478  | -3.279419 | -0.857306 | C | -7.740087  | -3.330638 | 0.657919  |
| H | 6.493653  | -1.518513 | -0.959138 | H | -7.433728  | -4.230957 | 1.178785  |
| C | -7.660313 | 1.832494  | 0.127754  | C | -6.092218  | -3.892352 | -1.181013 |
| H | -8.599306 | 2.22023   | 0.525204  | H | -5.262052  | -4.047287 | -0.486623 |
| H | -7.28173  | 1.07647   | 0.822169  | H | -6.507143  | -4.875147 | -1.422925 |
| C | 6.724806  | -2.304175 | 1.076312  | H | -5.692108  | -3.458748 | -2.098808 |
| H | 6.283754  | -1.435321 | 1.575537  | C | -9.378582  | -2.856877 | 2.529935  |
| H | 6.375108  | -3.188812 | 1.617104  | H | -9.891921  | -3.820514 | 2.466863  |
| C | 8.246748  | -2.27123  | 1.205278  | H | -8.631883  | -2.932854 | 3.325188  |
| H | 8.541488  | -2.32039  | 2.253571  | H | -10.109837 | -2.101547 | 2.821971  |
| H | 8.70775   | -3.112482 | 0.687458  | O | 0.254628   | -1.252427 | -0.22083  |
| N | 8.84979   | -1.025087 | 0.637953  | H | 0.105746   | -2.212896 | -0.298623 |
| C | 9.505189  | -1.070523 | -0.544806 | C | -1.113965  | 2.778077  | 0.106405  |
| C | 8.721211  | 0.132326  | 1.328774  | C | -0.362111  | 1.522373  | 0.003487  |
| C | 10.058864 | 0.075734  | -1.097363 | H | -0.88905   | 0.587888  | -0.091654 |
| H | 9.576297  | -2.035129 | -1.026178 | C | 0.986674   | 1.545191  | 0.013324  |
| C | 9.249854  | 1.31688   | 0.8399    | H | 1.445811   | 2.527967  | 0.106458  |
| H | 8.196154  | 0.078002  | 2.271846  | O | -0.521289  | 3.885572  | 0.185187  |
| C | 9.919187  | 1.271463  | -0.387715 |   |            |           |           |

Tabela I.2: Matriz de coordenadas dos átomos do composto 3 (na forma de chalcona), otimizada pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água

|   |           |           |           |   |            |           |           |
|---|-----------|-----------|-----------|---|------------|-----------|-----------|
| C | 9.671805  | 0.564026  | -0.111574 | H | 14.238227  | 3.919265  | 0.57606   |
| C | 8.788569  | 1.610797  | -0.237782 | H | 14.144174  | 3.28981   | 2.226768  |
| C | 7.394315  | 1.380661  | -0.260807 | O | -0.556284  | -1.293829 | -0.214781 |
| C | 6.956471  | 0.044866  | -0.148031 | C | -1.751863  | -0.46595  | -0.349609 |
| C | 7.818824  | -1.025147 | -0.022487 | H | -1.716291  | 0.062567  | -1.307628 |
| C | 9.186355  | -0.761641 | -0.006576 | H | -1.774122  | 0.268407  | 0.461913  |
| H | 6.723878  | 3.422633  | -0.475566 | C | -2.931181  | -1.416891 | -0.277093 |
| H | 10.732523 | 0.767815  | -0.091011 | H | -2.839344  | -2.168465 | -1.066291 |
| H | 9.156422  | 2.62599   | -0.318293 | H | -2.917831  | -1.93957  | 0.6835    |
| C | 6.412624  | 2.388558  | -0.387557 | C | -4.25344   | -0.686718 | -0.431657 |
| H | 7.451204  | -2.037681 | 0.05862   | H | -4.3223    | -0.187808 | -1.405174 |
| C | 4.656114  | 0.743927  | -0.284238 | H | -4.390282  | 0.06454   | 0.354659  |
| C | 5.069684  | 2.075952  | -0.400249 | O | -5.2873    | -1.69862  | -0.326247 |
| H | 4.332571  | 2.856827  | -0.496931 | C | -6.617063  | -1.324055 | -0.437418 |
| C | 3.305155  | 0.248474  | -0.272668 | C | -7.548642  | -2.360976 | -0.328423 |
| C | 2.211279  | 1.123823  | -0.403983 | C | -7.043408  | -0.012728 | -0.648283 |
| C | 3.053534  | -1.134643 | -0.125819 | C | -8.905703  | -2.086993 | -0.427148 |
| C | 0.911296  | 0.648069  | -0.390245 | H | -7.188805  | -3.369617 | -0.168733 |
| H | 2.365286  | 2.188332  | -0.52004  | C | -8.409689  | 0.255982  | -0.748487 |
| C | 1.762661  | -1.613516 | -0.110231 | H | -6.335475  | 0.799889  | -0.739116 |
| H | 3.883546  | -1.820161 | -0.023679 | C | -9.333028  | -0.776158 | -0.64052  |
| C | 0.682787  | -0.725903 | -0.242108 | H | -9.638919  | -2.88081  | -0.350915 |
| H | 0.090569  | 1.343347  | -0.493901 | H | -8.756594  | 1.267741  | -0.921704 |
| H | 1.554822  | -2.669199 | 0.002474  | O | -10.704934 | -0.511673 | -0.785466 |
| O | 5.601296  | -0.219207 | -0.164189 | C | -11.40669  | -0.117442 | 0.430399  |
| O | 9.986154  | -1.860235 | 0.110535  | H | -11.296279 | -0.902702 | 1.186957  |
| C | 11.443465 | -1.762513 | 0.129592  | H | -10.968065 | 0.807005  | 0.823393  |
| H | 11.774328 | -2.746016 | -0.204511 | C | -12.860963 | 0.077896  | 0.039876  |
| H | 11.774318 | -1.020947 | -0.602098 | H | -13.248019 | -0.860019 | -0.370226 |
| C | 11.933526 | -1.4723   | 1.543041  | H | -12.918577 | 0.833293  | -0.749715 |
| H | 11.568291 | -0.499329 | 1.887796  | C | -13.701839 | 0.510426  | 1.240079  |
| H | 11.508944 | -2.223411 | 2.2156    | H | -13.673745 | -0.232151 | 2.038575  |
| C | 13.452899 | -1.544116 | 1.687874  | H | -13.355879 | 1.459418  | 1.651148  |
| H | 13.738645 | -1.443938 | 2.734885  | N | -15.130317 | 0.690833  | 0.853268  |
| H | 13.843264 | -2.494692 | 1.323658  | C | -15.548097 | 1.898252  | 0.408117  |
| N | 14.156804 | -0.461845 | 0.932568  | C | -15.970815 | -0.367413 | 0.918111  |
| C | 14.810855 | -0.756691 | -0.214726 | C | -16.859958 | 2.092225  | 0.002269  |
| C | 14.12127  | 0.801537  | 1.4188    | H | -14.812763 | 2.689947  | 0.390669  |
| C | 15.461337 | 0.231888  | -0.93914  | C | -17.296533 | -0.248836 | 0.529167  |
| H | 14.803016 | -1.790466 | -0.527819 | H | -15.555251 | -1.294088 | 1.286817  |
| C | 14.748136 | 1.840774  | 0.749114  | C | -17.728967 | 0.998872  | 0.0694    |
| H | 13.589864 | 0.950496  | 2.347917  | H | -18.761166 | 1.12166   | -0.23933  |
| C | 15.418797 | 1.536648  | -0.44044  | C | -17.320525 | 3.435434  | -0.487228 |
| H | 15.920161 | 2.329441  | -0.984425 | H | -16.512073 | 4.167834  | -0.466016 |
| C | 16.184997 | -0.102617 | -2.21204  | H | -17.690281 | 3.366198  | -1.514121 |
| H | 15.754941 | 0.4443    | -3.055822 | H | -18.138457 | 3.813236  | 0.132607  |
| H | 17.239795 | 0.176989  | -2.141446 | C | -18.226013 | -1.4263   | 0.605928  |
| H | 16.130403 | -1.169118 | -2.43561  | H | -18.623537 | -1.669665 | -0.383433 |
| C | 14.706994 | 3.239802  | 1.293475  | H | -17.719848 | -2.311004 | 0.995336  |
| H | 15.718136 | 3.609751  | 1.484932  | H | -19.076278 | -1.206327 | 1.257546  |

Tabela I.3: Matriz de coordenadas dos átomos do composto 4 (na forma de flavílio),  
 otimizada pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água

|   |            |           |           |   |            |           |           |
|---|------------|-----------|-----------|---|------------|-----------|-----------|
| C | 9.320796   | -0.277694 | -0.259300 | H | -12.008191 | 3.705899  | -1.599805 |
| C | 8.010268   | -0.002020 | 0.106541  | C | -13.460304 | 3.048583  | -0.191754 |
| C | 6.947612   | -0.890529 | -0.124390 | H | -14.241068 | 3.658196  | -0.647199 |
| C | 7.268472   | -2.110975 | -0.760231 | H | -13.073924 | 3.589273  | 0.672267  |
| C | 8.570781   | -2.405857 | -1.136157 | N | -14.116882 | 1.807950  | 0.326743  |
| C | 9.596350   | -1.493016 | -0.890003 | C | -14.939367 | 1.115212  | -0.495726 |
| H | 10.095228  | 0.445939  | -0.049891 | C | -13.878013 | 1.397313  | 1.593254  |
| H | 7.791320   | 0.940949  | 0.595268  | C | -15.561638 | -0.047071 | -0.067716 |
| H | 8.812390   | -3.340509 | -1.627535 | H | -15.083775 | 1.517094  | -1.488414 |
| C | 1.939060   | -1.275763 | 0.676311  | C | -14.464270 | 0.241991  | 2.090741  |
| C | 1.852351   | -2.638827 | 0.348317  | H | -13.217404 | 2.011323  | 2.188087  |
| C | 0.759511   | -0.596519 | 1.004566  | C | -15.309799 | -0.475095 | 1.240087  |
| C | 0.629669   | -3.290550 | 0.351203  | H | -15.784217 | -1.380432 | 1.602024  |
| H | 2.738652   | -3.208252 | 0.101277  | C | -16.475200 | -0.811545 | -0.982410 |
| C | -0.473738  | -1.235093 | 1.004036  | H | -16.092003 | -1.821444 | -1.154218 |
| H | 0.826619   | 0.453649  | 1.259728  | H | -17.471260 | -0.907841 | -0.541646 |
| C | -0.538140  | -2.593116 | 0.677865  | H | -16.578110 | -0.318599 | -1.950287 |
| H | 0.553589   | -4.342531 | 0.107259  | C | -14.196172 | -0.207410 | 3.498664  |
| H | -1.362619  | -0.671712 | 1.252752  | H | -15.118142 | -0.203582 | 4.087187  |
| O | 10.846152  | -1.891518 | -1.321029 | H | -13.801770 | -1.227071 | 3.510833  |
| C | 12.004943  | -1.031428 | -1.145712 | H | -13.474341 | 0.442335  | 3.995841  |
| H | 12.706642  | -1.365486 | -1.911254 | O | 6.246057   | -3.003236 | -1.000666 |
| H | 11.734421  | 0.006724  | -1.359373 | H | 6.551449   | -3.816040 | -1.444470 |
| C | -11.172059 | 2.000014  | -0.616631 | C | 3.215014   | -0.518567 | 0.706766  |
| H | -10.717848 | 2.561805  | 0.208283  | C | 4.444739   | -1.148978 | 0.212248  |
| H | -11.460138 | 1.009769  | -0.245177 | H | 4.403090   | -2.130376 | -0.230164 |
| C | 12.600551  | -1.211107 | 0.246495  | C | 5.617182   | -0.487750 | 0.300964  |
| H | 11.876174  | -0.920800 | 1.014388  | H | 5.572246   | 0.499250  | 0.758221  |
| H | 12.809140  | -2.274567 | 0.397137  | O | 3.222487   | 0.659823  | 1.149463  |
| C | 13.914496  | -0.458866 | 0.451929  | O | -1.697214  | -3.340550 | 0.661107  |
| H | 14.357237  | -0.719408 | 1.413173  | C | -2.983421  | -2.728526 | 0.964606  |
| H | 14.638586  | -0.700161 | -0.326666 | H | -3.613898  | -3.568561 | 1.258091  |
| N | 13.735487  | 1.026434  | 0.439416  | H | -2.885513  | -2.060036 | 1.825711  |
| C | 14.117216  | 1.743422  | -0.642598 | C | -3.554838  | -2.016115 | -0.254617 |
| C | 13.184284  | 1.623974  | 1.522310  | H | -2.880088  | -1.219660 | -0.583092 |
| C | 13.946000  | 3.119919  | -0.682104 | H | -3.643088  | -2.731631 | -1.077291 |
| H | 14.559590  | 1.193679  | -1.460740 | C | -4.918919  | -1.416388 | 0.036614  |
| C | 12.984685  | 2.995304  | 1.555710  | H | -4.860627  | -0.661756 | 0.829883  |
| H | 12.918199  | 0.980330  | 2.348745  | H | -5.635820  | -2.186925 | 0.344453  |
| C | 13.372825  | 3.735570  | 0.433899  | O | -5.365954  | -0.797044 | -1.195500 |
| H | 13.229380  | 4.810329  | 0.431870  | O | -10.223504 | 1.856987  | -1.700225 |
| C | 14.366617  | 3.909350  | -1.888676 | C | -6.597764  | -0.155542 | -1.218821 |
| H | 13.505230  | 4.406179  | -2.344192 | C | -6.965314  | 0.408616  | -2.446201 |
| H | 15.085967  | 4.684930  | -1.612066 | C | -7.448428  | -0.051792 | -0.124039 |
| H | 14.828183  | 3.270967  | -2.643598 | C | -8.174839  | 1.069334  | -2.571916 |
| C | 12.379725  | 3.653445  | 2.762588  | H | -6.288429  | 0.316419  | -3.286369 |
| H | 13.084794  | 4.358852  | 3.211604  | C | -8.671934  | 0.617685  | -0.250928 |
| H | 11.482439  | 4.214649  | 2.487816  | H | -7.185222  | -0.479708 | 0.833930  |
| H | 12.103516  | 2.920489  | 3.522167  | C | -9.033288  | 1.175102  | -1.471702 |
| C | -12.357134 | 2.747907  | -1.202950 | H | -8.475705  | 1.511220  | -3.513604 |
| H | -12.757853 | 2.181476  | -2.049222 | H | -9.318874  | 0.689388  | 0.613165  |

Tabela I.4: Matriz de coordenadas dos átomos do composto 4 (na forma de chalcona), otimizada pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água

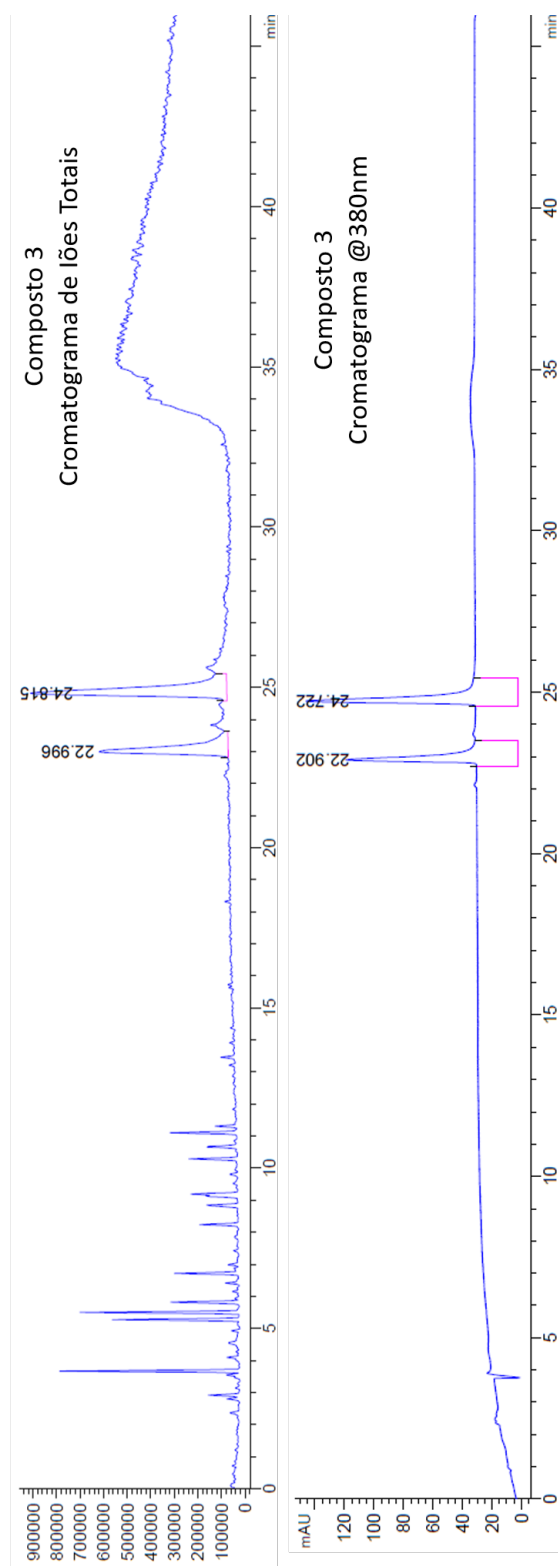


Figura I.11: Cromatograma obtido para o composto 3 através de LC-MS. À esquerda o cromatograma de iões totais, obtido através dos dados de massa. À direita o cromatograma em função da absorção a 380nm. Embora tenha seguido a 460nm, não revelou nenhum pico.

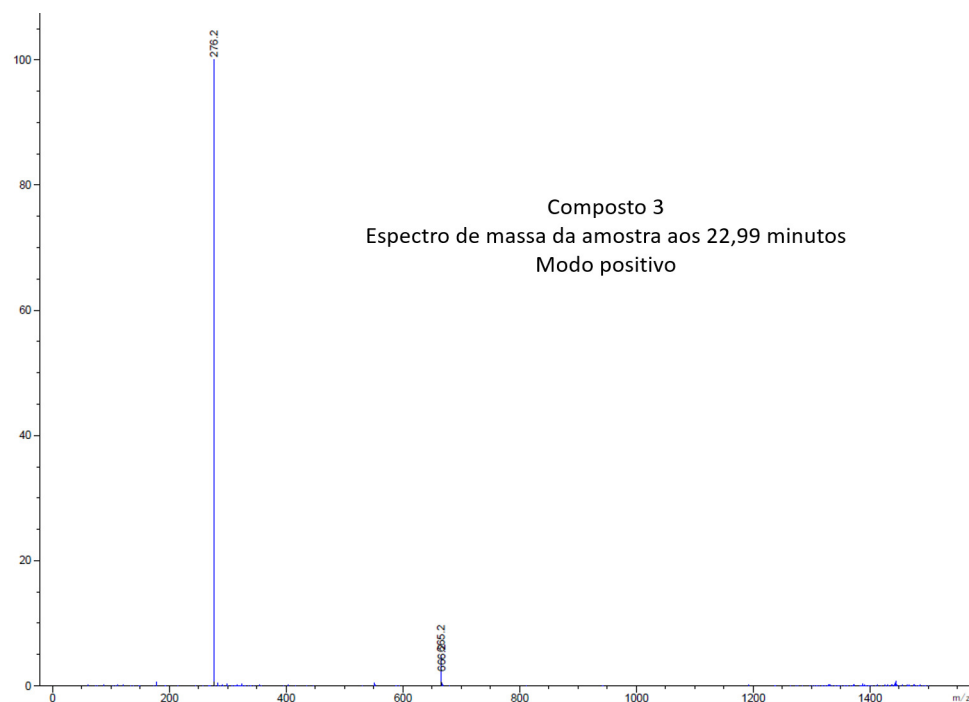
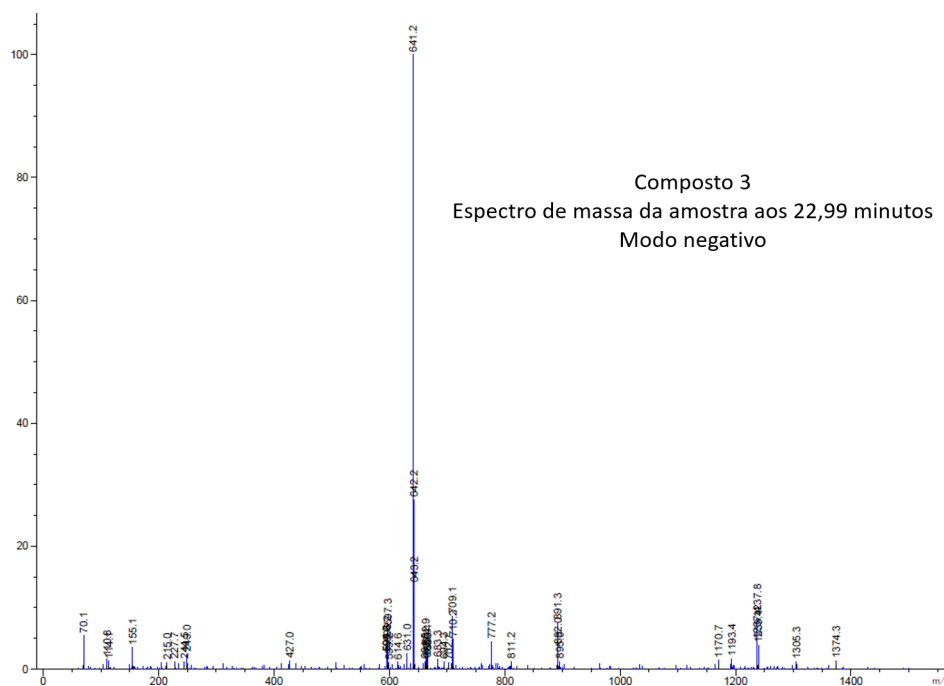


Figura I.12: Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 22,99 minutos de eluição em modo positivo.



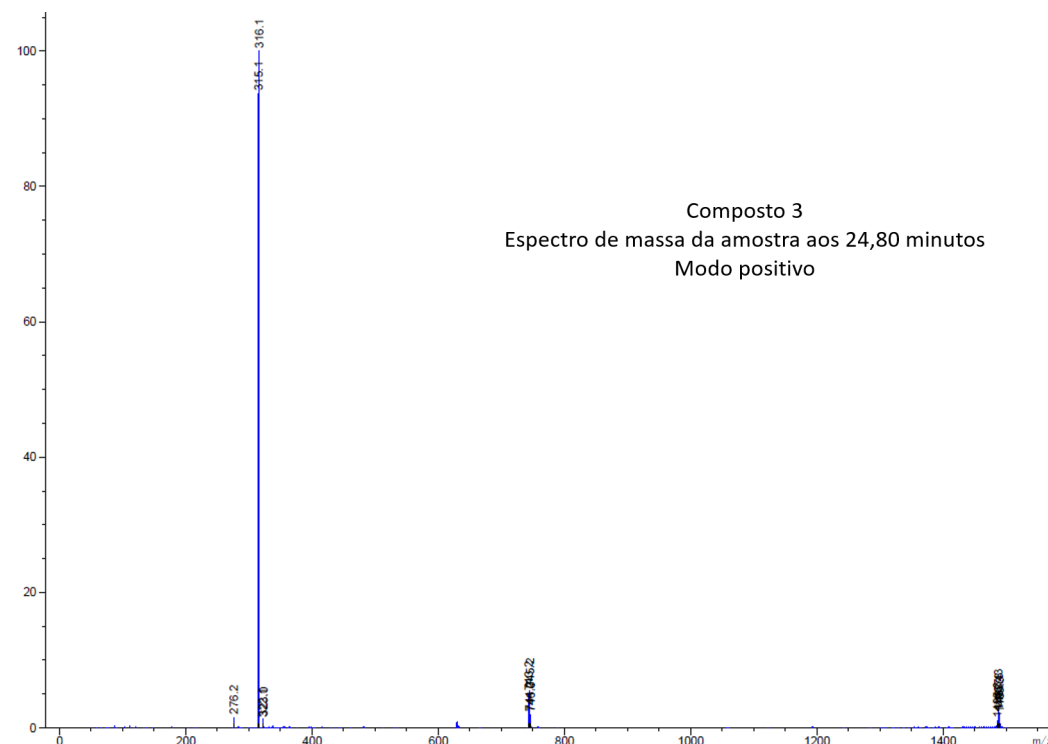


Figura I.14: Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 24,80 minutos de eluição em modo positivo.

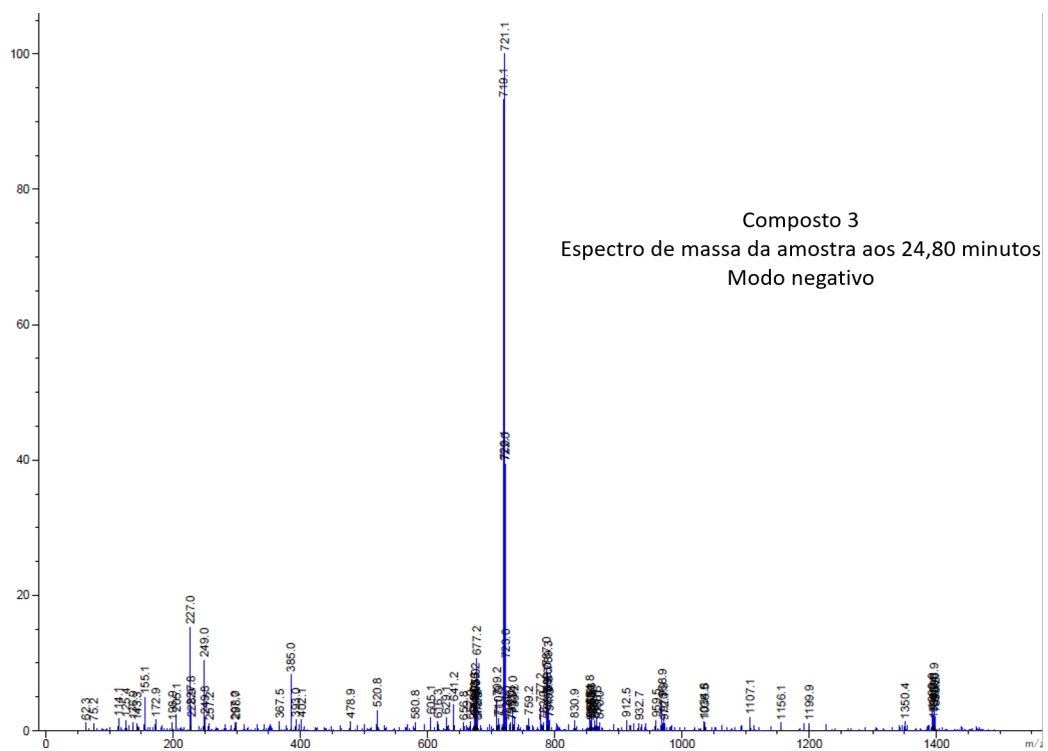


Figura I.15: Espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 24,80 minutos de eluição em modo negativo.

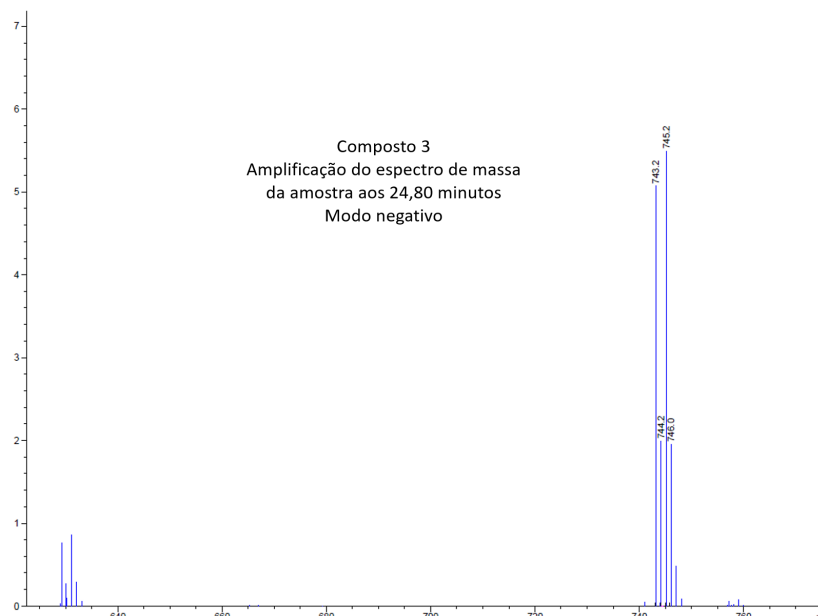


Figura I.16: Amplificação do espectro de massa do composto 3 obtido pelo analisador aos 24,80 minutos de eluição em modo negativo.

Excitation energies and oscillator strengths:

Excited State 1: Singlet-A 2.7080 eV 457.85 nm  $f=1.3975$   $\langle S^{*2} \rangle = 0.000$   
142 ->143 0.69170

This state for optimization and/or second-order correction.

Total Energy, E(TD-HF/TD-KS) = -1690.81604812

Copying the excited state density for this state as the 1-particle RhoCI density.

Excited State 2: Singlet-A 3.7768 eV 328.28 nm  $f=0.0277$   $\langle S^{*2} \rangle = 0.000$   
139 ->143 -0.20528  
140 ->143 0.10323  
141 ->143 0.65302

Excited State 3: Singlet-A 4.2905 eV 288.98 nm  $f=0.0106$   $\langle S^{*2} \rangle = 0.000$   
139 ->143 0.15020  
140 ->143 0.65065  
140 ->146 0.13127  
142 ->150 0.12012

Excited State 4: Singlet-A 4.5061 eV 275.14 nm  $f=0.1882$   $\langle S^{*2} \rangle = 0.000$   
139 ->143 0.60829  
139 ->146 -0.10222  
140 ->143 -0.12986  
141 ->143 0.21141  
141 ->146 0.13544

Excited State 5: Singlet-A 4.9918 eV 248.37 nm  $f=0.0971$   $\langle S^{*2} \rangle = 0.000$   
141 ->143 -0.10928  
142 ->146 0.66969

Figura I.17: Transições electrónicas calculadas para o composto 3 (na forma de flavílio), pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água.

|   |           |           |           |    |            |           |           |
|---|-----------|-----------|-----------|----|------------|-----------|-----------|
| C | -3.746243 | -2.305027 | -0.197196 | C  | -7.157159  | 3.014719  | 0.095722  |
| C | -2.653023 | -2.719363 | 0.523507  | C  | -8.753575  | 1.467103  | 1.743033  |
| C | -1.380534 | -2.140165 | 0.319847  | H  | -9.042495  | 0.304222  | -0.055706 |
| C | -1.280389 | -1.118856 | -0.668781 | C  | -7.295481  | 3.390988  | 1.419509  |
| C | -2.36917  | -0.690515 | -1.384014 | H  | -6.560034  | 3.573039  | -0.605391 |
| C | -3.621562 | -1.26442  | -1.149481 | C  | -8.102662  | 2.597354  | 2.237056  |
| H | -0.266446 | -3.297988 | 1.772748  | H  | -8.228972  | 2.867951  | 3.275807  |
| H | -2.751771 | -3.51555  | 1.244397  | C  | -9.625521  | 0.614525  | 2.618071  |
| C | -0.215621 | -2.526983 | 1.021946  | H  | -9.051446  | 0.199862  | 3.445818  |
| H | -2.277637 | 0.093122  | -2.117491 | H  | -10.437904 | 1.20268   | 3.042836  |
| C | 1.09108   | -0.904054 | -0.233548 | H  | -10.06213  | -0.212094 | 2.063368  |
| C | 0.992337  | -1.904317 | 0.729918  | C  | -6.605373  | 4.613843  | 1.949349  |
| H | 1.880088  | -2.200558 | 1.263276  | H  | -7.33308   | 5.341458  | 2.306908  |
| C | 2.250338  | -0.18901  | -0.642834 | H  | -5.957504  | 4.357854  | 2.786692  |
| C | 3.537256  | -0.465379 | -0.085142 | H  | -5.997314  | 5.093108  | 1.186493  |
| C | 2.154815  | 0.83328   | -1.637701 | C  | 7.268841   | 2.571081  | -0.344077 |
| C | 4.65045   | 0.219591  | -0.493756 | H  | 6.662308   | 2.258113  | 0.505653  |
| H | 3.648131  | -1.225748 | 0.671136  | H  | 6.998037   | 3.604146  | -0.559019 |
| C | 3.266233  | 1.516641  | -2.044231 | C  | 8.749009   | 2.562559  | 0.030091  |
| H | 1.192528  | 1.055939  | -2.066044 | H  | 8.93888    | 3.279962  | 0.822195  |
| C | 4.530075  | 1.217264  | -1.487179 | H  | 9.372073   | 2.83235   | -0.816945 |
| H | 5.604932  | -0.013398 | -0.052012 | N  | 9.219305   | 1.229937  | 0.516859  |
| H | 3.211959  | 2.287219  | -2.796748 | C  | 8.81881    | 0.80616   | 1.737922  |
| O | -0.068692 | -0.512164 | -0.925176 | C  | 10.035744  | 0.47822   | -0.255101 |
| O | -4.636716 | -0.811573 | -1.937125 | C  | 9.223888   | -0.419235 | 2.234035  |
| O | 5.561019  | 1.936936  | -1.977109 | H  | 8.182376   | 1.472188  | 2.295892  |
| C | -5.934976 | -0.342185 | -1.411679 | C  | 10.480624  | -0.760189 | 0.175992  |
| H | -6.684157 | -1.088553 | -1.658124 | H  | 10.320367  | 0.892569  | -1.207278 |
| H | -5.866149 | -0.240001 | -0.331102 | C  | 10.059878  | -1.197883 | 1.431325  |
| C | 6.954622  | 1.724787  | -1.568487 | H  | 10.39328   | -2.159855 | 1.79403   |
| H | 7.526137  | 2.052729  | -2.430178 | C  | 8.78071    | -0.88429  | 3.590333  |
| H | 7.128284  | 0.661788  | -1.415332 | H  | 8.225812   | -1.818621 | 3.514435  |
| C | -6.205907 | 0.978984  | -2.10511  | H  | 9.63977    | -1.063148 | 4.235694  |
| H | -5.433233 | 1.698074  | -1.835069 | H  | 8.141659   | -0.150642 | 4.075118  |
| H | -6.136267 | 0.82718   | -3.181783 | C  | 11.388434  | -1.591136 | -0.682822 |
| C | -7.592761 | 1.547753  | -1.820201 | H  | 12.341118  | -1.761507 | -0.182672 |
| H | -7.759441 | 2.44564   | -2.407383 | H  | 10.943602  | -2.564643 | -0.884209 |
| H | -8.372948 | 0.836437  | -2.072777 | H  | 11.589887  | -1.108181 | -1.635513 |
| N | -7.783172 | 1.915834  | -0.383845 | Br | -5.41026   | -3.230151 | 0.042066  |
| C | -8.570026 | 1.153514  | 0.407046  |    |            |           |           |

Tabela I.5: Matriz de coordenadas dos átomos da estrutura proposta como contaminação do composto 3 (na forma de flavílio), otimizada pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água

## Excitation energies and oscillator strengths:

Excited State 1: Singlet-A 2.7198 eV 455.86 nm  $f=1.4454$   $\langle S^2 \rangle=0.000$   
 159 ->160 0.68879

This state for optimization and/or second-order correction.

Total Energy, E(TD-HF/TD-KS) = -4264.39469110

Copying the excited state density for this state as the 1-particle RhoCI density.

Excited State 2: Singlet-A 3.7898 eV 327.15 nm  $f=0.0118$   $\langle S^2 \rangle=0.000$   
 157 ->160 -0.15464  
 158 ->160 0.66560

Excited State 3: Singlet-A 4.1989 eV 295.28 nm  $f=0.0062$   $\langle S^2 \rangle=0.000$   
 156 ->160 0.64104  
 156 ->163 0.13806  
 157 ->160 -0.20907  
 159 ->167 -0.11346

Excited State 4: Singlet-A 4.2759 eV 289.96 nm  $f=0.1924$   $\langle S^2 \rangle=0.000$   
 156 ->160 0.20625  
 157 ->160 0.61340  
 158 ->160 0.13520  
 158 ->163 -0.12049  
 159 ->163 -0.15037

Excited State 5: Singlet-A 4.9167 eV 252.17 nm  $f=0.1721$   $\langle S^2 \rangle=0.000$   
 157 ->160 0.15587  
 159 ->163 0.66276

Figura I.18: Transições electrónicas calculadas para a estrutura proposta como contaminação do composto 3 (na forma de flavílio), pelo software *Gaussian09* por TDF (CAM-B3LYP) em água.

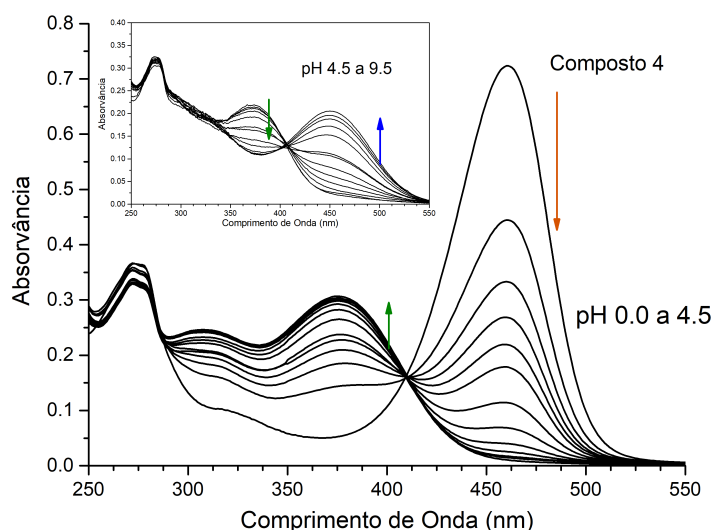


Figura I.19: Espectros resultantes dos saltos de pH efectuados para o composto 4 ( $12,8\mu M$ ), de pH muito ácido a pH neutro, para determinação do  $pK'_a$  e, em *inset*, o mesmo para pHs neutros a básicos para determinação do  $pK_{Ct}$  [ $C4$ ]= $9.04\mu M$ .

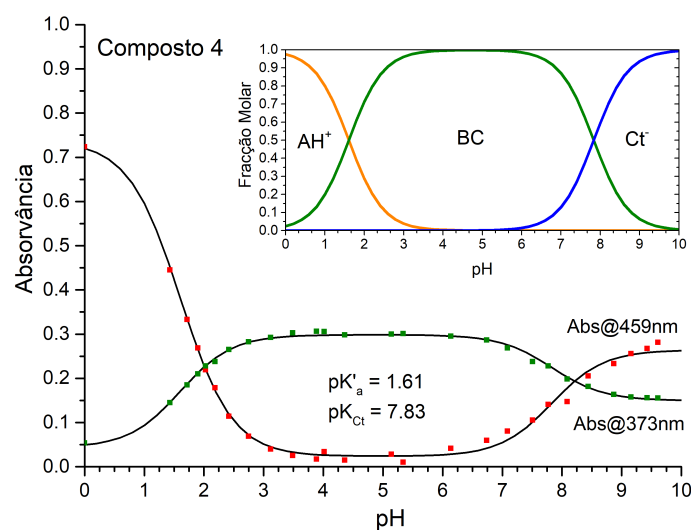


Figura I.20: Dados experimentais obtidos para o composto 4 e respectivo ajuste ao modelo teórico. Em *inset*: distribuição das fracções molares de cada espécie em função do pH, de acordo com o modelo teórico ajustado.

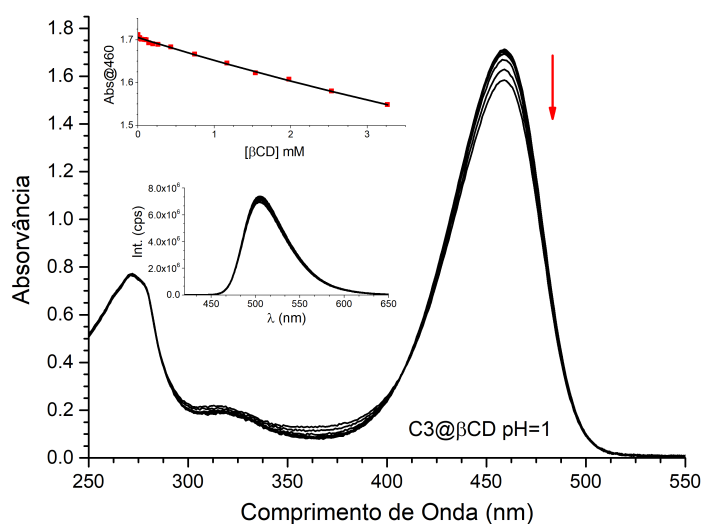


Figura I.21: Titulação do composto 3 (30 μM), a pH = 1, com βCD seguida por absorção. Em *inset*, representa-se o ajuste aos pontos experimentais ( $K_{11} = 51,4 \text{ M}^{-1}$  e a mesma titulação seguida por emissão ( $[C3] = 3 \mu\text{M}$ ,  $\lambda_{ex} = 410 \text{ nm}$ ) na qual não se verificaram mudanças significativas.

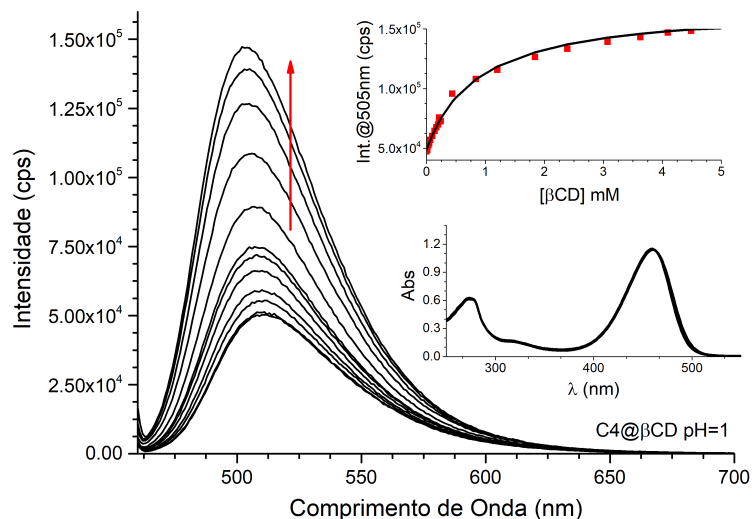


Figura I.22: Titulação do composto 4 ( $2,1\mu M$ ), a  $pH = 1$ , com  $\beta CD$  seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 450nm$ ). Em *inset*, representa-se o ajuste aos pontos experimentais ( $K_{11} = 1150M^{-1}$  e a mesma titulação seguida por absorção ( $[C4] = 11,4\mu M$ ) na qual não se verificaram mudanças significativas.

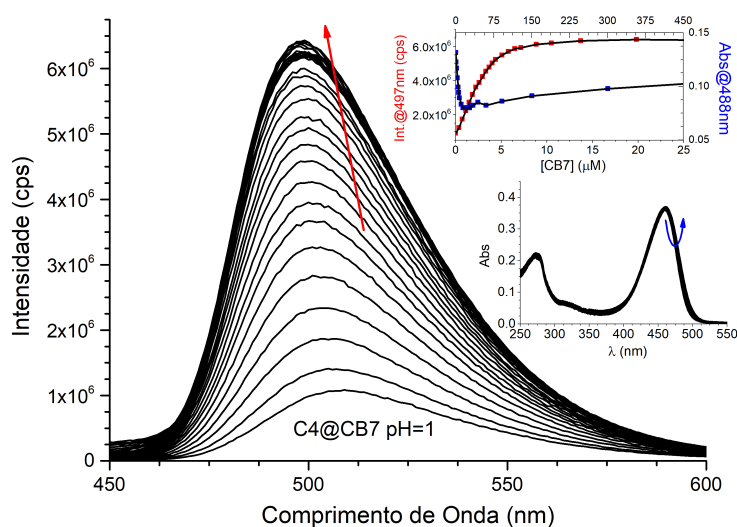


Figura I.23: Titulação do composto 4 ( $3,57\mu M$ ), a  $pH = 1$ , com  $CB7$  seguida por emissão ( $\lambda_{ex} = 415nm$ ). Em *inset*, representa-se a mesma titulação seguida por absorção ( $[C4] = 6,5\mu M$ ) e também os ajustes aos pontos experimentais de ambas: a vermelho os dados de emissão e a azul os de absorção com  $K_{11} = 2 \times 10^6 M^{-1}$ ,  $K_{21} = 2 \times 10^3 M^{-1}$ ).

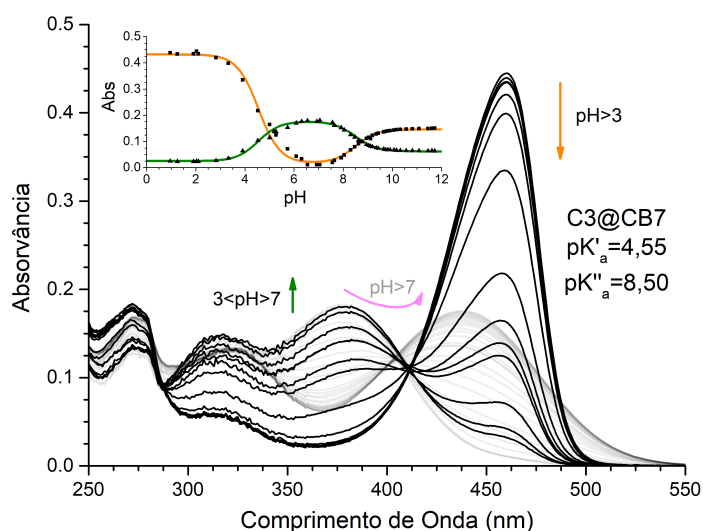


Figura I.24: Espectros de absorção de várias soluções de composto 3 ( $6\mu\text{M}$ ) complexado com CB7 (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  do complexo.

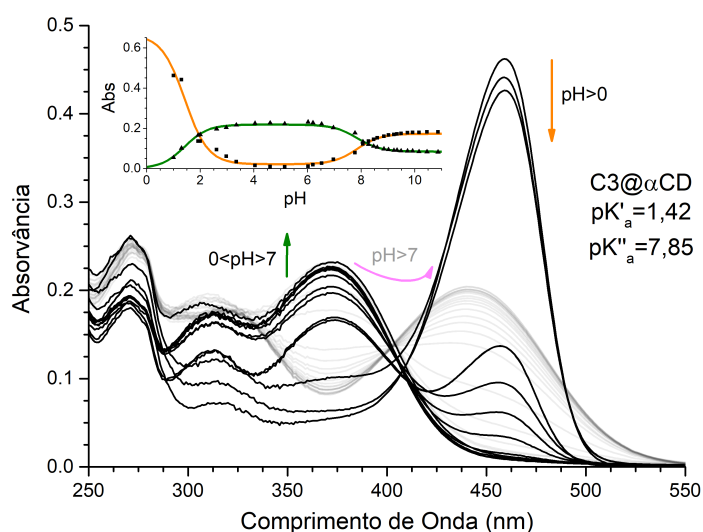


Figura I.25: Espectros de absorção de várias soluções de composto 3 ( $6\mu\text{M}$ ) complexado com  $\alpha\text{CD}$  (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  do complexo.

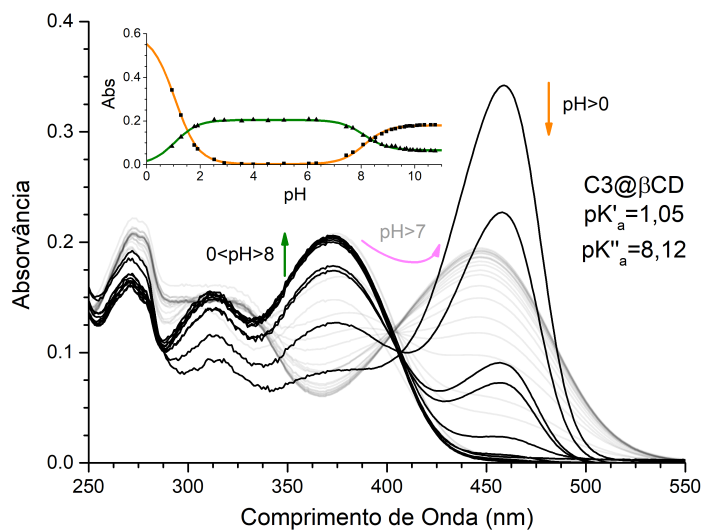


Figura I.26: Espectros de absorção de várias soluções de composto 3 ( $6\mu\text{M}$ ) complexado com  $\beta\text{CD}$  (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  do complexo.

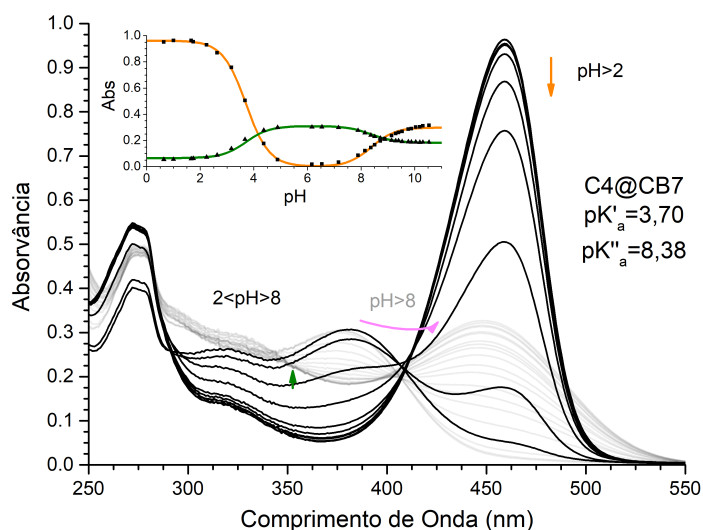


Figura I.27: Espectros de absorção de várias soluções de composto 4 ( $12\mu\text{M}$ ) complexado com CB7 (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  do complexo.

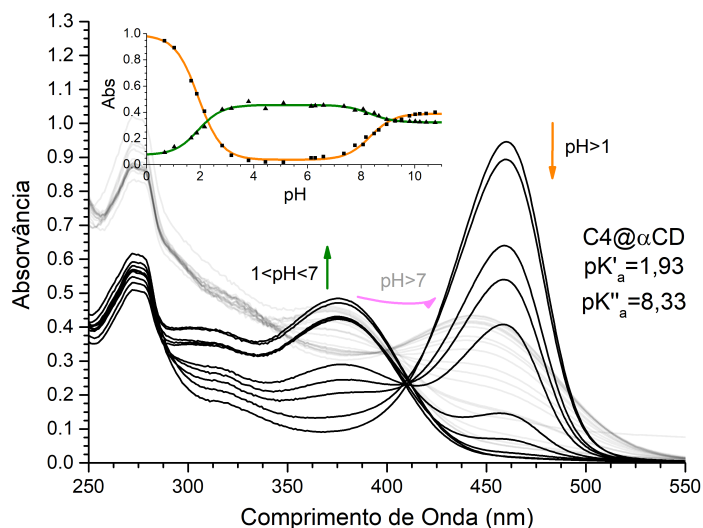


Figura I.28: Espectros de absorção de várias soluções de composto 4 ( $12\mu\text{M}$ ) complexado com  $\alpha\text{CD}$  (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  do complexo.

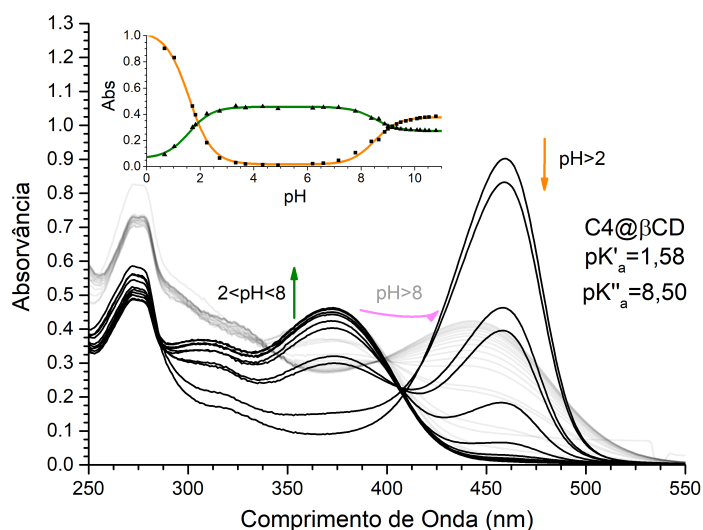


Figura I.29: Espectros de absorção de várias soluções de composto 4 ( $12\mu\text{M}$ ) complexado com  $\beta\text{CD}$  (em excesso) equilibradas a vários valores de pH. Em *inset*, o ajuste aos pontos experimentais que permite determinar os valores de  $pK'_a$  e  $pK''_a$  do complexo.

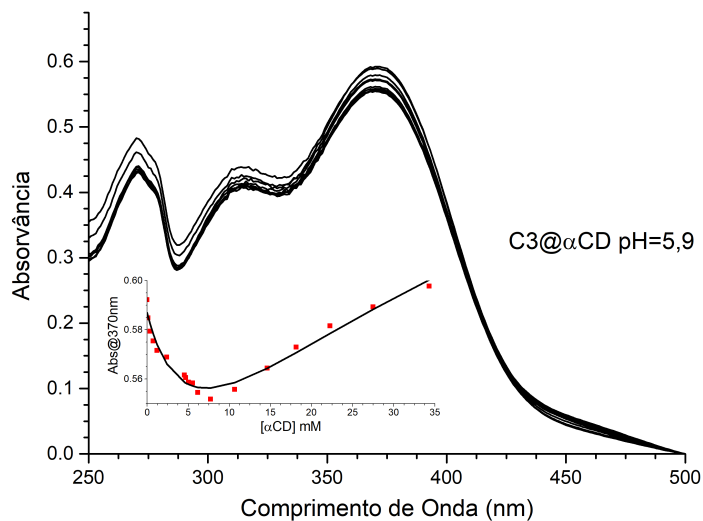


Figura I.30: Titulação do composto 3 (25, 2  $\mu\text{M}$ ) a  $\text{pH} = 5,9$  com  $\alpha\text{CD}$  seguida por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 1,62 \times 10^2 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1,70 \times 10^1 \text{M}^{-1}$ .

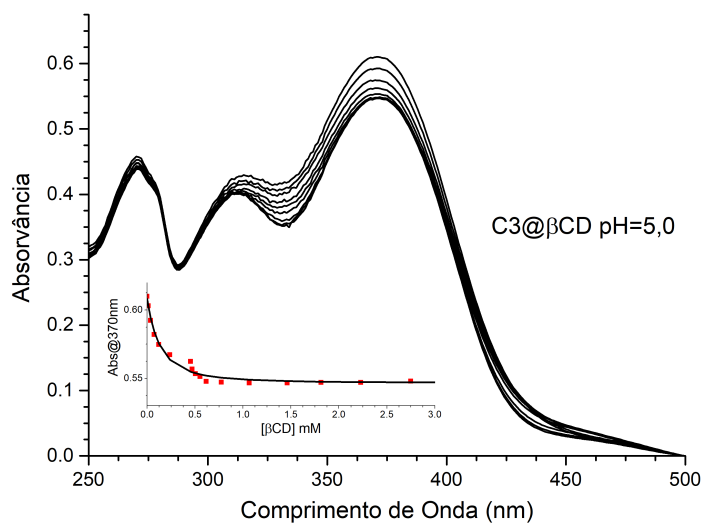


Figura I.31: Titulação do composto 3 (26, 0  $\mu\text{M}$ ) a  $\text{pH} = 5,8$  com  $\beta\text{CD}$  seguida por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 9,08 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1,41 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ .

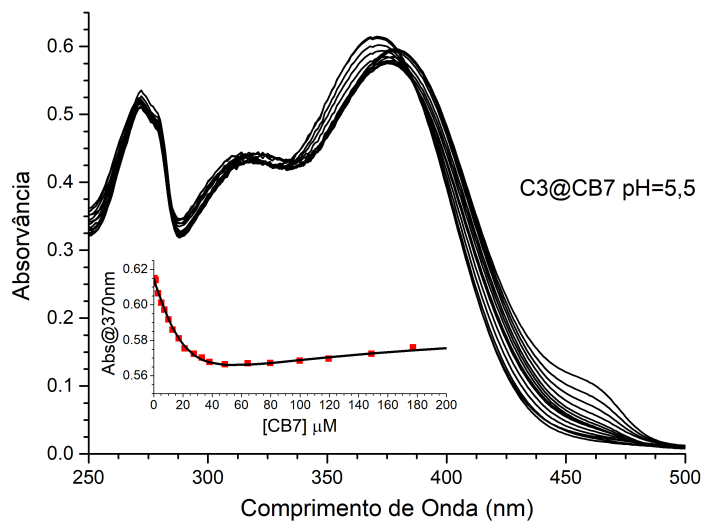


Figura I.32: Titulação do composto 3 (19,8  $\mu\text{M}$ ) a  $p\text{H} = 5,5$  com CB7 seguida por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 2,00 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 8,00 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ .

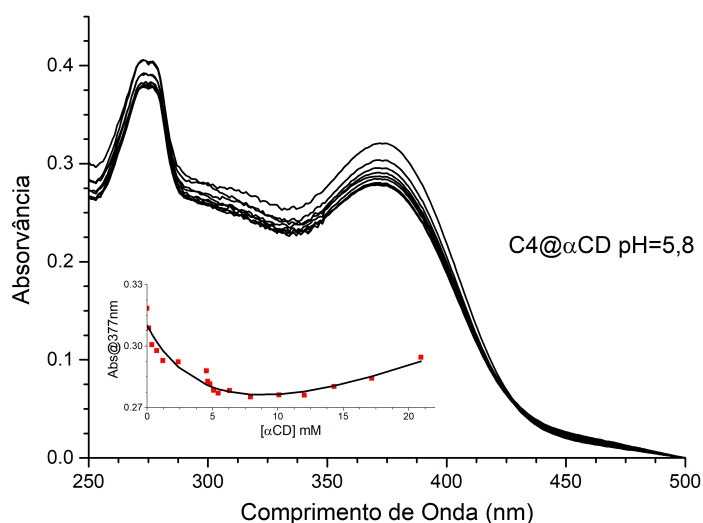


Figura I.33: Titulação do composto 4 (13,5  $\mu\text{M}$ ) a  $p\text{H} = 5,8$  com  $\alpha\text{CD}$  seguida por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 2,66 \times 10^1 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1,14 \times 10^2 \text{M}^{-1}$ .

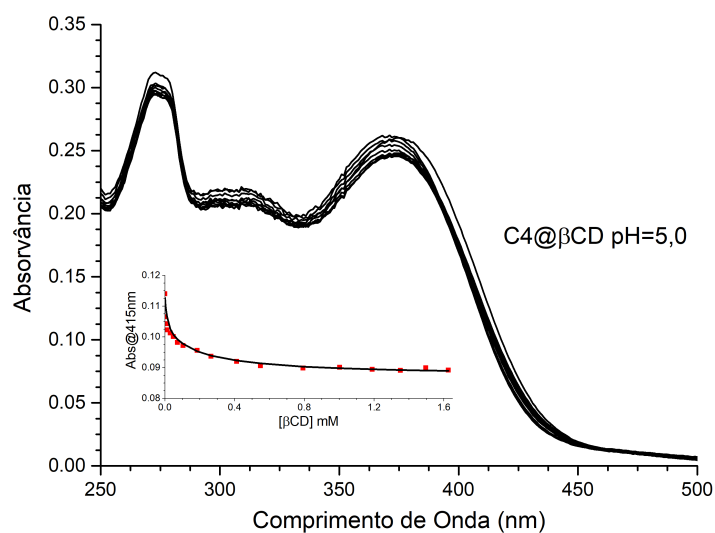


Figura I.34: Titulação do composto 4 (11,4  $\mu\text{M}$ ) a  $\text{pH} = 5,0$  com  $\beta\text{CD}$  seguida por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 2,00 \times 10^5 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 4,92 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ .

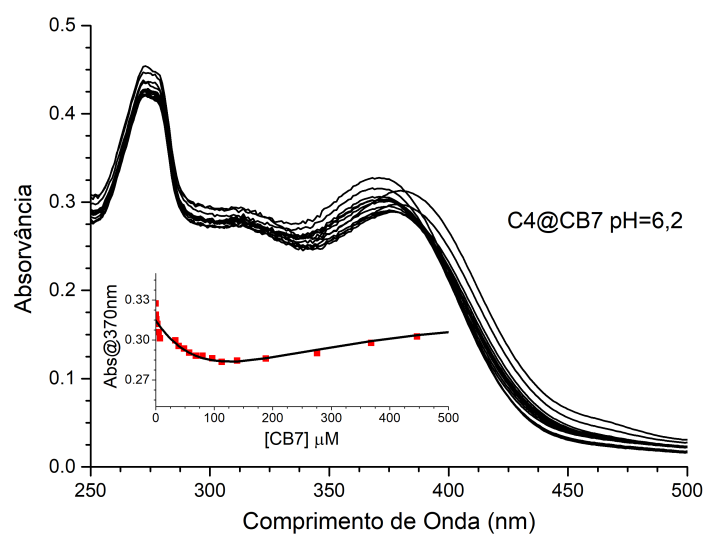
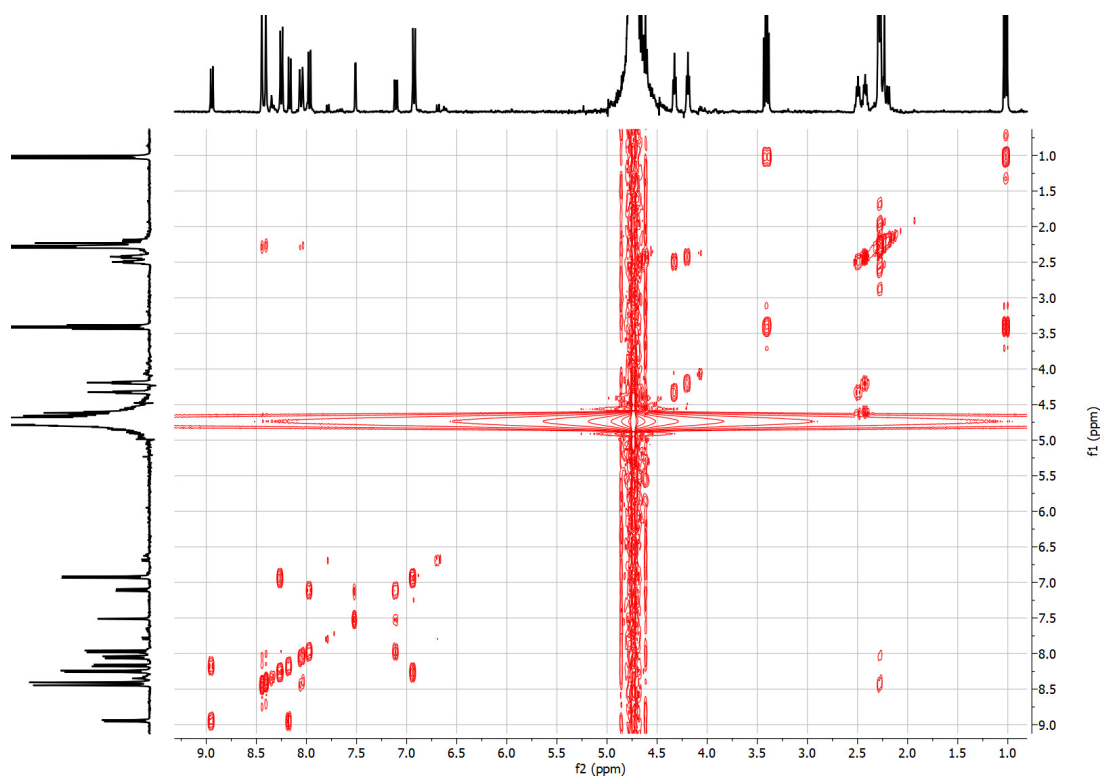
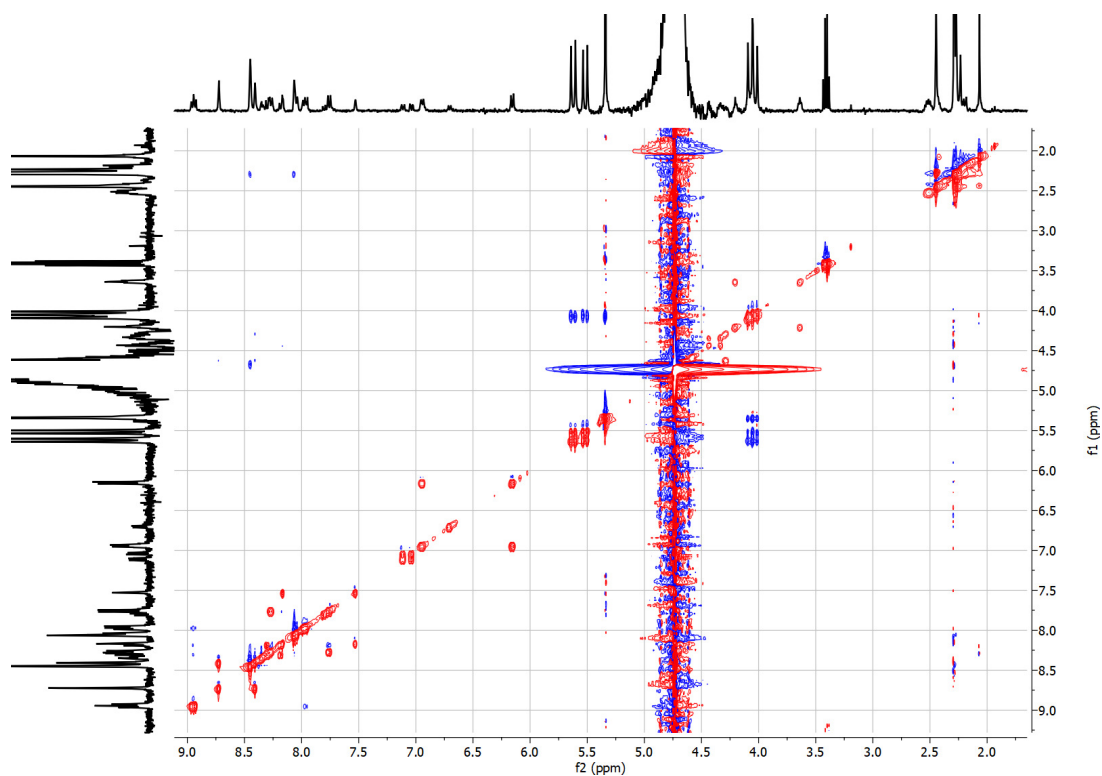


Figura I.35: Titulação do composto 4 (13,9  $\mu\text{M}$ ) a  $\text{pH} = 6,2$  com CB7 seguida por absorção. Em *inset* representa-se o ajuste aos pontos experimentais com  $K_{11} = 4,56 \times 10^3 \text{M}^{-1}$ ,  $K_{21} = 1,01 \times 10^4 \text{M}^{-1}$ .

Figura I.36: Espectro 2D de <sup>1</sup>H RMN, COSY do composto 3.Figura I.37: Espectro 2D de <sup>1</sup>H RMN, ROESY do composto 3 com 0,5 equivalentes de CB7.





## TRABALHOS ORIGINADOS POR ESTA TESE

Para que a ciência e a investigação possam progredir, torna-se absolutamente necessário partilhar o que aprendemos com a comunidade, pelo que, ao longo do tempo em que foi desenvolvida esta tese, várias foram as oportunidades exploradas para essa partilha, desde logo:

### II.1 EM PAINEL

No decorrer do XXVI Encontro da Sociedade Portuguesa de Química que decorreu entre 24 e 26 de julho na Universidade do Porto, Portugal, foi apresentada uma comunicação em painel intitulada: “Nature’s inspiration in the design of a multi-responsive molecular machine”.

### II.2 APRESENTAÇÕES ORAIS

No âmbito das Jornadas Intercalares dos Mestrados do DQ e DCV que decorreram nos dias 14 e 15 de fevereiro na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade NOVA de Lisboa, Monte da Caparica, Portugal, foi apresentada a comunicação oral intitulada “Multistate/Multiresponsive Host-Guest Complexes”.

Ainda no âmbito das apresentações orais, foi possível levar este trabalho ao 47º Congresso Mundial de Química que decorreu entre 6 e 12 de Julho em Paris, por ocasião dos 150 anos da Tabela Periódica. Foi assim dada uma palestra no simpósio “Frontiers in Supramolecular Materials” dirigido por Jean-Marie Lehn e Bert Meijer. A apresentação intitulou-se: “Using anthocyanins to create a two station rotaxane with an interchangeable axle”.

## II.3 ARTIGOS

Tendo em conta o sucesso dos resultados obtidos com o sistema do composto 2 na criação de um pseudo-rotaxano fotocomutável, foi redigido e submetido para publicação um artigo intitulado “A Pseudorotaxane Formed from a Cucurbit[7]uril Wheel and a Bioinspired Molecular Axle with pH, Light and Redox-Responsive Properties”. À data de submissão desta tese, este artigo encontra-se publicado na revista *Pure and Applied Chemistry* sob o DOI: 10.1515/pac-2019-0225.