

A TÉCNICA DA REFLECTÂNCIA DIFUSA APLICADA AO ESTUDO DA FLUORESCÊNCIA DE 2,3-NAFTALIMIDAS N-SUBSTITUÍDAS COM GRUPOS ALQUILA INCLUÍDAS EM β -CICLODEXTRINA E ADSORVIDAS EM CELULOSE MICROCRISTALINA[§]

Luis Filipe Vieira Ferreira e Maria João Lemos

Centro de Química Física Molecular - Complexo Interdisciplinar - Instituto Superior Técnico - Av. Rovisco Pais, 1096 - Lisboa Codex - Portugal

Veronique Wintgens

Laboratoire des Matériaux Moléculaires - CNRS - 2-8 rue H. Dunant - 94320 - Thiais - France

José Carlos Netto-Ferreira^{#*}

Departamento de Química - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - 23851-970 - Seropédica - RJ

Recebido em 29/1/98; aceito em 18/12/98

DIFFUSE REFLECTANCE TECHNIQUE APPLIED TO A FLUORESCENCE STUDY OF N-ALKYL SUBSTITUTED 2,3-NAPHTHALIMIDES INCLUDED IN β -CICLODEXTRIN AND ADSORBED IN MICROCRYSTALLINE CELLULOSE. The solution fluorescence of N-alkyl-2,3-naphthalimides (1-4) in polar protic and aprotic solvents was compared to the emission from solid samples resulting from the imide complexation with β -cyclodextrin or adsorption on the surface of microcrystalline cellulose. Solid samples of the inclusion complex 2,3-naphthalimides/ β -cyclodextrin show maximum for fluorescence emission significantly different to the observed in methanolic solution. Beside this, a clear effect on the alkyl chain length could be observed for these samples which is probably due to differences in probe location inside the cyclodextrin cavity. The constancy for fluorescence quantum yield and fluorescence lifetime for the imides 1 - 4 adsorbed on microcrystalline cellulose suggests that, independently of the polarity of the solvent used for sample preparation, the probe is preferentially located on the cellulose surface. An increase of fluorescence quantum yield and fluorescence lifetime for solid samples, when compared to the values obtained in solution for the different solvents employed in this study (acetonitrile, methanol and water), is fully in accordance with a decrease of the probe mobility due to inclusion in β -cyclodextrin or to adsorption on cellulose.

Keywords: β -cyclodextrin; naphthalimides; microcrystalline cellulose; diffuse reflectance; pulsed laser induced emission.

INTRODUÇÃO

As propriedades espectroscópicas de diversas dicarboximidas, isto é, 1*H*-benz[*f*]isoindol-1,3(2*H*)diona, 1*H*-benz[*e*]isoindol-1,3(2*H*)diona e 1*H*-benz[*de*]isoquinolina-1,3(2*H*)diona, designadas neste artigo por 2,3-naftalimida, 1,2-naftalimida e 1,8-naftalimida, respectivamente, têm sido extensivamente estudadas nos últimos anos¹⁻², principalmente devido às suas inúmeras aplicações no campo biológico³⁻⁶.

A extensão da conjugação π das naftalimidas, relativamente às ftalimidas, revelou-se fundamental quanto à diferença de reatividade nestas duas famílias de imidas. Assim, foram observadas variações significativas nas propriedades fotofísicas da 2,3-naftalimida, da 1,2-naftalimida, da 1,8-naftalimida e dos seus derivados N-metilados (isto é, N-metil-2,3-naftalimida, N-metil-1,2-naftalimida e N-metil-1,8-naftalimida, respectivamente), como consequência da posição do grupo dicarboximida em relação ao anel naftalênico. Esta diferença na posição relativa destes dois cromóforos acarreta variações nas energias relativas entre os estados excitados singlete e triplete $n\pi^*$ e $\pi\pi^*$, que levam às mudanças observadas^{1b}.

O espectro de emissão de fluorescência de N-metil-2,3-naftalimida (1) mostra uma dependência apreciável com o tipo de

solvente utilizado. Assim, em solventes polares apróticos, como acetonitrila, observa-se uma emissão estruturada vibracionalmente que é a imagem especular do seu espectro de absorção ($\lambda_{\max} = 370$ e 385 nm). Em solventes polares próticos, entretanto, esta emissão apresenta-se sem resolução vibracional, como uma única banda larga^{1a}. Foram encontrados resultados análogos para a N-*n*-butil-2,3-naftalimida^{2a}. Neste caso, e acompanhando a mudança na forma da banda de emissão, foi observado também um deslocamento batocrômico apreciável quando se vai do solvente aprótico para o prótico, de maior constante dielétrica (água, $\lambda_{\max} = 415$ nm), com uma concomitante diminuição do tempo de vida de fluorescência ($\tau_{\text{acetonitrila}} = 6,3$ ns; $\tau_{\text{água}} = 4,3$ ns)^{2a}.

A substituição do grupo alquila por grupo fenila nas 2,3-naftalimidas resulta em uma emissão de fluorescência estruturalmente diferente daquela observada para os derivados N-metil e N-H. Assim, em acetonitrila, N-fenil-2,3-naftalimida apresenta emissão dupla de fluorescência com λ_{\max} a 385 e 490 nm e tempos de vida de ≤ 50 ps e $1,3$ ns, respectivamente. A emissão a comprimento de onda mais curto corresponde a uma conformação para o estado excitado singlete na qual o grupo fenila se encontra numa posição ortogonal relativamente ao grupamento imida. Por outro lado, a emissão a comprimento de onda mais longo é proveniente de uma conformação em que ambos os grupos se encontram num só plano. Um aumento da viscosidade do meio acarreta um decréscimo na emissão a maior comprimento de onda e um acréscimo substancial na emissão a menor comprimento de onda^{1a e c}. Do mesmo modo, a substituição na fenila por grupos *ter*-butila nas posições 2' e 5' leva a uma mudança dramática tanto no espectro como no

[§] Parte deste trabalho foi apresentada no XV Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Química, Porto, 1996.

[#] Endereço temporário: Centro de Química Física Molecular, Complexo Interdisciplinar, Instituto Superior Técnico, Av. Rovisco Pais, 1096 Lisboa Codex, Portugal.

tempo de vida de emissão de fluorescência, o que pode ser explicado tanto por uma inibição da rotação do grupo fenila no estado excitado singlete, como pela presença dos grupos volumosos, com a conseqüente emissão por parte do estado responsável pela banda a comprimentos de onda mais curtos^{1a}.

A emissão de fluorescência de 1,3-bis-(1,8-naftalimida)-propano e 1,4-bis-(1,8-naftalimida)-butano, estudada por espectroscopia no estado estacionário e por técnicas com resolução temporal, mostrou que estas duas espécies, além da fluorescência correspondente ao monômero, apresentam também, em solventes de alta polaridade, uma nova emissão com um deslocamento batocrômico considerável, a qual foi associada ao excímero intramolecular tipo sanduíche^{1d}.

As *ciclodextrinas* (CD) são oligossacarídeos cíclicos obtidos a partir da degradação enzimática do amido. Isoladas em 1891 por Villiers⁷, foram caracterizadas em 1904 por Sharding⁸ como polímeros cíclicos de D-glucose, sendo que este processo de degradação é feito por ação da amilase de *Bacillus mace-rans*⁹. Entretanto, esta enzima não é muito específica quanto ao sítio de hidrólise, obtendo-se anéis com diferentes unidades de glicose, sendo os mais comuns os que apresentam seis (α -CD), sete (β -CD) ou oito (γ -CD) unidades, com a forma dos anéis assemelhando-se à de um cone truncado. A estrutura e a estereoquímica das CDs foram estabelecidas por estudos de difração de raios-X^{10,11}, através dos quais foi determinado que estas moléculas anulares possuem os grupos hidroxila primários situados na parte mais estreita do tronco de cone, ao passo que as hidroxilas secundárias encontram-se situadas na parte mais larga deste tronco. Assim, as hidroxilas situam-se nas extremidades do cone, tornando as ciclodextrinas solúveis em água. Por outro lado, o interior da cavidade apresenta caráter hidrofóbico devido ao alinhamento dos hidrogênios C(3)-H e C(5)-H e pela ligação éter O(4). Em solução aquosa, portanto, estas cavidades proporcionam uma matriz hidrofóbica em um ambiente hidrofílico, descrito pelo termo *ambiente micro-heterogêneo*. Assim, CDs em solução aquosa podem formar complexos de inclusão com uma ampla variedade de moléculas, limitados exclusivamente por restrições estereoquímicas.

Em contraste com outros seqüestrantes orgânicos, em que a formação do complexo ocorre quase que exclusivamente no estado sólido, as CDs, por possuírem uma cavidade molecular rígida, formam complexos de inclusão estáveis tanto em solução quanto no estado sólido. É importante ressaltar que as reações que envolvem complexos moleculares em solução podem ser complicadas pelo fato da existência de um equilíbrio envolvendo o complexo e as espécies livres.

A diferença básica entre os complexos em solução e no estado sólido é que naqueles a molécula incluída possui maior mobilidade, uma vez que no complexo sólido observa-se um firme arranjo seqüestrante-seqüestrado.

As dimensões das diversas CDs - diâmetro interno na parte mais estreita do toro (d_1), menor diâmetro interno (d_2), diâmetro interno na parte mais larga do toro (d_3) e altura (h) estão listadas na Tabela 1¹².

A *celulose* é um substrato sólido de grande importância uma vez que pode ser utilizado para a obtenção de fosforescência a temperatura ambiente de espécies que, se não estiverem a ela adsorvidas (usualmente aplicadas sobre papel de filtro e posteriormente secas), não mostram qualquer emissão^{13,14}. Além disso, as espécies adsorvidas em celulose são protegidas contra a ação do oxigênio molecular, uma vez que a mobilidade desta molécula é altamente reduzida quando a celulose está seca¹⁵⁻¹⁸.

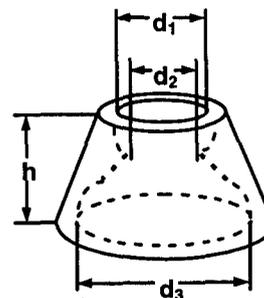
Estudos com raios-X de celulose nativa ou fibrosa mostram que este meio comporta-se como um sistema de duas fases: regiões amorfas menos organizadas e menos compactas, localizadas principalmente na superfície das fibras elementares, e regiões bem organizadas (cristalitos) onde moléculas de celulose existem num modelo cristalino bem empacotado, com fortes ligações de hidrogênio entre cadeias adjacentes^{19,20}.

Tabela 1. Diâmetros internos^{a,b} d_1 , d_2 e d_3 e altura (h) para α , β - e γ -ciclodextrina¹²

CD	d_1	d_2	d_3	h
α	5,6	4,2	8,8	7,8
β	6,8	5,6	10,8	7,8
γ	8,0	6,8	12,0	7,8

^a valores em Å

^b d_1 , d_2 , d_3 e h estão representados na Figura anexa.

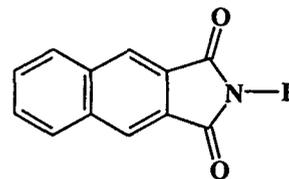


Mais recentemente¹⁷, a utilização conjunta de espectroscopia de absorção de infravermelho com transformada de Fourier, e de absorção e emissão em modo de reflectância difusa no ultravioleta e visível, permitiram quantificar o grau de cristalinidade em celulosas microcristalinas e nativas e ainda estudar a sua influência na adsorção de sondas rígidas e não rígidas.

A celulose microcristalina resulta da hidrólise de celulose purificada após tratamento com HCl 2,5 N por 15 min a 105°C, sendo uma forma muito pura de celulose²¹. Neste ponto, interrompe-se a hidrólise e é, então, produzida celulose com grau de polimerização estacionário. Nesta hidrólise ácida severa, as regiões amorfas são atacadas e transformadas, sendo o resíduo final altamente cristalino, com a celulose daí resultante apresentando um grau de cristalinidade extremamente alto.

Os grupos hidroxila da celulose têm uma forte afinidade por solventes polares e por solutos que deles se aproximam. Água é um exemplo de um bom agente de inchamento da celulose, embora este inchamento possa ocorrer também com um sem número de outros solventes polares, tais como metanol, etanol, *n*-propanol e outros^{16c,22}.

Neste artigo apresentam-se resultados obtidos por espectroscopia de absorção em modo de reflectância difusa e de emissão de fluorescência (geometria de reflexão), bem como medidas de tempo de vida de fluorescência pelo método da contagem de monofótons, para as N-alquil-2,3-naftalimidias 1 - 4 em solução, em complexos sólidos com β -ciclodextrina ou adsorvidas em celulose microcristalina.



1: R = CH₃

2: R = *n*-C₆H₁₃

3: R = *n*-C₁₂H₂₅

4: R = *n*-C₁₈H₃₇

Com base nos resultados discute-se a influência daqueles dois substratos nas propriedades fotofísicas destas 2,3-naftalimidias adsorvidas ou incluídas nestes sólidos.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais. O metanol, o benzeno e a acetonitrila, todos Aldrich de grau espectroscópico, foram utilizados como recebidos. A β -ciclodextrina (Sigma) foi recristalizada duas vezes de água antes de sua utilização. A celulose microcristalina (Fluka DSO), com tamanho de partícula em média de 50 μm , foi seca em estufa a vácuo ($\sim 10^{-3}$ Torr) a 70°C durante 48 horas antes da preparação da amostra. O cloridrato de metilamina, as aminas (*n*-hexilamina, *n*-dodecilamina, *n*-octadecilamina) e o ácido naftaleno-2,3-dicarboxílico, utilizados na síntese das diversas 2,3-naftalimidias sob estudo, isto é 1 - 4, foram adquiridos à Aldrich.

Síntese das 2,3-Naftalimidias Substituídas no Nitrogênio

a) 2-metil-1H-benz[*f*]isoindol-1,3(2H)diona (1)²³. 1,08 g (0,005 moles) do anidrido naftaleno-2,3-dicarboxílico (preparado a partir do ácido correspondente) foi misturado com 20% em excesso de cloridrato de metilamina em tubo Pyrex que, após ser evacuado e selado, foi aquecido a 200°C por 5 horas. Após resfriamento e abertura do tubo, a mistura foi vertida sobre ácido clorídrico diluído e extraída com clorofórmio. A fase orgânica foi lavada sucessivamente com solução aquosa a 10% de NaHCO₃ e água, e seca sobre CaCl₂ anidro. A solução foi então concentrada e o sólido bruto separado por cromatografia em coluna de sílica (eluente: clorofórmio).

b) Procedimento Geral para a Síntese de 2 - 4²⁴. Ácido 2,3-naftalenodicarboxílico (1,08 g, 0,005 moles) foi misturado com excesso da amina correspondente (0,025 moles) e a mistura resultante foi aquecida por 3 horas a 180-200°C. Após resfriamento, a mistura reacional sólida foi macerada e adicionada a 100 ml de HCl aquoso (1 N) e agitada a 60°C por 30 minutos. O sólido foi filtrado e aquecido por 30 minutos a 50°C em 100 ml de NaHCO₃ aquoso (1 M), e novamente filtrado. O sólido remanescente foi purificado por cromatografia em coluna (SiO₂, eluente CH₂Cl₂) e o produto final foi recristalizado de acetato de etila.

Os pontos de fusão, assim como os dados espectroscópicos e espectrométricos, estão de acordo com as estruturas propostas para 1 - 4.

Preparação dos complexos N-alkil-2,3-naftalimidias/ β -ciclodextrina.

a) em solução aquosa. A um balão volumétrico de 100 ml foram adicionados exatamente cerca de 1,15 g de β -ciclodextrina e o volume completado com uma solução aquosa da imida correspondente, de concentração $\sim 10^{-5}$ M.

b) complexos sólidos. A uma solução saturada de β -ciclodextrina em água ($2,0 \times 10^{-2}$ M) foi adicionada uma solução saturada da 2,3-naftalimida em metanol, de tal forma que a razão molar ciclodextrina:naftalimida fosse de 20:1. Logo após a adição da naftalimida, observou-se a formação de um precipitado branco. A solução foi deixada então sob agitação magnética por mais 24 horas. O precipitado abundante então formado foi filtrado, lavado exaustivamente com metanol para a remoção de naftalimida não complexada e seco em estufa a 50°C por 24 horas. Assumindo que toda a naftalimida precipita sob a forma de um complexo 1:1, e que apenas o complexo precipita, a concentração final será de 10 mg de naftalimida por grama de β -ciclodextrina.

Preparação das amostras N-alkil-2,3-naftalimidias adsorvidas em celulose microcristalina.

As amostras foram preparadas pela adição de uma solução de concentração conhecida da naftalimida ($4,5 \times 10^{-5}$ M), em acetonitrila, benzeno ou metanol, à celulose microcristalina contida num becher, de tal forma que a concentração final das amostras fosse de 45 μmoles de naftalimida por grama de ce-

lulose. A suspensão resultante foi agitada periódica e manualmente. Após a evaporação lenta do solvente numa capela, os traços finais do solvente foram removidos pela utilização de uma estufa a vácuo ($\sim 10^{-3}$ Torr) a 60°C, por 24 horas. Secagem posterior das amostras não resultou em qualquer alteração no espectro de reflectância difusa do estado fundamental das naftalimidias ou nas suas propriedades emissivas.

Absorção no Estado Fundamental. Os espectros de absorção no estado fundamental para as soluções das 2,3-naftalimidias 1 - 4 nos solventes utilizados, com densidade ótica (DO) = 0,1, correspondendo a uma concentração de $\sim 10^{-5}$ M, bem como para os complexos com β -ciclodextrina em solução aquosa, foram determinados em um espectrofotômetro OLIS 14 UV/VIS/NIR.

Para as amostras sólidas de 1 - 4 complexadas com β -ciclodextrina, ou adsorvidas em celulose microcristalina, foi utilizado o mesmo equipamento, porém agora em modo de reflectância difusa, baseado na utilização de uma esfera integradora com 90 mm de diâmetro.

A calibração do sistema em modo de reflectância difusa foi feita com a utilização de um refletor "perfeito" (óxido de magnésio 99,999% - Aldrich, reflectância $R = 0,975$)^{16,25} e um padrão para o negro (partículas finamente divididas de negro de carvão - Cabot 2000, $R = 0$). A reflectância de cada amostra foi obtida de 230 a 650 nm, e a função de remissão, $F(R)$, foi calculada utilizando-se a equação de Kubelka-Munk para amostras óticamente espessas, isto é, aquelas nas quais um aumento posterior na espessura não altera significativamente o valor de R ²⁶⁻²⁸.

A função de remissão é expressa pela equação 1:

$$F(R)_{\text{int}} = (1 - R)^2 / 2R = \left(\sum_i 2\epsilon_i C_i + K_B \right) / S \quad (1)$$

onde: K_B e S são os coeficientes de absorção e de difusão do substrato B, e o subscrito i refere-se a cada espécie adsorvida que absorve luz. ϵ_i e C_i são, respectivamente, os coeficientes de absorção molar e a concentração do adsorbato.

A função de remissão para a espécie adsorvida é dada pela equação 2:

$$F(R)_{\text{ads}} = F(R)_{\text{int}} - F(R)_B = \left(\sum_i 2\epsilon_i C_i \right) / S \quad (2)$$

a qual prevê uma relação linear para $F(R)_{\text{ads}}$ em função da concentração da espécie adsorvida¹⁶. Detalhes experimentais para a obtenção de espectros de absorção no estado fundamental para amostras sólidas, com precisão, podem ser encontrados em trabalhos já publicados¹⁶.

Emissão de Fluorescência

a) em solução. Espectroscopia de fluorescência foi realizada a 22°C com um espectrofluorímetro SPEX Fluorolog 2, com correção para espectros de excitação e de emissão. Rendimentos quânticos de fluorescência para as naftalimidias 2 - 4 em solventes orgânicos puros foram determinados utilizando-se N-metil-2,3-naftalimida (1) em acetonitrila como padrão, para o qual a literatura fornece o valor de 0,37¹, ou antraceno em etanol ($\phi_f = 0,27 \pm 0,03$)²⁹.

b) no estado sólido. Foi usado um equipamento com geometria de reflexão (frontal) que permite o traçado de espectros de emissão de amostras líquidas com densidade ótica alta ao comprimento de onda de excitação ou de sólidos opacos. Este equipamento, já descrito anteriormente^{30a,30b}, permite determinar espectros corrigidos nas gamas espectrais do ultravioleta ao infravermelho próximo (200-900 nm). No caso de rendimentos quânticos muito baixos, optou-se por usar um aparelho de luminescência induzida por laser, igualmente já descrito^{30c}.

Resumidamente, o equipamento consiste de um laser de nitrogênio (337,1 nm, 600 ps, $\leq 1,6$ mJ/pulso) da Photon Technology Instruments, modelo PL 2300. O detetor usado foi um sistema de matriz de diodos com intensificador e janela temporal programável (Oriol, modelo Instaspec V) acoplado a um monocromador de rede de difração fixa (Oriol, modelo FICS 77440). O sistema pode ser usado com janelas temporais, de modo a captar toda a luminescência emitida, ou com resolução temporal controlada por uma unidade de atrasos (Stanford Research Systems, modelo D6535). Todo o sistema é controlado por um computador pessoal.

Tempos de Vida de Fluorescência. Os tempos de vida de fluorescência foram medidos com um aparelho construído no laboratório, que utiliza a técnica de contagem de monofótons. A fonte de excitação é uma lâmpada pulsada coaxial, contendo nitrogênio (Edinburgh Instruments, modelo 199). As naftalimidias foram excitadas a 337 nm, com este comprimento de onda sendo selecionado por um monocromador Jobin Yvon (modelo H-20). A emissão da amostra, após atravessar um outro monocromador Jobin Yvon (modelo H-20), é detectada por um fotomultiplicador Phillips XP2020Q. A correção de pequenas mudanças de intensidade da lâmpada é feita pela análise alternada de duas amostras, com uma delas sendo necessariamente um padrão de referência. O padrão utilizado neste trabalho foi uma solução de BBOT - 2,5-bis(5-terc-butil-2-benzoxazol) - em ciclohexano, com tempo de vida de 1,47 ns^{31a}. Outros detalhes referentes a este aparelho podem ser encontrados na referência 31b.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A N-metil-2,3-naftalimida (1), em acetonitrila, apresenta uma emissão de fluorescência a temperatura ambiente com máximos a 370 e 385 nm ($\phi = 0,37$; $\tau_f = 8$ ns), que é imagem especular do seu espectro de absorção ($\lambda_{max} = 340$ e 355 nm) na região de maior comprimento de onda (Figura 1)^{1a}. Esta emissão é dependente da natureza do solvente, observando-se em solventes próticos (como metanol ou água) uma banda larga com um deslocamento batocrômico apreciável ($\lambda_{emi} = 395$ nm, em metanol e $\lambda_{emi} = 417$ nm, em água). A solução aquosa do complexo 1/ β -CD também apresenta emissão de fluorescência como uma banda larga, com o seu máximo apresentando um valor intermediário ($\lambda_{emi} = 406$ nm) a aqueles observados em metanol e água (Figura 1, curva 3). O deslocamento batocrômico observado para o complexo 1/ β -CD, quando se compara o máximo da emissão com aquele obtido em água, demonstra inequivocamente a formação do complexo de inclusão, com o efeito batocrômico sendo associado à menor polaridade da cavidade da β -ciclodextrina quando comparada à da água. Não foi observada nenhuma alteração no espectro de absorção, tanto com relação aos máximos de absorção quanto às suas intensidades, para o complexo 1/ β -ciclodextrina quando comparado ao espectro obtido em água. Comportamento similar foi observado para as N-alkuil-2,3-naftalimidias 2 - 4 e está em acordo com os resultados disponíveis na literatura para N-(n-butil)-2,3-naftalimida^{2a}.

Complexos sólidos N-alkuil-2,3-naftalimida/ β -ciclodextrina foram formados pela adição de uma solução metanólica de 1-4 a uma solução saturada de β -ciclodextrina em água. Os espectros de absorção para estes complexos, expressos como função de remissão $F(R)$ versus comprimento de onda (Figura 2), mostraram-se semelhantes aos observados em solução, com bandas fracas a cerca de 340 e 360 nm, juntamente com absorções fortes a 260 e 300 nm (não mostradas).

Para estas 2,3-naftalimidias substituídas com grupo alquila ligado ao nitrogênio, as propriedades emissivas dos complexos com ciclodextrina diferem daquelas observadas em solução e são dependentes do comprimento da cadeia do grupo alquila. Assim, 1 (R = CH₃) apresenta emissão de fluorescência com $\lambda_{emi} = 404$ nm, ao passo que para 2 (R = n-C₆H₁₃) observou-se um deslocamento hipsocrômico no máximo de emissão quando

comparado a 1 ($\lambda_{emi} = 394$ nm). Por outro lado, para as N-alkuil-2,3-naftalimidias 3 e 4 o máximo de emissão, em ambos os casos, situou-se em 408 nm (Figura 3).

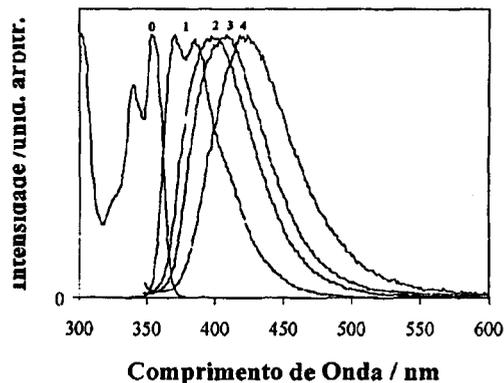


Figura 1. Curva 0: Espectro de absorção da N-metil-2,3-naftalimida 1 em acetonitrila. Espectros de emissão de fluorescência em: Curva 1: acetonitrila; Curva 2: metanol; Curva 3: solução aquosa com β -ciclodextrina; Curva 4: água. Todas as curvas estão normalizadas no seu máximo. As concentrações usadas nos espectros de emissão foram de $\sim 10^{-3}$ M.

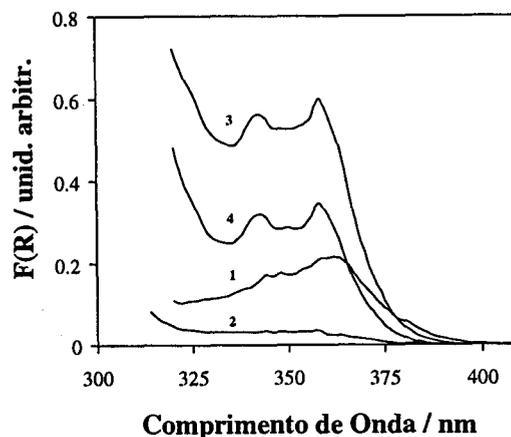


Figura 2. Função de remissão $F(R)$ para os complexos entre as N-alkuil-2,3-naftalimidias 1 - 4 e β -ciclodextrina. Curva 1: N-metil; Curva 2: N-n-hexil; Curva 3: N-n-dodecil; Curva 4: N-n-octadecil.

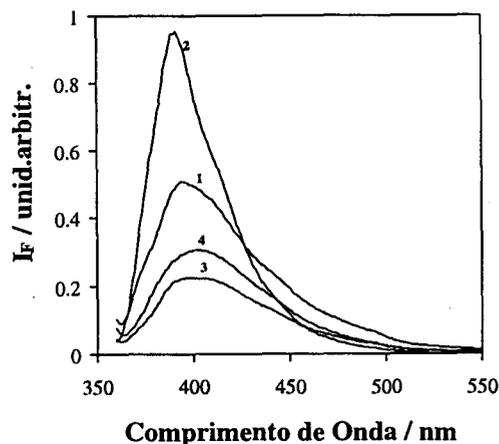


Figura 3. Espectros de emissão de fluorescência para os complexos entre as N-alkuil-2,3-naftalimidias 1-4 e β -ciclodextrina. Curva 1: N-metil; Curva 2: N-n-hexil; Curva 3: N-n-dodecil; Curva 4: N-n-octadecil. Os espectros estão corrigidos para o mesmo $(1 - R) f_{uds}$.

Estes resultados podem ser racionalizados assumindo-se que o grupo alquila ligado ao átomo de nitrogênio da 2,3-naftalimida desempenha um papel fundamental na definição da profundidade com que a sonda está situada dentro da cavidade da ciclodextrina. Assim, para o caso do grupo metila, isto é 1, pode-se propor uma estrutura para o complexo na qual a sonda está profundamente colocada dentro da cavidade, apresentando fracas interações por ponte hidrogênio entre os grupos carbonila e as hidroxilas das unidades de glicose constituintes da ciclodextrina. A substituição do grupo metila por *n*-hexila, composto 2, não tem outro efeito que não o de diminuir a polaridade no ambiente da carbonila e, por isto, o efeito hipocrômico observado na fluorescência. Para o caso de 3 e 4, os substituintes *n*-C₁₂H₂₅ e *n*-C₁₈H₃₇, respectivamente, por serem de cadeia longa e extremamente hidrofóbicos, tendem a penetrar na cavidade da β -ciclodextrina, levando a que o cromóforo imida aproxime-se mais das hidroxilas das bordas da cavidade, resultando, portanto, no efeito batocrômico na emissão de fluorescência. A Figura 4 mostra as possíveis estruturas para os complexos entre as 2,3-naftalimidias 1 - 4 e β -ciclodextrina.

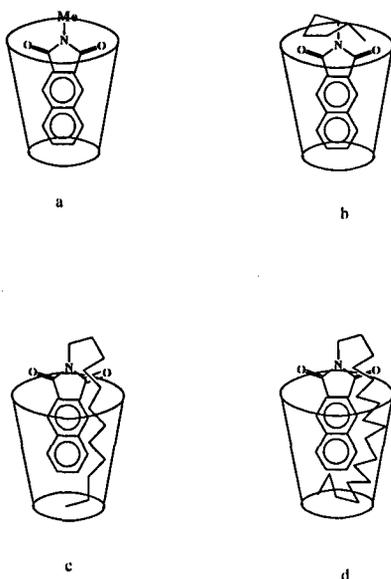


Figura 4. Possíveis estruturas para os complexos entre as *N*-alquil-2,3-naftalimidias 1 - 4 e β -ciclodextrina. a) *N*-metil-; b) *N*-*n*-hexil-; c) *N*-*n*-dodecil-; d) *N*-*n*-octadecil.

Quando adsorvidas em celulose microcristalina, utilizando-se benzeno, acetonitrila e metanol como solventes, as 2,3-naftalimidias 1 - 4 apresentam espectros de absorção (Figura 5) relativamente semelhantes entre si e a aqueles observados quando complexadas com β -ciclodextrina.

Por outro lado, os espectros de emissão de fluorescência (Figura 6) diferenciam-se daqueles obtidos para complexos com β -ciclodextrina, na medida em que não se observa o pronunciado efeito do comprimento da cadeia alquílica sobre o máximo de emissão. Tanto para 1, quanto para 3 e 4, o máximo de emissão situa-se em 410 nm, observando-se, entretanto, para 2, um efeito batocrômico na emissão ($\lambda_{\text{max}} = 420$ nm).

Foram também medidos tempos de vida de fluorescência, bem como rendimentos quânticos, para algumas das 2,3-naftalimidias 1 - 4, tanto em solução, quanto complexadas com β -ciclodextrina ou adsorvidas sobre celulose microcristalina, dados estes que vão mostrados na Tabela 2.

A emissão de fluorescência de amostras sólidas relaciona-se com a reflectância ao comprimento de onda de excitação por

$$IF = G I_0 (1 - R) f_{\text{ads}} \phi_F \quad (3)$$

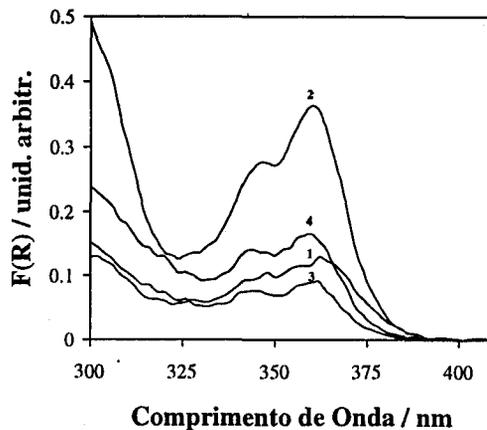


Figura 5. Função de remissão $F(R)$ para as amostras das *N*-alquil-2,3-naftalimidias 1 - 4 adsorvidas em celulose microcristalina. Metanol foi utilizado como o solvente para o inchamento da celulose. Curva 1: *N*-metil; Curva 2: *N*-*n*-hexil; Curva 3: *N*-*n*-dodecil; Curva 4: *N*-*n*-octadecil.

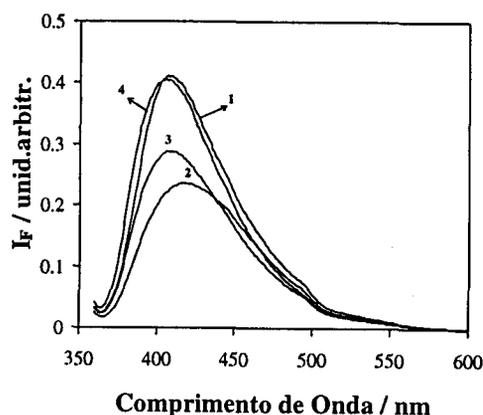


Figura 6. Espectro de emissão de fluorescência corrigido para as amostras das *N*-alquil-2,3-naftalimidias 1 - 4 adsorvidas em celulose microcristalina. Benzeno foi o solvente utilizado para a preparação das amostras. Curva 1: *N*-metil; Curva 2: *N*-*n*-hexil; Curva 3: *N*-*n*-dodecil; Curva 4: *N*-*n*-octadecil. Os espectros estão corrigidos para o mesmo $(1 - R) f_{\text{ads}}$.

que prevê uma correlação entre a intensidade da emissão de fluorescência (I_F), medida como a área total relativa do espectro de emissão, como função da luz absorvida pela sonda adsorvida, $(1 - R) f_{\text{ads}}$. Na equação (3), G é um fator geométrico, I_0 é a intensidade de excitação ao comprimento de onda de excitação λ_e , R é a reflectância medida a esse comprimento de onda, f_{ads} é a fração da radiação incidente absorvida pela sonda (definida pela equação 4, com $F(R)_{\text{ads}}$ e $F(R)_{\text{tot}}$ já definidos anteriormente) e ϕ_F é o rendimento quântico de emissão de fluorescência da espécie adsorvida.

$$f_{\text{ads}} = F(R)_{\text{ads}} / F(R)_{\text{tot}} \quad (4)$$

Como mostrado em publicações anteriores¹⁶, o rendimento quântico de sondas adsorvidas em sólidos pode ser calculado usando a equação (5)

$$\phi_F^u = \phi_F^s I_F^u(\lambda_e) (1 - R_s^s) f^s I_0^s(\lambda_e) / I_F^s(\lambda_e) (1 - R_u^e) f^u I_0^u(\lambda_e) \quad (5)$$

onde u e s referem-se às amostras desconhecidas e ao padrão de fluorescência, respectivamente. $I_0^s(\lambda_e)/I_0^u(\lambda_e)$ pode ser facilmente obtido determinando-se o perfil de energias do sistema³⁰. A rodamina 101 foi escolhida para composto de referência ($\phi_F^s = 1,0$), sendo as razões para essa escolha explicadas nas referências 16a,b.

Tabela 2. Valores dos tempos de vida e dos rendimentos quânticos de fluorescência para as N-alkil-2,3-naftalimidias **1 - 4** em solução e em amostras sólidas.

Naftalimidias	Meio	$\max\lambda^{abs}$ (nm)	$\max\lambda^{emi}$ (nm)	D_{stokes} (nm)	ϕ_F (%)	τ_F (nseg) ($\lambda_{anal.}=420nm$)
N-C1	Metanol	355	393	37	41	5,4
	Celulose/Acetonitrila	364	408	44	59	5,9
	Celulose/Benzeno	366	408	42	54	5,7
	Celulose/Metanol	364	400	36	58	5,0
	β -Ciclodextrina	363	395	32	67	6,0
N-C6	Metanol	358	394	36	41	6,2
	Celulose/Acetonitrila	359	417	58	36	7,4
	Celulose/Benzeno	360	418	58	36	7,8
	Celulose/Metanol	360	412	52	37	6,7
	β -Ciclodextrina	358	390	32	73	6,2
N-C12	Metanol	355	391	36	38	5,5
	Celulose/Acetonitrila	359	407	49	-	6,2
	Celulose/Benzeno	360	408	48	40	6,7
	Celulose/Metanol	360	401	41	31	5,4
	β -Ciclodextrina	359	400	41	30	5,7
N-C18	Metanol	355	391	36	40	5,7
	Celulose/Acetonitrila	358	408	50	-	8,5
	Celulose/Benzeno	360	409	49	51	6,5
	Celulose/Metanol	360	404	44	36	5,5
	β -Ciclodextrina	359	400	41	39	5,7

A análise dos resultados da Tabela 2 evidencia claramente que as amostras sólidas das N-alkil-2,3-naftalimidias complexadas com β -ciclodextrina ou adsorvidas em celulose microcristalina apresentam tempos de vida e rendimentos quânticos de fluorescência, de um modo geral, superiores aos evidenciados pelas mesmas substâncias em solução metanólica. Em termos de rendimentos quânticos, e para o caso das amostras de β -ciclodextrina, nota-se alguma dispersão nos valores apresentados, a qual é devida a dificuldades de determinação das reflectâncias, motivada pelas pequenas quantidades dos complexos de inclusão preparados.

A idéia geral que emerge dos resultados apresentados na Tabela 2 é que tanto a inclusão em β -ciclodextrina quanto a adsorção em celulose microcristalina reduzem a eficiência dos mecanismos de desexcitação não radiativos, com o conseqüente aumento quer dos rendimentos quânticos de emissão, quer dos tempos de vida de fluorescência.

A adsorção preferencial de uma sonda à superfície da celulose microcristalina é esperada no caso do benzeno, por incapacidade deste solvente em promover o inchamento da matriz. Por outro lado, a adsorção no seio da matriz é feita preferencialmente quando da utilização da acetonitrila e do metanol, na medida em que estes solventes se intercalam entre as cadeias do polímero natural formando ligações cadeia-solvente-cadeia, permitindo assim a incorporação de algumas sondas entre as cadeias poliméricas. Entretanto, observa-se que os espectros de absorção no estado fundamental são semelhantes para os três solventes usados na preparação das amostras (apolar - benzeno, polar aprótico - acetonitrila e polar prótico - metanol), e o mesmo pode ser observado para as emissões de fluorescência. Estes dados parecem indicar, portanto, que as naftalimidias **1 - 4** devem-se encontrar com localização idêntica nos três casos, isto é, adsorvidas à superfície da celulose microcristalina, bem como imobilizadas por ligações de

hidrogênio. Noutros casos, como o de cetonas aromáticas rígidas e não rígidas^{16c,17d}, verificou-se que quer as emissões quer as cinéticas de decaimento são fortemente dependentes da adsorção no seio ou à superfície da matriz polimérica.

CONCLUSÕES

As emissões de fluorescência de N-alkil-2,3-naftalimidias (contendo grupos alquila com 1, 6, 12 ou 18 carbonos ligados ao nitrogênio da naftalimida) adsorvidas em celulose microcristalina, evidenciam rendimentos quânticos superiores aos detectados em solução metanólica e relativamente semelhantes entre si, o que mostra que estas sondas estão ligadas rigidamente à celulose pelos grupos hidroxila e essencialmente localizadas à superfície, quer para as amostras preparadas com benzeno, quer com acetonitrila ou metanol.

No caso das emissões dos complexos de inclusão de N-alkil-2,3-naftalimidias em β -ciclodextrina, as emissões revelam desvios nos máximos que podem ser correlacionados com uma maior ou menor profundidade de penetração da sonda no seio da cavidade do hospedeiro, a qual é dependente do comprimento da cadeia alquílica hidrofóbica ligada ao átomo de nitrogênio da naftalimida.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado parcialmente pelo Projeto PRAXIS/2/2.1/Qui/22/94. LFVF e JCNF agradecem o auxílio concedido no âmbito do Convênio Bilateral Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica (JNICT) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). JCNF agradece ao CNPq pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

1. a) Valat, P.; Wintgens, V.; Kossanyi, J.; Biczóc, L.; Demeter, A.; Bérces, T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 946. b) Wintgens, V.; Valat, P.; Kossanyi, J.; Biczóc, L.; Demeter, A.; Bérces, T.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1994**, *90*, 411. c) Demeter, A.; Bérces, T.; Biczóc, L.; Wintgens, V.; Valat, P.; Kossanyi, J.; *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 2001. d) Wintgens, V.; Valat, P.; Kossanyi, J.; Demeter, A.; Biczóc, L.; Bérces, T.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1996**, *93*, 109.
2. a) Barros, T. C.; Molinari, G. R.; Berci Filho, P.; Toscano, V. G.; Politi, M. J.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1993**, *76*, 55. b) Barros, T. C.; Berci Filho, P.; Toscano, V. G.; Politi, M. J.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1995**, *89*, 141. c) Brochsztain, S. B.; Rodrigues, M. A.; Politi, M. J.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1997**, *107*, 195.
3. Stevenson, K. A.; Yen, S.-F.; Yang, N.-C.; Boykin, D. W.; Wilson, W. D.; *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 1677.
4. Zee-Cheng, R. K. Y.; Cheng, C. C.; *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1216.
5. Chang, S.-C.; Archer, B. J.; Utecht, R. E.; Lewis, D. E.; Judy, M. M.; Matthews, J. L.; *BioMed. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 555.
6. a) Saito, I.; Takayama, M.; Matsuura, T.; Matsugo, S.; Kawanishi, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 883. b) Saito, I.; Takayama, M.; Sakurai, T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2653. c) Saito, I.; Takayama, M.; Sugiyama, H.; Nakamura, T.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1997**, *106*, 141. d) Yamamoto, T.; Maeda, Y.; Matsugo, S.; Kitano, H.; *Photochem. Photobiol.* **1997**, *66*, 65.
7. Villiers, A.; *C. R. Sceances Acad. Sci.* **1891**, *112*, 536.
8. Schardinger, F.; *Wien. Klin. Wochensh.* **1904**, *17*, 207.
9. Ward, T. J.; Armstrong, D. W.; *J. Liq. Chrom.* **1986**, *9*, 407.
10. Hybl, A.; Rundle, R. E.; Williams, D. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2779.
11. Lindner, K.; Saenger, W.; *Carbohydrate Res.* **1982**, *99*, 103.
12. Ramamurthy, V.; *Tetrahedron* **1986**, *42*, 5753.
13. Hurlubise, R. J., *Phosphorimetry. Theory, Instrumentation and Applications*. VCH Publishers. New York. 1990.
14. Vo-Dinh, T., *Room Temperature Phosphorimetry for Chemical Analysis*. Wiley Interscience. New York. 1984.
15. a) Wilkinson, F.; Leicester, P. A.; Vieira Ferreira, L. F.; Freire, V. M. M.; *Photochem. Photobiol.* **1991**, *54*, 599. b) Wilkinson, F.; Vieira Ferreira, L. F.; Worrall, D. R.; *Spectrochem. Acta.* **1992**, *48A*, 135. c) Wilkinson, F.; Vieira Ferreira, L. F.; *J. Lumin.* **1986**, *40&41*, 111.
16. a) Vieira Ferreira, L. F.; Garcia, A. R.; Freixo, M. R.; Costa, S. M. B.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1993**, *89*, 1937. b) Vieira Ferreira, L. F.; Freixo, M. R.; Garcia, A. R.; Wilkinson, F.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1992**, *88*, 15. c) Vieira Ferreira, L. F.; Netto-Ferreira, J. C.; Khmelinskii, I.V.; Garcia, A. R.; Costa, S. M. B.; *Langmuir* **1995**, *11*, 231. d) Oliveira, A. S.; Vieira Ferreira, L. F.; Wilkinson, F.; Worrall, D.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1996**, *92*, 4809. e) Vieira Ferreira, L. F.; Oliveira, A. S.; Wilkinson, F.; Worrall, D.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1996**, *92*, 1217. f) Vieira Ferreira, L. F.; Netto-Ferreira, J. C.; Oliveira, A. S.; Costa, S. M. B.; *Bol. Soc. Port. Quím.* **1996**, *60*, 50.
17. c) Ilharco, L. R.; Garcia, A. R.; Lopes da Silva, J.; Vieira Ferreira, L. F.; *Langmuir* **1997**, *13*, 4126. d) Ilharco, L. R.; Garcia, A. R.; Lopes da Silva, J.; Lemos, M. J.; Vieira Ferreira, L. F.; *Langmuir* **1997**, *13*, 3987. e) Botelho do Rego, A. M.; Penedo Pereira, L.; Reis, M. J.; Oliveira, A. S.; Vieira Ferreira, L. F.; *Langmuir* **1997**, *13*, 6787.
18. Murtagh, J.; Thomas, J. K.; *Chem. Phys. Lett.* **1988**, *148*, 445.
19. Krassig, H.; Steadman, R. G.; Schliefer, K.; Albrecht, W.; *Cellulose*, em *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. VCH Publishers. New York. 1966. Vol. 5. p. 375.
20. Casey, J. P.; *Pulp and Paper: Chemistry and Chemical Technology*. Interscience. New York. 1966. Vol. 1. p. 8.
21. Battista, O. A.; *Microcrystalline Cellulose*. em *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*. Mark, H. F.; Gaylord, N. G.; Bikales, N. M.; VCH Publishers. New York. 1965. Vol. 3. p. 285.
22. McAlleese, D. L.; Dunlap, D. L.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 2246.
23. Rigaudy, J.; Sparfeld, D.; *Tetrahedron* **1978**, *39*, 2263.
24. Cava, M. P.; Deana, A. A.; Muth, K.; *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 6458.
25. Wendlandt, W. W.; Hecht, H. G.; *Reflectance Spectroscopy*. Wiley. New York. 1966.
26. Kubelka, P.; *J. Opt. Soc. Am.* **1948**, *38*, 448.
27. Kortum, G.; Brown, W.; Herzog, G.; *Angew. Chem., Int. Ed. Eng.* **1963**, *2*, 333.
28. Wilkinson, F.; Kelly, G. P.; *Handbook of Photochemistry*, ed. Scaiano, J. C.. CRC Press. Boca Raton. 1989. Vol. 1. p. 293.
29. Eaton, D. F.; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1988**, *2*, 523.
30. a) Vieira Ferreira, L. F.; Costa, S. M. B.; Pereira, E. J.; *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **1991**, *55*, 361. b) Vieira Ferreira, L. F.; Costa, S. M. B.; *J. Lumin.* **1991**, *48 & 49*, 395. c) Vieira Ferreira, L. F.; Oliveira, A. S.; Netto-Ferreira, J. C.; *Collect Czech. Chem. Commun.* **1999**, *64*, 459.
31. a) Martinho, J. M. G.; Egan, L. S.; Winnik, M. A.; *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 861. b) Martinho, J. M. G.; Reis e Souza, A. T.; Winnik, M. A.; *Macromolecules* **1993**, *23*, 4484.