

UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU – FURB

ELIANE TORRI

**DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIAS SUPRAMOLECULARES PARA A
DETECÇÃO DO FÁRMACO CAPTOPRIL**

Blumenau

2010

UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU – FURB

**DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIAS SUPRAMOLECULARES PARA A
DETECÇÃO DO FÁRMACO CAPTOPRIL**

Por

ELIANE TORRI

Dissertação de Mestrado em Química para
a obtenção do título de Mestre em Química.
Universidade Regional de Blumenau
Centro de Ciências Exatas e Naturais
Programa de Pós-Graduação em Química

Orientador: Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Blumenau

2010

**DESENVOLVIMENTO DE ESTRATÉGIAS SUPRAMOLECULARES PARA A
DETECÇÃO DO FÁRMACO CAPTOPRIL**

Por

ELIANE TORRI

Dissertação a ser julgada e aprovada em sua forma final
pelo orientador e demais membros da banca examinadora.

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Orientador – Departamento de Química - FURB

Prof^a. Dra. Hérica Aparecida Magosso
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Prof. Dr. Paulo Cesar de Jesus
Departamento de Química – FURB

Prof. Dr. Marcos Rivail da Silva
Departamento de Química – FURB

Dedico este trabalho às pessoas
mais importantes da minha vida:
meus pais, Eloi e Salete, meu
irmão Éliton e meu namorado
Tom.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o grande mestre, que nos deu o dom da vida e da sabedoria.

Aos meus pais, que apesar da distância sempre estiveram me apoiando e incentivando a prosseguir a jornada. Sei que muitas vezes renunciaram aos seus sonhos, para que pudesse realizar os meus. Minha eterna gratidão, amo vocês.

Meu irmão, pelo apoio e ajuda nos momentos de necessidade.

Ao meu namorado Tom, que compreendeu a importância da realização deste sonho, além de entender os momentos de ausência. A você cabe uma parte do título que conquisto hoje.

Ao prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado, orientador deste trabalho, pela dedicação a esta tarefa, pela atenção e por todos os ensinamentos transmitidos. Levo comigo seu exemplo de profissionalismo e dedicação à atividade acadêmica.

Aos professores da banca examinadora, pelo tempo dedicado à análise deste trabalho e pela importante contribuição.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química, pela oportunidade de demonstrar uma visão crítica, para que não tropeçasse na obscuridade da ignorância.

Aos colegas e amigos do laboratório I 503, pelas trocas de experiências, pelo bom ambiente de trabalho, pelas risadas e lamentações em especial, pela ajuda e amizade.

Às amizades feitas no curso, em especial a Celso, Débora, Dilamara, Gabriela, Michele, Rafael, Thalita e Vanderléia pelo companheirismo, pelas discussões intermináveis, pela força, pelos estudos em grupo, pelas confraternizações e momentos de descontração.

As minhas amigas Fernanda e Gabriela, que se tornaram minha segunda família durante o período da realização deste mestrado.

À Secretaria de Estado de Educação do Estado de Santa Catarina e ao CNPq, que financiaram este trabalho.

À FURB e ao IPTB, pelas facilidades para a realização das pesquisas.

À UFSC pela análise de RMN de ^1H .

A todas as pessoas que, de alguma forma, me ajudaram na concretização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um quimiossensor cromogênico para a detecção visual e quantitativa do 1-[(2*S*)-3-mercapto-2-metilpropionil]-*L*-prolina, amplamente conhecido por captopril. Os compostos di-hidroximetil-di-2-(pirrolil) metano (**1**) e 7,7,8,8-tetracianoquinodimetano (**2**) em acetonitrila formam um complexo de transferência de carga do tipo π - π que apresenta coloração azul intensa. Este complexo é desfeito quando se faz adições crescentes do captopril. É possível observar a substituição da cor azul por uma coloração amarelo-alaranjada de fraca intensidade, relativa à formação de um novo complexo, do tipo n - π , entre o composto **2** e o captopril. Foram feitas titulações espectrofotométricas de **2** com quantidades crescentes de **1**. Os dados experimentais foram ajustados a modelos matemáticos que demonstraram que, em acetonitrila, o complexo entre os compostos **1** e **2** apresenta 1 molécula de **2** para duas de **1**. Quando foi feita a titulação em mistura acetonitrila:água 9:1 (v/v), foi verificada uma alteração na estequiometria, para 1:1. As titulações realizadas entre o composto **2** e o captopril para confirmar se ocorria formação de um complexo entre estas duas espécies, revelou uma estequiometria do tipo 1:2 em acetonitrila, ou seja, uma molécula de **2** para duas moléculas do captopril, enquanto em mistura de acetonitrila com água esta estequiometria passou a ser do tipo 1:1. Também foi estudada a cinética de formação do complexo entre os compostos **1** e **2** em acetonitrila, sendo concluído que a reação entre os dois compostos é fotoquímica. A reação foi mais bem acelerada quando exposta a uma fonte de luminosidade do tipo UV-365 nm e também ao ser exposta a uma fonte de calor de 55 °C com fonte luminosa do tipo incandescente de 60 W, simultaneamente. Os parâmetros de ativação levaram a obtenção da energia de ativação que foi da ordem de 10,38 ($\pm 0,16$) kJ mol⁻¹. Também foi possível obter os valores de ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger e o valor de ΔG^\ddagger , sendo possível constatar que a espécie formada no estado de transição apresenta uma forma mais ordenada do que as espécies do início da reação.

Palavras-chave: captopril, quimiossensores cromogênicos, detecção visual.

ABSTRACT

In this study, a chromogenic chemosensor for the naked-eye and quantitative detection of captopril, (2*S*)-1-[(2*S*)-2-methyl-3-sulfanylpropanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid, was developed. Di-hydroxymethyl-di-2-(pyrrolyl)methane (**1**) and 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane (**2**) were dissolved in acetonitrile to form a π - π complex of charge-transfer character, which exhibits deep blue color. This complex is decomposed with the addition of increasing amounts of captopril. It was possible to observe a change from the vivid blue color to the pale orange-yellow color, related to the formation of a new n - π complex, between compound **2** and captopril. Spectrophotometric titrations of **2** with increasing amounts of **1** were made. Experimental data were fitted to mathematical models that demonstrated that, in acetonitrile, the complex formed between compounds **1** and **2** comprises one molecule of **2** for two of **1**. Also a titration of acetonitrile:water mixture (9:1; v/v) was made, and a change in the stoichiometry for a 1:1 proportion was observed. The kinetics of formation of the complex between **1** and **2** in acetonitrile was studied, being concluded that the interaction between the two compounds is a photochemical process. The formation of the complex was more well accelerated with the exposure to a UV-365 nm light source and also to be exposed to a heat source at simultaneously with a 60 W light bulb. The activation parameters led to the formation of the activation energy that was around 10.38 (\pm 0.16) kJ mol⁻¹. Was also possible to obtain values of ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger and ΔG^\ddagger , be seen that the species formed in the transition state has a more orderly fashion than the species from the beginning of the reaction.

Keywords: captopril, chromogenic chemosensors, naked-eye detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação geral para o funcionamento de um quimiossensor cromogênico ou fluorogênico.....	17
Figura 2 - Representação de uma estratégia para a obtenção de um quimiossensor óptico-fluorescente fundamentado em uma competição de um analito sinalizador e de um analito para um determinado receptor.....	18
Figura 3 - Sistema adaptado para a realização dos testes com diferentes fontes de luminosidade.....	39
Figura 4 - Ensaios experimentais do estudo cinético envolvendo os compostos 1 e 2 em acetonitrila.....	39
Figura 5 - Ensaios experimentais do estudo do captopril com os compostos 1 e 2 em acetonitrila.....	41
Figura 6 - Ensaios experimentais do estudo do captopril com os compostos 1 e 2 em mistura de acetonitrila e água tamponada.....	41
Figura 7 - (A) Influência da adição de quantidades crescentes de 1 no espectro de UV-Vis de 2 em acetonitrila a 25 °C. (B) Variação da absorvância em 634 nm de 2 com adição da quantidade crescente de 1 , após 24 horas.....	44
Figura 8 - (A) Influência da adição de quantidades crescentes de 1 sobre o espectro de UV-Vis de 2 em mistura de acetonitrila com água a 25 °C. (B) Variação da absorvância em 634 nm de 2 com adição de quantidades crescentes de 1	45
Figura 9 - Gráfico da absorvância vs. tempo para a reação entre os compostos 1 e 2 , quando exposto à lâmpada UV 365nm (■), incandescente 60 W (▲), fluorescente 46 W (●), halógena 100 W (▶), fluorescente 23 W (◆) e finalmente sem exposição à luminosidade (◀). As absorvâncias foram obtidas no λ_{\max} de 634 nm.....	47
Figura 10 - Gráfico da absorvância vs. tempo para a reação entre os compostos 1 e 2 , quando exposto a lâmpada incandescente 60 W e a temperatura de 25 °C (■), 35 °C (●), 45 °C (▲) e 55 °C (▶). As absorvâncias foram obtidas no λ_{\max} de 634 nm.....	50
Figura 11 - Gráficos de $\ln k_{\text{obs}}$ vs. $1/T$ para a reação do composto 1 com o composto 2 em acetonitrila ($r^2 = 0,999$; s.d. = 0,00457; a = 4,30; b = $-1,28 \times 10^3$).....	51
Figura 12 - Gráficos de $\ln[k_{\text{obs}} h(k_B T)^{-1}]$ vs. $1/T$ para a reação do composto 1 com o composto 2 em acetonitrila ($r^2 = 0,997$; s.d. = 0,0109; a = - 34,88; b = $-9,11 \times 10^2$).....	52

Figura 13 - (a) Solução do composto 2 ; (b) solução do composto 1 ; (c) solução do complexo 1:2 , após 24 horas; (d) solução do complexo 1:2 e captopril em acetonitrila.....	53
Figura 14 - (A) Influência da adição de quantidades crescentes de captopril no espectro de UV-Vis no complexo envolvendo os compostos 1 ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) e 2 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em acetonitrila a 25 °C. A concentração final do captopril foi de $4,07 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. (B) Variação da absorvância em 634 nm do complexo formado entre os compostos 1 e 2 com adição de quantidades crescentes de captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 5.....	53
Figura 15 - (A) Influência da adição de quantidades crescentes de captopril no espectro de UV-Vis no complexo envolvendo os compostos 1 ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) e 2 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em mistura acetonitrila/água (9:1, v/v) a 25 °C. A concentração final do captopril foi de $2,03 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. (B) Variação da absorvância em 634 nm do complexo formado entre os compostos 1 e 2 com adição de quantidades crescentes de captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 1.....	55
Figura 16 – (A) Influência da adição do captopril ($1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) sobre o espectro de UV-Vis da solução do composto 2 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em acetonitrila a 25 °C. (B) Variação da absorvância em 394 nm do complexo formado entre o composto 2 e o captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 5. A concentração final do captopril foi $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$	56
Figura 17 – (A) Influência da adição do captopril ($8 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) sobre o espectro de UV-Vis da solução do composto 2 ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em mistura acetonitrila/água (9:1, v/v) a 25 °C. (B) Variação da absorvância em 394 nm do complexo formado entre o composto 2 e o fármaco captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 6. A concentração final do captopril foi $4,9 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$	57

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Um quimiossensor óptico-fluorescente utilizado para a detecção seletiva do neurotransmissor acetilcolina.....	19
Esquema 2 - Representação de um quimiossensor de primeira geração e segunda geração, respectivamente.....	23
Esquema 3 - Quimiodosímetro baseado em uma reação de um sal de pirílio com uma amina, gerando uma espécie não fluorescente.....	24
Esquema 4 - Quimiodosímetro baseado em uma reação de um sal de pirílio, dando origem a uma dicetona.....	24
Esquema 5 - Quimiossensor cromogênico utilizado na detecção do dióxido de enxofre.....	25
Esquema 6 - Quimiossensor fundamentado na reação de uma esquaraína com um tiol.....	26
Esquema 7 - Esquema geral da síntese do di-hidroximetil-di-2-(pirrolil) metano (1).....	43
Esquema 8 - Reação mostrando como ocorre o suposto mecanismo do quimiossensor seletivo para o captopril.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Influência das diferentes fontes de luminosidade sobre a velocidade da reação do composto 1 com o composto 2 em acetonitrila com temperatura controlada a 5 °C.....	47
Tabela 2 - Influência do aumento da temperatura sobre a velocidade da reação do composto 1 com o composto 2 em acetonitrila com exposição à fonte de luminosidade incandescente de 60 W.....	50
Tabela 3 - Constante de ligação de 2 com o captopril em acetonitrila e com adição de água a 25 °C.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Abs = valor de absorvância após cada adição do fármaco nas titulações

Abs_0 = absorvância inicial sem fármaco adicionado

Abs_{11} , Abs_{12} = valores máximos de absorvância obtidos pela adição do fármaco considerando-se estequiometrias corante:fármaco 1:1, 1:2, respectivamente

A_∞ = absorvância para um tempo infinito

A_t = absorvância em um tempo t qualquer

ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF's = Boas Práticas de Fabricação

C_F = concentração do fármaco em cada adição de titulação

CLAE = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

$\Delta G^\#$ = variação de energia livre de ativação

$\Delta H^\#$ = variação de entalpia de ativação

$\Delta S^\#$ = variação de entropia de ativação

DMPM = di-hidroximetil-di-2-(pirrolil) metano

E_a = energia de ativação

ECA = enzima conversora de angiotensina

h = constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34}$ J s)

HOMO = orbital molecular ocupado de mais alta energia.

IV = infravermelho

K_{11} , K_{12} = constantes de ligação

k_B = constante de Boltzmann – $1,381 \times 10^{-23}$ J K⁻¹

k_{obs} = constante de velocidade observada de primeira ordem

LUMO = orbital molecular desocupado de mais baixa energia

MeCN = acetonitrila

pH = potencial hidrogeniônico

R = constante dos gases perfeitos ($8,314$ J K⁻¹ mol⁻¹)

REBLAS = Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde

RMN = Ressonância Magnética Nuclear

r^2 = coeficiente de correlação

S.D. = desvio padrão

SUS = Sistema Único de Saúde

$t_{1/2}$ = tempo de meia-vida

TCNQ = 7,7,8,8-tetracianoquinodimetano

TFA = Ácido trifluoroacético

TRIS = tris-(hidroximetil)aminometano

UV = região do ultravioleta

UV-Vis = região do ultravioleta visível (400 a 800 nm)

ϵ = absorvidade molar

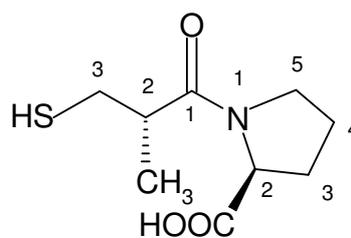
λ_{\max} = comprimento de onda de máxima absorção

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Quimiossensores baseados em ensaios de competição	18
1.2 Quimiodosímetros e fluororreagentes empregados na detecção de analitos	21
1.3 Quimiossensores ópticos para analitos neutros	24
1.4 Métodos de detecção de fármacos	27
1.4.1 Generalidades sobre o captopril	28
1.5 Objetivos.....	30
1.5.1 Objetivos gerais	30
1.5.2 Objetivos específicos.....	30
1.6 Justificativa.....	31
2 PARTE EXPERIMENTAL.....	34
2.1 Materiais	34
2.1.1 Síntese do di-hidroximetil-di-2-(pirrolil)metano (1)	34
2.2 Técnicas de caracterização	35
2.3 Métodos	35
2.3.1 Obtenção da constante de associação do complexo envolvendo os compostos 1 e 2 em acetonitrila e em misturas de acetonitrila com água.....	37
2.3.2 Titulação do composto 2 com o captopril em acetonitrila e misturas de acetonitrila com água.....	37
2.3.3 Estudos cinéticos da formação do complexo de 1 com 2 em acetonitrila	38
2.3.4 Experimento de titulação do captopril com os compostos 1 e 2 em acetonitrila e mistura de acetonitrila com água.....	40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.1 Síntese do composto 1	42
3.2 Estudos para obtenção da constante de associação do complexo formado com os compostos 1 e 2 em acetonitrila e em mistura de acetonitrila com água.....	43
3.3 Estudos cinéticos da reação envolvendo os composto 1 e 2	46
3.4 Influência dos diferentes tipos de luminosidade na velocidade da reação envolvendo os compostos 1 e 2	46
3.5 Influência das diferentes temperaturas na velocidade da reação envolvendo os compostos 1 e 2	46
3.6 Um quimiossensor cromogênico baseado em um ensaio de competição para a detecção do captopril em acetonitrila e em mistura de acetonitrila com água	49
3.7 Estudo da formação de complexo entre o composto 2 e o fármaco captopril em acetonitrila e misturas de acetonitrila com água.....	52
3.8 Considerações a respeito do quimiossensor cromogênico para detecção do captopril..	56
4 CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS	62
APÊNDICE.....	70

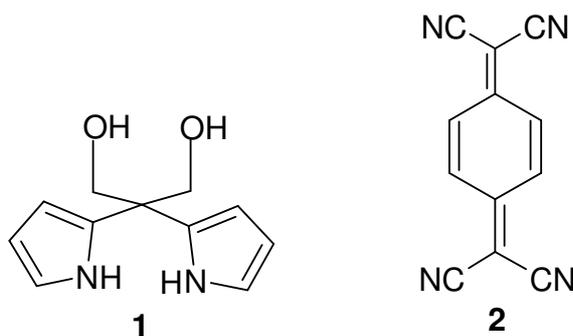
APRESENTAÇÃO

Nesta dissertação foi estudada uma estratégia para a detecção de um analito neutro com importância em química farmacêutica, o captopril.



Captopril

A estratégia estudada envolveu um ensaio de competição entre o di-hidroximetil-di-2-(pirrolil) metano (**1**) e o captopril pelo 7,7,8,8-tetracianoquinodimetano (**2**) em acetonitrila e em misturas de acetonitrila com água. O composto **2** é conhecido por ser um forte aceitador de elétrons, o que o leva formar complexos coloridos de transferência de carga com o composto **1**, que é reconhecido como doador de elétrons. A competição com o analito provoca mudanças de coloração no meio, o que pode ser empregado na montagem de um quimiossensor cromogênico para a detecção visual e quantitativa do captopril.



Na próxima seção, será feita uma revisão bibliográfica que apresenta os relatos de pesquisas que vem sendo desenvolvidas na área dos quimiossensores cromogênicos e fluorogênicos para espécies neutras.

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de quimiossensores cromogênicos e fluorogênicos para moléculas neutras, cátions e ânions baseado em conceitos da química supramolecular é um tema que vem recebendo bastante atenção nos últimos anos por grupos de pesquisa em todo o mundo (MARINI et al., 2010; GUO et al., 2004; CHEN et al., 2009; ZIMMERMANN-DIMER et al., 2009; CHEN; CHEN, 2004; LIANG et al., 2007; PINA-LUIS et al., 1998).

Este desenvolvimento se deve ao surgimento da química supramolecular. Este termo foi cunhado no final da década de 60 e um trabalho pioneiro foi o de Charles Pedersen, um químico industrial que trabalhou para DuPont. Pedersen estava interessado em alternativas para prevenir a degradação de produtos do petróleo e da borracha, causada pela presença de impurezas como os íons metálicos cobre e vanádio (PEDERSEN 1988). Suas pesquisas resultaram na descoberta dos éteres-coroa, que podem ser considerados a pedra fundamental na construção da química supramolecular. O trabalho de Pedersen foi reconhecido, juntamente com o de Lehn e Cram, com o Prêmio Nobel de Química em 1987. Desde então, o reconhecimento molecular cresceu com o desenvolvimento e síntese de receptores com o objetivo principal de compreender os princípios que governam os processos naturais (ANSLYN 2004).

Empregando os conceitos postulados por Pedersen e Lehn foi possível o desenvolvimento de quimiossensor ópticos. O funcionamento geral de um quimiossensor é bastante simples visto que o reconhecimento das espécies em análise é feito por uma molécula receptora que está ligada de forma não covalente a um grupamento sinalizador, grupamento este que pode ser cromóforo ou fluoróforo (Figura 1). Quando o analito liga-se ao receptor ocorre uma perturbação no microambiente do quimiossensor e essa perturbação acarreta o surgimento de um sinal óptico, o qual pode ser verificado pelas mudanças espectrais e de coloração no caso de grupamentos cromóforos ou mudanças na intensidade de fluorescência no caso de fluoróforos (DE SILVA et al., 1997).

Para o reconhecimento de analitos, as interações moleculares tais como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e ligações coordenadas têm sido largamente utilizadas.

Assim, muitos sistemas artificiais de detecção e de reconhecimento que usam em suas estruturas sítios de reconhecimento carregados ou neutros para proporcionar estas interações moleculares têm sido desenvolvidos (MOHR, 2004; PRODI, 2005; WISKUR et al., 2001; GUNNLAUGSSON et al., 2006).

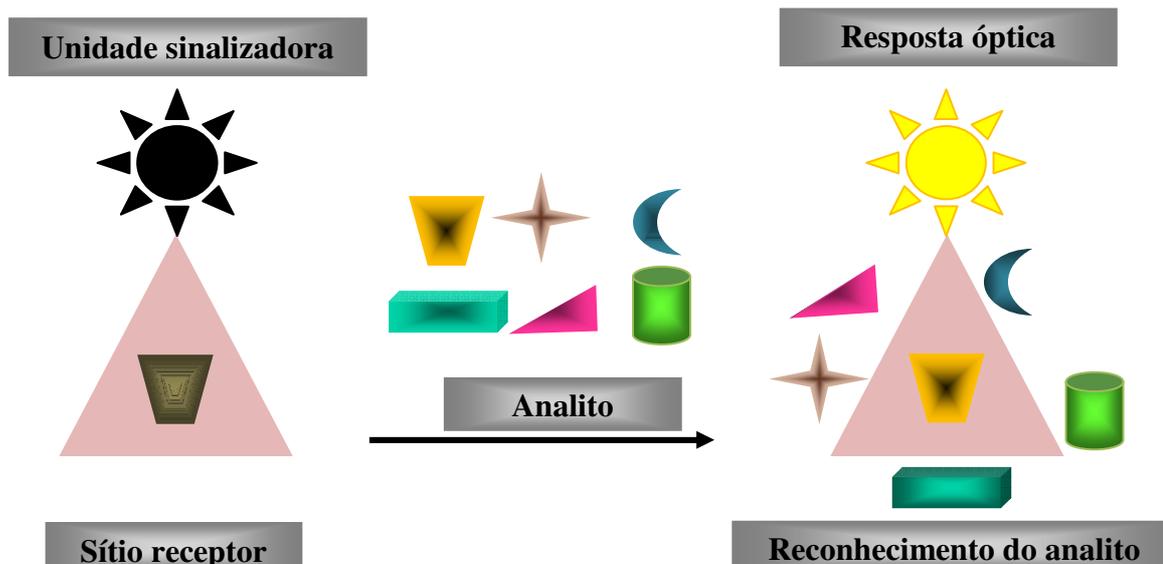


Figura 1 – Representação geral do funcionamento de um quimiossensor cromogênico ou fluorogênico.

A detecção é possível não só em sistemas orgânicos como também em sistemas orgânico-aquosos ou aquosos (JIMÉNEZ et al. 2003; HUDNALL; GABBAI, 2007; XU et al., 2007). A detecção de analitos eletricamente neutros através do uso de quimiossensores ainda é uma tarefa extensa, visto que poucos receptores têm sido planejados para reconhecer com seletividade uma determinada molécula (SPICHIGER et al., 1993; MOHR, 2004).

Os avanços nesse segmento se devem ao fato de ser uma estratégia diferenciada, aonde se encontram reunidas algumas vantagens tais como: baixo custo, confiabilidade e condições para detectar baixas concentrações do analito, sendo que as aplicabilidades são as mais diversificadas, desde a identificação de poluentes ambientais até o controle de qualidade de medicamentos e alimentos.

Ainda de forma mais específica, outra vantagem dos quimiossensores cromogênicos é o fato de que a detecção do analito acarreta mudanças na coloração do meio, o que permite o desenvolvimento de simples estratégias de detecção visual e quantitativa do analito. No caso dos quimiossensores fluorogênicos, observa-se a supressão ou realce da fluorescência quando o analito encontra-se presente, permitindo o desenvolvimento de métodos de detecção de analitos em concentrações bastante baixas. Diversos tipos de quimiossensores têm sido desenvolvidos para vários tipos de analitos. A seguir, serão enfatizadas estratégias de detecção baseadas em ensaios de competição, e na formação de ligações do analito com o quimiossensor do tipo covalentes reversíveis (cromorreagentes e fluororreagentes) e irreversíveis (quimiodosímetros).

1.1 QUIMIOSENSORES BASEADOS EM ENSAIOS DE COMPETIÇÃO

Entre as estratégias supramoleculares que vêm sendo exploradas para a detecção de analitos, encontram-se os ensaios de competição. A utilização de técnicas de fluorescência ou de UV-Vis torna possível explorar e detectar os analitos em estudo.

Os quimiossensores embasados nesse conceito, representados sucintamente por meio da Figura 2, apresentam como unidade sinalizadora um indicador colorido e/ou fluorescente em solução, o qual ao ser posto em contato com um receptor interage intermolecularmente formando um complexo receptor:analito. Esse complexo muda as propriedades físico-químicas da unidade sinalizadora e isso se traduz em uma mudança de coloração e/ou em uma diferente capacidade para fluorescer em solução. A adição, ao meio, de um analito que forme com o receptor um complexo que apresente uma constante de estabilidade de valor geralmente mais alto que aquela do receptor com a unidade sinalizadora levará à liberação dessa última e a solução voltará a ter o aspecto visual anterior à adição do receptor. Caso o receptor apresente seletividade para determinado analito, ter-se-á um quimiossensor óptico seletivo. O estudo de quimiossensores baseados nesse tipo de estratégia representa uma área em constante crescimento, e que pode ser explorada tanto para a detecção qualitativa (visual) dos analitos, assim como para estudos de estequiometrias e constantes de associação dos complexos formados.

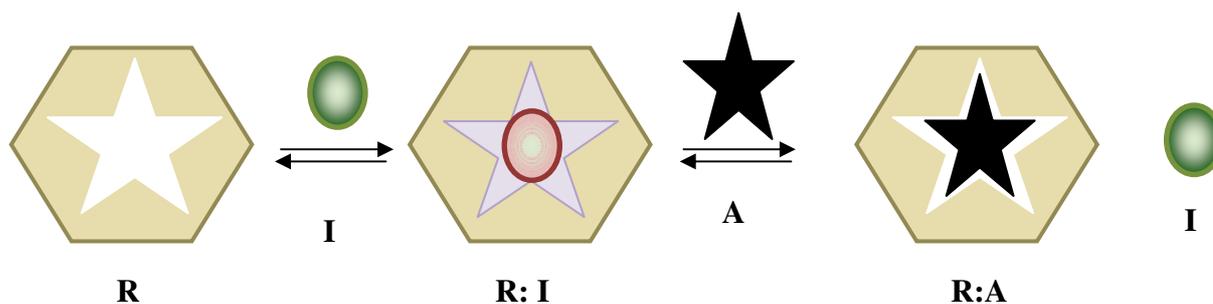
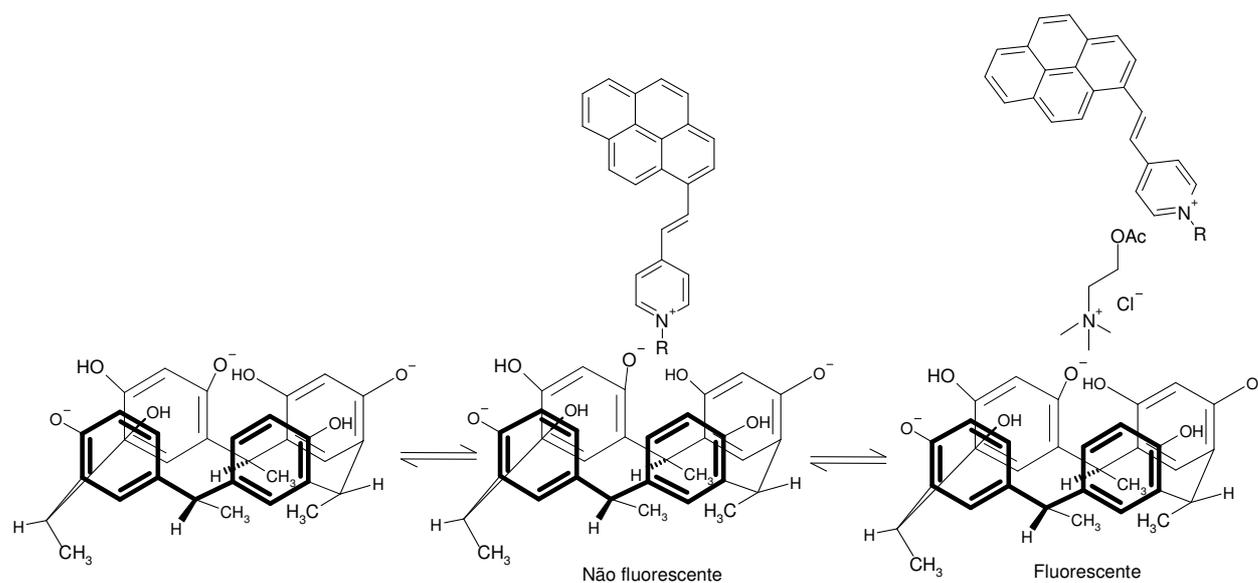


Figura 2 - Representação de uma estratégia para a obtenção de um quimiossensor óptico-fluorescente fundamentado em uma competição de um substrato sinalizador e de um analito por um determinado receptor.

Essa estratégia apresenta algumas vantagens. O receptor não se encontra ligado covalentemente ao indicador, levando o processo a ser simplificado, pois existe a possibilidade de substituir o indicador, até encontrar o mais indicado. Esse quimiossensor funciona bem em solventes orgânicos e em alguns casos em sistemas aquosos, assim, misturas de solventes podem ser usadas para modular os valores de constantes de associação do

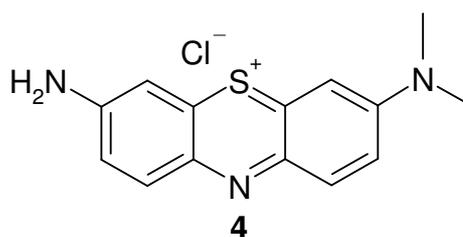
indicador e do analito pelo receptor. A principal desvantagem dessa técnica é que ela não oferece resposta quando se deseja fazer imagens de tecidos ou células inteiras, pelo fato do indicador encontrar-se presente em toda a solução e não somente junto ao receptor (NGUYEN; ANSLYN, 2006; WISKUR et al., 2001; KUBIK; REYHELLER; STUWE, 2005).

Um dos estudos pioneiros com esse tipo de estratégia foi realizado por Inouye e colaboradores em 1994 para a detecção de acetilcolina, usando como receptor um calixareno baseado no resorcinol e um pireno modificado como indicador (Esquema 1).



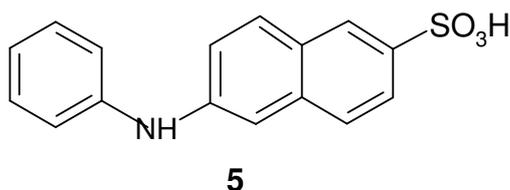
Esquema 1 - Um quimiossensor óptico-fluorescente utilizado para a detecção seletiva do neurotransmissor acetilcolina.

Várias pesquisas, utilizando como estratégia ensaios de competição vêm sendo relatadas, as quais incluem aplicações biológicas. Yang e colaboradores, em 1994, conseguiram desenvolver um método para quantificar a protamina no plasma. A protamina é um importante coagulante administrado durante procedimentos de cateterismo cardíaco, para inverter a ação do anticoagulante heparina. Através de ensaios foi possível mostrar que a protamina desloca eficientemente o corante Azul A (**4**), e se complexa à heparina.



Diversos corantes fluorescentes também são utilizados para ensaios em que a competição entre indicadores e analitos pelos receptores ocorrem.

Mock e colaboradores utilizaram-se do ensaio de competição envolvendo o corante **5** para estudar as interações da biotina e avidina. A biotina e a avidina são utilizadas em histoquímica e em uma grande gama de ensaios de purificação de substâncias biológicas.



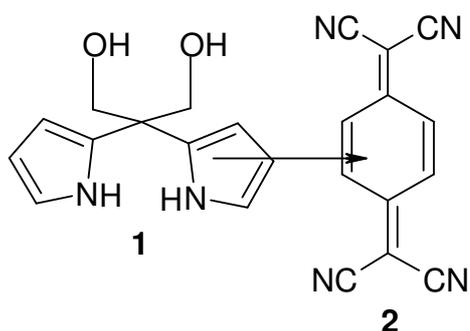
Um grande número de estudos tem relatado a formação de complexos de transferência de carga entre doadores e aceptores de elétrons em estado sólido e em solução. Isso se deve às suas importantes propriedades físicas e químicas.

Os complexos de transferência de carga têm sido reconhecidos na área farmacêutica e em muitos processos biológicos, além da aplicação nas áreas da eletrônica, células solares, dispositivos ópticos e de condutividade elétrica (HASANI; REZAEI, 2006; EL-GOGARY; DIAB; EL-TANTAWY, 2006; LEWIS et al., 1995).

Desde o início dos anos 60, vários estudos na área da química e físico-química vêm sendo realizados com a utilização do composto **2** (HEKTLE, et al., 1962, KAUR, et al., 2007, BRYCE, et al., 1997). Esse composto orgânico vem sendo estudado devido à sua capacidade de formar complexos de transferência de carga com moléculas doadoras de elétrons (WHELAND; GILLSON, 1976). A molécula desse composto possui geometria plana e apresenta forte deficiência de elétrons, sendo que uma das condições necessárias para a formação dos complexos de transferências de carga é justamente a disposição, em uma proporção estequiométrica, de uma molécula doadora de elétrons e de outra com deficiência de elétrons.

As reações de transferência de carga vêm sendo empregadas há alguns anos para a determinação espectrofotométrica de diferentes princípios ativos presentes em medicamentos (RAHMAN; ANWAR; KASHIF, 2005; MOSTAFA; MOHAMED; ALLA, 2002). Esses métodos exploram o caráter básico de alguns fármacos que, devido a essa característica, são excelentes doadores de elétrons, principalmente de elétrons não ligantes. Por sua vez, a fim de completar a reação de transferência de carga, reagentes aceptores de elétrons são utilizados, como pode ser citado o composto **2**.

Em 2004, Guo et al. desenvolveram um quimiossensor para os ânions PO_4^{3-} e CO_3^{2-} e para o aminoácido cisteína utilizando-se da mesma estratégia dos ensaios de competição. O composto **2** forma com **1** um complexo de transferência de carga, que ao ser exposto a uma série de 13 ânions, mostrou ser seletivo para dois deles (PO_4^{3-} e CO_3^{2-}). Na presença desses ânions, o complexo receptor:indicador deixa de existir para que ocorra a formação do complexo receptor:ânion. O mesmo ocorreu quando o complexo **1:2** foi testado com uma série de 19 aminoácidos. O complexo **1:2** deixou de existir, com a ocorrência de um complexo do receptor com o aminoácido cisteína.



Xu e colaboradores, em 2007, propuseram a montagem de um quimiossensor aniônico baseado em ensaios de competição utilizando os compostos **1** e **2** e testando a seletividade desse complexo mediante uma sequência de ânions, obtendo seletividade somente para o ânion sulfito. O mecanismo sugerido pelos pesquisadores é que o complexo formado entre os compostos **1** e **2** deixava de existir quando o ânion sulfito foi adicionado à solução, fazendo com que a coloração fosse alterada e como consequência o conjunto espectral.

1.2 QUIMIOSÍMETROS E FLUORORREAGENTES EMPREGADOS NA DETECÇÃO DE ANALITOS

Embora estratégias envolvendo ensaios de competição venham resultando em importantes avanços na área dos quimiossensores, é importante o desenvolvimento de outras estratégias que sejam capazes de superar as limitações que dali decorrem, especialmente aquelas relacionadas com as moléculas indicadoras usadas. Uma estratégia alternativa às interações intermoleculares, que pode ser utilizada para a detecção de analitos, envolve a formação de ligações covalentes reversíveis ou irreversíveis entre o grupo responsável pelo reconhecimento do analito. Se a reação química usada na estratégia de detecção do analito é

irreversível, o sistema montado recebe a denominação de quimiodosímetro (MARTÍNEZ-MÁÑEZ; SANCENÓN, 2003, 2005, 2006).

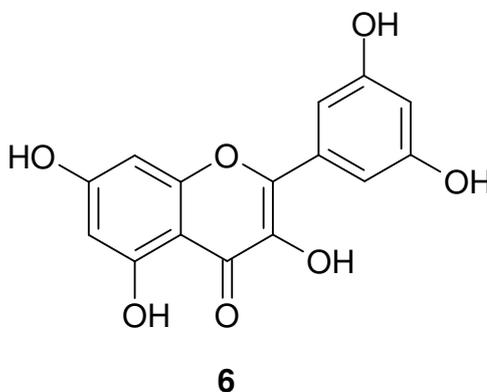
Três tipos de quimiodosímetros vêm sendo relatados: (a) o analito pode se ligar covalentemente ao quimiossensor cromogênico ou fluorogênico, ocorrendo uma variação na cor ou na banda de emissão de fluorescência; (b) o analito interage com o quimiossensor, catalisando uma reação química que conduz à variação espectral e (c) o analito reage com o quimiossensor liberando um grupo de saída cromogênico ou fluorogênico (ZIMMERMANN-DIMER; MACHADO, 2008).

A designação de fluoróforo é dada a uma molécula ou parte da molécula que apresenta características fluorescentes (grupos aromáticos fluorescentes). A designação de luminóforo muitas vezes encontrada na bibliografia é mais abrangente, pois inclui ainda espécies que apresentam características fosforescentes (LAKOWICZ, 2006).

Alguns fluoróforos têm a característica de alterar as suas propriedades fluorescentes em função do meio que as envolve. Mais especificamente, significa que a sua fluorescência sofre alteração em função da presença de outras moléculas, que agem suprimindo a fluorescência. Isso torna-os adequados para serem utilizados como transdutores em sistemas físico-químicos, bioquímicos ou biológicos (DE SILVA et al., 1997).

O uso de quimiodosímetros tem as vantagens de possibilitar respostas ao estímulo químico de uma forma fácil e rápida, com limites de detecção muito baixos (MARTÍNEZ-MÁÑEZ; SANCENÓN, 2003).

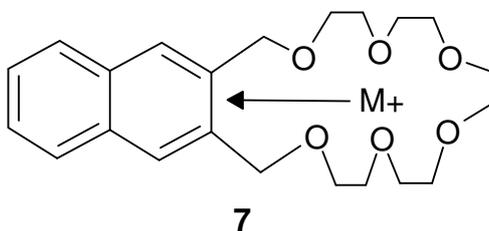
A primeira descrição de um quimiossensor utilizando fluororreagentes foi provavelmente feita em 1867 por Goppelsroeder, que desenvolveu um método de determinação do Al(III) pela formação de um complexo fluorescente com a morina (**6**) (CZARNIK, 1993).



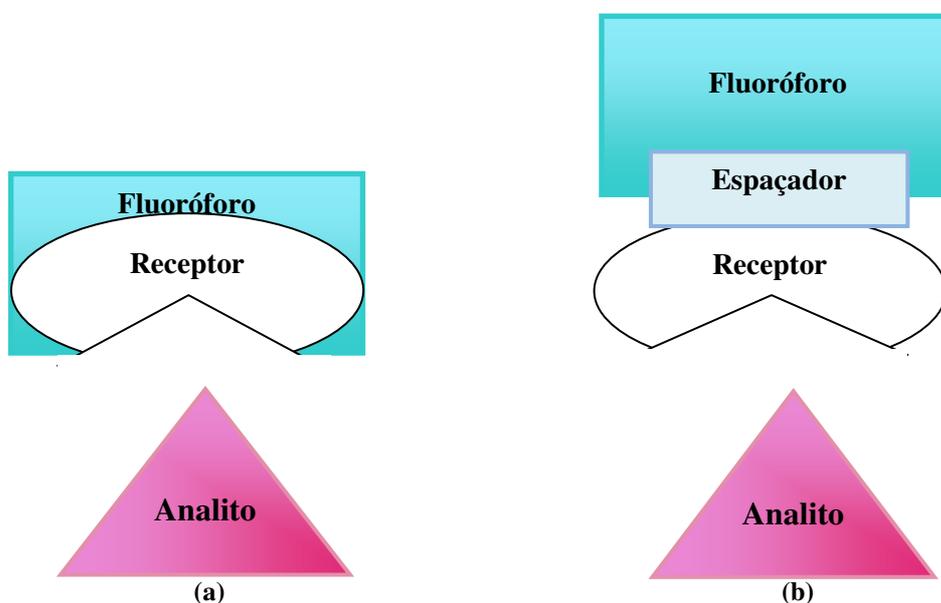
Os primeiros quimiossensores fluorescentes eram moléculas heterocíclicas possuindo átomos doadores de elétrons que se ligavam ao analito. Nesse caso, o receptor e o sinalizador

não estão individualizados, fazendo parte da mesma molécula, e constituem a primeira geração de quimiossensores fluorogênicos (CZARNIK, 1994).

Em 1977, Sousa e Larson usaram grupos naftil acoplados a éteres-coroa como quimiossensores de fluorescência para detectar metais alcalinos (Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+). Esses quimiossensores tinham a particularidade de possuírem grupos CH_2 entre o grupo naftil e o éter-coroa, provocando uma separação entre os sistemas eletrônicos dos átomos doadores de elétrons que complexam com o analito e o sistema π do grupo naftil, responsável pela emissão de fluorescência (7). Possuem assim unidades receptoras (éter-coroa) e sinalizadoras (naftaleno) separadas por espaçadores (CH_2), constituindo unidades individualizadas e bem definidas.



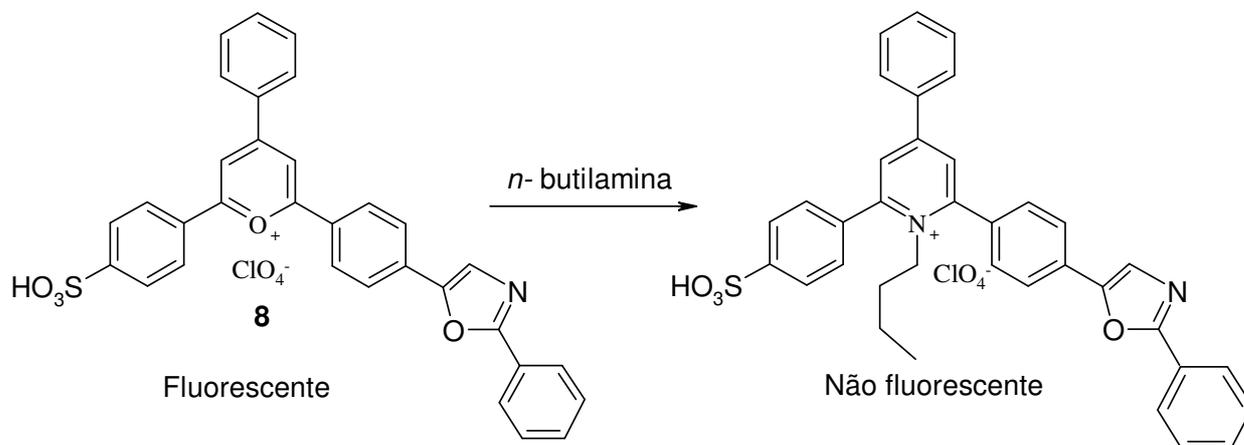
Esse tipo de estrutura constitui os quimiossensores combinados que podem ser considerados como pertencentes a uma segunda geração de quimiossensores (Esquema 2).



Esquema 2 - Representação de um quimiossensor de primeira geração (a) e segunda geração (b), respectivamente.

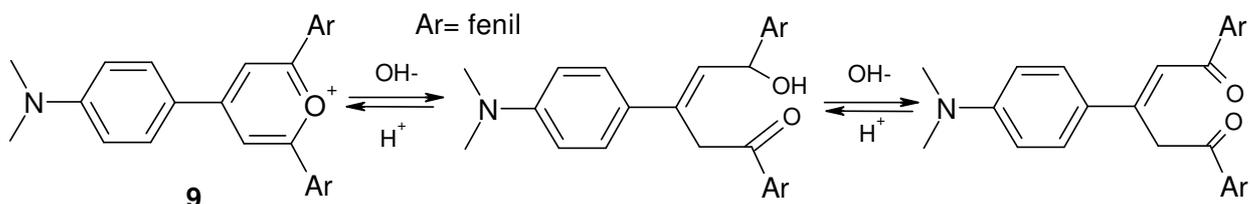
Um dos primeiros trabalhos publicados utilizando o conceito de quimiossímulo é de KATRITZKY e REES em 1984, usando um derivado do perclorato de 2,4,6-trifenilpirílio (8),

solúvel em água, que reagindo com *n*-butilamina sofre uma mudança em suas bandas de absorção de 330 para 314 nm e diminui a intensidade da fluorescência da banda localizada em 395 nm, o que permite a determinação da quantidade de amina em solução (Esquema 3).



Esquema 3 – Quimiodosímetro baseado em uma reação de um sal de pirílio com uma amina, gerando uma espécie não fluorescente.

O quimiossensor **9** é um sal de pirílio que pode ser usado na preparação de quimiodosímetros para a detecção de ânions com características nucleofílicas, devido à presença de um grupo aceitador de elétrons. Em meio básico, o anel de pirílio rompe-se, dando origem a uma dicetona. Esse processo pode ser reversibilizado em meio ácido (Esquema 4). Por isso, resultados interessantes foram obtidos para o CN^- , ânion de reconhecida nucleofilicidade, por meio de reação de adição nucleofílica. O CN^- rompe o anel de pirílio, provocando mudança de coloração em misturas de acetonitrila com água (GARCÍA et al., 2005; JIMÉNEZ et al., 2003, MARINI, 2009).



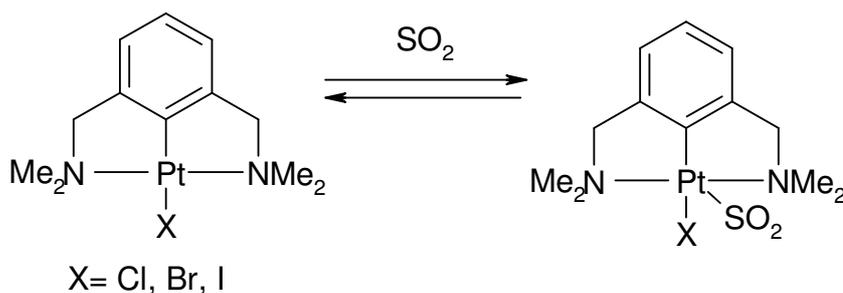
Esquema 4 – Quimiodosímetro baseado em uma reação de um sal de pirílio, dando origem a uma dicetona.

1.3 QUIMIOSENSORES ÓPTICOS PARA ANALITOS NEUTROS

Na natureza é encontrada grande quantidade de moléculas neutras que possuem papel importante nas áreas biológicas, ambientais, farmacêuticas e alimentícias, dentre outras. Por este motivo o desenvolvimento de sensores específicos para determinadas moléculas se tornou um assunto de grande interesse.

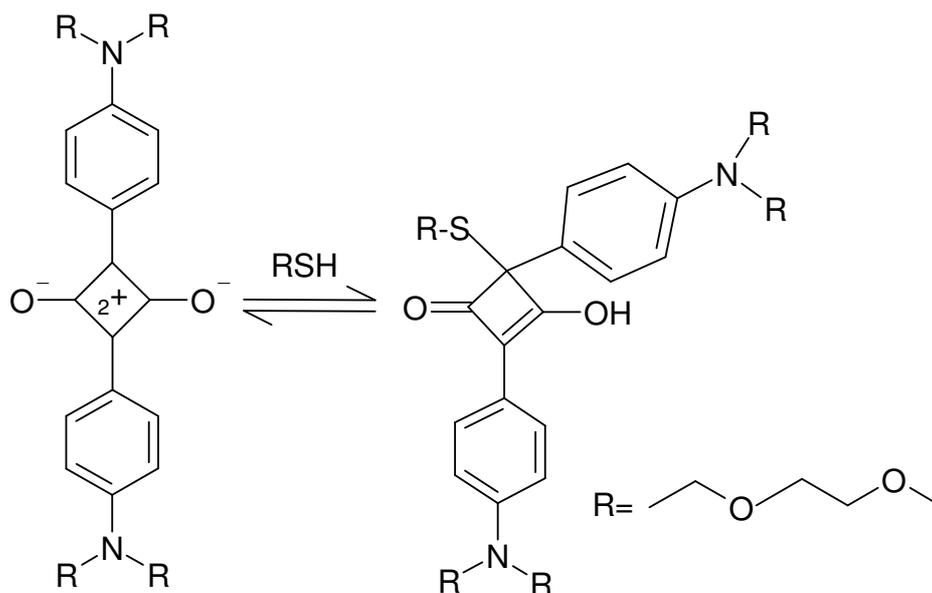
Um trabalho desenvolvido pelo grupo de Koten (2000) envolveu o desenvolvimento de um sensor para dióxido de enxofre. Embora as características dos gases dificultem o reconhecimento (moléculas neutras com interações eletrostáticas ineficazes, tamanho pequeno, limitada polarizabilidade) essa área também tem recebido avanços na pesquisa.

O dióxido de enxofre (incolor) reage com um complexo que tem em sua estrutura a Pt (II) para dar origem a um sistema de cor laranja (ALBRECHT et al., 2000). A reação é reversível e a transdução de sinal é instantânea. Como vantagem adicional, pode ser usada tanto em solventes apolares como no estado sólido, de modo que permitirá o desenvolvimento de dispositivos com aplicações biomédicas (Esquema 5).



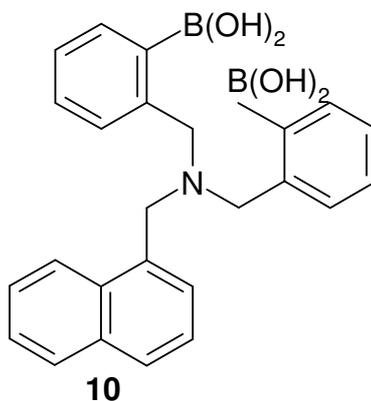
Esquema 5 - Quimiossensor cromogênico utilizado na detecção do dióxido de enxofre.

Outro quimiossensor que foi desenvolvido para a detecção de moléculas neutras, mais precisamente moléculas que possuam grupamento -SH, se utiliza de uma esquaraína, que ao reagir com o analito produz uma resposta colorimétrica (ROS-LIS et al., 2004), sendo possível dessa forma detectar fármacos e aminoácidos que apresentem esse grupamento em sua estrutura molecular (Esquema 6).



Esquema 6 – Quimiossensor fundamentado na reação de uma esquaraína com um tiol.

Uma das famílias mais importantes de produtos naturais envolve os derivados de sacarídeos e seus derivados. Por esse motivo, um estudo utilizando ácidos borônicos resultou no desenvolvimento de um quimiossensor fluorogênico capaz de detectar os sacarídeos que possuem em sua estrutura grupos dióis na posição cis. Nesse caso, apesar da similaridade das estruturas moleculares desses compostos, o ácido diborônico **10** é capaz de reconhecer o sacarídeo e formar ésteres cíclicos. Ao ocorrer a interação do ácido borônico com o sacarídeo, ocorre um aumento na intensidade da banda de emissão de fluorescência, sendo possível identificá-lo dentre outros sacarídeos (JAMES ; SHINMORI; SHINKAI, 1997).



1.4 MÉTODOS DE DETECÇÃO DE FÁRMACOS

A qualidade vem sendo utilizada como selo de garantia em qualquer produto industrial. Por esse motivo, o controle de qualidade dos produtos é indispensável na maioria dos processos industriais e em vários campos de aplicação. Nas indústrias farmacêuticas esse controle é essencial tendo em vista a finalidade dos produtos por ela produzidos. Desvios na qualidade desses produtos podem causar efeitos prejudiciais à saúde dos consumidores, podendo em casos extremos levar à morte.

Para que a indústria farmacêutica possa produzir e comercializar um fármaco, ela precisa cumprir as exigências dos órgãos responsáveis pela fiscalização das características e qualidade dos produtos. No Brasil, o órgão responsável por essa fiscalização é a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e as suas sedes regionais de vigilância sanitária. Essas exigências dizem respeito principalmente ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação (BPF's). As BPF's são um conjunto de normas específicas, determinadas pelas autoridades sanitárias, referentes à fabricação e ao controle de qualidade do fármaco, a fim de que sejam produzidos medicamentos seguros e eficazes. Entre elas, estão o controle de qualidade dos insumos, a validação dos processos de fabricação, as instalações e os equipamentos adequados e o treinamento de pessoal. Além da observação das BPF's, é necessário que os medicamentos produzidos sejam submetidos a testes de biodisponibilidade relativa e de bioequivalência farmacêutica antes de serem disponibilizados aos consumidores (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003).

O teste de equivalência farmacêutica implica na execução de testes físicos e físico-químicos comparativos entre o candidato a genérico ou similar e seu respectivo medicamento de referência, realizado por centro prestador de serviço em equivalência farmacêutica devidamente habilitado pela Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (REBLAS-ANVISA). Diferenças nos resultados podem significar diferenças na biodisponibilidade, comprometendo a bioequivalência entre os dois produtos (STORPIRTIS, 1999). Assim, para que o medicamento possa ser submetido ao estudo de biodisponibilidade relativa, que confirmará sua bioequivalência, o mesmo deve primeiramente ser aprovado nos testes farmacopéicos utilizados na equivalência farmacêutica, ou seja, deve ter sua qualidade assegurada.

A determinação de todos os parâmetros de qualidade em um processo industrial normalmente envolve um grande número de análises. Assim, um laboratório de controle de

qualidade dispõe de uma quantidade considerável de técnicas para o controle de rotina e atualmente a maioria dessas análises é realizada empregando métodos instrumentais.

As pesquisas na literatura disponível levam a resultados em que se observam principalmente dois grupos distintos e principais quando o assunto é verificar o teor de fármaco, o primeiro em que se utiliza a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e o segundo em que se empregam métodos titulométricos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2002).

Alguns grupos de pesquisa vêm trabalhando a possibilidade de empregar técnicas diferentes dos métodos oficiais, buscando dessa forma uma nova alternativa. Dentre esses métodos que vêm sendo utilizados podem ser citados o uso de eletroforese capilar (HILLAERT , VAN DEN BOSSCHE, 1999), espectroscopia de Raman (MAZUREC; SZOSTAK, 2005), amperometria (KORICANAC; JOVANOVIC; STANKOVIC, 1995), voltametria (SHAHROKHIAN; KARIMI; KHAJEHSHARIFI, 2005) e espectrofotometria no infravermelho (BLANCO; ALCALA, 2006).

As técnicas são diferentes, porém o objetivo das pesquisas é semelhante, ou seja, propor um método alternativo que diminua vários fatores, tais como: os custos das análises, o tempo gasto para cada amostra, os rejeitos ao término do processo, e que em contrapartida acabe aumentando a eficiência do processo, diminuindo a chance de erro e até mesmo antecipando a detecção e correção de eventuais problemas que possam acontecer no momento da produção de produtos farmacêuticos.

1.4.1 Generalidades sobre o captopril

Em 1949, Maurício Rocha e Silva descobriu que o veneno da jararaca em contato com o plasma canino disparava a produção de um hormônio, a bradicinina, regulador da pressão arterial. Seu aluno, Sérgio Ferreira, descobriu no veneno a substância que foi a base do anti-hipertensivo captopril, que acabou desenvolvido por uma indústria farmacêutica estrangeira, já que o Brasil não tinha na época condições de fazê-lo (KATZUNG, 1998).

O captopril, 1-[(2*S*)-3-mercaptopropionil]-*L*-prolina, faz parte do grupo de anti-hipertensivos classificados como inibidores da Enzima Conversora da Angiotensina

(ECA) e quando da sua descoberta representou um grande avanço no tratamento da hipertensão. Esse fármaco foi o primeiro inibidor da ECA a ser comercializado (GOODMAN; GILMAN, 1991). Constitui-se em um pó cristalino, branco ou levemente amarelado, com leve odor característico de sulfeto, é facilmente solúvel em água, etanol, clorofórmio, metanol e em soluções alcalinas, apresentando ponto de fusão entre 104 e 110 °C (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2002).

O captopril é disponível comercialmente com custos bastante baixos, além de estar incluso na lista de medicamentos distribuídos gratuitamente pelo SUS. Devido à grande utilização desse fármaco, é essencial a busca por métodos diferenciados para que possa ser efetuado o seu controle de qualidade.

A Farmacopéia Brasileira relata dois métodos oficiais para dosear o captopril, sendo o primeiro um método que utiliza a técnica de CLAE e o outro que é um método titulométrico. Pelo fato de ser um medicamento que já existe há várias décadas no mercado, é possível verificar uma grande quantidade de pesquisas envolvendo esse fármaco, porém até a última atualização dos métodos oficiais, nenhuma nova metodologia foi proposta pela comissão que compõe os estudos acerca da Farmacopéia Brasileira.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivos gerais

Este trabalho tem por objetivo principal desenvolver um quimiossensor cromogênico para a detecção visual e quantitativa do captopril.

1.5.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar e caracterizar o composto **1**;
- b) Verificar o potencial dos compostos **1** e **2** para atuarem como um quimiossensor cromogênico na detecção do captopril;
- c) Estudar as propriedades cinéticas da reação de formação envolvendo os compostos **1** e **2**;
- d) Determinar a estequiometria e a constante de ligação da interação entre o composto **2** e o captopril;
- e) Estudar a interação do composto **2** com o captopril.

1.6 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, vem crescendo o interesse pelo desenvolvimento de técnicas capazes de aprimorar a montagem e síntese de quimiossensores mais simples e de custo baixo para a identificação de cátions, ânions e moléculas neutras (LEHN, 2004; GALE, 2000). O planejamento desses quimiossensores ganhou destaque por causa do seu custo baixo, exigência de poucos equipamentos e principalmente por apresentarem alteração de cor quando na presença do analito facilitando a análise (CHO et al., 2005; GUNNLAUGSSON, 2006). Uma classe de quimiossensores que vem se destacando é a dos quimiossensores ópticos algumas vantagens apresentadas pelos quimiossensores ópticos são: (a) podem utilizar um receptor ligado covalentemente ao cromóforo; (b) apresentam maior sensibilidade que o uso das técnicas de RMN e de titulação potenciométrica; (c) podem ser aplicáveis tanto em meio aquoso como em meio orgânico; (d) utilizam quantidade bastante pequena de amostra; e (e) os valores de detecção são obtidos rapidamente (NIIKURA; BISSON; ANSLYN; 1999). Dentre as desvantagens, destaca-se o número relativamente pequeno de quimiossensores comerciais disponíveis no mercado (ANZENBACHER et al., 2004).

As possibilidades vão se expandindo e é notável um apelo à interdisciplinaridade na explicação da funcionalidade e na projeção de técnicas de caráter mais prático e viável para a detecção de analitos. Inúmeras são as perspectivas para o estudo de quimiossensores com elevada especificidade e seletividade, qualidade e segurança nos resultados, conforme as exigências contemporâneas (KIM; HONG, 2007; GARCÍA-ACOSTA et al., 2007; WANG et al., 2008).

Nessa perspectiva, os ensaios de laboratório para quimiossensores cromo- e fluorogênicos progrediram para os mais diversos campos, com importantes contribuições analíticas que vão desde os simples indicadores de pH (GOUVEIA-MATOS, 1999) até os atuais e sofisticados testes que funcionam em escala nanométrica (COLL et al., 2007), em sistemas planejados em nível molecular e supramolecular (WHITESIDES; MATHIAS; SETO; 1991; KUBIK; REYHELLER; STUWE, 2005; ANSLYN, 2007).

Os estudos envolvendo a técnica de fluorescência têm contribuído enormemente na melhoria da detecção de analitos, devido à sua excelente sensibilidade. O planejamento de quimiossensores fluorescentes tem atraído muita atenção nos últimos anos e alguns trabalhos têm sido publicados recentemente na literatura (LIN et al., 2009; GARCIA-ACOSTA et al., 2006; KUMAR; BHALLA; KUMAR, 2008, PINA-LUIS et al., 1998).

Apesar do grande avanço da química supramolecular e da síntese de receptores específicos, o desenvolvimento de quimiossensores para analitos neutros, e especialmente para os fármacos, não seguiu a mesma progressão.

A ANVISA prevê que os medicamentos passem por testes de equivalência farmacêutica antes de chegarem ao consumidor final, porém a grande quantidade de testes acabam gerando um alto custo para empresas, custos esses que são repassados aos consumidores através do preço final do medicamento. Isso é um fato preocupante, pois a população acaba sendo afetada por esses altos custos e até mesmo o governo federal acaba por arcar com custos mais elevados pelos medicamentos que adquire para serem disponibilizados no SUS.

Foi pensando nessa questão que grupos de pesquisa vêm trabalhando com o objetivo de implantar métodos que utilizem os conceitos da química supramolecular melhorando dessa forma limites de detecção, custos e confiabilidade das análises (LI et al., 2009; WANG; YANG; ZHAO, 2009).

O desenvolvimento de quimiossensores representa uma estratégia alternativa aos métodos titulométricos convencionais e aos métodos dispendiosos dos equipamentos de cromatografia, já que essas estratégias supramoleculares vêm oferecendo resultados interessantes. Além disso, a fundamentação é relativamente simples, consistindo em reações químicas entre corantes e analitos para o reconhecimento e detecção do analito.

Apesar de serem escassos, é possível encontrar estudos envolvendo fármacos e métodos colorimétricos que utilizem o aparelho de UV-Vis, como suporte para concretização dos resultados. Um exemplo que pode ser citado vem do grupo de pesquisa de Wang e colaboradores (2009), que recentemente propuseram um método no qual o captopril é detectado através da reação com ferricianeto de potássio. O método proposto se deve ao fato de o captopril reduzir Fe(III) para Fe(II), sendo que dessa forma Fe(II), reage com o ferricianeto de potássio dando uma coloração azul em pH 4.

O captopril é um fármaco amplamente utilizado e distribuído pelo SUS para o tratamento da hipertensão arterial. Desvios na qualidade desse produto podem causar efeitos prejudiciais à saúde dos consumidores, podendo em casos extremos levar à morte.

Por esse motivo, o controle de qualidade dos produtos é indispensável nos processos industriais e em vários campos de aplicação. Nas indústrias farmacêuticas, o controle é essencial tendo em vista a finalidade dos produtos produzidos por ela. Torna-se necessário que os medicamentos produzidos sejam submetidos a testes de equivalência farmacêutica e biodisponibilidade relativa antes de serem disponibilizados aos consumidores. Desse modo,

um laboratório de controle de qualidade dispõe de uma quantidade considerável de técnicas para o controle de rotina e atualmente a maioria destas análises é realizada empregando métodos instrumentais que acabam acarretando altos custos ao produto final.

Com o enfoque na busca por uma alternativa aos dispendiosos métodos e aos métodos pouco eficazes é que surge a busca por um quimiossensor para captopril. Os quimiossensores baseados em ensaios de competição vem sendo utilizados para a detecção de diferentes classes de analitos (GUO et al., 2004; XU et al., 2007), porém quando se trata da classe de moléculas farmacêuticas os estudos ainda não são satisfatórios.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MATERIAIS

A acetonitrila P.A. (Vetec) utilizada para os ensaios foi purificada conforme procedimento descrito na literatura e mantida em peneira molecular (4Å, Aldrich) (FURNISS et al., 1989). A água ultra-pura (18,2 MΩ cm a 25 °C) foi obtida através do sistema Direct-Q® 3 UV (Millipore), sendo a seguir fervida e mantida em uma atmosfera de nitrogênio para evitar a presença de gás carbônico.

O composto **2** foi adquirido da Fluka com 98% de pureza e o captopril foi adquirido da Fluka com 99% de pureza.

O composto **1** foi preparado seguindo a metodologia preconizada por Guo et al. (2004), através da condensação do pirrol com excesso de di-hidroxiacetona na presença de ácido trifluoroacético. O procedimento detalhado pode ser acompanhado no item **2.1.1**

2.1.1 Síntese do composto 1

Um balão de fundo redondo fechado com tampa de borracha foi submetido a um fluxo de argônio durante 5 minutos. Foram então, adicionados ao balão através do uso de uma seringa, o pirrol (16,5 g; 0,24 mol) e a di-hidroxiacetona (1 g; 0,011 mol). A seguir foi gotejado ácido trifluoroacético (0,0833 mL; 1,1 mmol) e a solução foi agitada sob atmosfera de argônio a 60 °C por cinco minutos (Esquema 7). Após esse período, a agitação foi continuada durante 36 horas (o aquecimento foi suspenso). Percebeu-se, próximo do período de 36 horas, o início da formação de um precipitado de coloração branco-acinzentada. A mistura reacional foi então tratada com dietilamina até atingir pH 8. O sólido obtido foi filtrado e recristalizado com uma mistura de hexano/clorofórmio (1:1).

2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

Os espectros de UV-Vis e as corridas cinéticas foram realizados com o espectrofotômetro de UV-Vis Varian Cary Bio 50 equipado com banho termostático, com temperatura controlada de $25,0 \pm 0,1$ °C.

A cubeta de quartzo utilizada nas leituras foi fechada com septo de borracha para evitar a volatilização do solvente.

O espectro de infravermelho (IV) do composto **1** foi obtido no Departamento de Química da FURB em um espectrofotômetro IR Prestige - 21 da Shimadzu, sendo a amostra preparada na forma de pastilhas de KBr (1% m/m).

O ponto de fusão do composto foi determinado em um aparelho Microquímica modelo APF-301 e não foram corrigidos.

O espectro de RMN de ^1H foi obtido juntos à Central de Análises do Departamento de Química da UFSC em um espectrômetro modelo Bruker AC 200, 400 MHz. Os deslocamentos químicos foram registrados em ppm usando-se a ressonância do solvente (clorofórmio deuterado) como padrão interno.

2.3 MÉTODOS

As corridas cinéticas foram efetuadas sob condições de primeira ordem com excesso de 30 vezes do composto **1** em relação do composto **2**. Todas as misturas reacionais foram realizadas em condições experimentais que levaram a cinéticas estritamente de primeira ordem. Os valores da constante de velocidade observada de primeira ordem (k_{obs}) foram obtidos graficamente empregando a Equação 1, na qual A_t representa a absorbância em um tempo t qualquer, A_∞ o valor da absorbância em tempo infinito e A_0 representa a absorbância para o tempo t igual a zero. O gráfico de $\ln(A_\infty - A_t)$ como função do recíproco da temperatura termodinâmica forneceu uma correlação linear na qual $\ln A_0$ é igual ao intercepto e k_{obs} representa o coeficiente angular.

$$\ln (A_\infty - A_t) = -k_{\text{obs}} t + \ln A_0 \quad (1)$$

O cálculo dos parâmetros de ativação foi feito através dos valores de k_{obs} para as reações em quatro temperaturas diferentes, variando entre 25 e 55°C. Para o cálculo, foi empregada a equação de Eyring (MASKILL, 1985), representada na forma da Equação 2, na qual k_{obs} refere-se à constante de velocidade observada de primeira ordem, h a constante de Planck, k_B a constante de Boltzmann, T a temperatura em Kelvin e R a constante universal dos gases. ΔS^\ddagger é a variação de entropia de ativação e ΔH^\ddagger é a variação de entalpia de ativação. Um gráfico de Eyring de $\ln [k_{\text{obs}} h (k_B T)^{-1}]$ como função do recíproco da temperatura termodinâmica forneceu uma correlação linear na qual $\Delta S^\ddagger R^{-1}$ é igual ao intercepto e $\Delta H^\ddagger R^{-1}$ representa o coeficiente angular. As energias de ativação (E_a) foram fornecidas através da Equação 3 enquanto as variações de energia livre de ativação (ΔG^\ddagger) foram calculadas a partir da Equação 4.

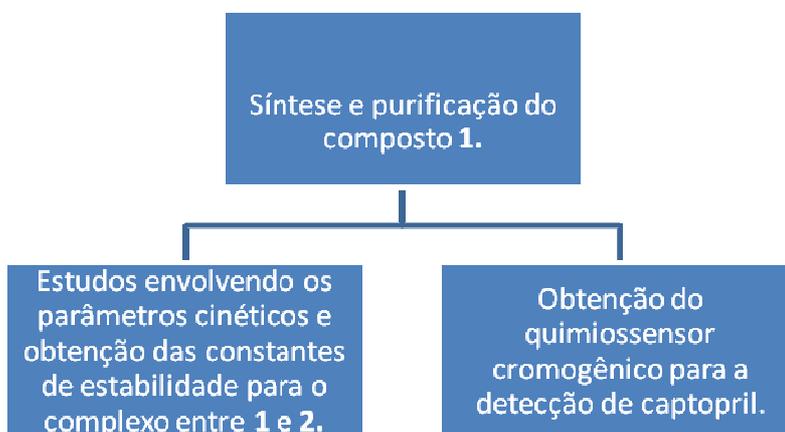
$$\ln [k_{\text{obs}} h (k_B T)^{-1}] = \Delta S^\ddagger R^{-1} - \Delta H^\ddagger (RT)^{-1} \quad (2)$$

$$\ln k_{\text{obs}} = - E_a / RT + \ln A \quad (3)$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger \quad (4)$$

O tempo de meia-vida foi obtido através da constante da velocidade, já que em uma reação de primeira ordem, a meia-vida depende unicamente da constante de velocidade ($t_{1/2} = 0,693/k_{\text{obs}}$).

A parte experimental do trabalho ficou dividida da seguinte forma:



2.3.1 Obtenção da constante de associação do complexo envolvendo os compostos 1 e 2 em acetonitrila e em misturas de acetonitrila com água

Para obter os dados da constante de associação do complexo entre os compostos **1** e **2**, preparou-se uma solução de **2** em acetonitrila na concentração de $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ e uma solução de **1** no mesmo solvente, porém em concentração $2 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Foram realizadas adições em volumes crescentes da solução de **1**, em uma série de 13 balões volumétricos de 5 cm^3 completando o volume com a solução de **2**, sucessivamente, até o último balão, que teve um volume de $5,0 \text{ cm}^3$ de **1**. As soluções preparadas foram agitadas e deixadas em repouso por 24 horas, tempo necessário para que o equilíbrio fosse alcançado, já que após esse período não ocorre variação no valor da absorbância. Os espectros de UV-Vis foram feitos e os dados foram transformados em gráficos de absorbância para o máximo em 634 nm. Os dados foram ajustados a uma curva teórica traçada por meio de um modelo matemático.

O mesmo experimento foi feito utilizando-se uma mistura acetonitrila:água tamponada (9:1, v/v). A água foi tamponada com tampão tris(hidroximetil)aminometano (TRIS; Aldrich), tampão esse que foi preparado na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ e o pH foi ajustado para 7,0.

2.3.2 Titulação do composto 2 com o captopril em acetonitrila e misturas de acetonitrila com água

Inicialmente foram preparados 50 cm^3 de solução do composto **2** em acetonitrila em uma concentração de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. A solução obtida apresentou coloração amarelo-pálida e a leitura no espectrofotômetro mostrou um comprimento de onda máximo em 394 nm. Parte dessa solução foi usada para preparar 10 cm^3 de uma solução estoque de captopril com concentração de $3 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$.

A seguir, foram colocados $2,0 \text{ cm}^3$ da solução estoque de captopril em um frasco pequeno de vidro fechado com tampa de borracha e vedado com parafilme e foi colocado um volume de $\pm 1,0 \text{ cm}^3$ da solução do composto **2** em uma cubeta de quartzo fechada com septo de borracha, vedada com parafilme e previamente pesada. Em seguida, foi realizado o espectro de UV-Vis a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. A primeira leitura sempre foi realizada para a solução do

composto **2** a ser titulado, sem a adição do fármaco. Em seguida a cada adição do captopril fez-se um espectro e os valores das absorvâncias foram coletados nos valores de λ_{max} de 394 nm e 481 nm. O procedimento foi seguido até se observar que a adição do fármaco não provocou mudanças na absorvância. Os dados coletados serviram para a construção das curvas de titulações, na forma de gráficos de absorvância em função da concentração do captopril.

2.3.3 Estudos cinéticos da formação do complexo de **1** com **2** em acetonitrila

Primeiramente foram preparados 50 cm³ de uma solução de **2** em concentração igual a $2,0 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³ em acetonitrila e a essa solução foi adicionado o composto **1** de forma que a concentração desse último ficasse na ordem de $6,0 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³. Essa solução foi colocada dentro de uma cela de vidro conectada a um banho termostatizado, a fim de manter a temperatura do sistema em $5,0 \pm 0,1$ °C, para que a exposição direta às diferentes fontes de luminosidade não ocasionasse o aumento da temperatura da solução em teste. Outro cuidado importante foi o uso de um sistema que permitia somente exposição à lâmpada que estava sendo testada, evitando dessa forma que a luminosidade do ambiente interferisse no resultado das leituras espectroscópicas (Figura 3).

As soluções contendo **1** e **2** foram submetidas à exposição de cinco lâmpadas diferentes, durante um período de 24 horas. Ao longo do período, foram retiradas pequenas alíquotas da mistura reacional, com as quais foram realizadas leituras das absorvâncias nos valores de λ_{max} de 394 nm e 634 nm, durante um período de 150 minutos, intercalando as leituras em intervalos de 5 minutos.



Figura 3 - Sistema adaptado para a realização dos testes com diferentes fontes de luminosidade.

As lâmpadas testadas foram identificadas como A, B, C, D e E, sendo a lâmpada A uma lâmpada que emite radiação UV, a qual foi operada na frequência de 365 nm, a lâmpada B apresentou uma fonte incandescente refletora com potência igual a 60 W, a lâmpada C uma lâmpada halógena incandescente com potência igual 100 W e as lâmpadas D e E lâmpadas compactas fluorescentes sendo as potências na ordem de 23 e 46 W, respectivamente. Também foi realizado um teste com uma amostra da mistura de **1** com **2** sem exposição a nenhuma fonte de luminosidade.

A Figura 4 demonstra sucintamente o que foi descrito anteriormente:

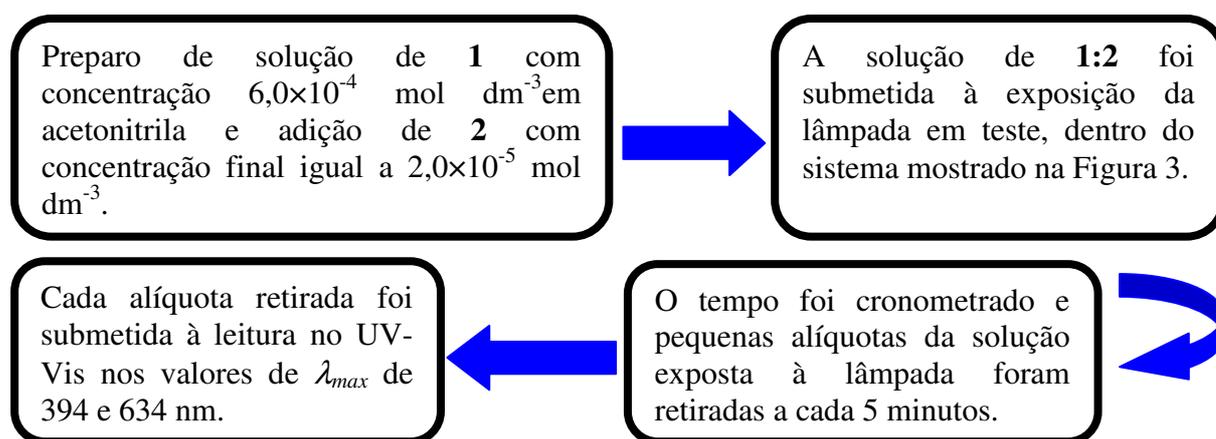


Figura 4 – Estudo cinético envolvendo os compostos **1** e **2** em acetonitrila.

Outro teste foi realizado com o objetivo de verificar o potencial do aumento de temperatura no processo de aceleração o tempo de reação de **1** com **2**. Nesse caso, foram preparados 50 cm³ de solução de **2** com concentração igual a 2,0×10⁻⁵ mol dm⁻³ em

acetonitrila, e a essa solução foi adicionado o composto **1** para uma concentração igual a $6,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Essa solução foi colocada dentro de uma cela de vidro conectada a um banho termostático (Figura 3), a fim de ajustar a temperatura para os distintos testes. As amostras foram submetidas a uma única fonte de luminosidade, alterando-se somente a temperatura no intervalo entre 25–55 °C, a cada 10 °C. A exposição da solução contendo **1** e **2** foi realizada sendo que foram retiradas pequenas alíquotas da solução em análise e submetidas à leitura espectroscópica. As absorvâncias foram então anotadas para os valores de λ_{max} de 394 nm e 634 nm, durante um período de 150 minutos.

2.3.4 Experimento de titulação do captopril com os compostos 1 e 2 em acetonitrila e mistura de acetonitrila com água

Inicialmente prepararam-se 50 cm^3 de solução do composto **2** em acetonitrila a uma concentração de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. A solução obtida apresentou coloração amarelo-pálida e a leitura no espectrofotômetro mostrou um comprimento de onda máximo em 394 nm. Sobre essa solução foi adicionado o composto **1** para uma concentração de $2 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Com esse sistema contendo os compostos **1** e **2** foram preparados 10 cm^3 de uma solução contendo captopril na concentração de $1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$. As soluções foram submetidas a um período de 24 horas de repouso, para então ser procedida a titulação.

Após 24 horas, foram colocados $2,5 \text{ cm}^3$ da solução do sistema contendo **1**, **2** e o captopril em um frasco pequeno de vidro fechado com tampa de borracha e vedado com parafilme. Foi adicionado um volume de $1,0 \text{ cm}^3$ da solução do sistema contendo somente **1** e **2** na cubeta de quartzo, tendo-se o cuidado de determinar a respectiva massa. A cubeta foi fechada com septo de borracha e vedada com parafilme. Em seguida, foi realizado o espectro de UV–Vis a 25 °C. A primeira leitura sempre foi realizada para o sistema a ser titulado, sem a adição do fármaco. Em seguida, a cada adição feita do captopril, o espectro foi realizado e as absorvâncias foram coletadas para os valores de λ_{max} de 481 nm e 634 nm. O procedimento foi seguido até se observar que a adição do fármaco não provocou mudanças na absorvância. Os dados coletados serviram para a construção das curvas de titulações, na forma de gráficos dos valores das absorvâncias como função da concentração do captopril.

A Figura 5 demonstra sucintamente o que acabou de ser descrito.

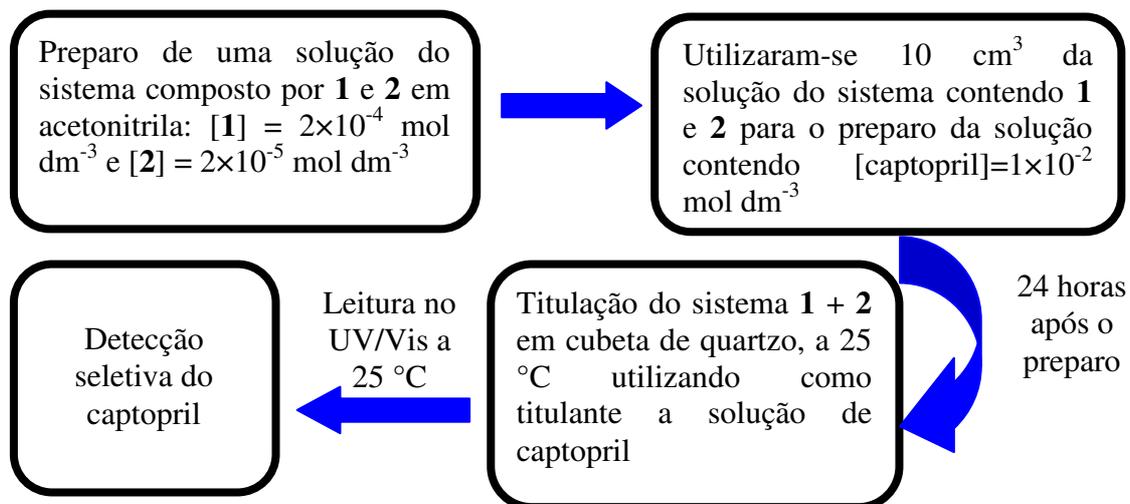


Figura 5 – Ensaio experimental do estudo do captopril com os compostos 1 e 2 em acetoneitrila.

Posteriormente ao ensaio envolvendo os compostos 1 e 2 em acetoneitrila, outro experimento idêntico foi realizado, variando-se o solvente para uma mistura de acetoneitrila/água tamponada (9:1, v/v), respectivamente. A água foi tamponada com tampão TRIS, na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ e o pH foi ajustado para 7,0.

A Figura 6 demonstra sucintamente o que foi descrito anteriormente:

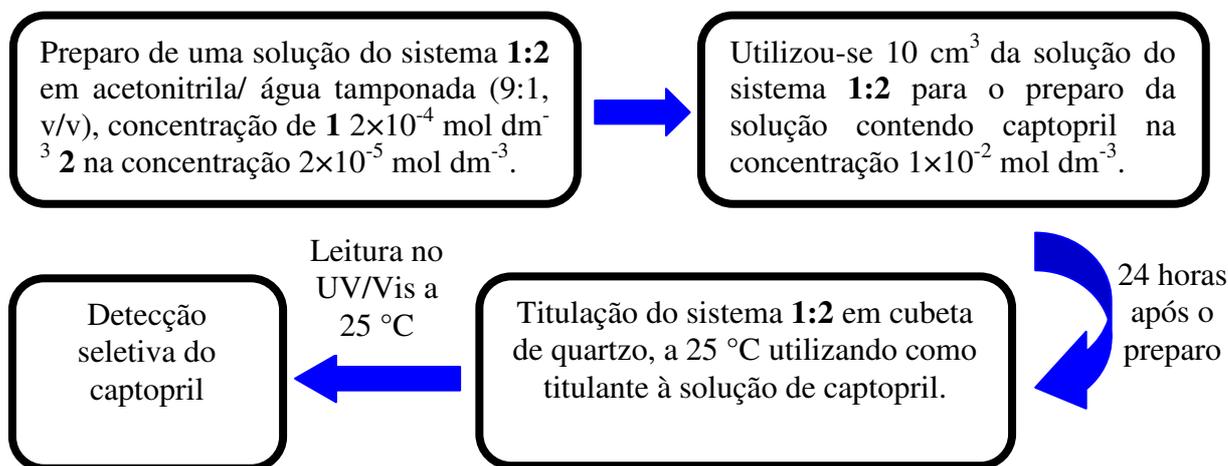
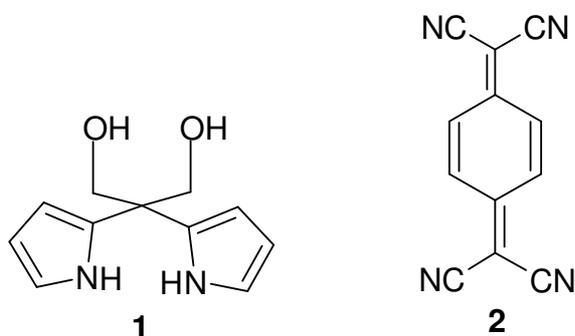


Figura 6 – Ensaio experimental do estudo do captopril com os compostos 1 e 2 em mistura de acetoneitrila e água tamponada.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se aliar os ensaios de competição à possibilidade de formação de complexos de transferência de carga podem-se explorar, pelo uso dos compostos **1** e **2**, diversas estratégias para a detecção de espécies aniônicas e neutras. Com o objetivo de verificar a potencialidade do complexo de transferência de carga envolvendo os compostos **1** e **2** na montagem de um quimiossensor baseado em ensaios de competição para o captopril, foi realizada uma série de testes que podem ser acompanhados através das próximas seções.

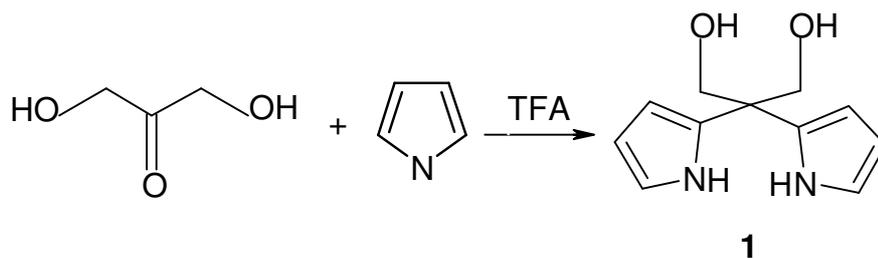


3.1 SÍNTESE DO COMPOSTO 1

O procedimento sintético para a obtenção do composto **1**, resultou na obtenção de 1,51 g (rendimento de 66,6%) de um sólido amorfo de coloração branco-acinzentada, com ponto de fusão igual a 116 °C (p.f. lit. (GUO et al., 2004) 118–119 °C).

O Esquema 7 demonstra a reação envolvida na síntese do composto **1**. Através do espectro de infravermelho foi possível obter a caracterização das principais bandas relativas ao composto **1**, sendo elas (pastilha de KBr, $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3375 (N-H), 3282 (O-H), 1554 (C=C), 1033 (C-O), 725 (C-H) (Ver apêndice 1).

O espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) complementou a caracterização do composto, como pode ser verificado através dos picos observados: δ 8,73 (*s*, 2H, NH), δ 6,73 (*d*, 2H, pirrol - H_α), 6,23 (*m*, 2H, pirrol - H_β), 6,13 (*m*, 2H, pirrol- H_γ), 4,08 (*d*, 4H, CH_2), 2,08 (*t*, 2H, OH) (Ver apêndice 2).



Esquema 7 - Esquema geral da síntese do composto **1**.

3.2 ESTUDOS PARA OBTENÇÃO DA CONSTANTE DE ASSOCIAÇÃO DO COMPLEXO FORMADO COM OS COMPOSTOS **1** E **2** EM ACETONITRILA E EM MISTURA DE ACETONITRILA COM ÁGUA

Antes mesmo de realizar as titulações envolvendo o captopril e o complexo formado pelos compostos **1** e **2**, realizaram-se alguns testes para verificar a potencialidade dos compostos envolvidos na montagem do quimiossensor. Com esse experimento foi possível determinar a constante de associação do complexo formado e verificar particularidades da reação, tais como, tempo total para que o equilíbrio da reação seja alcançado, a influência da temperatura e da luminosidade na velocidade da reação.

Primeiramente, verificou-se que o composto **2** em acetonitrila apresenta uma banda de absorção com o λ_{max} em 394 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 5,4 \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) que diminui a intensidade de absorção ao se adicionar o composto **1**. Após aproximadamente 30 minutos da adição do composto **1** à solução do composto **2** começa ocorrer mudança na coloração da solução. A coloração amarelo-pálida passa para uma coloração azul de fraca intensidade e simultaneamente começa aparecer uma banda com o λ_{max} em 634 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 3,9 \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Com o passar do tempo, a coloração azul vai sendo intensificada e a banda de λ_{max} em 634 nm tem sua absorbância aumentada, enquanto a banda com λ_{max} em 394 nm desaparece (Figura 7A).

Considerando-se que a reação de interação de **1** com **2** é lenta em temperatura ambiente, os dados foram coletados em um intervalo de tempo suficientemente largo para que não ocorresse mais mudança no valor da absorbância no λ_{max} em 634 nm, mais precisamente 24 horas após o início da reação. A curva de titulação, na forma de um gráfico dos valores de absorbância em 634 nm em função da concentração de **1**, encontra-se mostrada na Figura 7B.

Através do gráfico, a estequiometria e o valor da constante de associação do complexo envolvendo os compostos **1** e **2** puderam ser obtidos.

Os dados experimentais foram ajustados com o uso da Equação 5 (ZIMMERMANN–DIMER; MACHADO, 2009; CONNORS, 1987), que se relaciona à situação experimental de acordo com uma estequiometria que envolve a participação de 1 molécula do composto **2** para 2 moléculas do composto **1**.

$$Abs = [Abs_0 + Abs_{12}K_{12}C_F^2] / [1 + K_{12}C_F^2] \quad (5)$$

Nessa equação, Abs é o valor de absorvância após cada adição do composto **1**, Abs_0 é a absorvância inicial sem o composto **1** adicionado, Abs_{12} é o valor máximo de absorvância obtida pela adição do composto **1** considerando-se estequiometria 1:2. C_F é a concentração do composto **1** em cada adição e K_{12} é a constante de ligação. A Equação 5 ajustou os dados experimentais, levando à obtenção de $K_{12} = (2,03 \pm 0,11) \times 10^9 \text{ dm}^6 \text{ mol}^{-2}$, com $r^2 = 0,998$ e S.D. = $1,2 \times 10^{-4}$.

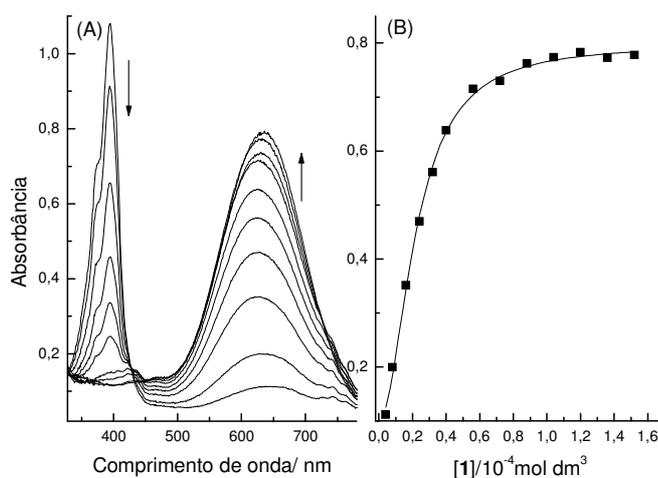


Figura 7 - (A) Influência da adição de quantidades crescentes de **1** sobre o espectro de UV–Vis de **2** em acetonitrila a 25 °C. (B) Variação da absorvância em 634 nm de **2** com adição de quantidades crescentes de **1**.

Outro experimento envolvendo os mesmos compostos e o mesmo tempo de reação foi realizado, porém em acetonitrila com 10% (v/v) de água tamponada (tampão TRIS). As características observadas anteriormente, relacionadas ao tempo de reação e ao comportamento das bandas em λ_{max} em 394 e em 634 nm com o decorrer do tempo, se mantiveram (Figura 8A). Observou-se, no entanto que a Equação 5 não pôde ser usada para ajustar satisfatoriamente os dados experimentais da curva de titulação obtida, o que sugere mudança na estequiometria do complexo formado. Assim, os dados experimentais da curva de

titulação mostrada na Figura 8B foram ajustados a uma curva teórica traçada por meio de um modelo matemático (ZIMMERMANN–DIMER; MACHADO, 2009; CONNORS, 1987) que leva em consideração a participação de uma molécula do composto **2** para uma molécula do composto **1** (Equação 6).

$$Abs = [Abs_0 + Abs_{11}K_{11}C_F] / [1 + K_{11}C_F] \quad (6)$$

Na Equação 6, Abs é o valor de absorvância após cada adição do fármaco, Abs_0 é a absorvância inicial sem fármaco adicionado, Abs_{11} é o valor máximo de absorvância obtida pela adição do fármaco considerando-se estequiometria 1:1. C_F é a concentração do fármaco em cada adição e K_{11} é a constante de ligação. Através do uso da equação, a constante de associação do complexo **1:2** para uma estequiometria do tipo 1:1, K_{11} , pôde ser obtida, sendo igual a $(2,17 \pm 0,17) \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ($r^2 = 0,997$ e S.D. = $1,2 \times 10^{-4}$).

Assim, é possível observar pela comparação dos dados que a adição de água ao meio leva à diminuição da magnitude do valor da constante de associação, além da estequiometria do complexo formado ser completamente influenciada por essa mudança. É preciso ser considerado que a água é um solvente capaz de fazer ligações de hidrogênio com os grupos NH e hidroxilados do composto **1**, o que deve dificultar a interação de **1** com o composto **2**, levando assim à diminuição no valor da constante e à mudança na estequiometria.

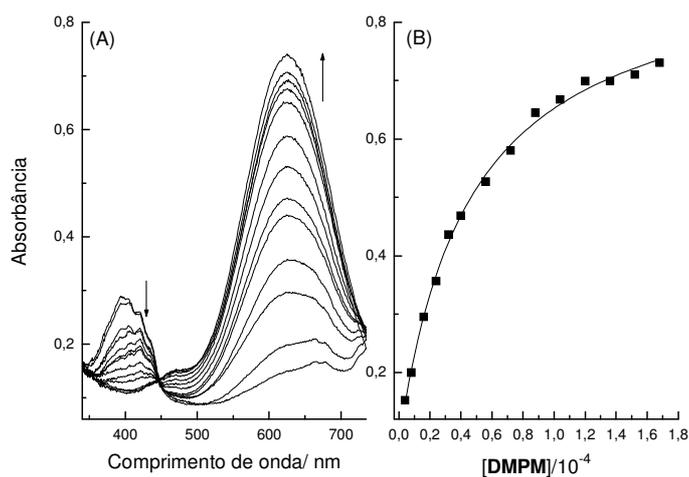


Figura 8 - (A) Influência da adição de quantidades crescentes de **1** sobre o espectro de UV–Vis de **2** em mistura de acetonitrila com água a 25 °C. (B) Variação da absorvância em 634 nm de **2** com adição de quantidades crescentes de **1**.

3.3 ESTUDOS CINÉTICOS DA REAÇÃO ENVOLVENDO OS COMPOSTOS 1 E 2

Durante a realização dos primeiros ensaios da parte experimental, foi observado que a não exposição da solução contendo os compostos **1** e **2** à luminosidade não levou à mudança de coloração de amarelo-pálido para azul, e conseqüentemente não ocorreu a formação do complexo. Essa informação sugere que o processo de transferência de elétrons para a formação do complexo entre **1** e **2** é guiado fotoquimicamente. Com o objetivo de estudar melhor esse processo e, como conseqüência, descobrir uma forma de acelerar a reação que envolva a formação do complexo entre **1** e **2** para que essa reação alcance de forma mais rápida o equilíbrio, foram realizados alguns estudos em que as soluções dos compostos **1** e **2** foram submetidas a diferentes fontes de luminosidade e também em diferentes temperaturas.

3.4 INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES TIPOS DE LUMINOSIDADE NA VELOCIDADE DA REAÇÃO ENVOLVENDO OS COMPOSTOS 1 E 2

As soluções dos compostos **1** e **2** foram submetidas à exposição de cinco diferentes lâmpadas e foram coletadas as alíquotas das soluções no intervalo de tempo de 5 minutos, sendo que essas alíquotas foram submetidas à leitura no espectrofotômetro de UV-Vis. Os valores da absorbância no λ_{max} em 634 nm foram anotados e os dados foram graficados. Através desses dados, foi possível verificar o quanto a reação é acelerada quando exposta à luminosidade, realmente comprovando que a reação de formação do complexo é fotoquímica (Figura 9).

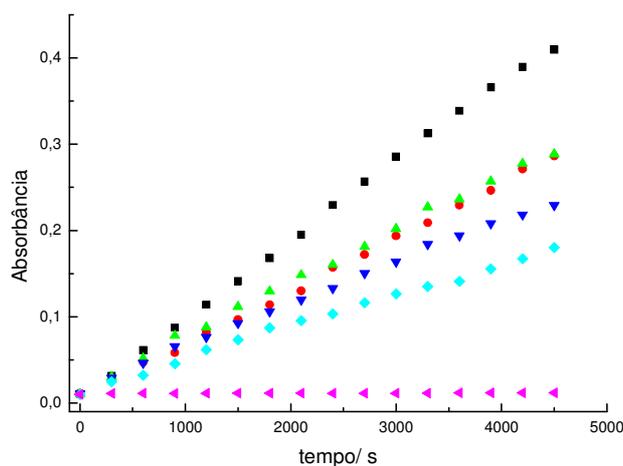


Figura 9 – Gráfico da absorbância vs. tempo para a reação entre os compostos **1** e **2**, exposta à lâmpada UV 365 nm (■), incandescente de 60 W (▲), fluorescente de 46 W (equivalente a uma lâmpada incandescente de 160 W) (●), halógena de 100 W (▶), fluorescente de 23 W (equivalente a uma lâmpada incandescente de 100 W) (◆) e finalmente sem exposição à luminosidade (◀). As absorbâncias foram obtidas no λ_{\max} de 634 nm.

Com os dados da Figura 9, foram obtidas, através da aplicação da Equação 1 (ver parte experimental), os valores de k_{obs} e os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) da reação. Com esses parâmetros foi possível analisar com uma maior acurácia o quanto a reação é fotoquimicamente acelerada quando exposta à luminosidade (Tabela 1). Conforme pode ser observado, embora todas as lâmpadas tenham apresentado eficiência para efetuar o processo, a maior eficiência ocorreu com a lâmpada UV (365 nm).

Tabela 1 - Influência das diferentes fontes de luminosidade sobre a velocidade da reação do composto 1 com o composto 2 em acetonitrila com temperatura controlada a 5 °C.

Fonte luminosa	$10^{-4} k_{\text{obs}}/\text{s}^{-1}$	$t_{1/2}/\text{min}$
Lâmpada UV 365 nm	1,80(±0,05)	64,5
Lâmpada incandescente 60 W	1,38(±0,04)	84,3
Lâmpada fluorescente 46 W	1,36(±0,03)	85,0
Lâmpada halógena 100 W	1,13(±0,01)	102
Lâmpada fluorescente 23 W	0,84(±0,01)	137

A lâmpada UV operada no comprimento de onda de 365 nm acelerou de forma significativa a reação, pois com o menor comprimento de onda da radiação a frequência da energia produzida aumentou. Como o complexo formado entre **1** e **2** é de transferência de

carga, essa fonte de luminosidade fez com que a transferência de elétrons de um nível mais baixo de energia para um nível energético mais alto ocorresse de forma mais rápida.

As outras lâmpadas testadas também aceleraram o processo, porém com intensidades menores, já que as mesmas são operadas em comprimentos de onda maiores (região visível), de menor frequência energética.

Após a lâmpada UV, a lâmpada que mais acelerou a reação foi uma lâmpada incandescente com características um pouco diferentes das lâmpadas normais, pois apresenta o seu bulbo quase que inteiramente recoberto com uma camada refletora. Isso foi vantajoso por direcionar o fluxo luminoso para uma determinada região. Assim, apesar dessa lâmpada apresentar uma potência menor que as outras lâmpadas testadas posteriormente, o seu resultado foi superior devido ao fluxo luminoso estar concentrado inteiramente sobre a amostra em análise.

A preocupação em manter a amostra em um sistema com baixa temperatura e de forma controlada foi justamente adaptado devido ao estudo com lâmpadas do tipo incandescente. O funcionamento desse tipo de lâmpada envolve o aquecimento de um filamento de tungstênio em altas temperaturas, aproximadamente 3.400 °C, apresentando um baixo rendimento de luminosidade e um alto rendimento em calor (CREDER, 1986).

A lâmpada fluorescente de 46 W apresentou um resultado bastante semelhante à lâmpada incandescente refletora de 60 W. As lâmpadas fluorescentes compactas apresentam um fluxo luminoso mais intenso que as lâmpadas incandescentes, pois a emissão de luz se dá pela passagem de uma corrente elétrica por um gás (geralmente argônio). Essa descarga emite quase que totalmente na região do UV, que por sua vez é convertida em luz visível através da passagem por uma camada de fósforo que reveste o bulbo das lâmpadas, sendo que a passagem da corrente pelo argônio gera um alto fluxo luminoso e pouco calor.

A lâmpada halógena incandescente utilizada nesse teste opera pelo mesmo sistema das lâmpadas incandescentes refletoras e normais com o diferencial de possuir um halogênio (bromo, iodo ou outras substâncias) em seu interior, para que este faça a reparação do filamento de tungstênio. Seu fluxo luminoso é bastante próximo do fluxo da lâmpada fluorescente de 46 W, porém a justificativa para que a reação não fosse tão acelerada quanto observado para a lâmpada fluorescente de 46 W pode ser devido ao ângulo de abertura do feixe luminoso. A lâmpada fluorescente compacta proporcionou um direcionamento muito mais eficaz para a amostra do que a lâmpada halógena. A lâmpada halógena não possui um bom direcionamento do feixe luminoso, justamente por este motivo acaba sendo utilizada em ambientes amplos, aonde não é exigido o direcionamento da luminosidade.

A lâmpada com menor eficácia foi a lâmpada fluorescente compacta de menor potência (23 W). Por mais que a eficácia do seu fluxo luminoso seja comparável a das lâmpadas incandescentes normais, no presente caso não foi suficiente para superar a eficiência da lâmpada incandescente devido ao fato desta última ter apresentado bulbo com sistema refletor, o que acabou direcionando todo o fluxo luminoso para o sistema contendo a solução.

As lâmpadas em teste favoreceram a reação, pois se trata de uma reação de transferência de carga, quando a fonte luminosa incide na amostra ocorre a excitação de um elétron do nível energético ocupado de mais alta energia (LUMO) para o orbital não ocupado de mais baixa energia (HOMO), observando-se desta forma a mudança de coloração e as mudanças espectrais.

3.5 INFLUÊNCIA DAS DIFERENTES TEMPERATURAS NA VELOCIDADE DA REAÇÃO ENVOLVENDO OS COMPOSTOS 1 E 2

O aumento de temperatura foi outro parâmetro que foi variado durante os testes, pois como a luminosidade foi um fator que apresentou um ótimo resultado para acelerar a reação entre o composto **1** e o composto **2**, a temperatura também poderia agir nesse sentido. Assim, foram testadas quatro diferentes temperaturas e foi mantida constante a fonte de luminosidade que incidia na amostra.

Primeiramente a amostra foi mantida sob aquecimento em banho termostatizado sem nenhuma fonte de luminosidade e verificou-se que a reação não ocorreu.

Na seqüência foi escolhida a lâmpada de UV (365 nm), a qual favoreceu a reação enormemente, tendo resultado nas maiores acelerações de velocidade da reação nos testes efetuados a 5 °C. Então submeteu-se uma nova amostra para o ensaio, porém, em condições de temperatura a 25 °C e exposta à luminosidade gerada pela lâmpada de UV (365 nm), entretanto o processo foi acelerado de tal forma que não foi possível acompanhar através de corridas cinéticas, além de se observar que a amostra rapidamente mudou da coloração amarelo-pálida inicial para coloração azul e em seguida para uma coloração esverdeada, podendo ser um indicativo de que o complexo entre o composto **1** e **2** havia se formado, porém rapidamente levou à formação de alguma outra espécie.

Assim, para os testes, foi utilizada a segunda lâmpada dos testes anteriores que levaram aos melhores resultados sobre a aceleração da reação entre os compostos **1** e **2**, ou

seja, a lâmpada incandescente refletora de 60 W. Os valores de absorvância foram obtidos no λ_{max} em 634 nm e graficados em função do tempo (Figura 10). Os dados experimentais foram ajustados com o uso da Equação 1, para obter a constante de velocidade (k_{obs}) e o tempo de meia-vida $t_{1/2}$ (Tabela 2). Os dados demonstram que com o aumento da temperatura a reação entre **1** e **2** ocorre mais rapidamente.

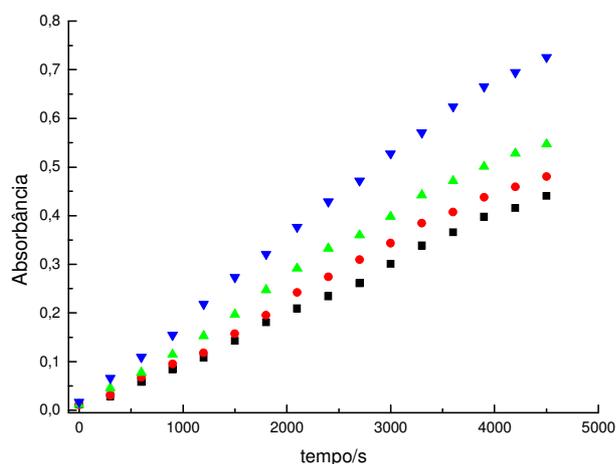


Figura 10 – Gráfico da absorvância vs. tempo para a reação entre os compostos **1** e **2**, quando expostos à lâmpada incandescente (60 W) e à temperatura de 25 °C (■), 35 °C (●), 45 °C (▲) e 55 °C (▼). As absorvâncias foram obtidas no λ_{max} de 634 nm.

Outra informação importante que foi verificado durante os testes, é que ao submeter a amostra a uma temperatura maior que 60 °C, a reação de formação do complexo entre **1** e **2**, ocorre de forma diferente, pois ao invés de a solução apresentar coloração azul, observa-se uma coloração amarelo-esverdeado, sendo indicativo que algum processo ocorre simultaneamente a formação do complexo de transferência de carga π - π .

Tabela 2 - Influência do aumento da temperatura sobre a velocidade da reação do composto 1 com 2 em acetonitrila com exposição à fonte de luminosidade incandescente de 60 W.

Temperatura / ° C	$10^{-4} k_{\text{obs}}/\text{s}^{-1}$	$t_{1/2}/\text{min}$
25	2,07(±0,07)	55,8
35	2,37(±0,08)	48,7
45	2,65(±0,07)	41,8
55	3,06(±0,11)	37,9

Após a obtenção do valor de k_{obs} , foi possível o cálculo dos parâmetros de ativação da reação. Refletindo diretamente na constante de velocidade da reação, o efeito da temperatura

sobre o processo geralmente é analisado realizando-se experimentos em três ou mais temperaturas diferentes, a fim de se avaliar o efeito da temperatura sobre a velocidade do processo, o que permite calcular a energia de ativação (E_a) do processo. Por meio de gráficos de Arrhenius (Figura 11), foi determinado o valor de E_a o qual foi igual a $10,38 (\pm 0,16)$ kJ mol⁻¹. O gráfico de Eyring (Figura 12) foi usado para a obtenção dos valores de ΔH^\ddagger , tendo sido obtido o valor de $7,57 (\pm 0,39)$ kJ mol⁻¹ e de ΔS^\ddagger igual a $-289,99 (\pm 1,26)$ J K⁻¹ mol⁻¹. O valor de ΔG^\ddagger foi obtido através da Equação 4 (ver parte experimental), fornecendo um valor de $98,14 (\pm 0,15)$ kJ mol⁻¹. O valor de ΔS^\ddagger elevado e negativo é mais uma evidência da formação de um complexo entre os compostos **1** e **2**, já que reflete uma maior ordenação no sistema no estado de transição.

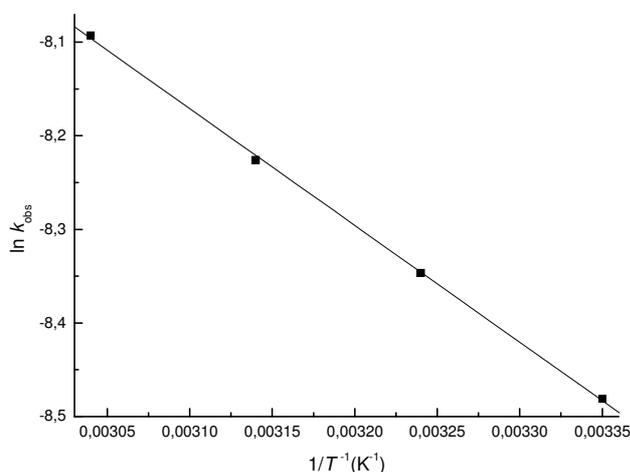


Figura 11 - Gráfico de $\ln k_{obs}$ vs. $1/T$ para a reação do composto **1** com o composto **2** em acetonitrila ($r^2 = 0,999$; s.d. = 0,00457; $a = 4,30$; $b = -1,28 \times 10^3$).

Ainda com relação à Figura 11, a inclinação da reta se apresenta acentuada, fornecendo um valor para E_a ($10,38$ kJ mol⁻¹), confirmando dessa forma que a velocidade da reação é sensível a elevações de temperatura. O valor baixo da E_a se deve ao fato de a interação intermolecular entre o composto **1** e o composto **2** ser de característica fraca, fazendo com que seja possível a formação de um estado de transição ordenado, com o fornecimento de uma baixa quantidade de energia.

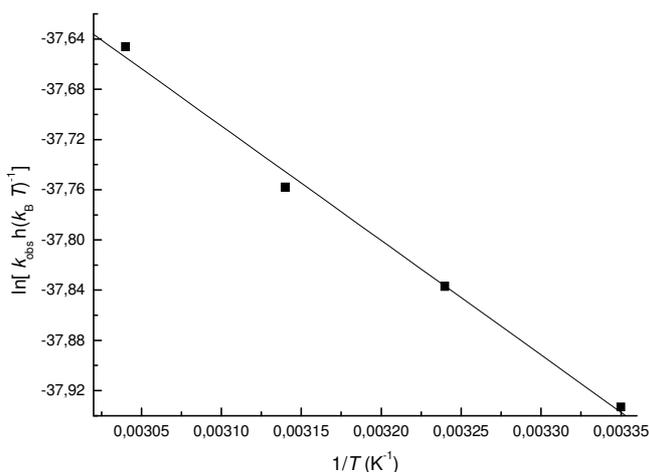


Figura 12 - Gráficos de $\ln[k_{obs} h(k_B T)^{-1}]$ vs. $1/T$ para a reação do composto **1** com o composto **2** em acetonitrila ($r^2 = 0,997$; s.d. = 0,0109; a = - 34,88; b = $-9,11 \times 10^2$).

3.6 UM QUIMIOSENSOR CROMOGÊNICO BASEADO EM UM ENSAIO DE COMPETIÇÃO PARA A DETECÇÃO DO CAPTOPRIL EM ACETONITRILA E EM MISTURA DE ACETONITRILA COM ÁGUA

Para a construção do quimiossensor foi planejada a utilização de uma estratégia envolvendo o composto **1**, que apresenta como característica ser uma molécula doadora de elétrons que ao se complexar com o composto **2**, um composto elétron-aceitador, forma um complexo de transferência de carga em solução. Este complexo de transferência de carga π - π apresenta coloração azul bastante intensa. A Figura 13 aponta para o fato de que os compostos **1** (a) e **2** (b), isolados são praticamente incolores em solução e que ao serem misturados levam à formação do complexo colorido (c). É interessante observar que a adição de captopril à solução do complexo modifica a coloração da solução para fracamente alaranjada (d), sugerindo que ele compete pelo composto **2**, o que faz com que o complexo de transferência de carga entre **1** e **2** seja desfeito.

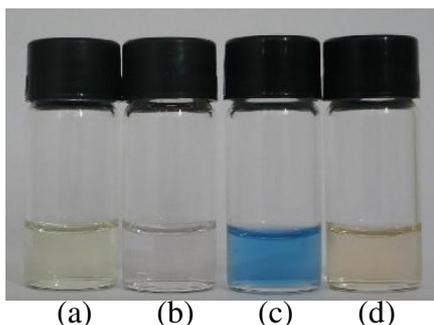


Figura 13 - (a) Solução do composto **2** ; (b) solução do composto **1**; (c) solução do complexo **1:2**, após 24 horas; (d) solução do complexo **1:2** e captopril em acetonitrila. $[1]=2\times 10^{-4}$ mol dm^{-3} ; $[2]=2\times 10^{-5}$ mol dm^{-3} ; $[\text{captopril}]=1\times 10^{-2}$ mol dm^{-3} .

Um experimento de titulação foi conduzido utilizando uma solução do complexo contendo os compostos **1** e **2**, o qual apresentava coloração azul intensa e uma banda de absorção apresentando λ_{max} de 634 nm. Com a adição de pequenas quantidades de captopril, foi observado o decréscimo da banda de absorção localizada com λ_{max} de 634 nm e o aparecimento de uma nova banda apresentando λ_{max} de 481 nm, levando visualmente ao desaparecimento da coloração azul, sendo dessa forma um indicativo de que o complexo de transferência de carga, formado entre os compostos **1** e **2**, foi desfeito (Figura 14A). A banda com λ_{max} de 481 nm é diferente daquela verificada para os compostos **1**, **2** e captopril, separadamente, sugerindo então que seja devida à formação de um complexo do tipo $n-\pi$ envolvendo **2** e os pares eletrônicos isolados no átomo de enxofre do fármaco.

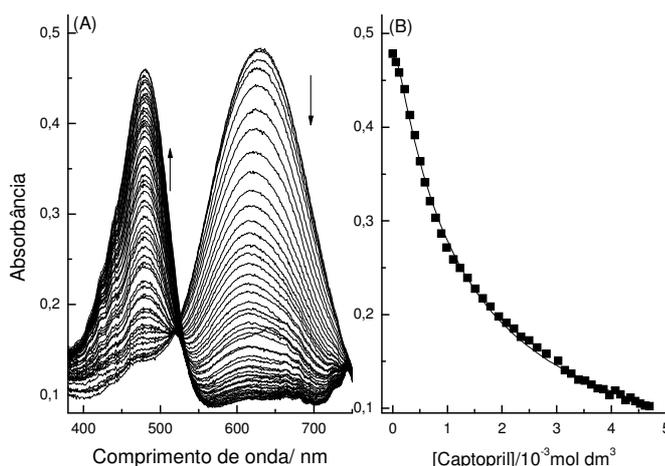


Figura 14 – (A) Influência da adição de quantidades crescentes de captopril sobre o espectro de UV-Vis do complexo envolvendo os compostos **1** ($2,0\times 10^{-4}$ mol dm^{-3}) e **2** ($2,0\times 10^{-5}$ mol dm^{-3}) em acetonitrila a 25 °C. A concentração final do captopril foi de $4,07\times 10^{-3}$ mol dm^{-3} . (B) Variação da absorbância em 634 nm do complexo formado entre o composto **1** e o composto **2** com adição de quantidades crescentes de captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 7.

Outra observação que pode ser feita através da Figura 14A é a presença de um ponto isobéstico em 520 nm até a adição de 269,5 equivalentes de captopril correspondendo a $5,39 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, o que aponta para um equilíbrio entre o complexo π - π formado pelos compostos **1** e **2** e o novo complexo formado entre o captopril e o composto **2** o qual apresenta uma banda com máximo de absorção em 481 nm.

Os valores de absorbância em 634 nm, correspondentes ao complexo envolvendo os compostos **1** e **2**, foram graficados em função da concentração do captopril adicionado. Os dados não puderam ser ajustados para modelos matemáticos baseados em estequiometrias 2:captopril isoladamente do tipo 1:1 e 1:2. Assim, os dados experimentais foram ajustados com a utilização da Equação 7 (ZIMMERMANN–DIMER; MACHADO, 2009; CONNORS, 1987).

$$Abs = [Abs_0 + Abs_{11}K_{11}C_F + Abs_{12}K_{11}K_{12}C_F^2] / [1 + K_{11}C_F + K_{11}K_{12}C_F^2] \quad (7)$$

Nessa equação, *Abs* é o valor de absorbância após cada adição do fármaco, *Abs*₀ é a absorbância inicial sem o fármaco adicionado, *Abs*₁₁ e *Abs*₁₂ são os valores máximos de absorbância obtidos pela adição do fármaco considerando-se estequiometria complexo:fármaco 1:1 e 1:2, respectivamente. *C_F* é a concentração do fármaco em cada adição e *K*₁₁ e *K*₁₂ são as constantes de ligação para estequiometrias 2:captopril do tipo 1:1 e 1:2, respectivamente. Os resultados são apresentados na Tabela 3 e mostram um ajuste satisfatório para o sistema estudado (S.D. = $2,0 \times 10^{-5}$).

A adição de água ao sistema é de grande importância já que possibilitaria que os trabalhos para detectar o fármaco fossem realizados em meio aquoso, que é uma das apresentações farmacêuticas que se encontra disponível no mercado. Foi com esse intuito que foi realizada a titulação do complexo formado pelos compostos **1** e **2** com o captopril, utilizando como solvente uma mistura acetonitrila/água (9:1, v/v, tampão TRIS, $1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, pH 7,0). Foram obtidos o conjunto de espectros de UV-Vis (Figura 15A) e a curva de titulação, na forma de um gráfico dos valores da absorbância em 634 nm em função da concentração de captopril (Figura 15B). Com a adição de pequenas quantidades de captopril, foi observado o decréscimo da banda de absorção com λ_{max} de 634 nm e o aparecimento de uma nova banda apresentando λ_{max} de 481 nm, levando visualmente ao desaparecimento da coloração azul, sendo dessa forma um indicativo que o complexo de transferência de carga, formado entre os compostos **1** e **2**, foi desfeito (Figura 15A). Porém, outra observação bastante nítida é que a banda relativa ao novo complexo envolvendo o captopril e o composto

2, com λ_{max} em 481 nm, apresentou menor intensidade de absorção em relação à banda observada em acetonitrila e o ponto isobéstico de forma menos nítida quando comparado ao teste realizado em acetonitrila.

Os dados experimentais apresentados na curva de titulação (Figura 15B) puderam ser ajustados somente com o uso da Equação 5 (ZIMMERMANN–DIMER; MACHADO, 2009; CONNORS, 1987), que trata de uma estequiometria **2**:captopril do tipo 1:2, levando a um valor de K_{12} $1,66(\pm 0,04)\times 10^6 \text{ dm}^6 \text{ mol}^{-2}$ (Tabela 3). A diferença obtida se deve à presença de água no meio, a qual influenciou no tipo de interação do fármaco com o receptor.

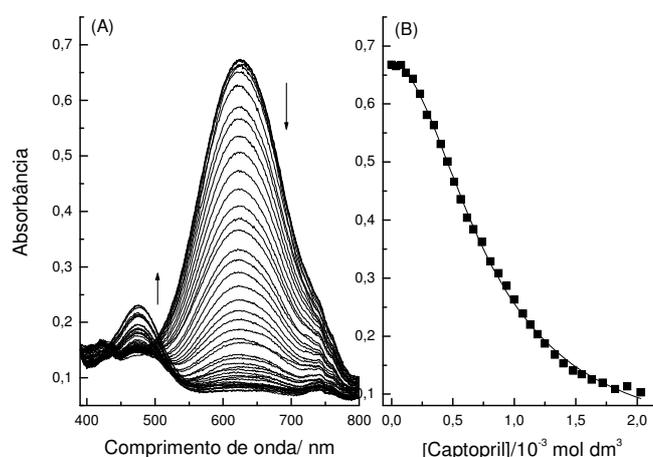


Figura 15 – (A) Influência da adição de quantidades crescentes de captopril sobre o espectro de UV-Vis do complexo envolvendo os compostos **1** ($2,0\times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) e **2** ($2,0\times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em mistura acetonitrila/água (9:1, v/v) a 25 °C. A concentração final do captopril foi de $2,03\times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. (B) Variação da absorbância em 634 nm do complexo formado entre o composto **1** e o composto **2** com adição de quantidades crescentes de captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 5.

Tabela 3 – Expectativa da constante de ligação do complexo envolvendo **1** e **2** com o captopril em acetonitrila e em mistura de acetonitrila com água a 25 °C.

Condições	$K_{11}/\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1}$	$K_{12}/\text{dm}^6 \text{ mol}^{-2}$	S.D.
Experimentais			
Acetonitrila	$1,06 (\pm 0,74)\times 10^4$	$(8,55\pm 0,43)\times 10^2$	2×10^{-5}
Com 10% de água	-	$(1,66\pm 0,04)\times 10^6$	4×10^{-5}

Para verificar se a banda com absorção no comprimento de onda máximo de 481 nm, realmente era devida à formação de complexo entre o composto **2** e o captopril, foram realizadas titulações entre o TCNQ (**2**) e o fármaco captopril.

3.7 ESTUDO DA FORMAÇÃO DE COMPLEXO ENTRE O COMPOSTO 2 E O FÁRMACO CAPTOPRIL EM ACETONITRILA E MISTURAS DE ACETONITRILA COM ÁGUA

No primeiro ensaio realizado, foi utilizado como solvente a acetonitrila para solubilização do composto **2** e do fármaco captopril.

O estudo demonstrou que o captopril realmente é capaz de formar um complexo com a molécula aceitadora de elétrons TCNQ (**2**). Através de Figura 16A é possível verificar que a banda de absorção com comprimento de onda máximo em 394 nm é suprimida e uma nova banda de absorção em 481 nm ($\epsilon_{\text{máx}} = 2,92 \times 10^2 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) é formada, sendo este o indicativo que um complexo entre o par de elétrons do grupamento mercapto, presente na molécula de captopril, forma um complexo do tipo n- π com o composto **2**.

Os dados foram ajustados por modelos matemáticos baseados em estequiometrias 2:captopril do tipo 1:2. Assim, os dados experimentais foram ajustados com a utilização da Equação 5 (ZIMMERMANN–DIMER; MACHADO, 2009; CONNORS, 1987), levando a um valor de K_{12} igual a $7,85(0,38) \times 10^6 \text{ dm}^6 \text{ mol}^{-2}$ ($r^2 = 0,997$ e S.D. = 4×10^{-4}).

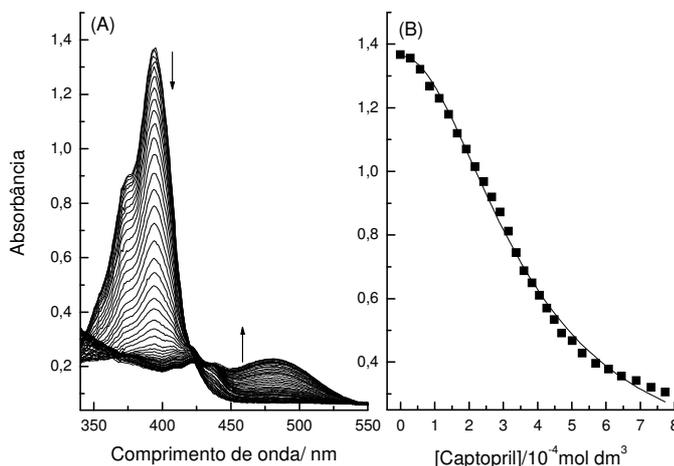


Figura 16 – (A) Influência da adição do captopril ($1 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$) sobre o espectro de UV-Vis da solução do composto **2** ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em acetonitrila a 25 °C. (B) Variação da absorbância em 394 nm do complexo formado entre o composto **2** e o fármaco captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 5. A concentração final do captopril foi $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$.

Outro experimento envolvendo os mesmos compostos e o mesmo tempo de reação foi realizado, porém em acetonitrila com 10% (v/v) de água tamponada (tampão TRIS).

Através da Figura 17A pode ser verificado que ocorreu a supressão da banda referente ao composto **2** livre em 394 nm e a formação de uma nova banda em 481 nm, apesar de sua intensidade ser bastante fraca.

No entanto a Equação 5 não pôde ser usada para ajustar satisfatoriamente os dados experimentais da curva de titulação obtida, o que sugere mudança na estequiometria do complexo formado. Assim, os dados experimentais da curva de titulação mostrada na Figura 17B foram ajustados a uma curva teórica traçada por meio de um modelo matemático que leva em consideração a participação de uma molécula do composto **2** para uma molécula do captopril (Equação 6).

Observou-se que a magnitude da constante foi diminuída levando a um valor de K_{11} $7,65 (\pm 0,47) \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ($r^2 = 0,997$ e $S.D. = 1,8 \times 10^{-4}$).

A mudança na estequiometria e a diminuição da magnitude da constante de associação se deve ao fato de a água interagir com o captopril, fazendo ligações de hidrogênio com o grupo OH, dificultando desta forma a interação entre o composto **2** e o fármaco.

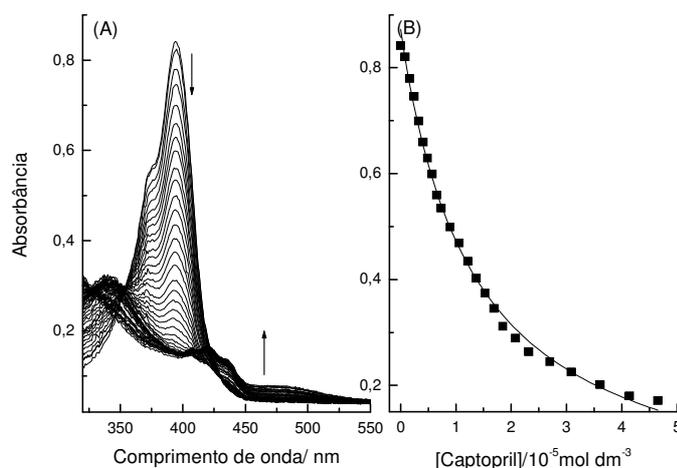
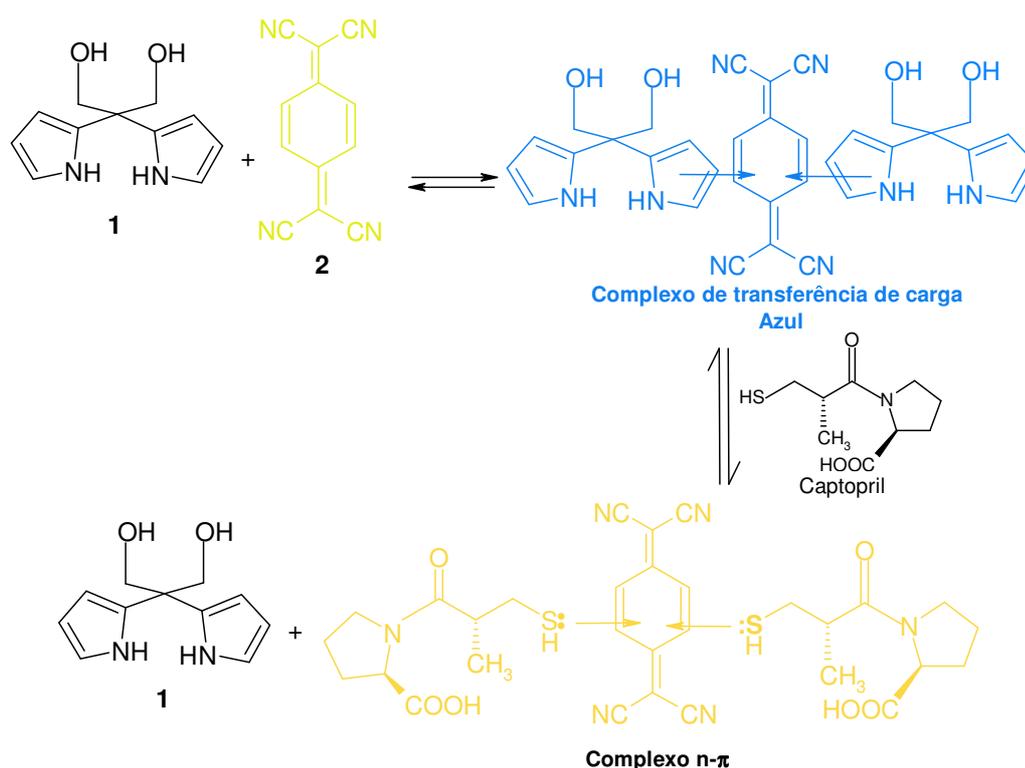


Figura 17 – (A) Influência da adição do captopril ($8 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) sobre o espectro de UV-Vis da solução do composto **2** ($2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em mistura acetonitrila/água (9:1, v/v) a 25°C . (B) Variação da absorbância em 394 nm do complexo formado entre o composto **2** e o captopril. Os dados experimentais foram ajustados por meio da Equação 6. A concentração final do captopril foi $4,9 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.

3.8 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO QUIMIOSENSOR CROMOGÊNICO PARA DETECÇÃO DO CAPTOPRIL

O Esquema 8 ilustra de forma geral o estudo que foi realizado utilizando acetonitrila como solvente. A estratégia supramolecular descrita neste trabalho para a detecção do captopril parte do princípio de um ensaio de competição. O primeiro passo envolve a transferência eletrônica de **1**, um composto fortemente doador de elétrons, para **2**, que é fortemente aceitador de elétrons, ocorrendo à formação de um complexo π - π de transferência de carga que absorve na região visível e que pode ser explorado para a montagem de um quimiossensor cromogênico.

Assim, os compostos **1** e **2**, separadamente, são praticamente incolores, porém ao serem colocados juntos em solução formam um complexo de transferência de carga bastante colorido. O complexo entre **1** e **2** deixa de existir na presença de um analito (o fármaco) que forma com o receptor (**2**) um complexo que apresenta uma constante de associação com magnitude mais elevada que aquela do complexo inicial, entre **1** e **2**. Esse novo complexo formado pode ser detectado de forma visual e espectrofotometricamente.



Esquema 8 – Representação esquemática da estratégia baseada em um ensaio de competição para a detecção visual e quantitativa de captopril em acetonitrila.

A ligação do captopril ao composto **2** ocorre através do par de elétrons disponível do enxofre, visto que o grupamento mercapto presente no captopril, facilita a interação com o orbital molecular do tipo π do composto **2**. Esta interação é favorecida devido à diferença

energética entre o LUMO e o HOMO, ser bastante pequena. A interação entre o grupamento OH do captopril com o composto **2** não é favorecida devido a alta densidade de carga do átomo de oxigênio.

4 CONCLUSÕES

Os compostos **1** e **2**, em solução, foram empregados na montagem de um quimiossensor cromogênico para o captopril.

Com relação a formação do complexo entre **1** e **2**, algumas particularidades puderam ser observadas, tais como: a reação é fotoquimicamente acelerada quando exposta ao aumento da temperatura e a exposição de luminosidade.

A melhor condição estudada para acelerar a reação é a exposição da amostra a uma fonte de calor de 55 °C e simultaneamente a uma lâmpada refletora incandescente de 60 W.

Os dados experimentais para a reação entre **1** e **2** levaram à obtenção de uma estequiometria do tipo 1:2 em acetonitrila, ou seja uma molécula do composto **2** para duas moléculas do composto **1**. Em misturas de acetonitrila com água, a estequiometria do complexo sofreu alteração, passando a ser do tipo 1:1, ou seja, 1 molécula do composto **1** para duas moléculas do composto **2**.

Além da mudança na estequiometria, foi observado uma diminuição na magnitude da constante de associação entre os compostos **1** e **2**.

A presença do captopril exerceu influência sobre os espectros de UV-Vis do complexo de transferência de carga tipo π - π entre **1** e **2**, isso devido ao fato do fármaco formar com **2** um complexo do tipo n - π , o que leva ao deslocamento do composto **1**. Com o auxílio dos modelos matemáticos que mais bem ajustaram os dados experimentais, foi possível explicar as naturezas das interações quimiossensor-fármaco.

A adição de uma pequena quantidade de água ao sistema envolvendo os compostos **2** e o captopril é responsável por dificultar a interação entre essas espécies, o que explica a mudança da estequiometria quimiossensor:captopril de 1:2 para 1:1 com a adição de água.

A adição do captopril à solução do complexo entre **1** e **2** levou a mudanças espectrais sugerindo que o complexo de transferência de carga tipo π - π entre **1** e **2**, deixou de existir, devido ao fato do fármaco formar com **2** um complexo do tipo n - π , o que levou ao deslocamento do composto **1**.

O estudo envolvendo a ligação de **2** com captopril levou à obtenção das estequiometrias. Em acetonitrila a estequiometria da reação foi do tipo 1:2, ou seja, duas de captopril para 1 molécula do composto **2**. Enquanto em mistura de acetonitrila com água a

estequiometria foi modificada para 1:1, ou seja, uma molécula do composto **2** para 1 molécula de captopril

O complexo envolvendo **1** e **2** se mostrou eficiente na montagem de um quimiossensor cromogênico para a detecção do captopril. Este sistema de detecção pode ser aprimorado para utilização como um método laboratorial para o controle de qualidade deste fármaco.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC 210**: Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Brasília, 2003.

ALBRECHT, M.; et al. New Peptide Labels Containing Covalently Bonded Platinum(II) Centers as Diagnostic Biomarkers and Biosensors. **Org. Lett.**, 22, 2,3461-3464, 2000.

ANSLYN, E. V. Synthetic Receptors as Sensors. **Tetrahedron**, 60, 11055-1156, 2004.

ANSLYN, E. V. Supramolecular Analytical Chemistry. **J. Org. Chem.**, 72, 687-699, 2007.

ANZENBACHER, P.; et al. Materials Chemistry Approach to Anion-Sensor Design. **Tetrahedron**, 60, 11163-1168, 2004.

BALABAN, A. T.; TOMA, C. Reactions of Pyrylium Salts with Nucleophiles. -IV. Isolation of an Intermediate in Conversion of 2,4,6-Triphenylpyrylium Perchlorate into 2,4,6-Triphenylpyridine by Ammonia. **Tetrahedron**, 1-8, 1966.

BLANCO, M.; ALCALA, M. Simultaneous quantitation of five active principles in a pharmaceutical preparation: Development and validation of a near infrared spectroscopic method. **Eur. J. Pharm. Sci.**, 27, 280-286, 2006.

BRYCE, M.R.; et al. Synthesis of Mixed *p*-Quinodimethane Analogues of Tetrathiafulvalene (TTF) and Tetracyano-*p*-Quinodimethane (TCNQ) Exhibiting Photoinduced Electron Transfer Properties. **Synthetic Metals**, 86, 1857-1858, 1997.

CZARNIK, A. W. Chemical Communication in Water Using Fluorescent Chemosensors. **Acc. Chem. Res.**, 27, 302-308, 1994.

CZARNIK, A. W. In **Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition**. ACS Symposium Series; American Chemical Society, Washington, 1993.

CHEN, Q.; CHEN, C. A New Fluorescent as well as Chromogenic Chemosensor for Anions Based on an Anthracene Carbamate Derivative. **Tetrahedron Lett.**, 45, 6493-6496, 2004.

CHEN, J.; et al. A Phenol-Based Compartmental Ligand as a Potential Chemosensor for Zinc (II) Cations. **J. Braz. Chem. Soc.**, 20, 13-18, 2009.

CHO, E. J.; et al. Visible Colorimetric Fluoride Ion Sensor. **Org. Lett.**, 7, 2607-2609, 2005.

CREDER, H. **Instalações Elétricas**. Editora LTC , 10^a ed., Rio de Janeiro, 1986.

COLL, R.; et al. Nanoscopic Hybrid Systems with a Polarity-Controlled Gate-Like Scaffolding for the Colorimetric Signaling of Long-Chain Carboxylates. **Chem. Commun.**, 1957-1959, 2007.

CONNORS, K. A. **Binding constants**. New York:Wiley Interscience, 1987. 2 cap.

De SILVA, A. P.; et al. Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches. **Chem. Rev.**, 97, 1515, 1997.

EL-GOGARY, T. M.; DIAB, M. A.; EL-TANTAWY, S. F. Spectroscopic studies of molecular interactions involving 2,6-diethylaniline and *N*-ethylaniline donors and iodine as an electron acceptor in different solvents. **Spectrochim Acta Part A**, 66, 94-101, 2007.

Farmacopéia Brasileira. IV ed. São Paulo: Atheneu, 2002, parte II, fascículo 3.

FURNISS B. S.; et al. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**. Longman, 5. ed. London, 1989.

GALE, P. A. Supramolecular Chemistry: from Complexes to Complexity. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. A**, 358, 431-453, 2000.

GARCÍA, F.; et al. Pyrylium-Containing Polymers as Sensory Materials for the Colorimetric Sensing of Cyanide in Water. **Chem. Commun.**, 2790 – 2792, 2005.

GARCÍA-ACOSTA, B.; et al. Sensory Hybrid Host Materials for the Selective Chromo-Fluorogenic Detection of Biogenic Amines. **Chem. Commun.**, 2239-2241, 2006.

GARCÍA-ACOSTA, B.; et al. Chromogenic Signaling of Hydrogen Carbonate Anion with Pyrylium – Containing Polymers. **Org. Lett.**, 9, 2429 – 2432, 2007.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **Goodman e Gilman as Bases Farmacológicas da Terapêutica**. Guanabara Koogan, 8 ed. Rio de Janeiro, 1991.

GOUVEIA-MATOS, J. A. M. Mudanças nas cores dos extratos de flores e do repolho roxo. **Química Nova na Escola**, 10, 6-10, 1999.

GUNNLAUGSSON, T.; et al. Anion Recognition and Sensing in Organic and Aqueous Media Using Luminescent and Colorimetric Sensors. **Coord. Chem. Rev.**, 250, 3094-3117, 2006.

GUO, Y.; et al. Selective Colorimetric Sensing of PO_4^{3-} and CO_2^{-3} Based on the Assembly of Dihydroxymethyl-di-(2-pyrrolyl)methane and TCNQ. **Inorg. Chem. Commun.**, 7, 333-336, 2004.

GUO, Y.; et al. A Specific Colorimetric Cysteine Sensing Probe Based on Dipyrromethane-TCNQ Assembly. **Tetrahedron Lett.**, 45, 6477-6480, 2004.

HASANI, M.; REZAEI, A. Spectrophotometric study of the charge-transfer complexes of iodine with antipyrine in organic solvents. **Spectrochim Acta Part A**, 65, 1093-1097, 2006.

HEKTLE, W. R.; et al. Substituted Quinodimethans. III. Displacement Reactions of 7,7,8,8-Tetracyanoquinodimethane. **J. Am. Chem. Soc.**, 84, 3387-3393, 1962.

HILLAERT, S.; VAN DE BOSSCHE, W. Determination of captopril and its degradation products by capillary electrophoresis. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 21, 65-73, 1999.

HUDNALL, T. W.; GABBAÏ, F. P. Ammonium Boranes for the Selective Complexation of Cyanide or Fluoride Ion in Water. **J. Am. Chem. Soc.**, 129, 1978-1986, 2007.

JAMES, T.D.; SHINMORI, H.; SHINKAI, S. Novel Fluorescence Sensor for 'Small' Saccharides. **Chem. Commun.**, 1, 71-72, 1997.

JIMÉNEZ, D.; et al. A New Chromo-Chemosimeter Selective for Sulfide Anion. **J. Am. Chem. Soc.**, 125, 9000-9001, 2003.

INOUE, M.; HASHIMOTO, K.; ISAGAWA, K. Nondestructive Detection of Acetylcholine in Protic Media: Artificial-Signaling Acetylcholine Receptors. **J. Am. Chem. Soc.**, 116, 5517-5518, 1994.

KATRITZKY, A.R.; REES, C. W. **Comprehensive Heterocyclic Chemistry**. Pergamon Press Ltda Vol 3, Parte 2B, 1984.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Guanabara Koogan, 6 ed. Rio de Janeiro, 1998.

KAUR, P.; et al. A Selective and Sensitive 'Naked Eye' Anion Detector Based on an Imine-*p*-TCNQ Assembly. **Tetrahedron Lett.**, 48, 7191-7193, 2007.

KIM, S.Y.; HONG, S.J.-I. Chromogenic and Fluorescent Chemodosimeter for Detection of Fluoride in Aqueous Solution. **Org. Lett.**, 9, 3109-3112, 2007.

KORICANAC, Z.; JOVANOVIĆ, T.; STANKOVIĆ, B. Determination of nizatidine in pharmaceutical formulations by potentiometric titration. **Pharmazie**, 50, 151-152, 1995.

KOTEN, G.-V.; et al. New Peptide Labels Containing Covalently Bonded Platinum(II) Centers as Diagnostic Biomarkers and Biosensors. **Org. Lett.**, 22, 3461-3464, 2000.

KUBIK, S.; REYHELLER, C.; STÜWE, S. Recognition of Anions by Synthetic Receptors in Aqueous Solution. **J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.**, 52, 137-187, 2005.

KUMAR, R.; BHALLA, V.; KUMAR, M. Cu²⁺ and CN⁻ Selective Fluorogenic Sensors Based on Pyrene-Appended Thiocalix[4]arenes. **Tetrahedron**, 64, 8095-8101, 2008.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Springer, New York, 3 ed., 2006.

LEHN, J. M. **Supramolecular Chemistry: from Molecular Information Towards Self-Organization and Complex Matter**. **Rep. Prog. Phys.**, 67, 249-265, 2004.

LEWIS, N.S.; et al. Comment on Photoelectrochemistry. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, 38, 321-322, 1995.

LI, Q.; et al. A Novel Spectrophotometric Method for the Determination of Aminophylline with Boric Acid in Pharmaceutical and Mixed Serum Samples. **Eur. J. Med. Chem.**, 44, 1452-1456, 2009.

LIANG, Z.; et al. A New Fluorescent Chemosensor for Copper(II) and Molecular Switch Controlled by Light. **Tetrahedron Lett.**, 48, 1629-1632, 2007.

LIN, Z.; et al. Bifunctional Maleimide Dyes as Selective Anion Sensors. **Tetrahedron**, 65, 5216-5221, 2009.

MARINI, V. G.; et al. A Simple and Efficient Anionic Chromogenic Chemosensor Based on 2,4-Dinitrodiphenylamine in Dimethyl Sulfoxide and in Dimethyl Sulfoxide–Water Mixtures. **Spectrochim. Acta Part A**, 75, 799-806, 2010.

MARINI, V.G. **Desenvolvimento de Quimiossensores Cromogênicos e Fluorogênicos Aniônicos Altamente Seletivos para o Cianeto**. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional de Blumenau – FURB, Blumenau, SC, 2009, 42.

MARTÍNEZ–MÁÑEZ, R.; SANCENÓN, F. Fluorogenic and Chromogenic Chemosensors and Reagents for Anions. **Chem. Rev.**, 103, 4419–4476, 2003.

_____.New Advances in Fluorogenic Anion Chemosensors. **J. Fluoresc.**, 15, 267–285, 2005.

_____.Chemodosimeters and 3D Inorganic Functionalised Hosts for the Fluoro–Chromogenic Sensing of Anions. **Coord. Chem. Rev.**, 250, 3081–3093, 2006.

MASKILL, H. **The Physical Basis of Organic Chemistry**. Oxford University Press, p. 216-267, New York, 1985.

MAZUREC, S.; SOZSTK, R. Quantitative Determination of Diclofenac Sodium and Aminophylline in Injection Solutions by FT-Raman Spectroscopy. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 40, 1235-1242, 2006.

MOHR, G. J. Chromo- and Fluororeactands: Indicators for Detection of Neutral Analytes by Using Reversible Covalent-Bond Chemistry. **Chem. Eur. J.**, 10, 1082-1090, 2004.

MOCK, D.M.; et al. A Fluorometric Assay for the Biotin Avidin Interaction Based on Displacement of the Fluorescent-Probe 2-Anilinonaphthalene-6-sulfonic Acid. **Anal. Biochem.**, 151,178-181, 1985.

MOSTAFA, S.; MOHAMED, E.; ALLA, E. A. Spectrophotometric determination of ciprofloxacin, enrofloxacin and pefloxacin through charge transfer complex formation. **Pharm. Biomed. Anal.**, 27,133-142, 2002.

NGUYEN, B. T.; ANSLYN, E. V. Indicator–Displacement Assays. **Coord. Chem. Rev.**, 250, 3118-3127, 2006.

NIKURA, K.; BISSON, A. P.; ANSLYN, E. V. Optical Sensing of Inorganic Anions Employing a Synthetic Receptor and Ionic Colorimetric Dyes. **J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2**, 1111-1114, 1999.

PEDERSEN, C. J. The Discovery of Crown Ethers (Nobel Lecture). **Angew. Chem., Int. Ed.** 27, 1021-1027, 1988.

PINA-LUIS, G.; et al. Selective Fluorescent Chemosensor for Fructose. **Analyst**, 123, 155-158, 1998.

PRODI, L. Luminescent Chemosensors: From Molecules to Nanoparticles. **New J. Chem.**, 29, 20-31, 2005.

RAHMAN, N.; Awnar, N. A.; KASHIF, M. Application of π -acceptors to the spectrophotometric determination of lisinopril in commercial dosage forms. **II Farmaco**, 60, 605-611, 2005.

RANG, H.P. **Farmacologia**. Guanabara Koogan, 2 ed. Rio de Janeiro, 1993.

ROS-LIS, J.V.; et al. Squaraines as Fluoro-Chromogenic Probes for Thiol-Containing Compounds and Their Application to the Detection of Biorelevant Thiols. **J. Am. Chem. Soc.**, 126, 4064-4065, 2004.

SOUSA, L. R.; LARSON, J. M. Crown Ether Model Systems for the Study of Photoexcited State Response to Geometrically Oriented Perturbers. The Effect of Alkali Metal Ions on Emission from Naphthalene Derivatives. **J. Am. Chem. Soc.**, 99, 307-310, 1977.

SHAHROKHIAN,S.; KARIMI, M.; KHAJEHSHARIFI, H. Carbon-paste electrode modified with cobalt-5-nitroisalophen as a sensitive voltammetric sensor for detection of captopril. **Sens. Actuators B: Chem.**, 109, 278-284, 2005.

SPICHIGER, U.; et al. Optical Sensors Based on Neutral Carriers. **Sens. Actuators B: Chem.**, 11, 1-8, 1993.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica: Fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos.** São Paulo, 1999.

WANG, T.; et al. Synthesis and Characterization of Indolocarbazole-Quinoxalines With Flat rigid Structure for Sensing Fluoride and Acetate Anions. **Org. Biomol. Chem.**, 6, 1751-1755, 2008.

WANG, L.; YANG, X.-F.; ZHAO, M. A 4-Methylumbelliferone-Based Fluorescent Probe for the Sensitive Detection of Captopril. **J. Fluoresc.**, 19, 593-599, 2009.

WANG, S.L.; WANG, M.; LI, Q.M. Application of potassium ferricyanide in the spectrophotometric determination of captopril. **Chinese Chem. Lett.**, 20, 88-91, 2009.

WHELAND, R. C.; GILLSON, J. L. Synthesis of Electrically Conductive Organic Solids. **Am. Chem. Soc.**, 98, 3916-3925, 1976

WHITESIDES, G. M.; MATHIAS, J. P.; SETO, C. T. Molecular Self-Assembly and Nanochemistry - a Chemical Strategy for the Synthesis of Nanostructures. **Science**, 254, 1312-1319, 1991.

WISKUR, S. L.; et al. Teaching Old Indicators New Tricks. **Acc. Chem. Res.**, 34, 963-972, 2001.

XU, J.; et al. A Selective Colorimetric Chemosensor for Detecting SO_3^{2-} in Neutral Aqueous Solution. **Inorg. Chem. Commun.**, 10, 681-684, 2007.

YANG, V. C.; et al. A Method for the Quantitation of Protamine in Plasma. **Thromb. Res.**, 74, 427-434, 1994.

ZIMMERMANN-DIMER, L. M.; MACHADO, V. G. Quimiossensores cromogênicos e fluorogênicos para a detecção de analitos aniônicos. **Quim. Nova**, 31, 2134-2146, 2008.

ZIMMERMANN-DIMER, L. M.; MACHADO, V. G. Chromogenic anionic chemosensors based on protonated merocyanine solvatochromic dyes: influence of the medium on the

quantitative and naked-eye selective detection of anionic species. **Dyes Pigments**, 82, 187–195, 2009.

APÊNDICE

