

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
DEPARTAMENTO DE FARMACOCIÊNCIAS
CURSO DE QUÍMICA MEDICINAL

Matias Ezequiel Victory

SÍNTESE E INVESTIGAÇÃO FOTOFÍSICA DE NOVOS COMPOSTOS
SELENOPIRIDAZÍNICOS

Porto Alegre
2023

MATIAS EZEQUIEL VICTORY

**SÍNTESE E INVESTIGAÇÃO FOTOFÍSICA DE NOVOS COMPOSTOS
SELENOPIRIDAZÍNICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmacociências da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Química Medicinal.

Orientador: Juliana Maria Forain Miolo
Schneider

Coorientador: Paulo Henrique Schneider

**Porto Alegre
2023**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família e amigos por terem me dado apoio para chegar até aqui. Agradeço aos estudantes da Quimed, tanto os que já saíram, quanto os que ficaram, que foram sempre muito acolhedores. Agradeço especialmente a meus colegas que ficaram até o final: Andréa, João, Ketherin, Pamela, Peppe e Tati. Eles são o verdadeiro motivo de eu chegar até o fim do curso.

Quero agradecer a todos os professores que tive durante o curso, que sempre foram muito próximos e atenciosos com todos nós. Tem duas professoras que merecem destaque. A Ana Cunha, tutora da minha turma, sempre alegre, brincando, focando e preocupada com a gente. Mesmo tendo sido a única professora que me deixou em exame, sempre vou ser grato pelo seu apoio. A outra professora que merece destaque é a Juliana, minha orientadora de TCC e de IC. Ela me acompanhou desde minha segunda semana na UFCSPA até o final me orientando, sempre confiando em mim e estando disposta a me ajudar com o que eu precisasse.

Um agradecimento especial para o professor Paulo Schneider, que me acolheu em seu laboratório e permitiu com que este projeto fosse realizado. Agradeço a todos os integrantes do LaMoCa, que me receberam de braços abertos, foram extremamente receptivos e simpáticos. Especialmente a Nathalia e o Marcelo, que me guiaram e ajudaram no desenvolvimento do trabalho até o final.

Arthur, Pedro e Rafael são os amigos que tenho a mais tempo, mesmo com todas as piadas, eles me ajudaram a aguentar os momentos de mais estresse. Zé e Ju, meus companheiros de brasco, me fizeram companhia enquanto eu escrevia este trabalho.

Quero dedicar este parágrafo às 3 pessoas mais importantes para mim. Jonas é meu amigo desde os 14 anos, acompanhou minha trajetória desde o ensino médio até agora. Ele sempre foi uma inspiração pra mim, me ajudou a ter uma visão diferente do mundo e a amadurecer. Eu apenas sou quem eu sou hoje graças a ele. Gabriel é o maior suporte emocional que eu tenho, meu companheiro de cozinha e de conversas que duram a madrugada inteira. Ele esteve comigo nos momentos mais difíceis dos últimos anos. Carvalho é o melhor amigo que eu poderia ter. Ele se tornou a pessoa mais importante na minha vida, em quem eu mais confio. Passamos por muitas coisas juntos e sei que posso contar com ele sempre. Não consigo imaginar uma vida sem estas 3 pessoas tão especiais.

Quero dedicar este último parágrafo ao Wesley, uma das minhas grandes inspirações. Nosso tempo juntos foi pequeno, mas seu impacto na minha vida foi enorme. Vou te levar comigo para sempre amigo.

Catálogo na Publicação

Victory, Matias Ezequiel

Síntese e Investigação Fotofísica de Novos Compostos Selenopiridazínicos / Matias Ezequiel Victory. -- 2023.

70 f. : il., graf., tab. ; 30 cm.

Monografia (trabalho de conclusão de curso) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Curso de Química Medicinal, 2023.

Orientador(a): Juliana Maria Forain Miolo Schneider ;
coorientador(a): Paulo Henrique Schneider.

1. Síntese Orgânica. 2. Selênio. 3. Piridazina. 4. Fluorescência. 5. Sensor Biológico. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RESUMO

A conjugação do selênio com heterociclos provou melhorar o potencial de diversas moléculas. Entretanto, praticamente não são encontrados estudos que liguem este calcogênio à piridazina, uma diazina presente em diversos compostos biologicamente ativos. Neste trabalho foi testada uma metodologia capaz de sintetizar derivados selenopiridazínicos através de uma reação de substituição nucleofílica aromática. Os selenetos tendem a reagir rapidamente com oxidantes, formando selenóxidos. Estas espécies de selênio geradas a partir dos derivados selenopiridazínicos apresentaram fluorescência. Esta propriedade em conjunto com a rapidez de sua oxidação tornam estes compostos em ótimos candidatos de sensores de peróxido.

Palavras-chaves: Selênio; Piridazina; Fluorescência; Peróxido

ABSTRACT

Conjugation of selenium with heterocycles has been proven to improve the potential of several molecules. However, practically no studies are found that link this chalcogen to pyridazine, a diazine present in several biologically active compounds. In this work, a methodology capable of synthesizing selenopyridazine derivatives through a nucleophilic aromatic substitution reaction was tested. Selenides tend to react rapidly with oxidants, forming selenoxides. These selenium species generated from selenopyridazine derivatives showed fluorescence. This property together with the rapidity of their oxidation make these compounds excellent candidates for peroxide sensors.

Keywords: Selenium; Pyridazine; Fluorescence; Peroxide

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 PIRIDAZINAS	9
1.2 FLUORESCÊNCIA	14
1.3 SENSORES BIOLÓGICOS	22
1.4 QUÍMICA DO SELÊNIO	26
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1 SÍNTESE DE DERIVADOS PIRIDAZÍNICOS	29
2.2 - PIRIDAZINAS E ATIVIDADE FOTOFÍSICA	32
2.3 - SELÊNIO NA SÍNTESE ORGÂNICA	36
2.4 - DETECTORES DE PERÓXIDO	40
3. JUSTIFICATIVA	43
4. OBJETIVOS	43
4.1 OBJETIVO GERAL	43
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	43
5. METODOLOGIA E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	44
5.1 SÍNTESE	44
5.2 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO	46
5.3 OXIDAÇÃO DAS SELENOPIRIDAZINAS	48
5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SELENOPIRIDAZINAS	48
5.5 FOTOFÍSICA DAS SELENOPIRIDAZINAS	60
6. CONCLUSÕES	63
7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	64

1. INTRODUÇÃO

Os heterociclos são estruturas cíclicas que contêm um átomo diferente de carbono em seu esqueleto. Estes são de grande relevância na química medicinal devido a sua abundância na natureza, possuindo as mais diversas propriedades. Eles estão presentes em mais de 85% dos compostos biologicamente ativos.¹ Estas estatísticas mostram como os heterociclos têm um papel essencial no processo de *drug discovery*. A inserção destas estruturas permite otimizar as propriedades de absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME) e toxicidade de moléculas com atividade farmacológica. O aumento de suas presenças nas estruturas das moléculas biologicamente ativas impulsionou o desenvolvimento de metodologias de síntese de heterociclos substituídos. Estes também foram extraídos e isolados de fontes naturais, especialmente das plantas, que podem ser usados para criar derivados semi-sintéticos ou criar uma rota de síntese para estes compostos, uma vez que suas estruturas são conhecidas.¹

Pode-se observar a presença dos heterociclos em alguns fármacos bem famosos, como Omeprazol² e Ritalina³ (figura 1). Devido à frequência com que os heterociclos são vistos nos compostos biologicamente ativos, é evidente a importância de sintetizar e caracterizar novas moléculas contendo pelo menos um heterociclo.

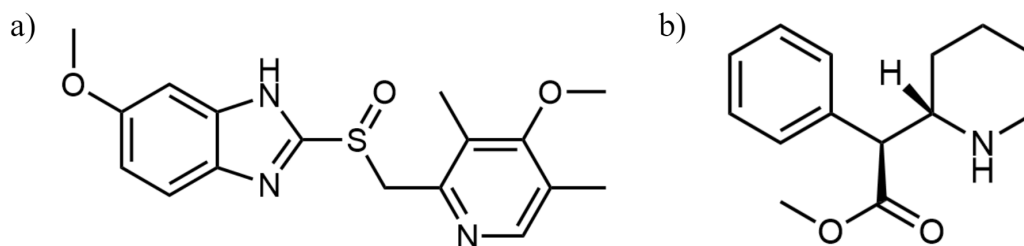


Figura 1: (a) Estrutura do Omeprazol. (b) Estrutura da ritalina.^{2,3}

Existe uma grande variedade de heterociclos, sendo os mais comuns os que contêm oxigênio, nitrogênio ou enxofre como heteroátomo. Neste trabalho, o foco vai ser um destes heterociclos de 6 membros contendo nitrogênio como heteroátomo.

¹ Jampilek J. Heterocycles in Medicinal Chemistry. *Molecules*. **2019**;24(21):3839.

² Omeprazole [Internet]. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. U.S. National Library of Medicine. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Omeprazole>

³ Ritalin [Internet]. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. U.S. National Library of Medicine. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ritalin>

1.1 PIRIDAZINAS

Um heterociclo que vem ganhando bastante visibilidade nas últimas décadas é a piridazina.⁴ Ela pertence ao grupo das diazinas, que é o nome dado aos heterociclos de 6 membros contendo dois nitrogênios no lugar de um CH na estrutura do anel aromático.⁵ As diazinas são consideradas estruturas privilegiadas, um termo utilizado para descrever a subunidade estrutural mínima, presente em diversos fármacos ou compostos-protótipo de fármacos, capaz de apresentar de interagir com mais de um bioreceptor.⁶ Pode-se encontrar a piridazina em alguns fármacos utilizados na medicina atualmente, como a hidralazina, um vasodilatador, e a minaprina, um antidepressivo (figura 2).^{4,6}

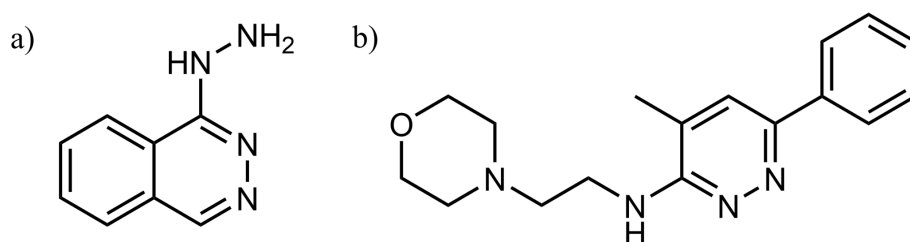


Figura 2: (a) Estrutura da hidralazina. (b) Estrutura da minaprina.

A piridazina (1,2-diazina) é um heterociclo aromático de 6 membros, contendo dois nitrogênios na estrutura de seu anel (figura 3). Ela segue a regra de aromaticidade de $4n+2$ proposta por Hückel em 1931.^{5,7}

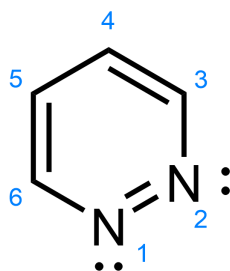


Figura 3: Estrutura da piridazina com a numeração de seus átomos.

Cada um dos nitrogênios contribui com um elétron para a ressonância do anel, tendo semelhança com o nitrogênio da piridina (*pyridine-like*) (figura 4). Estes

⁴ Sergeev P, Nenajdenko V. Recent advances in the chemistry of pyridazine — an important representative of six-membered nitrogen heterocycles. *Russian Chemical Reviews*. 2020;89(4):393-429.

⁵ Joule J, Mills K. *Heterocyclic Chemistry*. 5th ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd; 2010.

⁶ Barreiro E, Mansur C. *Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos*. 3rd ed. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda; 2015.

⁷ Katritzky A, Ramsden C, Joule J, Zhdankin V. *Handbook of heterocyclic chemistry*. 3rd ed. Oxford: Elsevier; 2010.

heteroátomos possuem um par de elétrons desemparelhados em um orbital com hibridização sp^2 perpendicular ao anel cada, que lhes dá caráter básico.^{5,7} A piridazina tem um pK_a de 2,3 enquanto a pirimidina e a pirazina têm pK_a 1,3 e 0,65 respectivamente. Estes valores são menores que o da piridina (5,2). Isto se deve à desestabilização do heterociclo protonado pela presença do segundo nitrogênio, por efeito indutivo e mesomérico. Quando comparada com as outras diazinas, a piridazina apresenta o maior pK_a . Isto se deve a repulsão entre os dois pares de elétrons desemparelhados adjacentes, que faz com que reajam mais rápido frente a um ácido.⁵

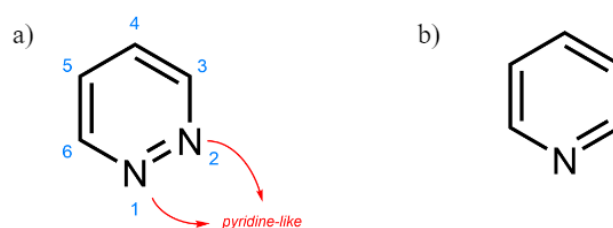
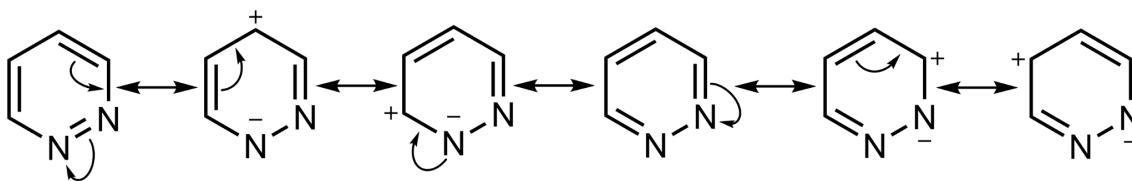


Figura 4: (a) Nitrogênios *pyridine-like* na piridazina. (b) Estrutura da piridina

Os nitrogênios das piridazinas, assim como nas outras diazinas, são iminas. As iminas agem de forma análoga às carbonilas, retirando densidade eletrônica do seu entorno, tornando o anel aromático π -deficiente. Podemos observar este fenômeno analisando as estruturas de ressonância do heterociclo (figura 5). Pode-se ver que os carbonos do anel possuem carga positiva nos contribuintes de ressonância, que leva ao híbrido destas estruturas ter uma deficiência de densidade eletrônica nestes carbonos. Além do efeito mesomérico, as piridazinas sofrem o efeito indutivo do nitrogênio, em que a eletronegatividade do heteroátomo puxa densidade eletrônica para si. A soma destes efeitos vai resultar em um momento de dipolo considerável, como visto na figura 5.^{5,7}

a)



b)

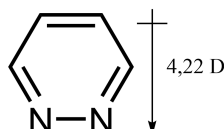


Figura 5: (a) Estruturas de ressonância da piridazina. (b) Momento de dipolo da piridazina.

Pode-se observar a deficiência de densidade eletrônica nos carbonos da piridazina através dos cálculos de Hückel para a distribuição dos elétrons π (figura 6).⁷ Estes cálculos dão uma boa estimativa da distribuição de densidade eletrônica, que permite a previsão da reatividade em cada sítio da estrutura.

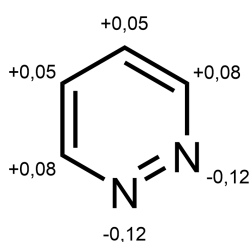


Figura 6: Estimativa de distribuição de carga na piridazina.

A presença dos dois nitrogênios imínicos leva à π -deficiência do anel aromático da piridazina, alterando a reatividade quando comparado ao anel benzênico, que tem uma distribuição de densidade eletrônica uniforme em seu anel. Devido à carga parcial positiva nos carbonos, a piridazina, assim como as outras diazinas, tende a reagir menos com eletrófilos em seus carbonos e mais com nucleófilos.^{5,7}

Os grandes centros nucleofílicos são os nitrogênios, que possuem pares de elétrons desemparelhados perpendiculares ao anel aromático (figura 7). Isto permite com que as piridazinas sofram adição eletrofílica em seus nitrogênios. Estes podem reagir com hidrogênios de ácidos, ácidos de Lewis, metais de transição e haletos, formando um cátion como produto (figura 8). A carga positiva no nitrogênio desativa

mais o anel, reduzindo ainda mais a susceptibilidade dele a sofrer uma substituição eletrofílica em seus carbonos.^{5,7}

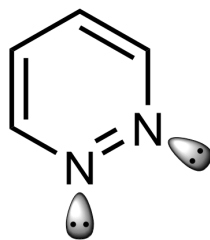


Figura 7: Estrutura da piridazina mostrando pares de elétrons desemparelhados.

A carga positiva na piridazina diminui a disponibilidade dos elétrons no nitrogênio, diminuindo a nucleofilicidade e basicidade do segundo nitrogênio. Isto também é dificultado pela desestabilização que seria causada pela presença de duas cargas positivas adjacentes, no caso da piridazina.⁵

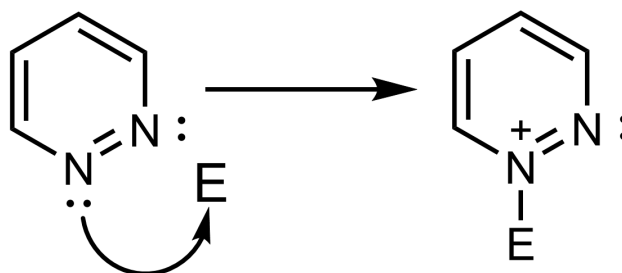


Figura 8: Reação entre piridazina e um eletrófilo.

A presença de substituintes retiradores de elétrons (EWG), como Cl, NO₂ ou carbonilas, vão diminuir a reatividade das diazinas frente a eletrófilos. Isto se deve à menor densidade eletrônica no anel e nos pares de elétrons desemparelhados dos nitrogênios. O contrário também é verdade para grupos doadores de elétrons (EDG), que vão aumentar a densidade eletrônica nos orbitais de fronteira da piridazina, tornando-a mais suscetível a reações com eletrófilos.⁷

A carga parcial positiva que as piridazinas possuem em seus carbonos facilita o ataque nucleofílico nestes sítios do anel. Como mencionado previamente, a inserção de EWG aumenta a reatividade da diazina em uma substituição nucleofílica, pois leva a uma maior deficiência de elétrons no anel. A substituição nucleofílica aromática é facilitada pela presença de um bom grupo abandonador, como Cl, por exemplo. O mecanismo para uma reação de substituição nucleofílica em uma piridazina

dissubstituída nas posições 3 e 6 consiste na adição do nucleófilo no carbono eletrofílico substituído acompanhado da quebra da aromaticidade do anel, seguida da eliminação do bom grupo abandonador cloro, regenerando a aromaticidade do heterociclo (figura 9).^{5,7}

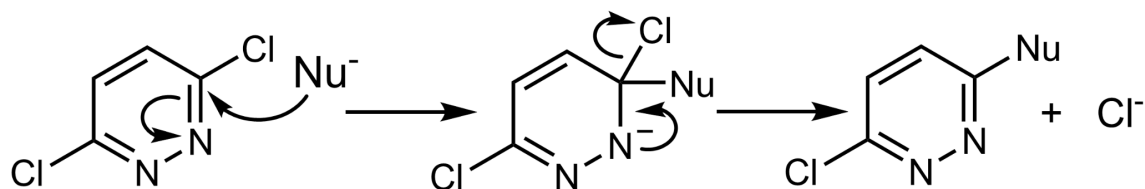


Figura 9: Mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática na 3,6-dicloropiridazina

A inserção sucessiva de nitrogênios no anel benzênico leva a uma diminuição da energia do LUMO e da aromaticidade do anel. Isto aumenta sua susceptibilidade às reações de substituição nucleofílica aromáticas, que necessitam romper a aromaticidade no primeiro passo reacional. Portanto, a ordem de reatividade dos anéis aromáticos em uma substituição nucleofílica segue a seguinte ordem: benzeno < piridina < diazinas < triazinas < tetrazinas.^{5,7}

As diazinas são conhecidas não só por suas atividades farmacológicas, mas também por possuírem propriedades fotofísicas quando inseridas em um sistema π -conjugado. Devido a natureza π -deficiente das diazinas elas servem como grupos retiradores de elétrons. A inserção de nitrogênios também adiciona a possibilidade de transições $n \rightarrow \pi^*$, além das típicas transições $\pi \rightarrow \pi^*$ das moléculas com deslocalização eletrônica. Estas propriedades permitem com que estes heterociclos sejam usados em materiais com óptica não linear, dispositivos optoeletrônicos, sensores, marcadores biológicos (figura 10).^{8,9,10,11,12}

⁸ Achelle S, Plé N, Turck A. Incorporation of pyridazine rings in the structure of functionalized π -conjugated materials. *RSC Advances*. **2011**;1(3):364.

⁹ Achelle S, Rodríguez-López J, Bureš F, Robin-le Guen F. Tuning the Photophysical Properties of Push-Pull Azaheterocyclic Chromophores by Protonation: A Brief Overview of a French-Spanish-Czech Project. *The Chemical Record*. **2019**;20(5):440-451.

¹⁰ Li M, Yuan Y, Chen Y. Acid-Induced Multicolor Fluorescence of Pyridazine Derivative. *ACS Applied Materials & Interfaces*. **2017**;10(1):1237-1243.

¹¹ Tang R, Wang X, Zhang W, Zhuang X, Bi S, Zhang W, et al. Aromatic azaheterocycle-cored luminogens with tunable physical properties via nitrogen atoms for sensing strong acids. *Journal of Materials Chemistry C*. **2016**;4(32):7640-7648.

¹² Achelle S, Barsella A, Caro B, Robin-le Guen F. Donor-linker-acceptor (D- π -A) diazine chromophores with extended π -conjugated cores: synthesis, photophysical and second order nonlinear optical properties. *RSC Advances*.

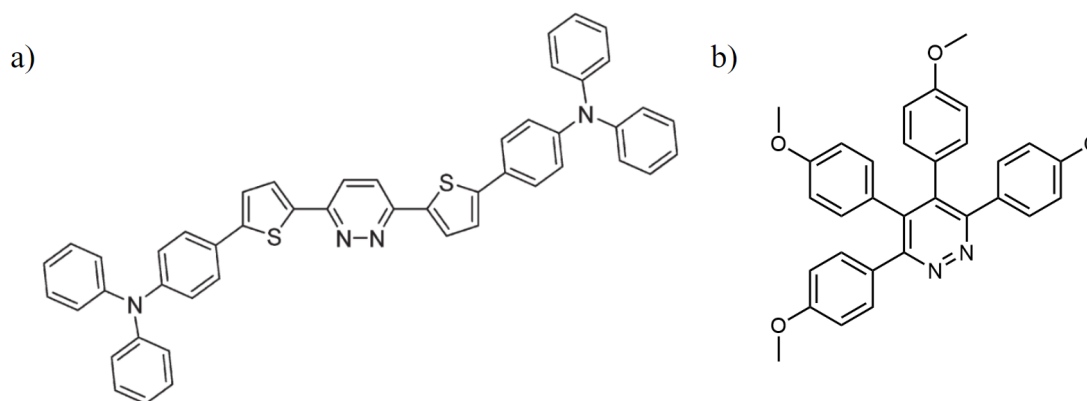


Figura 10: (a) Material orgânico com óptica não-linear que apresenta absorção de dois fótons.⁸ (b) Estrutura do 3,4,5,6-tetrakis(4-methoxyphenyl)pyridazine (TPP), molécula que apresenta luminescência induzida por ácido.¹⁰

1.2 FLUORESCÊNCIA

Para poder compreender a fluorescência é preciso entender antes sobre outros conceitos básicos da espectroscopia. Um fenômeno de extrema relevância na espectroscopia molecular é a absorção. Nela, os elétrons da molécula vão interagir com uma radiação eletromagnética incidente de energia $h\nu$, sendo h a constante de Planck e ν a frequência da onda (equação 1), passando de um estado de energia mais baixa, conhecido como estado fundamental, para um estado de energia maior, chamado de estado excitado. A diferença entre esses estados é igual a energia da radiação absorvida.¹³ Na absorção molecular é essencial conhecer a teoria de orbital molecular (TOM) para compreender onde ocorrem essas transições eletrônicas.

$$E = h\nu \quad (1)$$

Os orbitais atômicos são representações da probabilidade de encontrar elétrons em um determinado espaço em volta dos núcleos dos átomos. Esta probabilidade é determinada pelo quadrado da função de onda de Schrödinger. Na TOM a ligação entre dois átomos de uma molécula é representada por orbitais moleculares. Estes orbitais são obtidos pela combinação linear dos orbitais atômicos envolvidos. A combinação entre dois orbitais, que são descritos por uma função de onda, pode gerar uma interação construtiva, dando origem aos orbitais moleculares ligantes, e uma interação destrutiva,

¹³ Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G. and Vyvyan, J., 2014. *Introduction to Spectroscopy*. 5th ed. Stamford: Cengage Learning.

gerando os orbitais moleculares antiligantes. O desdobramento destes orbitais pode ser melhor entendido ao observar um diagrama de energia (figura 11).^{14,15}

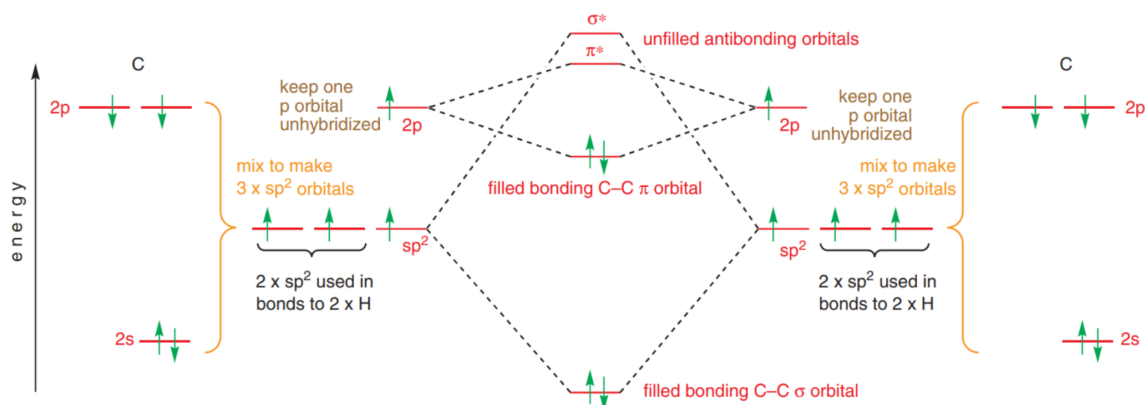


Figura 11: Diagrama de energia dos orbitais moleculares do eteno.¹⁵

A figura 11 mostra como os orbitais de dois carbonos formam uma ligação dupla combinando um orbital sp^2 de cada para formar uma ligação σ , enquanto um orbital p não hibridizado de cada átomo se juntam para formar uma ligação π . O número de orbitais atômicos combinados vai ser igual ao número de orbitais moleculares gerados. Os elétrons que estavam nos orbitais originais vão ser distribuídos nos novos. Uma das principais informações retiradas destes diagramas é a determinação de quais orbitais e elétrons vão participar em uma reação ou transição eletrônica. Os elétrons mais disponíveis para tais processos são aqueles que estão no orbital molecular mais energético ocupado (HOMO). Os elétrons vão ser recebidos pelo orbital molecular menos energético (LUMO), por gerar a espécie mais estável. Pode-se observar que graças à ligação dupla, o HOMO e o LUMO do eteno são os orbitais moleculares π e π^* , respectivamente, que estão muito mais próximos um do outro em comparação com os orbitais σ e σ^* . Esta aproximação permite com que as transições eletrônicas ocorram com muita menos energia. Na absorção, o comprimento de onda necessário para excitar um elétron do HOMO pro LUMO vai ser maior.^{14,15}

Em diversas moléculas, quando há ligações π ou orbitais p adjacentes que estejam alinhados no mesmo plano ocorre o fenômeno de conjugação. Os orbitais se sobrepõem e formam novos orbitais moleculares ao longo de todos os átomos

¹⁴ Rauk A. *Orbital Interaction Theory of Organic Chemistry*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2001.

¹⁵ Clayden J, Greeves N, Warren S. *Organic chemistry*. 2nd ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2017.

envolvidos. Um exemplo deste fenômeno é encontrado no butadieno, em que duas ligações duplas estão conjugadas (figura 12). Vemos como os orbitais moleculares de cada ligação π se sobrepõem, formando os novos 4 orbitais. Pode-se observar na figura 10 que os novos HOMO e LUMO estão mais próximos energeticamente. Por consequência, a energia necessária para realizar uma transição eletrônica entre eles vai ser menor em comparação com as ligações duplas individuais. Quanto mais conjugado for o sistema, menor vai ser a diferença de energia entre o HOMO e o LUMO e maior vai ser o comprimento de onda necessário para excitar um elétron. Este é o motivo da conjugação ser de extrema importância para a técnica de espectroscopia no UV-visível.¹⁵

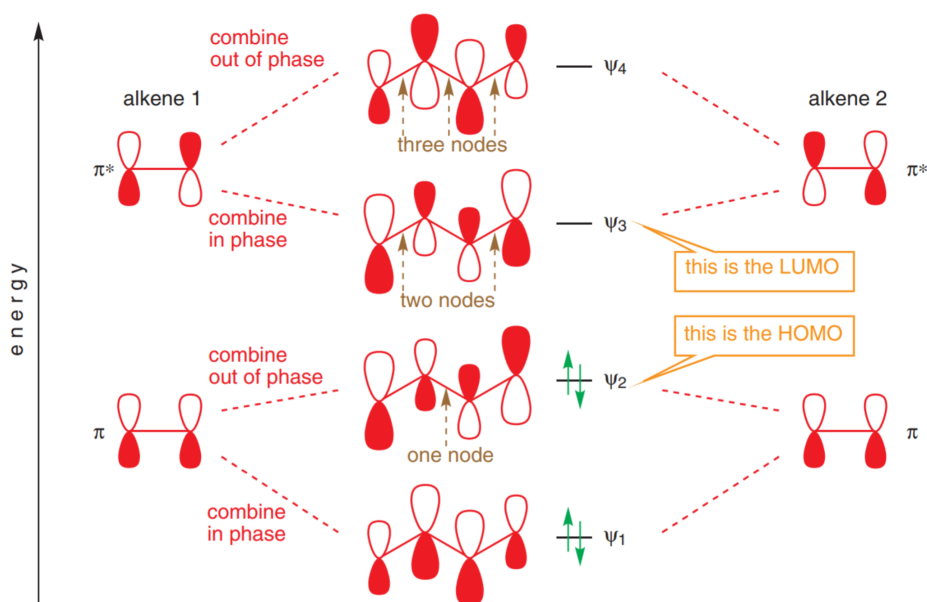


Figura 12: Diagrama de energia dos orbitais moleculares do butadieno.¹⁵

Quando uma molécula absorve energia e passa para o estado excitado ela tende a voltar para seu estado fundamental, podendo perder energia por vários mecanismos. Dependendo da molécula em questão, uma dessas formas de retornar ao estado fundamental é pela fluorescência. Este fenômeno se refere à emissão de luz de uma substância quando os elétrons passam do estado excitado singlete ao estado fundamental. Esta propriedade está presente em diversas moléculas orgânicas que possuem sistemas π -conjugados. Como mencionado anteriormente, isto se deve à aproximação energética entre o HOMO e o LUMO pela deslocalização eletrônica,

fazendo com que o fóton emitido pela molécula tenha comprimento de onda dentro da faixa do visível.^{14,16}

A transição da molécula do estado excitado para o estado fundamental pode se dar por processos radioativos, que envolvem a emissão de fótons, ou não-radioativos, podendo ser por relaxação vibracional, conversão interna ou cruzamento intersistemas. Estes processos competem entre si, portanto, quanto mais ocorrer um, menos vai ocorrer do outro.^{16,17,18}

Pode-se observar no diagrama de Jablonski simplificado (figura 13) que os estados eletrônicos S_0 , S_1 e S_2 são compostos por diferentes estados vibracionais 0, 1, 2,... em que as moléculas podem existir. Nota-se que para que os elétrons passem do estado fundamental para o estado excitado singleto, eles absorvem uma radiação eletromagnética $h\nu_A$, partindo do estado vibracional 0, pois à temperatura ambiente, a energia térmica não é suficiente para que uma quantidade significativa de moléculas povoe os estados vibracionais mais altos. Quando um elétron é excitado ele pode povoar qualquer um dos estados vibracionais do estado excitado singleto. O tempo de vida médio das moléculas orgânicas neste estado fica em torno de 10^{-8} s, que parece ser pouco tempo, mas é o suficiente para que ela sofra processos de conversão interna, que ocorre tipicamente em 10^{-12} s ou menos, antes de que ocorra a emissão em si. Este é o motivo das bandas de emissão em uma análise terem comprimentos de onda maiores que os de suas absorções. A diferença entre comprimento de onda máximo de emissão e o de absorção é chamado de deslocamento de Stokes.¹⁶

¹⁶ Lakowicz J. Principles of fluorescence spectroscopy. 3rd ed. Baltimore: Springer Science+Business Media; **2006**.

¹⁷ Schwartz Radatz, Catia. *Novas metodologias para a síntese de benzosselenazóis fotoluminescentes*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2013**.

¹⁸ Gonçalves, Pierre. *Síntese e caracterização de novas iminas fluorescentes e suas aplicações como sensores ópticos*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2008**.

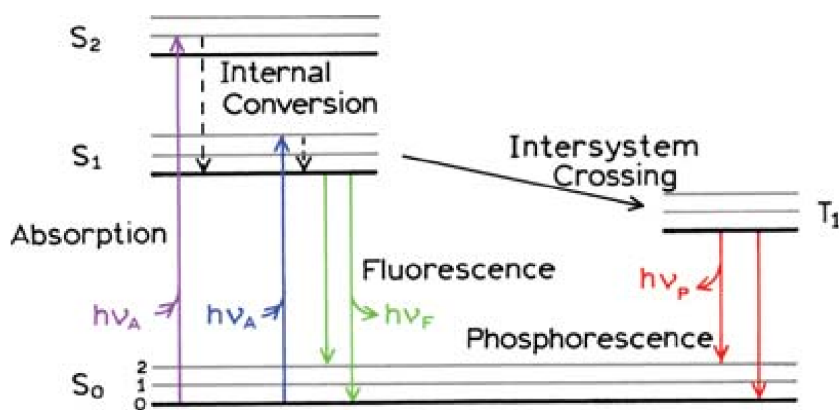


Figura 13: Diagrama de Jablonski.¹⁶

As transições eletrônicas envolvidas na fluorescência de moléculas orgânicas a temperatura ambiente entre dois estados eletrônicos vão, majoritariamente, partir do menor estado vibracional, podendo atingir os estados vibracionais mais energéticos do estado eletrônico final. Estas bandas de emissão são geralmente independentes do comprimento de onda absorvido, pois partem do estado vibracional mais baixo durante a emissão. Isto pode ser observado no espectro de emissão de uma cumarina, que apresenta o mesmo comportamento de fluorescência para dois comprimentos de onda de excitação distintos.¹⁶

O tempo curto de vida dos estados excitados durante a fluorescência é causado pelo tipo de transição eletrônica que ocorre. Como mencionado anteriormente, na fluorescência, as transições ocorrem entre os estados eletrônicos singletos ($S_0, S_1, S_2 \dots$), que tem mesma multiplicidade. Isto é definido pela equação 2, em que S é somatório dos spins dos elétrons. Nos singletos, os elétrons vão ter spin opostos, um com spin igual a $\frac{1}{2}$ e outro com spin $-\frac{1}{2}$, que lhe garante multiplicidade 1, dando origem ao nome “singlete”. No caso de um tripleto a multiplicidade vai ser igual a 3 pois os elétrons envolvidos na transição vão ter mesmo spin ($\frac{1}{2}$).^{17,18,19}

$$\text{Multiplicidade} = 2S+1 \quad (2)$$

As transições entre estados singlete, $S_1 \rightarrow S_0$, por exemplo, os elétrons vão ter spin complementares (figura 14), permitindo com que essa transição aconteça, portanto, ela ocorre rapidamente. Nas transições de um estado tripleto para singlete $T_1 \rightarrow S_0$, são proibidas, pois os elétrons têm o mesmo spin. Isto faz com que os estados excitados

¹⁹ Arenhart Soares, Franciela. *Síntese e Estudo da Interação de Novos Ésteres Benzotiazepínicos com a Proteína BSA via Espectroscopia de Fluorescência*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016

tenham um tempo de vida maior, dando origem ao fenômeno da fosforescência, observado no diagrama de Jablonski.^{16,18,19}

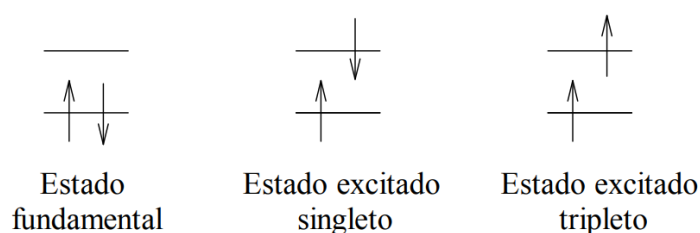


Figura 14: Representação do estado fundamental e dos estados excitados singleto e tripleto¹⁸

Para que moléculas orgânicas apresentem fluorescência, estas devem ter alguns pré-requisitos, além da conjugação de elétrons π mencionada anteriormente. A fim de minimizar a desativação não-radiativa, a estrutura da molécula deve conter uma certa rigidez e planaridade. Este é o motivo de estruturas aromáticas serem bons fluoróforos, nome dado às estruturas responsáveis pela fluorescência, especialmente heterociclos, que contribuem com orbitais não ligantes n para a deslocalização eletrônica.^{17,18,19} Pode-se observar alguns exemplos de fluorescência em heterociclos na figura 15, em que Zhang et al., (2015) testou 5 pigmentos diferentes derivados da rodamina.²⁰

²⁰ Zhang X-F, Zhang J, Lu X. The fluorescence properties of three rhodamine dye analogues: Acridine red, pyronin Y and Pyronin B. *Journal of Fluorescence*. **2015**;25(4):1151–8.

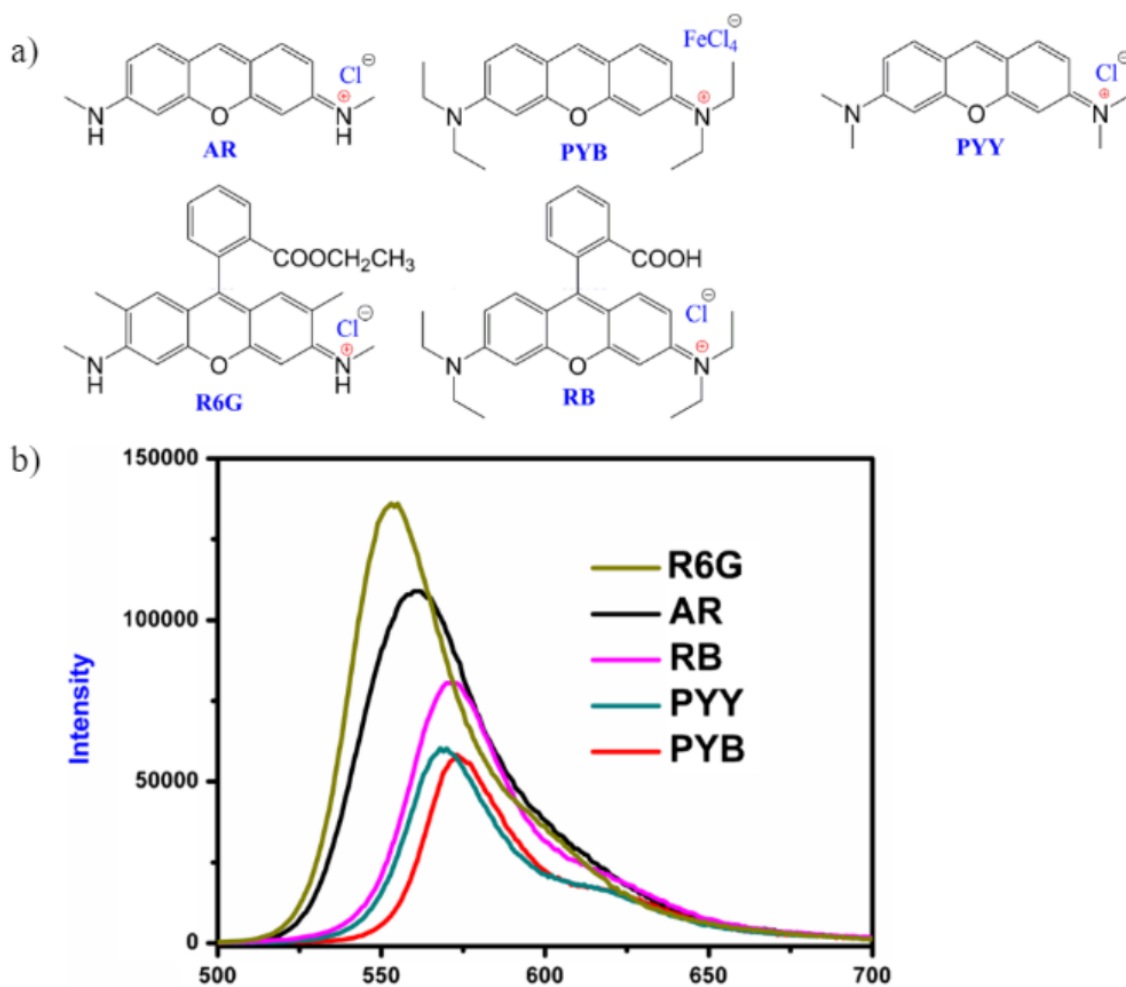


Figura 15: a) Estruturas dos pigmentos *Acridine Red* (AR), *Pyronine B* (PYB), *Pyronine Y* (PYY), *Rhodamine 6G* (R6G), *Rhodamine B* (RB). b) Espectro de fluorescência dos pigmentos.²⁰

A fluorescência de uma molécula é muito afetada pelo meio em que está inserida. Vários efeitos podem alterar seu comportamento, especialmente proveniente das interações entre o fluoróforo e o solvente. No estado fundamental, as moléculas vão estar solvatadas pelo solvente na orientação mais favorável, minimizando a energia do sistema. Quando elas são promovidas ao estado excitado por absorção, tendem a aumentar seu momento de dipolo. Devido ao tempo de vida dos fluoróforos no estado excitado, em média 10^{-8} s, as moléculas de solvente se reorientam em volta desta nova distribuição eletrônica, que leva entre 10^{-11} s e 10^{-10} s, estabilizando o estado excitado. Ao retornar ao seu estado fundamental, o solvente vai estar orientado para estabilizar o estado excitado, relaxando após o fluoróforo voltar ao momento de dipolo original. Isto faz com que a diferença de energia entre os estados S_0 e S_1 durante a fluorescência seja menor, por consequência aumentando o comprimento de onda emitido e o deslocamento de Stokes. Este efeito tende a aumentar em solventes mais polares pela maior

estabilização dos estados excitados, que por sua vez serão mais sensíveis ao efeito se forem polares também.¹⁶

Além do aumento do deslocamento de Stokes pela polaridade do solvente, outros efeitos podem modificar o comportamento da fluorescência das moléculas. Podem ocorrer mudanças na estrutura do fluoróforo devido à diferença na distribuição eletrônica no estado excitado. Alguns dos processos mais conhecidos são a transferência de carga interna (ICT), transferência de carga por rotação de ligação (TICT), transferência protônica intramolecular no estado excitado (ESIPT). Entretanto, a ocorrência desses fenômenos vão depender bastante da molécula e do solvente em questão.^{17,18,19}

Um fator bem importante a ser levado em consideração quando se utiliza técnicas de fluorescência é *quenching**. Este é o nome dado ao fenômeno de supressão da intensidade da fluorescência de uma molécula. Os mecanismos responsáveis podem ser muitos, desde interações intermoleculares a modificações na estrutura do fluoróforo. As moléculas que são responsáveis pela diminuição da fluorescência são chamadas de *quenchers*.^{16,21}

O *quenching* por interação entre *quencher* e fluoróforo pode-se dar por dois mecanismos: estático ou dinâmico, ambos requerendo contato entre si. O *quenching* dinâmico ocorre pela colisão entre ambas moléculas envolvidas, fazendo com que o fluoróforo no estado excitado volte ao estado fundamental sem emissão de fóton, transferindo sua energia para o *quencher* pela colisão. No *quenching* estático, se forma um complexo entre o *quencher* e o fluoróforo, que não apresenta fluorescência.^{16,19,21}

Estes métodos de *quenching*, que necessitam contato, são fonte de informações de sistemas bioquímicos, podendo ser utilizados para vários estudos. Por exemplo, pode-se usar este fenômeno para determinar onde um fluoróforo se liga a uma proteína ou uma membrana biológica, observando se sua fluorescência diminui ou não caso um *quencher* conhecido seja adicionado ao meio. Se a fluorescência não se alterar, quer dizer que a molécula fluorescente fica localizada em um lugar onde o *quencher* não tem acesso.^{16,19,21}

²¹ Eftink M, Ghiron C. Fluorescence quenching studies with proteins. *Analytical Biochemistry*. **1981**;114(2):199-227.

* Nome em inglês dado ao fenômeno de supressão da fluorescência.

Vista a importância da fluorescência, ela pode ser utilizada para diversas finalidades. Dentre todos seus usos, é destacado sua aplicação em meios biológicos, servindo para análises e geração de imagens. Portanto, é de alta relevância o desenvolvimento de novas moléculas que apresentem fluorescência, tendo em mente seus usos na pesquisa e em análises dentro das ciências biológicas.

1.3 SENSORES BIOLÓGICOS

Os sensores em sistemas biológicos são essenciais para sua interpretação e visualização. Estes permitem com que seja possível analisar os mecanismos celulares através da detecção das substâncias envolvidas. Para a realização destas técnicas é necessário uma substância que seja específica que em contato com o analito emita algum tipo de informação que possa ser detectada, interpretada e quantificada por um instrumento analítico. A fluorescência é uma ferramenta muito poderosa neste contexto, pois é um fenômeno extremamente sensível, podendo ser utilizado para detectar substâncias em baixas concentrações.²²

A fluorescência é utilizada bastante na análise de sistemas biológicos (figura 16). Os fluoróforos vão ser desenhados para poderem obter as informações específicas desejadas, como acompanhar uma reação biológica ou determinar pH e concentrações de gases em um meio fisiológico. Esta técnica analítica permite com que sejam observadas interações moleculares, pois a fluorescência é sensível ao ambiente em que é inserido.^{16,23,24}

²² Vo-Dinh T, Cullum B. Biosensors and biochips: Advances in biological and Medical Diagnostics. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. **2000**;366(6-7):540–51.

²³ Griffiths H. Biomarkers, Lennart Møller, Grzegorz Bartosz, Aalt Bast, Carlo Bertoni-Freddari, Andrew Collins, Marcus Cooke, Stefan Coolen, Guido Haenen, Anne-Mette Hoberg, Steffen Loft, Joe Lunec, Ryszard Olinski, James Parry, Alfonso Pompella, Henrik Poulsen, Hans Verhagen, Siân B. Astley. *Molecular Aspects of Medicine*. **2002**;23(1-3):101-208.

²⁴ Schäferling M. The Art of Fluorescence Imaging with Chemical Sensors. *Angewandte Chemie International Edition*. **2012**;51(15):3532-3554.

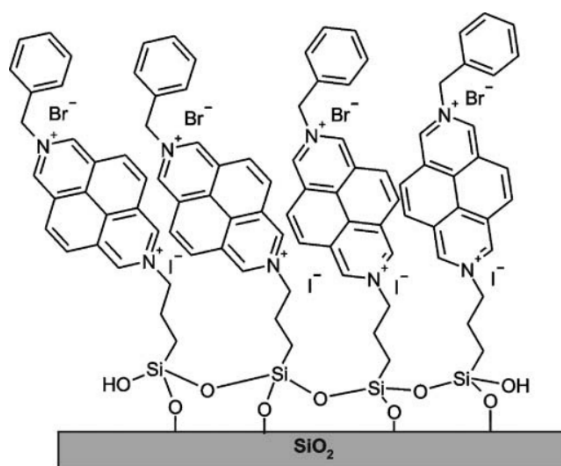


Figura 16:Esquema da estrutura de um detector de dopamina por fluorescência.²⁵

Os sensores biológicos permitem detectar indicadores de patologias antes dos sintomas aparecerem, permitindo com que se tomem ações preventivas. Outra função de extrema importância do grupo dos sensores biológicos é fornecer informações a respeito de oxidação de sistemas biológicos, como a localização onde ocorre estresse oxidativo, eficácia de antioxidantes, danos gerados às biomoléculas, organelas ou tecidos. Esta função requer que o marcador apresente fluorescência para que possa ser interpretado por instrumentos analíticos.²³

O estresse oxidativo é um termo muito abrangente para o desequilíbrio no balanço oxidante-antioxidante em um sistema biológico para o lado dos oxidantes, muitas vezes danificando células, tecidos e outras estruturas biológicas. Ele ocorre por diversos mecanismos, podendo ser causado por espécies reativas de oxigênio (ROS), espécies reativas de nitrogênio (RNS), espécies reativas de enxofre (RSS), espécies reativas de carbonila (RCS), espécies reativas de selênio (RSeS), enzimas, entre outros oxidantes presentes nas reações bioquímicas de oxidação-redução.^{26,27}

As ROS são as substâncias mais estudadas e mencionadas quando se fala sobre estresse oxidativo. As ROS mais importantes estão listadas na tabela 1.²⁶ Uma das espécies mais importantes deste grupo é o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que está envolvido em muitas reações biológicas. Ele é relativamente estável, tendo um maiores tempos de vida dentro do seu grupo, podendo atingir outros locais nas células além de

²⁵ Basabe-Desmonts L, Reinhoudt DN, Crego-Calama M. Design of fluorescent materials for chemical sensing. *Chemical Society Reviews*. **2007**;36(6):993.

²⁶ Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*. **2017**;86(1):715–48.

²⁷ Sies H. Oxidative stress: Impact in redox biology and medicine. *Archives of Medical and Biomedical Research*. **2016**;2(4):146.

seu local de origem.²⁸ O H₂O₂ pode não ser tão reativo frente à biomoléculas devido a grande energia de ativação dessas reações, entretanto, ele pode se decompor e gerar outras ROS, como o radical hidroxil (HO•) ou metais com estado de oxidação maior que o natural, tornando-os mais reativos. Devido a isso, o peróxido de hidrogênio é o alvo de estudo de várias metodologias para detectar estresse oxidativo e compreender os mecanismos das reações de oxirredução biológicas.²⁹

Radicais livres	Espécies não-radicalares
Ânion-Radical Superóxido (O ²⁻ •)	Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂)
Radical Hidroxil (HO•)	Hidroperóxido Orgânico (ROOH)
Radical Peroxil (ROO•)	Oxigênio Molecular Singleto (O ₂ ¹ Δ _g)
Radical Alcoxil (RO•)	Carbonilas Eletronicamente excitadas (RCO)
	Ozônio (O ₃)

Tabela 1: Espécies reativas de oxigênio (ROS).²⁶

O H₂O₂ é um subproduto de reações essenciais para a sobrevivência das células, como na respiração celular. Sua síntese e degradação são catalisadas por diversas enzimas podendo ser encontradas em vários sítios diferentes dentro de uma célula (figura 17).²⁸ Em condições normais ele serve como um sinalizador para manter o equilíbrio do sistema biológico. Entretanto, sua concentração elevada está relacionada com o estresse oxidativo.²⁸⁻³⁰ Com a grande variedade de sítios em que pode ser encontrado dentro de uma célula e os diferentes tipos de células que podem ser encontradas dentro de um organismo, é imprescindível o desenvolvimento de novos sensores de peróxido.

²⁸ Černý M, Habánová H, Berka M, Luklová M, Brzobohatý B. Hydrogen peroxide: Its role in plant biology and crosstalk with Signalling Networks. *International Journal of Molecular Sciences*. **2018**;19(9):2812.

²⁹ Winterbourn CC. The Biological Chemistry of Hydrogen Peroxide. *Hydrogen Peroxide and Cell Signaling, Part C*. **2013**::3–25.

³⁰ Antunes F, Brito PM. Quantitative biology of hydrogen peroxide signaling. *Redox Biology*. **2017**;13:1–7.

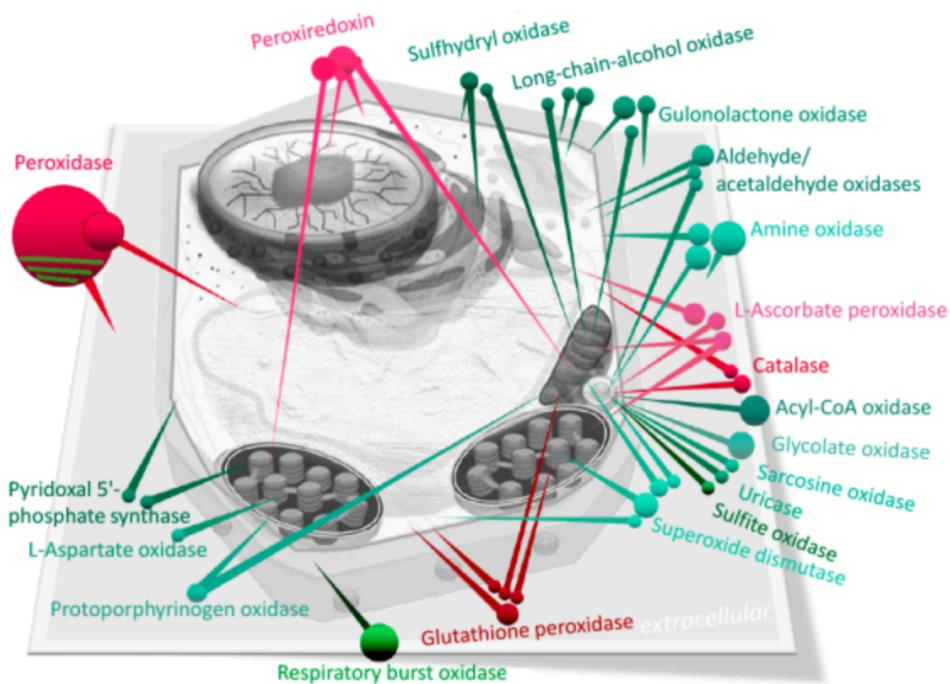


Figura 17: Enzimas envolvidas na síntese e degradação do peróxido de hidrogênio e suas localizações em célula vegetal.²⁸

A detecção de H_2O_2 em sistemas biológicos pode ser realizada pelo uso de moléculas não-fluorescentes que ao serem oxidadas pelo H_2O_2 passam a ser fluorescentes. Alguns exemplos de sensores de peróxido são: 5-(e 6)-clorometil-2',7'-diclorodihidrofluoresceína (CM-DCFH), *Peroxy Green 1* (PG1) e *Peroxy Crimson 1* (PC1) (figura 18). Todos estes se transformam fluorescentes ao serem oxidados pelo peróxido de hidrogênio.^{31,32,33}

³¹ Rhee SG, Chang T-S, Jeong W, Kang D. Methods for detection and measurement of hydrogen peroxide inside and outside of cells. *Molecules and Cells*. **2010**;29(6):539–49.

³² Meier J, M Hofferber E, A Stapleton J, M Iverson N. Hydrogen peroxide sensors for biomedical applications. *Chemosensors*. **2019**;7(4):64.

³³ Miller EW, Albers AE, Pralle A, Isacoff EY, Chang CJ. Boronate-based fluorescent probes for imaging cellular hydrogen peroxide. *Journal of the American Chemical Society*. **2005**;127(47):16652–9.

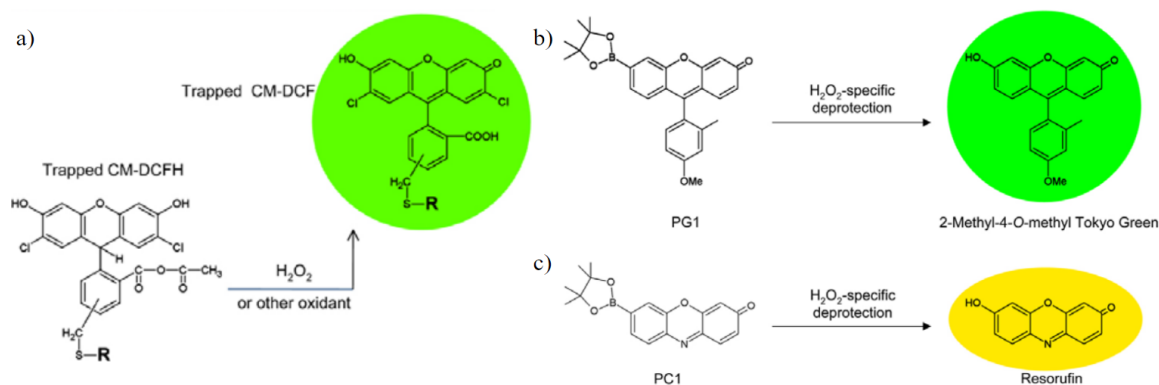


Figura 18: (a) Reação de oxidação do CM-DCFH. (b) Reação de oxidação do PG1. (c) Reação de oxidação do PC1.³¹

Uma característica importante que um sensor de H₂O₂ deve ter é ser facilmente oxidado por ele, reagindo rapidamente. O selênio é um elemento que é conhecido por oxidar-se facilmente. Ele está presente na natureza, sendo considerado um nutriente essencial para o ser humano. Ele participa da degradação de algumas ROS, o que torna o uso deste calcogênio para a detecção de H₂O₂ uma estratégia interessante.^{27,34}

1.4 QUÍMICA DO SELÊNIO

O selênio é um elemento pertencente ao grupo dos calcogênios, assim como o oxigênio e o enxofre. Ele pode ser encontrado em 4 estados de oxidação: Seleneto (Se⁻²), a única forma do selênio reduzido, selênio elementar (Se⁰), selenito (Se⁺⁴) e selenato (Se⁺⁶). Ele possui 6 isótopos naturais, com as respectivas abundâncias: ⁷⁴Se (0,87%), ⁷⁶Se (9,02%), ⁷⁷Se (7,58%), ⁷⁸Se (23,52%), ⁸⁰Se (49,82%) e ⁸²Se (9,19%).³⁴ Destes, o ⁷⁷Se apresenta spin nuclear de +1/2, portanto, pode ser detectado pela técnica de ressonância magnética nuclear (RMN). Esta técnica é muito utilizada na síntese orgânica, pois permite com que obtenhamos informações estruturais das moléculas analisadas. O espectro de RMN do ⁷⁷Se é bem característico e pode oferecer dados importantes para a compreensão das estruturas em que está presente.³⁵

Ele é considerado um elemento traço essencial para a saúde humana, participando de diversas reações bioquímicas. Sua principal fonte nos humanos é através da dieta de alimentos contendo selênio, sendo as fontes vegetais as que têm

³⁴ Fordyce FM. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology*. **2012**;:375–416.

³⁵ Coelho FL. Desenvolvimento de Metodologias de Ciclicação de Selenoacetilenos e Selenetos Vinílicos para Formação de Heterociclos Indólicos [thesis]. **2018**.

maior biodisponibilidade deste elemento para o ser humano.^{34,36} Foi reportado na literatura que a deficiência em selênio nos humanos está relacionada com diversas enfermidades, como problemas musculares, cardíacos, neurológicos e malformações. Sua deficiência também foi relacionada com HIV e câncer por alguns estudos.^{27,34,36}

As funções mais importantes exercidas pelo selênio no organismo são feitas através de selenoproteínas, em que a maior parte delas estão envolvidas em reações de oxirredução. O selênio está presente em alguns aminoácidos, como selenocisteína e selenometionina (figura 19). A selenocisteína é considerada o 21º aminoácido essencial, encontrado em 25 selenoproteínas diferentes distribuídas em diversos tecidos do corpo humano.^{34,36}

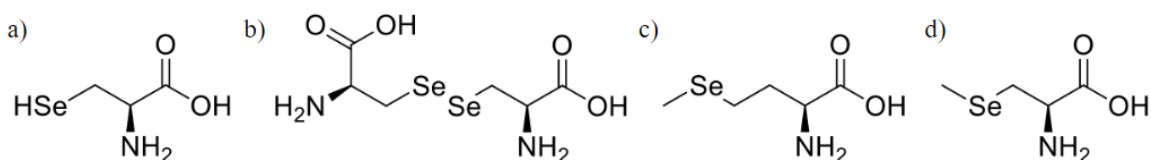


Figura 19: (a) Selenocisteína. (b) Selenocistina. (c) Selenometionina. (d) Metilselenocisteína.

Dentre todas as selenoproteínas conhecidas, as glutathionas peroxidases (GPxs) são as mais estudadas. Esta família de enzimas tem 8 isoformas, porém, apenas 5 delas contém o resíduo de selenocisteína, podendo catalisar a reação de redução do H₂O₂ e hidroperóxidos orgânicos utilizando o peptídeo glutathiona (GSH) como cofator (figura 20). Elas têm atividade antioxidante, prevenindo o estresse oxidativo através da catálise das reações de redução das ROS.³⁴⁻³⁷

³⁶ Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*. **2014**;6(1):25–54.

³⁷ Stadtman TC. Selenium biochemistry. *Annual Review of Biochemistry*. **1990**;59(1):111–27.

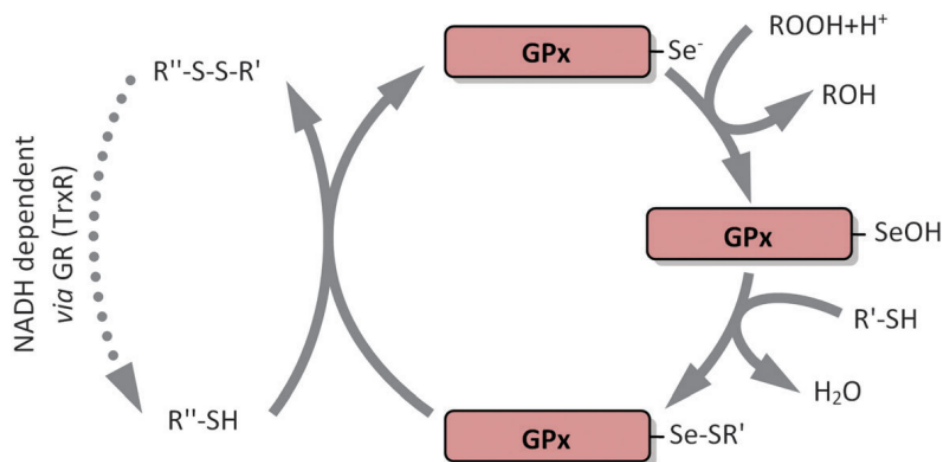


Figura 20: Esquema da atividade catalítica das glutatonas peroxidases.³⁶

O ebselen é uma das moléculas contendo selênio com atividade farmacológica mais relatadas na literatura. Ela mimetiza a ação das GPxs atuando como antioxidante. Ele funciona em um mecanismo de 3 etapas, demonstrado de maneira simplificada na figura 21, em que o ebselen é reduzido à selenol (EBS-SeH) por um equivalente de GSH, entrando no ciclo mostrado. O selenol é oxidado pelas ROS, gerando o ebselen hidroxilado (EBS-SeOH), que reage com um equivalente de GSH para gerar o intermediário de selênio e enxofre (EBS-SeSG).^{38,39,40} Por último, o selenol é regenerado pela ação de outro equivalente de GSH, tendo como subproduto um dissulfeto (GSSG).

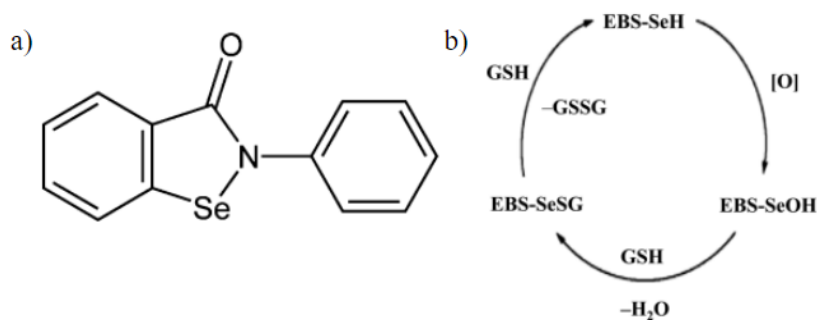


Figura 21: (a) Estrutura do ebselen. (b) Ciclo catalítico do ebselen em 3 etapas.³⁸

Azad e Tomar (2014) relatam que é difícil localizar o ebselen dentro das células pois a molécula não apresenta fluorescência.³⁸ Esta declaração ressalta a importância do

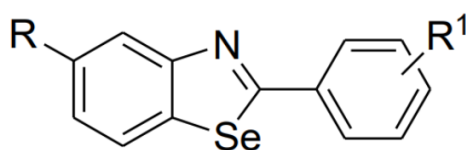
³⁸ Azad GK, Tomar RS. Ebselen, a promising antioxidant drug: Mechanisms of action and targets of biological pathways. *Molecular Biology Reports*. **2014**;41(8):4865–79.

³⁹ Antony S, Bayse CA. Modeling the mechanism of the glutathione peroxidase Mimic Ebselen. *Inorganic Chemistry*. **2011**;50(23):12075–84.

⁴⁰ Sies H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radical Biology and Medicine*. **1993**;14(3):313–23.

uso e o desenvolvimento de novas moléculas que apresentam fluorescência para serem utilizadas na pesquisa.

O selênio pode ser encontrado em alguns trabalhos que buscam desenvolver moléculas fluorescentes. Um exemplo são os benzosselenazóis sintetizados no trabalho de Schwartz (2013) (figura 22).¹⁷ Dentro todos os calcogênios testados, o uso do selênio nestas moléculas mostrou ser o mais promissor em relação a fluorescência, tendo um maior deslocamento de Stokes.



R = H ou Cl.

R¹ = 4-NO₂, 4-Br, 4-OH, 2-OH, H, 4-OMe, 4-Me, 3,4-F.

Figura 22: Estrutura geral dos benzosselenazóis.¹⁷

O selênio reage rapidamente com agentes oxidantes, que leva a uma alteração no seu comportamento fotofísico. O desenvolvimento de materiais que podem ter alguma de suas propriedades moduladas por estímulos externos é essencial para realizar análises mais precisas e obter uma compreensão dos mecanismos complexos dos sistemas biológicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SÍNTESE DE DERIVADOS PIRIDAZÍNICOS

A piridazina pode dar origem a uma enorme variedade de derivados através de diversas reações, como adições eletrofílicas, substituições nucleofílicas, reações de acoplamento cruzado, entre várias outras.⁴ No presente trabalho, a proposta é a síntese de moléculas derivadas da piridazina contendo selênio, porém, não existem muitos registros de sínteses de piridazinas conjugadas com este elemento. Entretanto, existem muitas metodologias estabelecidas para essas reações usando outros calcogênios como nucleófilos.

No trabalho de Parrot et al. (1999)⁴¹ foram sintetizadas algumas piridazinas substituídas com tiofenóis (figura 23). Os autores começaram a síntese gerando a

⁴¹ Parrot I, Wermuth C-G, Hibert M. Resin-bound thiophenols as Snar-labile linkers: Application to the solid phase synthesis of aminopyridazines. *Tetrahedron Letters*. **1999**;40(45):7975–8.

espécie nucleofílica, desprotonando os tiofenóis utilizando terc-butila de potássio (t-BuOK) em uma mistura de etanol e dimetilformamida (DMF) em temperatura ambiente por uma hora. Tendo o material de partida pronto, a 3,6-dicloropiridazina é adicionada em DMF junto com o nucleófilo, sofrendo substituição nucleofílica pelos tiofenóis em apenas um dos carbonos substituídos do heterociclo.

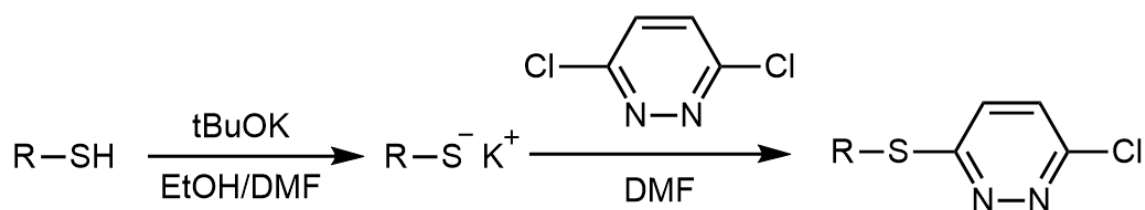


Figura 23: Esquema reacional da substituição nucleofílica entre 3,6-dicloropiridazina e tiofenóis.⁴¹

No processo de síntese do 3,5-dimetoxi-4,6-dinitropiridazina-1-óxido, há uma etapa em que ocorre uma substituição nucleofílica aromática (figura 24). O material de partida que Gospodinov et al. (2019)⁴² relata é a 3,5-dicloropiridazina, em que o nucleófilo é o íon metóxido gerado *in situ* pela presença de KOH.

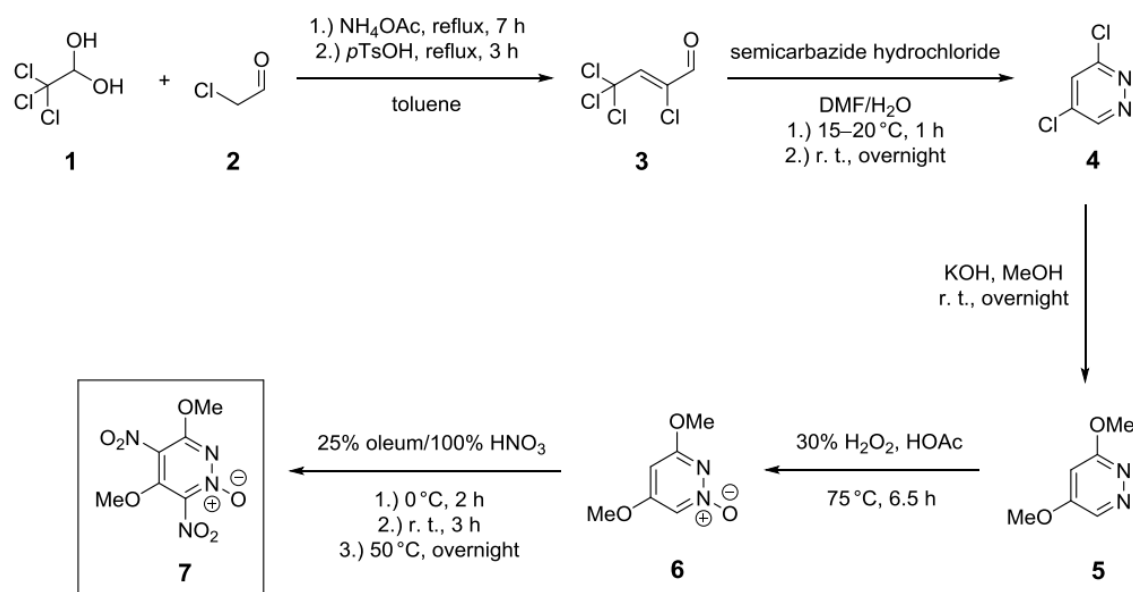


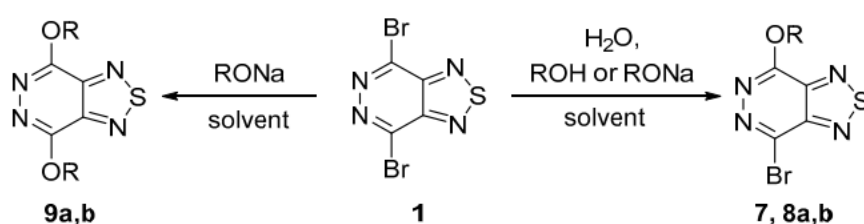
Figura 24: Esquema reacional da síntese do 3,5-dimetoxi-4,6-dinitropiridazina-1-óxido.⁴²

No artigo publicado por Chmovzh et al. (2018)⁴³ estão descritas várias condições reacionais para reações de substituição nucleofílica aromáticas em piridazinas

⁴² Gospodinov I, Singer J, Klapötke TM, Stierstorfer J. The pyridazine scaffold as a building block for energetic materials: Synthesis, characterization, and properties. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. **2019**;645(21):1247–54.

⁴³ Chmovzh T, Knyazeva E, Lyssenko K, Popov V, Rakitin O. Safe synthesis of 4,7-dibromo[1,2,5]thiadiazolo[3,4-d]pyridazine and its Snar reactions. *Molecules*. **2018**;23(10):2576.

substituídas utilizando calcogênios como nucleófilos. Observou-se que o 4,7-dibromo[1,2,5]tiodiazolo[3,4-d]piridazina, material de partida dos pesquisadores, quando deixado exposto ao ar em temperatura ambiente, ele reage com a água, convertendo-se completamente no derivado monobromado. Esta observação demonstra a importância de manter as piridazinas halogenadas secas, e retirar o máximo possível de água dos meios reacionais ao utilizá-las. Entretanto, estes derivados monobromados são estáveis na presença de água. Para gerar os compostos dissustituídos foi necessário o uso de metóxido de sódio (MeONa) em metanol (MeOH) e para o fenóxido de sódio (PhONa) DMF em temperaturas altas (Figura 25).⁴³



R = H (**7**), Me (**a**), Ph (**b**)

Entry	Reagent (equiv.)	Solvent	Temp. (°C)	Time (h)	Yield (%)
1	H ₂ O (excess)	H ₂ O	25	30	7 (75)
2	H ₂ O (1)	CHCl ₃	25	30	7 (80)
3	H ₂ O (2)	CHCl ₃	25	30	7 (82)
4	H ₂ O (1)	CHCl ₃	60	20	7 (75)
5	H ₂ O (2)	CHCl ₃	60	20	7 (77)
6	MeOH (excess)	CHCl ₃	25	16	7 (78)
7	MeONa (1)	MeOH	25	6	8a (80)
8	MeONa (2)	MeOH	25	24	9a (82)
9	MeONa (2)	MeOH	64	6	9a (70)
10	PhOH (1)	THF	25	8	- *
11	PhOH (1)	DMF	25	8	- *
12	PhONa (1)	THF	25	8	8b (80)
13	PhONa (2)	THF	25	8	8b (78)
14	PhONa (2)	THF	60	6	8b (74)
15	PhONa (1)	DMF	25	8	8b (70)
16	PhONa (2)	DMF	25	8	8b (73)
17	PhONa (2)	DMF	90	6	9b (69)

* Starting dibromo derivative **1** was isolated in nearly quantitative yield.

Figura 25: Esquema reacional da substituição nucleofílica de 4,7-dibromo[1,2,5]tiodiazolo[3,4-d]piridazina utilizando nucleófilos de oxigênio.⁴³

No caso do uso de nucleófilos de enxofre, a substituição ocorre em ambos carbonos halogenados muito mais facilmente. A reação de substituição em ambos

carbonos eletrofílicos envolvidos ocorre em diversos solventes em temperatura ambiente, inclusive quando utilizado apenas um equivalente de nucleófilo.⁴³

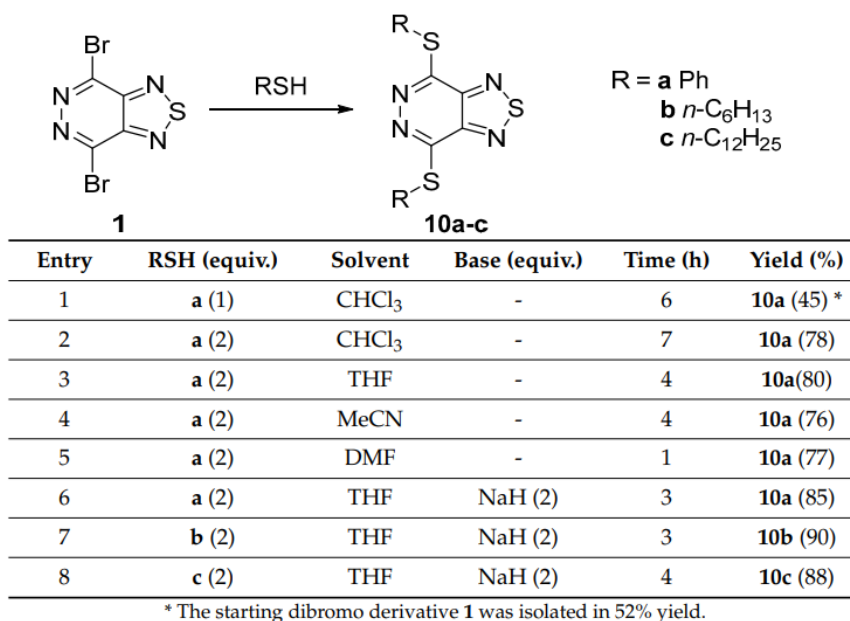


Figura 26: Esquema reacional da substituição nucleofílica de 4,7-dibromo[1,2,5]tiodiazolo[3,4-d]piridazina utilizando nucleófilos de enxofre.⁴³

As reações representadas na figura 26 ocorrem mais rapidamente no solvente mais apolar DMF. Estas também apresentaram um maior rendimento quando utilizada uma base, sendo hidreto de sódio (NaH) neste caso.⁴³

Observou-se uma tendência das piridazinas reagirem mais facilmente frente a nucleófilos de enxofre quando comparados com os de oxigênio. Isto é evidenciado pelas condições mais brandas utilizadas nestes casos e pelo fato do reagentes de oxigênio terem mais dificuldade de formar os produtos dissubstituídos.⁴¹⁻⁴³ Isto se deve, provavelmente, a maior nucleofilicidade do enxofre em comparação ao oxigênio, que é apresenta um caráter básico forte na sua forma aniônica em moléculas orgânicas.¹⁵

2.2 - PIRIDAZINAS E ATIVIDADE FOTOFÍSICA

Não sendo tão comuns na natureza, as piridazinas são muito famosas por suas atividades farmacológicas, como mencionado anteriormente.⁴ Entretanto, esta não é a única aplicação desta diazina. Devido à maior aproximação do HOMO e do LUMO deste heterociclo, quando comparado com o anel benzeno, e a inserção de orbitais n no sistema, devido à presença dos nitrogênios no anel, a piridazina apresenta atividades fotofísicas interessantes.

Em um estudo realizado por Li et al. (2014)⁴⁴, 3 compostos diferentes contendo piridazina (figura 27) foram sintetizados, em que foi avaliada a fluorescência de cada um em tetraidrofurano (THF). Os pesquisadores decidiram analisar os efeitos dos substituintes da piridazina na fluorescência utilizando um grupo retirador de elétrons (piridina) e um grupo doador de elétrons (tiofeno) comparando o substituinte fenila.

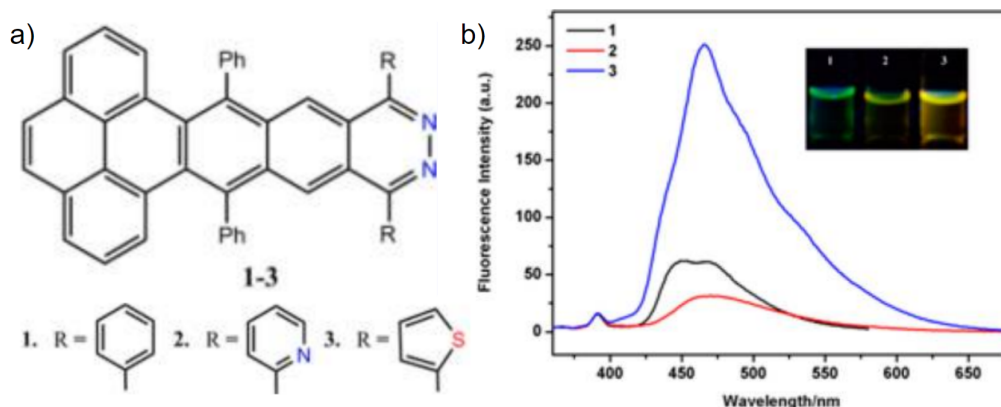


Figura 27: (a) Estrutura dos compostos sintetizados, em que o 1 tem como substituinte uma fenila, o 2 o substituinte retirador de elétrons piridina e o 3 tem o substituinte doador de elétrons tiofeno. (b) Espectro de fluorescência dos 3 compostos.⁴⁴

Observa-se na figura 27 que o uso de um grupo retirador de elétrons diminui a fluorescência do composto, enquanto o grupo doador de elétrons aumenta relativamente esta propriedade. Após terem medido a fotoluminescência dos compostos, os autores do artigo fizeram com que estas moléculas se organizem em estruturas nano/microestruturas, cada uma assumindo uma estrutura diferente (figura 28). Esta técnica de agregar moléculas orgânicas em nano/microestruturas é muito utilizada para gerar materiais com melhores propriedades eletrônicas e fotofísicas.⁴⁵

⁴⁴ Li J, Li P, Wu J, Gao J, Xiong W-W, Zhang G, et al. [4 + 2] cycloaddition reaction to approach diazawispentacenes: Synthesis, structures, physical properties, and self-assembly. *The Journal of Organic Chemistry*. **2014**;79(10):4438–45.

⁴⁵ Cui S, Liu H, Gan L, Li Y, Zhu D. Fabrication of low-dimension nanostructures based on organic conjugated molecules. *Advanced Materials*. **2008**;20(15):2918–25.

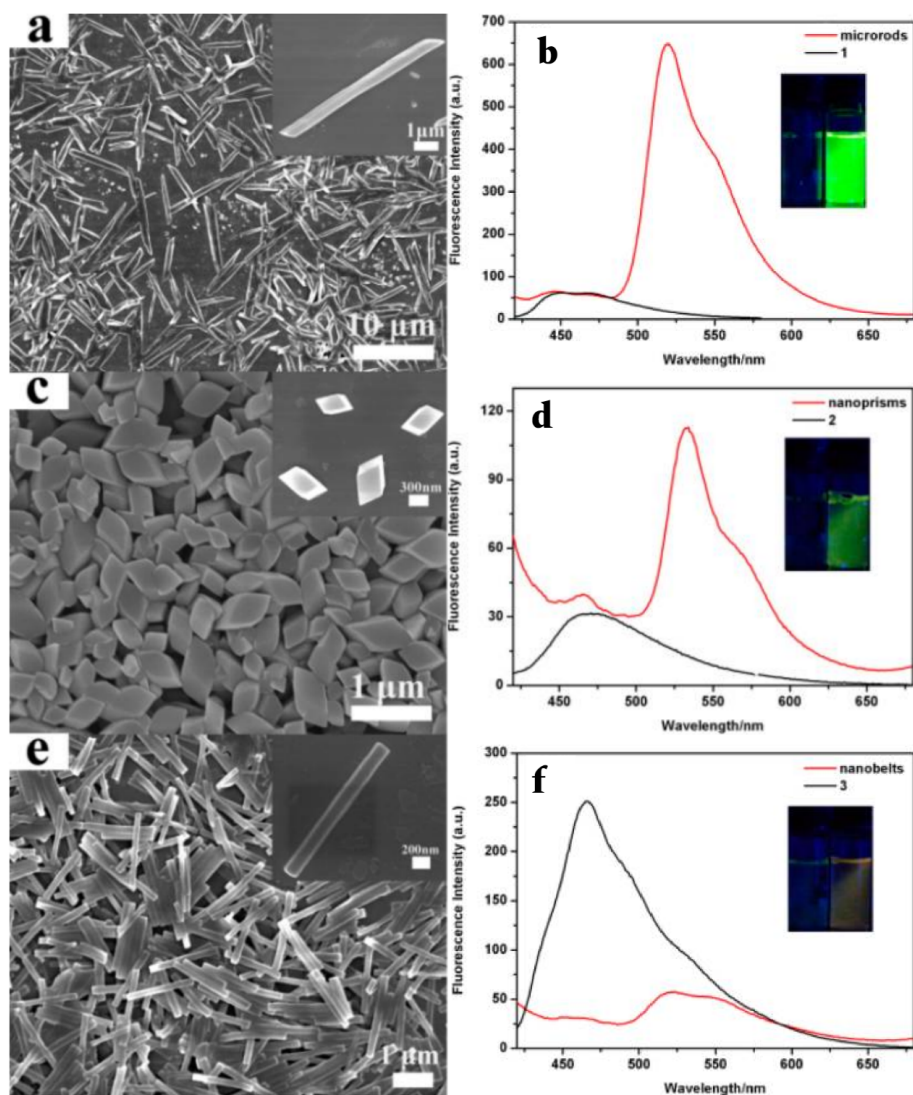


Figura 28: (a) Microbastões do composto 1. Comparação da fluorescência do composto 1 em suas duas formas. (c) nanoprismas do composto 2. (d) Comparação da fluorescência do composto 2 em suas duas formas. (e) *Nanobelts* do composto 3. (f) Comparação da fluorescência do composto 3 em suas duas formas.⁴⁴

Observou-se um aumento significativo na fluorescência dos compostos que contém a fenila e a piridina como substituintes em suas formas de microbastões e nanoprismas em soluções aquosas, respectivamente. Entretanto, a molécula com o substituinte doador de elétrons, tiofeno, que mais tinha apresentado fluorescência na solução em THF, passou a ter uma fluorescência bem menor após se agregar na estrutura de *nanobelts* em solução aquosa.⁴⁴

Outro material em que a piridazina está presente e apresenta fotoluminescência é a 3,6-bis(fenil)piridazina (BPPya). Três equivalentes deste composto formam um

complexo com irídio (III), que apresenta um máximo de emissão de luz verde em 541 nm (figura 29).^{46,47}

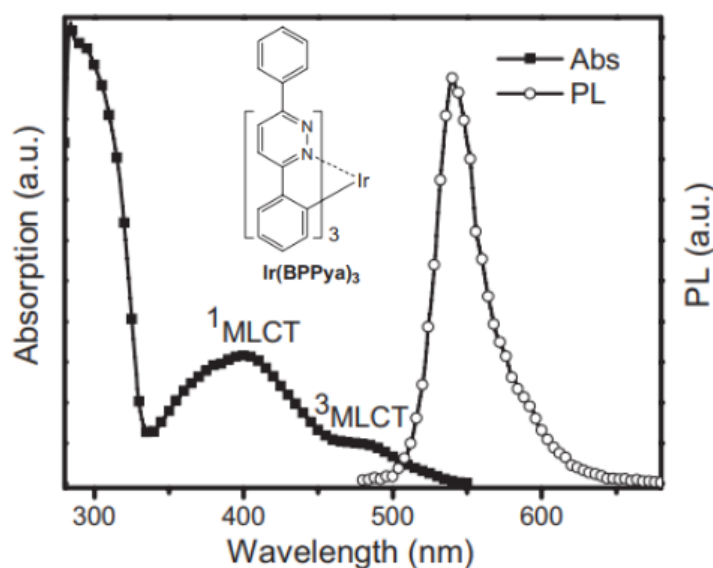


Figura 29: Estrutura e espectro de absorção e de fluorescência da BPPya.⁴⁶

O composto TPP (figura 30) é outro exemplo de piridazina que apresenta fotoluminescência. Ele é sensível à mudança de pH, que permite com que sua fluorescência seja modulada pela variação desse parâmetro, podendo gerar emissão de várias cores. Estas análises foram realizadas por Li et al. (2017), utilizando ácido trifluoracético (TFA) para avaliar a fluorescência do TPP em diferentes pHs.⁴⁸

⁴⁶ Gao ZQ, Mi BX, Tam HL, Cheah KW, Chen CH, Wong MS, et al. High efficiency and small roll-off electrophosphorescence from a new iridium complex with well-matched energy levels. *Advanced Materials*. **2008**;20(4):774–8.

⁴⁷ Mi BX, Wang PF, Gao ZQ, Lee CS, Lee ST, Hong HL, et al. Strong luminescent iridium complexes with C⁺N=N structure in ligands and their potential in efficient and thermally stable phosphorescent oleds. *Advanced Materials*. **2009**;21(3):339–43.

⁴⁸ Li M, Yuan Y, Chen Y. Acid-induced multicolor fluorescence of pyridazine derivative. *ACS Applied Materials & Interfaces*. **2017**;10(1):1237–43.

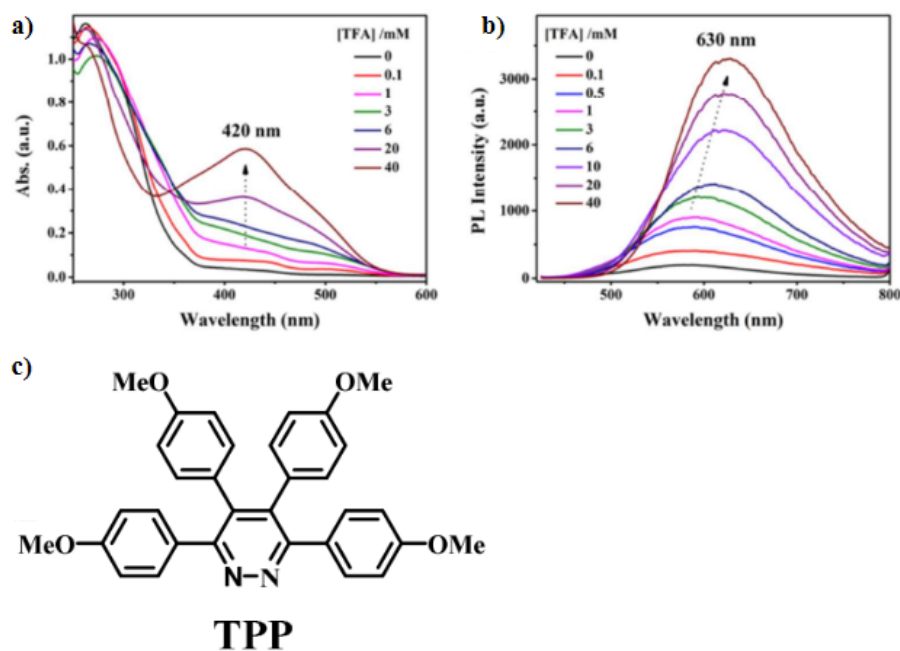


Figura 30: (a) Espectro de absorção do TPP em diferentes concentrações de TFA. (b) Espectro de fluorescência do TPP em diferentes concentrações de TFA. (c) Estrutura do TPP.⁴⁸

É evidente a relevância do heterociclo nos processos fotofísicos, que podem ser utilizados para diversas aplicações. Entretanto, não é a piridazina por si só que vai garantir uma boa fluorescência. Ela depende bastante da estrutura geral dos compostos dos quais ela participa.

2.3 - SELÊNIO NA SÍNTESE ORGÂNICA

Nas últimas décadas o uso de selênio vem crescendo bastante devido a suas propriedades interessantes, como grande nucleofilicidade e a facilidade com que é oxidado. Por esse motivo foram estudadas as diferentes formas de incorporar este calcogênio nas moléculas orgânicas, desenvolvendo novas metodologias sintéticas levando em consideração sua reatividade.

Na síntese orgânica, o selênio pode ser encontrado em várias formas, como disselenetos, selenois, selenoboratos, selenetos, selenóxidos, entre outras estruturas. Elas podem ser obtidas por diversas rotas, como demonstrado na figura 31.³⁵

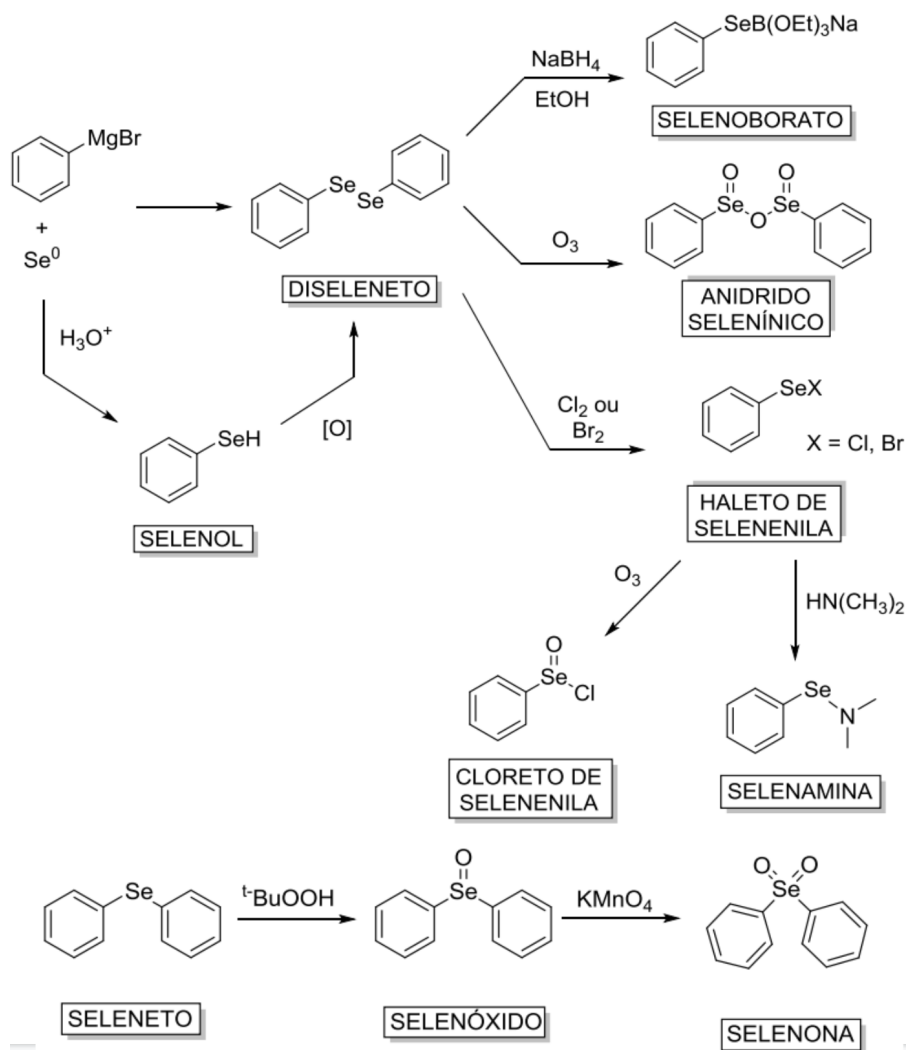


Figura 31: Exemplos de moléculas contendo selênio e suas formas de obtenção.³⁴

As aplicações do selênio são bem variadas dentro da síntese, graças a todos esses compostos que ele pode formar. Entretanto, no presente trabalho, o maior interesse é na formação de espécies de selênio nucleofílicas, pois são elas que vão realizar a substituição nucleofílica aromática nas piridazinas.

Observa-se na figura 31 que a partir dos disselenetos é possível gerar diversos materiais de partida. Eles podem ser reduzidos pelo uso de borohidreto de sódio (NaBH_4) em etanol, dando origem aos selenoboratos (figura 32).⁴⁹

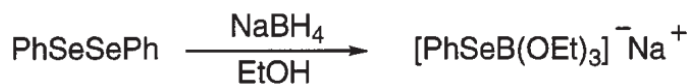


Figura 32: Reação de formação de selenoboratos a partir da redução de um disseleneto com NaBH_4 em etanol.⁴⁹

⁴⁹ Iwaoka M, Tomoda S. Nucleophilic selenium. *Organoselenium Chemistry*. 2000:55–80.

Este complexo formado torna o selênio em um nucleófilo reativo, usado para diversas reações. Seu uso como nucleófilo foi primeiramente descrito por Sharpless (1973) para a abertura de epóxidos seguido de uma oxidação por H_2O_2 , gerando álcoois alílicos, obtendo rendimentos de até 98% (figura 33).⁵⁰

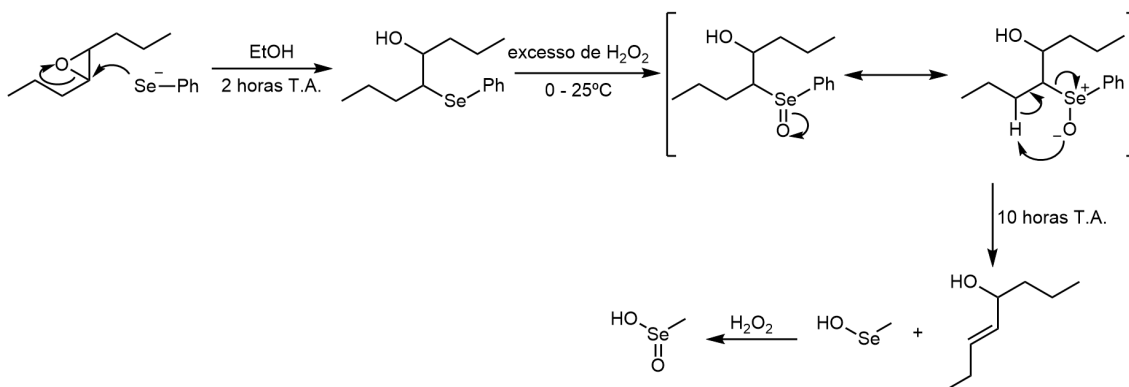


Figura 33: Formação de álcoois alílicos pela abertura de epóxido com selênio nucleofílico seguido de oxidação com excesso de H_2O_2 .⁵⁰

Esta metodologia para abrir alguns heterociclos por ataque nucleofílico continua sendo utilizada. No trabalho de Silva et al. (2016) foram realizadas várias sínteses utilizando espécies nucleofílicas dos calcogênios selênio e telúrio. Os rendimentos obtidos das reações envolvendo os compostos de selênio foram entre 72 e 93% (figura 34).⁵¹

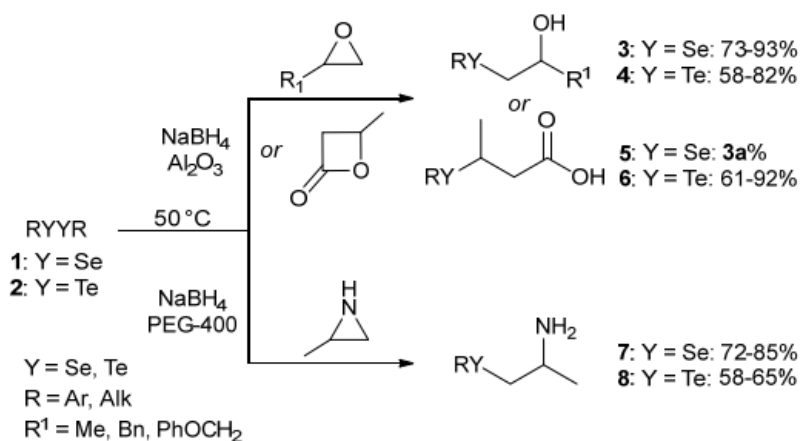


Figura 34: Esquema das reações de abertura de anéis por ataque nucleofílico.⁵²

⁵⁰ Sharpless KB, Lauer RF. Mild procedure for the conversion of epoxides to allylic alcohols. first organoselenium reagent. *Journal of the American Chemical Society*. **1973**;95(8):2697–9.

⁵¹ Silva PC, Borges EL, Lima DB, Jacob RG, Lenardão EJ, Perin G, et al. A simple and non-conventional method for the synthesis of selected β -arylalkylchalcogeno substituted alcohols, amines and carboxylic acids. *Arkivoc*. **2016**;2016(5):376–89.

⁵² Tanini D, Capperucci A. Ring opening reactions of heterocycles with selenium and tellurium nucleophiles. *New Journal of Chemistry*. **2019**;43(29):11451–68.

Milton et al. (2004) realizaram a síntese de uma triazina conjugada com 3 selênios, um ligado a cada carbono do anel aromático, através de uma reação de substituição nucleofílica aromática.⁵³ Os autores do artigo geraram o nucleófilo *in situ*, reduzindo um disseleneto utilizando NaBH₄ em tetraidrofurano (THF). Esta espécie reativa dos calcogênios vai atacar os carbonos eletrofílicos do anel aromático, formando um intermediário quaternário, que ao regenerar a aromaticidade do anel, vão eliminar um íon cloreto por substituição. Este mecanismo é o mesmo que ocorre nas substituições nucleofílicas das piridazinas demonstrado na figura 9.

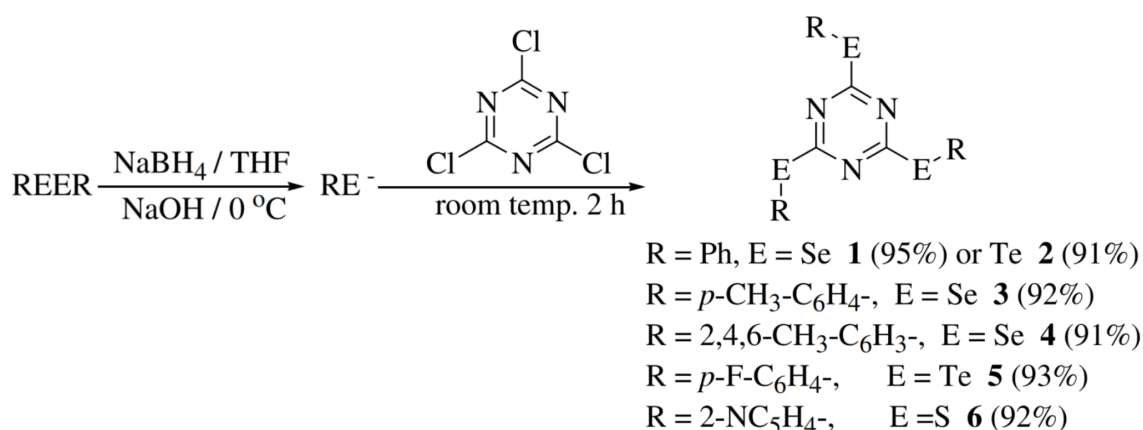


Figura 35: Reação de substituição nucleofílica aromática entre espécie nucleofílica de selênio ou telúrio e 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina.⁵³

As reações realizadas por Milton et al. (2004) tiveram ótimos rendimentos, entre 91 e 95%, pois a 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina é bem reativa frente a nucleófilos, devido a sua deficiência eletrônica nos carbonos aromáticos. Ela é mais reativa que a piridazina, pois contém um nitrogênio a mais no heterociclo, que leva a uma maior carga parcial positiva nos carbonos e maior estabilização do intermediário da reação por ressonância. Também apresenta menor aromaticidade, que acelera o primeiro passo da reação de substituição nucleofílica, o passo determinante da velocidade de reação, que consiste na quebra da aromaticidade para gerar o intermediário quaternário.^{5,7}

Os selenetos podem sofrer oxidação, gerando selenóxidos, como foi observado na figura 31. Este processo pode alterar o comportamento fotofísico do selênio. Um exemplo prático deste fenômeno é o ciclo redox dos derivados de 1,2-di(metoxicarbonil)-1-selênio-1,3-butadieno, em que a oxidação do selênio pelo ácido

⁵³ Milton MD, Kumar N, Sokhi SS, Singh S, Singh JD. An efficient and facile one-pot synthesis of structurally unique 2,4,6-tris(arylchalcogeno)-1,3,5-triazine and 1,3,5-tris(arylchalcogeno)-2,4,6-trimethylbenzene. *Tetrahedron Letters*. **2004**;45(34):6453–5.

metacloroperbenzóico (mCPBA) gera o selenóxido, que é reduzido pela trifetilfosfina (PPh₃) (figura 36). Em sua forma oxidada, o composto não apresenta fluorescência. Entretanto, quando é reduzido ele passa a ser fluorescente. Este tipo de comportamento é interessante para desenhar novos detectores.⁵⁴

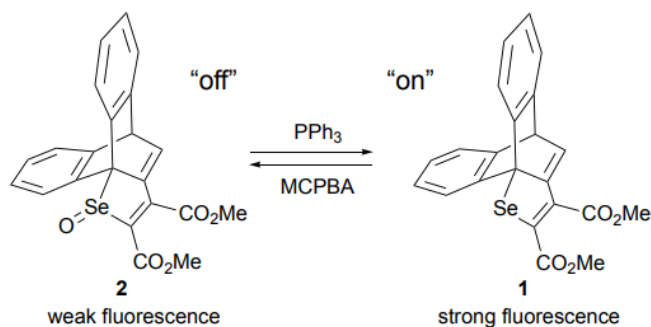


Figura 36: Ciclo redox entre derivado do 1,2-di(metoxicarbonil)-1-selênio-1,3-butadieno e seu óxido.⁵⁴

Como mencionado anteriormente, o selênio reage rapidamente com ROS e outros oxidantes. Esta característica permite com que compostos de selênio muitas vezes funcionem como no esquema da figura 36, tendo esse sistema de *on-off* ao sofrerem as reações de oxirredução. Portanto, o uso deste calcogênio para o desenho de novos detectores de ROS é uma estratégia vantajosa.

2.4 - DETECTORES DE PERÓXIDO

O peróxido de hidrogênio é responsável pela regulação de várias reações bioquímicas dentro das células. Em pequenas quantidades é essencial para o funcionamento normal dos organismos.³² Entretanto, quando em excesso, ele se torna nocivo, podendo dar origem a outras ROS e danificando as células e tecidos. O controle de sua concentração nos diferentes sítios das células fornece informações importantes em relação a possíveis danos e maus funcionamentos, além de ser importante para a pesquisa e o estudo das funções celulares em que o peróxido está envolvido. Devido a isso, várias metodologias de detecção de H₂O₂ vêm sendo desenvolvidas.²⁸⁻³²

No trabalho de Xiao et al. (2016), duas moléculas capazes de detectar H₂O₂ foram desenvolvidas, cada uma é específica para uma organela diferente nas células. Isto ocorre porque elas foram desenhadas para se acumularem em locais determinados dentro das células. O composto IM-H₂O₂ é um detector específico para H₂O₂ na

⁵⁴ Annaka T, Nakata N, Ishii A. A reversible and turn-on type fluorescence behaviour of hydrogen sulfide via a redox cycle between selenoxide and selenide. *New Journal of Chemistry*. 2019;43(29):11643–52.

mitocondria e o ER- H_2O_2 para o retículo endoplasmático (figura 37).⁵⁵ Ambas moléculas passam a apresentar fluorescência pelo mesmo mecanismo.

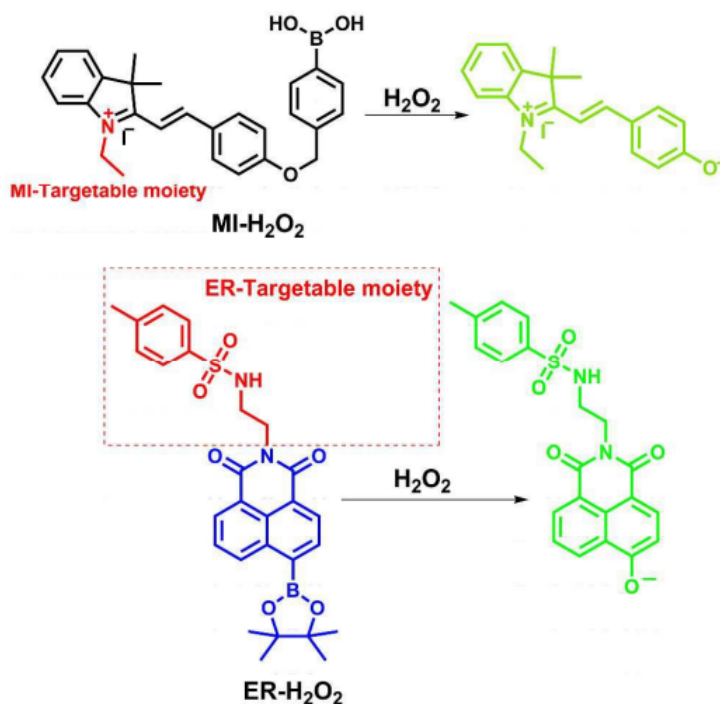


Figura 37: Estruturas dos dois detectores de H_2O_2 e suas reações com H_2O_2 .⁵⁵

Zhou et al. (2019) desenvolveram um detector de peróxido de hidrogênio seletivo que apresenta fluorescência ao entrar em contato com o analito. Ao interagir com o H_2O_2 , o sensor (DCM-B) sofre uma reação, em que a molécula é transformada em um composto que apresenta fluorescência próximo ao infravermelho (figura 38).⁵⁶

⁵⁵ Xiao H, Li P, Hu X, Shi X, Zhang W, Tang B. Simultaneous fluorescence imaging of hydrogen peroxide in mitochondria and endoplasmic reticulum during apoptosis. *Chemical Science*. **2016**;7(9):6153–9.

⁵⁶ Zhou Z, Li Y, Su W, Gu B, Xu H, Wu C, et al. A dual-signal colorimetric and near-infrared fluorescence probe for the detection of exogenous and endogenous hydrogen peroxide in living cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2019**;280:120–8.

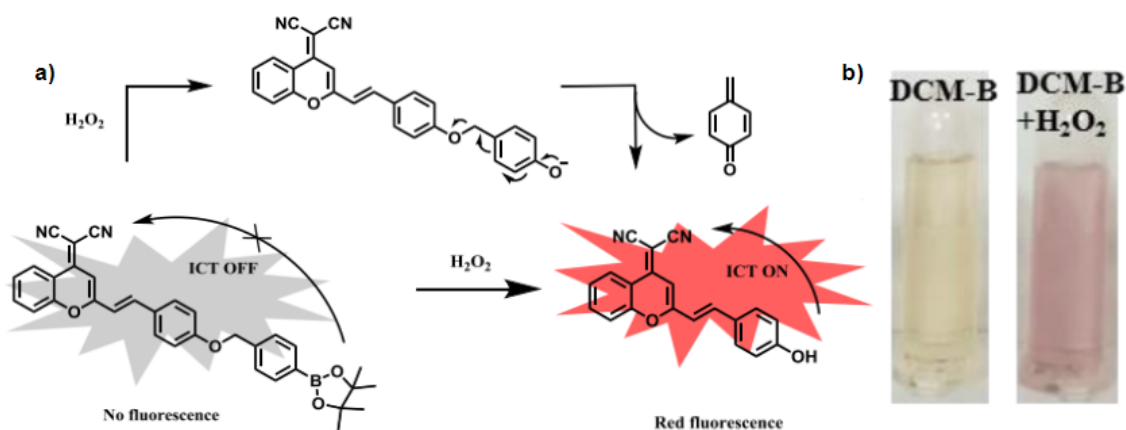


Figura 38: (a) Esquema de como o sensor específico de H_2O_2 , DCM-B, funciona. (b) Aparência da solução com apenas DCM-B e outra contendo H_2O_2 .⁵⁶

O DCM-B permite com que seja analisada a presença de H_2O_2 a olho nu de forma qualitativa. Isto é possível pois a solução passa da cor amarela para a roxa quando entra em contato com H_2O_2 , como visto na figura 38.⁵⁶

Em outro estudo mais recente, Wei et al (2021) sintetizaram um composto derivado de boro-dipirrometeno (BODIPY), uma classe de compostos que são conhecidos por apresentarem fluorescência. Os pesquisadores desenharam uma molécula que iria apresentar fluorescência na presença de H_2O_2 (figura 39).⁵⁷

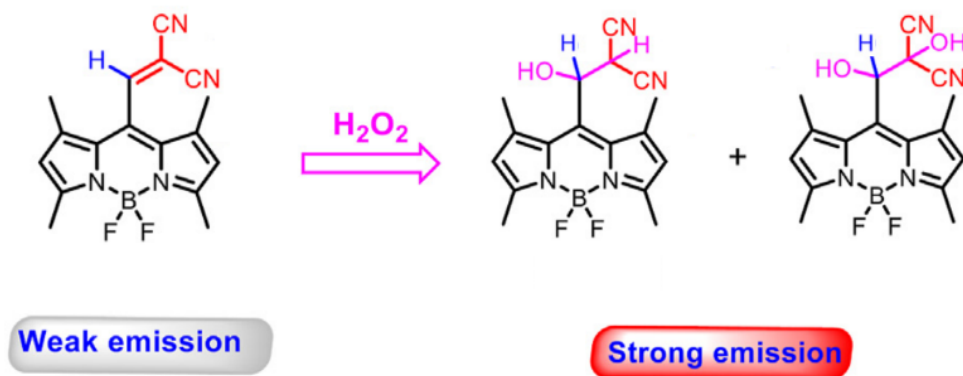


Figura 39: Esquema da reação do sensor reagindo com H_2O_2 , dando origem a duas moléculas fluorescentes.⁵⁷

Os autores do artigo verificaram a especificidade do sensor de peróxido reagindo ele com outros agentes oxidantes e comparando o comportamento. Eles observaram que

⁵⁷ Wei Y-F, Wang X, Shi W-J, Chen R, Zheng L, Wang Z-Z, et al. A novel methylenemalononitrile-BODIPY-based fluorescent probe for highly selective detection of hydrogen peroxide in living cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021;226:113828.

apenas o H₂O₂ produzia uma mudança significativa na fluorescência da molécula, indicando ser um detector sensível e específico para peróxido de hidrogênio.

3. JUSTIFICATIVA

Visto que praticamente não existem trabalhos publicados conjugando o heterociclo presente em diversas moléculas biologicamente ativas, piridazina, e o calcogênio envolvido em diversos mecanismos no ser humano, selênio, é evidente a necessidade do desenvolvimento de rotas sintéticas para estas moléculas a fim de explorar seus potenciais. Sabendo da tendência de sistemas planos com grande deslocalização fluorescerem e a grande facilidade que o selênio tem em se oxidar e seu papel como antioxidante nos organismos, as selenopiridazinas são excelentes candidatos para detectores de peróxidos. Isto é de suma importância já que o controle de sua concentração nos diferentes sítios das células fornece informações importantes em relação a possíveis danos e maus funcionamentos, além de ser importante para a pesquisa e o estudo das funções celulares em que o peróxido está envolvido. Adicionalmente, o selênio é um elemento que é conhecido por oxidar-se facilmente. Ele está presente na natureza, sendo considerado um nutriente essencial para o ser humano. Ele participa da degradação de algumas ROS, o que torna a incorporação deste calcogênio em moléculas com comportamento fotofísico uma estratégia bastante atrativa na obtenção de potenciais sensores como mencionado.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar derivados piridazínicos contendo selênio com potencial para aplicação como detectores de peróxido de hidrogênio, caracterizar as moléculas obtidas e realizar uma análise inaugural de algumas propriedades fotofísicas que possam vir a apresentar.

4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Sintetizar derivados piridazínicos contendo selênio através de reações nucleofílicas aromáticas com os materiais de partida disponíveis;
- Estudar os melhores métodos para purificação destes compostos e purificá-los;

- Caracterizar os produtos sintetizados por análises espectroscópicas de massas de alta resolução, Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono 13;
- Avaliar as possíveis propriedades fotofísicas que as moléculas sintetizadas possam apresentar.

5. METODOLOGIA E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 SÍNTESE

A síntese das selenopiridazinas foram todas realizadas nas mesmas proporções dos reagentes, demonstradas na tabela 2. As reações foram feitas com grupo colaborador de pesquisa da UFRGS, no laboratório de catálise molecular (LaMoCa), chefiado pelo pesquisador colaborador deste projeto Prof. Dr. Paulo H. Schneider, como também no Laboratório de Farmacociências da UFCSPA, sob supervisão da professora orientadora deste TCC. Os disselenetos e os outros reagentes estavam disponíveis no LaMoCa para serem utilizados.

	1a	1b	1c	NaBH ₄	NaOH	3,6-dicloropiridazina
Estequiometria	3	3	3	6	3	1
Massa Molar (g mol ⁻¹)	312,13	381,02	314,11	37,83	40,00	148,97
Quantidade (mmol)	0,75	0,75	0,75	1,5	0,75	0,25
Massa (g)	0,2341	0,2858	0,2356	0,0567	0,0300	0,0372

Tabela 2: Reagentes utilizados na síntese das selenopiridazinas.

O esquema reacional que pode ser observado abaixo (figura 40), descreve a rota sintética adotada neste trabalho para obtenção dos compostos almeçados:

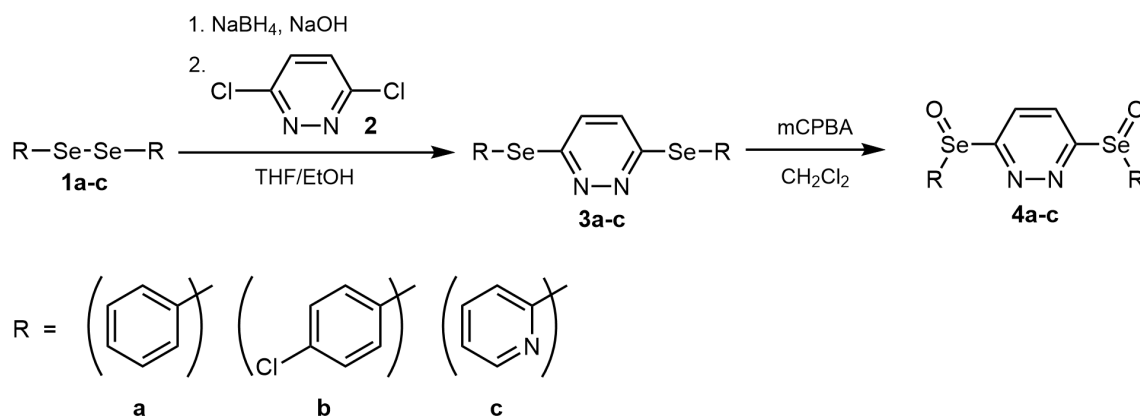


Figura 40: Esquema da síntese das selenopiridazinas e suas oxidações.

A síntese das selenopiridazinas se dá por duas etapas. A primeira consiste na redução do disseleneto para formar a espécie nucleofílica, utilizando NaBH_4 e NaOH em THF e etanol. Ao formar o nucleófilo, é adicionado o material de partida 3,6-dicloropiridazina, que sofrerá a substituição nucleofílica aromática. Estas selenopiridazinas, após purificadas, vão sofrer oxidação pelo uso do perácido mCPBA em diclorometano.

Foi montado um sistema de atmosfera inerte de argônio em um balão de duas bocas. Em uma das bocas foi conectado um balão cheio de argônio, enquanto na outra foi colocado um escape para o ar. O balão foi flambado com uma pistola de ar quente, fazendo com que o ar quente saísse pelo escape, enquanto o argônio, mais denso que o ar, ocupasse o balão. Isto foi realizado três vezes, a fim de garantir que todo o ar saiu do balão. O mesmo foi realizado com outro balão para armazenar THF seco. No balão vazio foi adicionado NaBH_4 , o disseleneto e 2,5 mL de THF e 0,5 mL de etanol secos através do uso de seringas. Foi adicionado ao balão o NaOH solubilizado em 2,5 mL de THF pelo uso de uma seringa, após colocar o balão em um banho de gelo, para evitar que haja um borbulhamento muito agressivo durante a reação. A reação ficou sob agitação, com o auxílio de um agitador magnético, até que a coloração amarela característica do disseleneto desaparecesse, aproximadamente 1 hora, e o meio ficasse transparente. Após a formação da espécie nucleofílica selenoborato foi adicionada, através de uma seringa, a 3,6-dicloropiridazina, que foi dissolvida previamente em 2,5 mL de THF seco. A reação ficou sob agitação magnética por 2 horas e foi em seguida colocada na geladeira para extração e purificação no dia seguinte.

Devido ao tempo limitado foram realizadas 3 sínteses diferentes, esquematizadas na figura 40. A massa de todos os reagentes e dos produtos foram tabelados, assim como seus rendimentos, utilizando a 3,6-dicloropiridazina como reagente limitante (tabela 3). Os produtos **3a**, **3b** e **3c** têm massa molar 390,21; 459,09 e 392,18 g mol^{-1} , respectivamente.

	disseleneto	NaBH_4	NaOH	3,6-dicloropiridazina	produto	Rendimento
3a	0,2391 g (0,77 mmol)	0,0667 g (1,8 mmol)	0,0380 g (0,95 mmol)	0,0454 g (0,30 mmol)	0,0221 g (0,056 mmol)	18,67%
3b	0,2179 g (0,57 mmol)	0,0502 g (1,36 mmol)	0,0244 g (0,61 mmol)	0,0295 g (0,20 mmol)	0,0320 g (0,070 mmol)	35,00%
3c	0,2366 g	0,0601 g	0,0380 g	0,0488 g	0,0158 g	32,45%

	(0,75 mmol)	(1,62 mol)	(0,95 mmol)	(0,33 mmol)	(0,040 mmol)	
--	-------------	------------	-------------	-------------	--------------	--

Tabela 3: Tabela contendo as massas dos reagentes e dos produtos e os rendimentos das reações.

Os rendimentos obtidos foram muito baixos. Isto provavelmente se deve a erros sistemáticos durante a realização da síntese, pois pesquisadores do mesmo laboratório conseguiram realizar as reações de substituição nucleofílica aromática na piridazina usando compostos de selênio como nucleófilos e obtiveram rendimentos de mais de 90%. Um dos possíveis grandes responsáveis pelo baixo rendimento é a redução ineficiente do disseleneto. Como mencionado na metodologia, na reação de redução a cor amarela característica do disseleneto deveria haver desaparecido ao formar o selenol. Entretanto, a cor amarela permaneceu bem intensa até o final da síntese, aparecendo até a purificação. Uma maneira de comprovar o impacto deste fator seria no futuro quantificar a quantidade de disseleneto purificada na cromatografia em coluna, assim podendo ser comparada com a quantidade utilizada no início da reação e determinar a porcentagem de disseleneto que não foi reduzido. A ineficiência da redução do disseleneto pode ter sido causada pela má secagem do sistema ao tentar gerar a atmosfera inerte, além da necessidade de abrir o sistema para adicionar os reagentes por ser um sistema de atmosfera inerte imperfeito. Estas condições são essenciais, pois o selenol é facilmente oxidado novamente ao disseleneto pela presença de água e oxigênio.

5.2 EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO

Foi realizada uma extração líquido-líquido em um funil de separação, utilizando diclorometano (CH_2Cl_2) para a fase orgânica e uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (NH_4Cl). A extração foi realizada 3 vezes na fase aquosa, para garantir que a menor quantidade possível de produto fosse perdido para ela. A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio (MgSO_4), que retirou qualquer resquício de água que tenha ficado, que foi retirado por filtração.

A purificação das selenopiridazinas foi realizada por cromatografia em coluna. Entretanto, para poder determinar o tipo de coluna e eluentes a serem utilizados é necessário realizar uma cromatografia em camada delgada (CCD), comumente conhecida por “plaquinha”, devido ao uso de uma placa de sílica. Uma amostra da reação diluída foi aplicada na origem da plaquinha, assim como uma amostra do disseleneto e da 3,6-dicloropiridazina, para usar como comparação. a plaquinha foi

colocada em uma cubeta com a fase móvel, que se manteve fechada durante a eluição. A análise começou pelo uso da fase móvel mais apolar, hexano puro, aumentando a polaridade do eluente a cada teste pela mistura de hexano com uma parte de acetato de etila. Na primeira plaquinha notou-se que uma mancha na mesma altura e mesmo formato que o disseleneto apareceu na amostra da reação, enquanto uma mancha se manteve na origem, igual a 3,6-dicloropiridazina, indicando que apenas o disseleneto elui em hexano puro. A segunda plaquinha realizada foi feita com uma polaridade de 10%, ou seja, uma proporção de hexano para acetato de etila de 9:1. Nesta CCD foi observado que o disseleneto continua eluindo até o topo da plaquinha, enquanto a mancha da 3,6-dicloropiridazina continuou na origem placa de sílica. Onde foi aplicada a amostra da reação apareceu uma mancha aproximadamente na metade, que não batia com nenhum dos materiais de partida. Conclui-se que esta mancha era do produto. Com isso, decidiu-se começar a coluna cromatográfica utilizando hexano puro como fase móvel, para garantir que apenas o disseleneto vai sair, e depois mudar a fase móvel para uma mistura de hexano com acetato de etila 9:1. Como as manchas estão muito separadas, pode ser utilizada uma coluna mais grossa, pois não se corre o risco dos dois compostos se sobreponem na coluna.

Para realizar a coluna cromatográfica, primeiro precisou ser formada a “pastilha” ou “cabeça” da coluna. Esta pastilha serve para ajudar a que o produto fique bem compactado na coluna e não haja formação de bolhas de ar, que podem atrapalhar na separação dos componentes. Para formar a pastilha foi adicionada sílica à solução, que foi em seguida levada ao rota-evaporador para evaporar o CH_2Cl_2 . Com a coluna escolhida, se despeja a sílica até aproximadamente metade da sua altura. Ela é misturada em um béquer com hexano para misturar, sendo despejada novamente na coluna com um algodão no fundo para impedir que a sílica caia e o fluxo de saída da fase móvel seja lento. Esperou-se a sílica se compactar e que sobre apenas uma parte de hexano acima da altura da sílica para despejar a pastilha. Em cima da pastilha foi colocado um pedaço de algodão para impedir que os compostos se diluam em todo o eluente toda vez que ele é adicionado. Adicionou-se hexano na coluna toda vez que ela se esvaziava até todo o disseleneto sair, sendo coletado em um erlenmeyer para ser recuperado e reutilizado. Devido à coloração amarela do disseleneto, o acompanhamento de sua eluição pode ser feito a olho nu. Após a cor amarela na coluna desaparecer, a fase móvel foi mudada para a mistura de hexano e acetato de etila. A partir deste momento, tudo que saiu da coluna

foi coletado em tubos de ensaio. Cada tubo foi analisado pela presença da selenopiridazina através da aplicação de uma amostra em uma plaquinha, que é observada em uma câmara de UV, com comprimento de onda de 254 nm. Os tubos que apresentaram manchas nas plaquinhas foram todos despejados em um balão de reação de 100 mL previamente pesado, que foi levado ao rota-evaporador. O solvente foi evaporado, sobrando um líquido muito viscoso. Este balão foi conectado a uma bomba de auto-vácuo para retirar qualquer resquício de solvente, sobrando apenas um sólido no balão. Pesou-se o balão para calcular o rendimento e separaram-se amostras para realizar as caracterizações e as avaliações fotofísicas.

5.3 OXIDAÇÃO DAS SELENOPIRIDAZINAS

Após separada a quantidade necessária para as análises, pesou-se o produto restante e calculou-se os mmols equivalentes. A selenopiridazina foi solubilizada em CH_2Cl_2 e adicionou-se 4 equivalentes de mCPBA para garantir que todos os selênios sejam oxidados. A reação ficou sob agitação magnética por 1 hora.

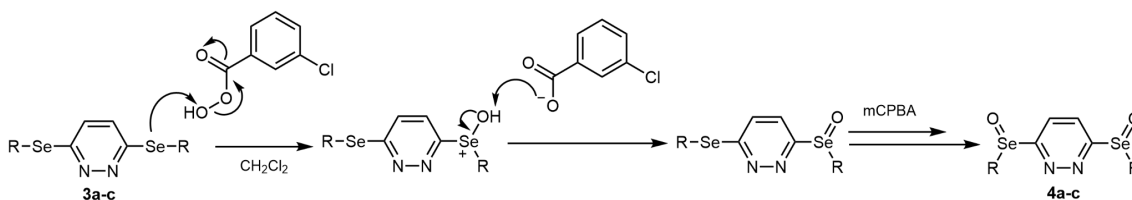


Figura 41: Esquema reacional da oxidação das selenopiridazinas.

A hidroxila do perácido é um centro eletrofilico, facilitando o ataque nucleofílico do selênio, gerando o selenóxido. Seu mecanismo pode ser observado na Figura 41.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SELENOPIRIDAZINAS

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H RMN) e de carbono 13 (^{13}C RMN) foram realizados em um solução de clorofórmio deuterado (CDCl_3) em um espectrômetro Varian 400 MHz e Bruker 400 MHz. Os deslocamentos químicos são dados em parte por milhão (ppm) a partir do pico do padrão interno tetrametilsilano ($\delta = 0.00$ ppm) para o ^1H RMN e do pico do CDCl_3 ($\delta = 77.23$ ppm).

Foram realizados os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C para as moléculas **3a** e **4a**. Podem-se tirar algumas conclusões a partir destes espectros. Para estas análises é importante observar a simetria das moléculas, que deve levar a uma equivalência

química entre os pares de H e de C de cada lado dos compostos, já que teoricamente eles experimentam o mesmo ambiente químico (figura 42).

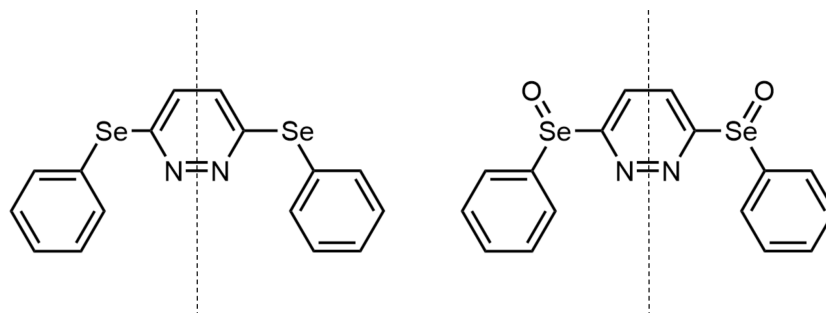


Figura 42: Plano de simetria nos compostos **3a** e **4a**.

Simplificadamente, a espectroscopia de RMN mede a energia emitida pelos núcleos ao passarem do estado excitado, denominado β , para seu estado de menor energia, denominado α , quando submetidos a um campo magnético externo de intensidade B_0 . Devido às nuvens eletrônicas em volta dos núcleos, o campo magnético experienciado por cada núcleo é diferente, dependendo do ambiente químico. Portanto, como estão experienciando campos magnéticos diferentes, os núcleos vão ressonar com frequências diferentes ao serem excitados, que gera sinais diferentes no espectro final. Os espectros são interpretados pelo deslocamento químico dos sinais, medidos por parte por milhão (ppm) no eixo x. O deslocamento químico é relativo a um padrão interno, geralmente sendo o tetrametilsilano (TMS), que por convenção é determinado como o 0 do espectro. Quanto maior for o deslocamento químico, mais à esquerda o sinal vai ficar no espectro, enquanto menor for o deslocamento químico mais à direita o sinal vai ficar. A parte do espectro com maiores valores de deslocamento é chamada de região de campo baixo, enquanto a parte com menores valores de deslocamento vai ser chamada de região de campo alto. O deslocamento químico de um núcleo vai ser determinado pelas nuvens eletrônicas em seu entorno, que blindam o núcleo do campo magnético externo aplicado. Portanto, quanto maior a densidade eletrônica em cima de um núcleo, maior vai ser a blindagem e menor vai ser o deslocamento químico, pois o campo magnético efetivo vai ser menor. O contrário é observado em núcleos mais desblindados, ou seja, com menor densidade eletrônica no em seu entorno.

Observando o espectro de ^{13}C , é possível ver que existe o mesmo número de sinais e de carbonos que devem apresentar sinais diferentes (figura 43). Isto é um sinal

de que há uma simetria na molécula. Os sinais observados em 77,10 ppm são característicos do CDCl_3 , que é o solvente utilizado para a realização da análise.

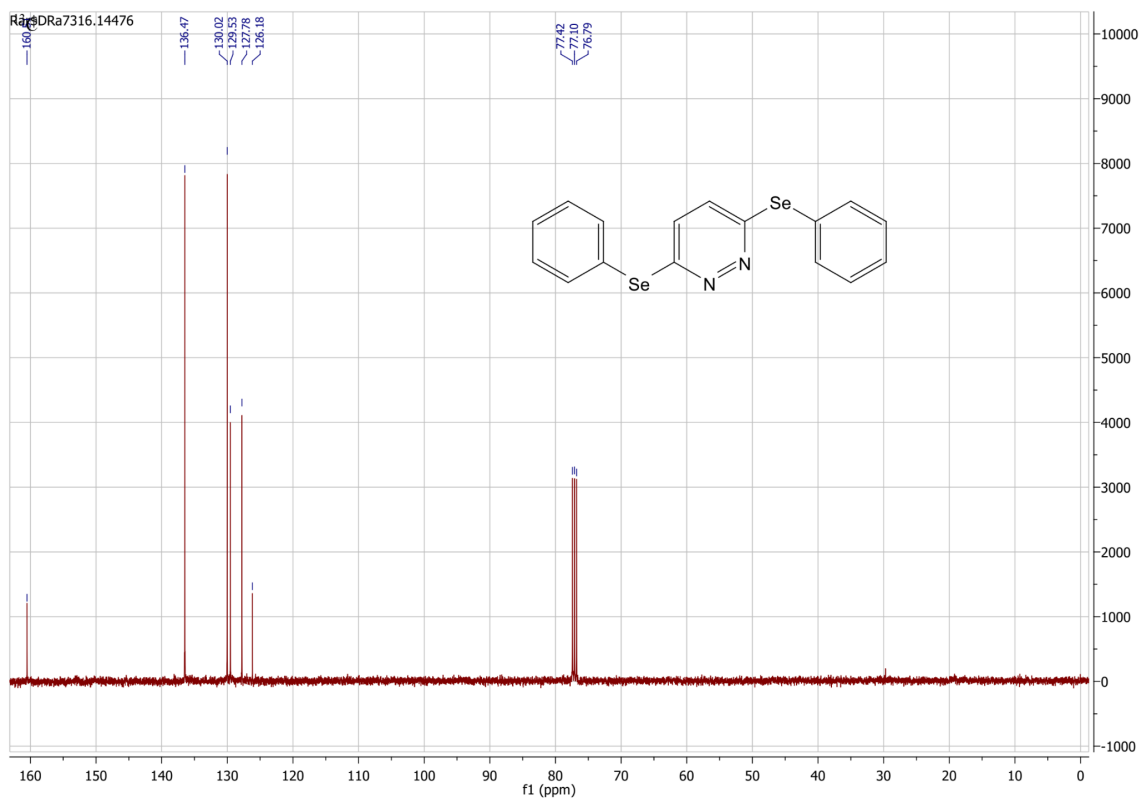


Figura 43: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3a**.

Ampliando a imagem do espectro é possível realizar uma análise melhor dos sinais (figura 44). Nela pode-se notar claramente a simetria da molécula, pois como demonstrado na figura, existem apenas 6 carbonos com ambientes químicos diferentes, que é igual ao número de sinais no espectro.

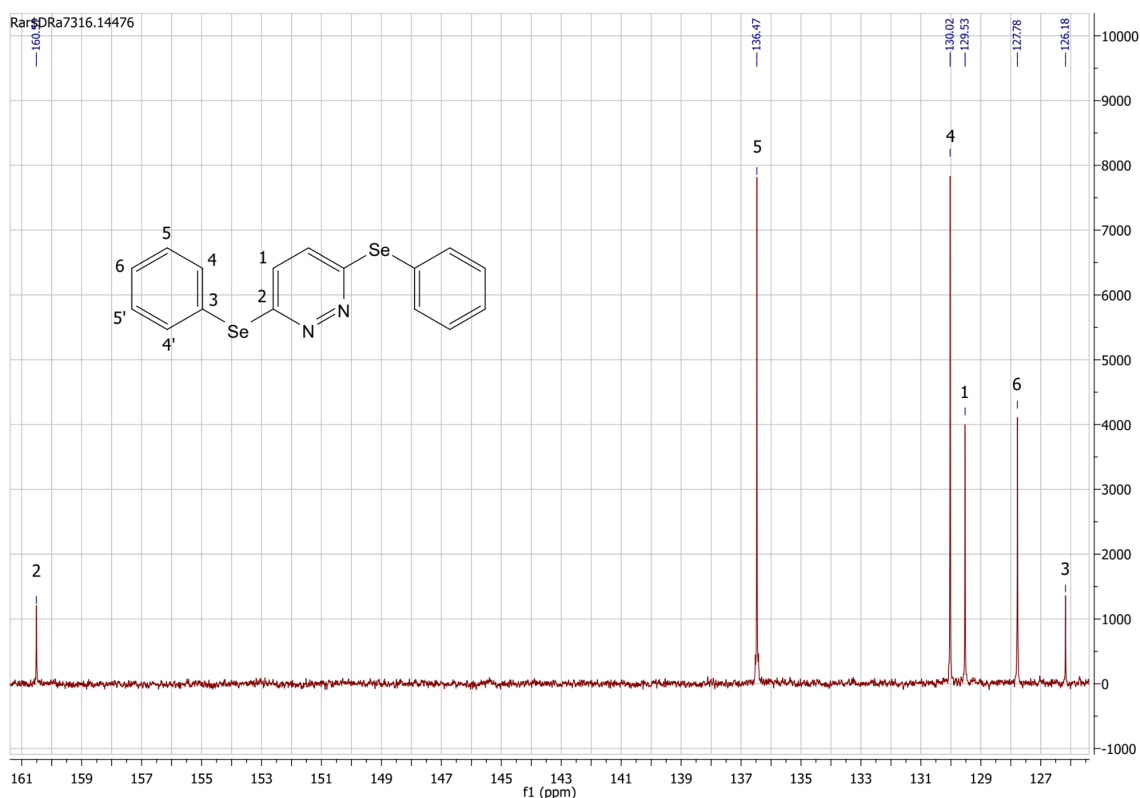


Figura 44: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3a** ampliado.

Analisando a estrutura, nota-se que o núcleo mais desblindado vai ser o carbono 2, ele é o carbono adjacente ao nitrogênio da piridazina, que atua como uma imina, um bom retirador de elétrons. Como visto previamente, o anel piridazínico é π -deficiente, reafirmando a desblindagem em cima dos carbonos do anel. O efeito mesomérico do selênio não é tão efetivo, devido ao grande tamanho de suas nuvens eletrônicas. Portanto, o carbono quaternário da piridazina vai ser o núcleo com maior deslocamento químico. Os sinais mais altos são referentes aos carbonos orto e meta da fenila, pois cada sinal representa 4 carbonos devido a simetria da fenila e da molécula inteira. Ao analisar as estruturas de ressonância da fenila, nota-se que as maiores densidades eletrônicas se localizam nos carbonos orto e para. Portanto, o carbono mais desblindado, e por consequência maior deslocamento químico, vão ser os carbonos 5 e 5', que são quimicamente equivalentes. O carbono quaternário 3 vai ser o menor sinal em campo mais alto, pois este vai receber densidade eletrônica do selênio. Entre os carbonos 1 e 6, o 1 vai ter menor densidade eletrônica por estar no anel piridazínico, sendo então o mais à esquerda entre os dois.

Estes valores de deslocamento químico podem ser confirmados analisando os RMNs de estruturas semelhantes na literatura. O RMN de ^{13}C da molécula na figura 45

mostra valores quase iguais dos deslocamentos químicos da molécula **3a**.⁵⁸ Isto indica que a estrutura analisada é realmente **3a**.

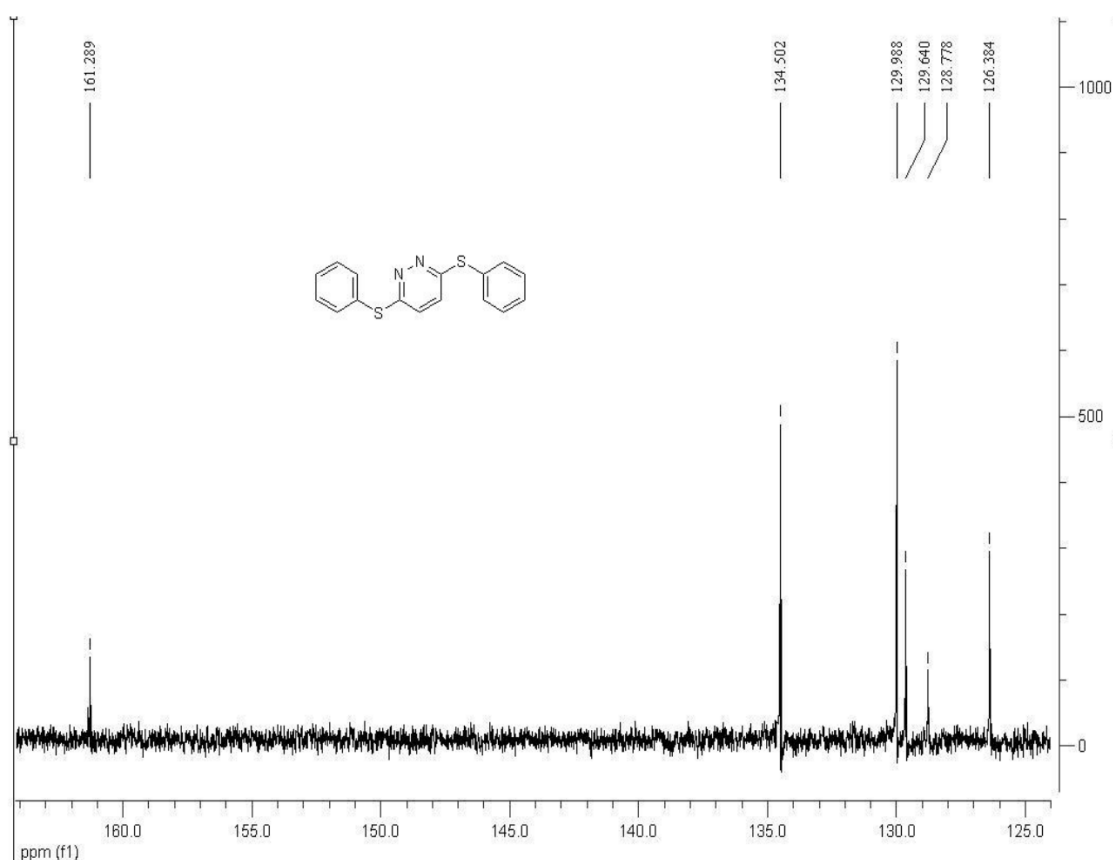


Figura 45: RMN de ^{13}C da estrutura representada.⁵⁸

O espectro de RMN de ^1H foi mais trabalhoso de interpretar. Entretanto, com o espectro do RMN de ^{13}C e o conhecimento de como cada sinal se desdobra com o acoplamento spin-spin foi possível compreender o espectro (figura 46). Ao analisar mais de perto nota-se que há mais sinais do que deveria, levando em consideração a simetria da molécula.

⁵⁸ Bagley MC, Davis T, Dix MC, Fusillo V, Pigeaux M, Rokicki MJ, et al. Microwave-assisted Ullmann C–S Bond Formation: Synthesis of the P38A MAPK clinical candidate VX-745. *The Journal of Organic Chemistry*. **2009**;74(21):8336–42.

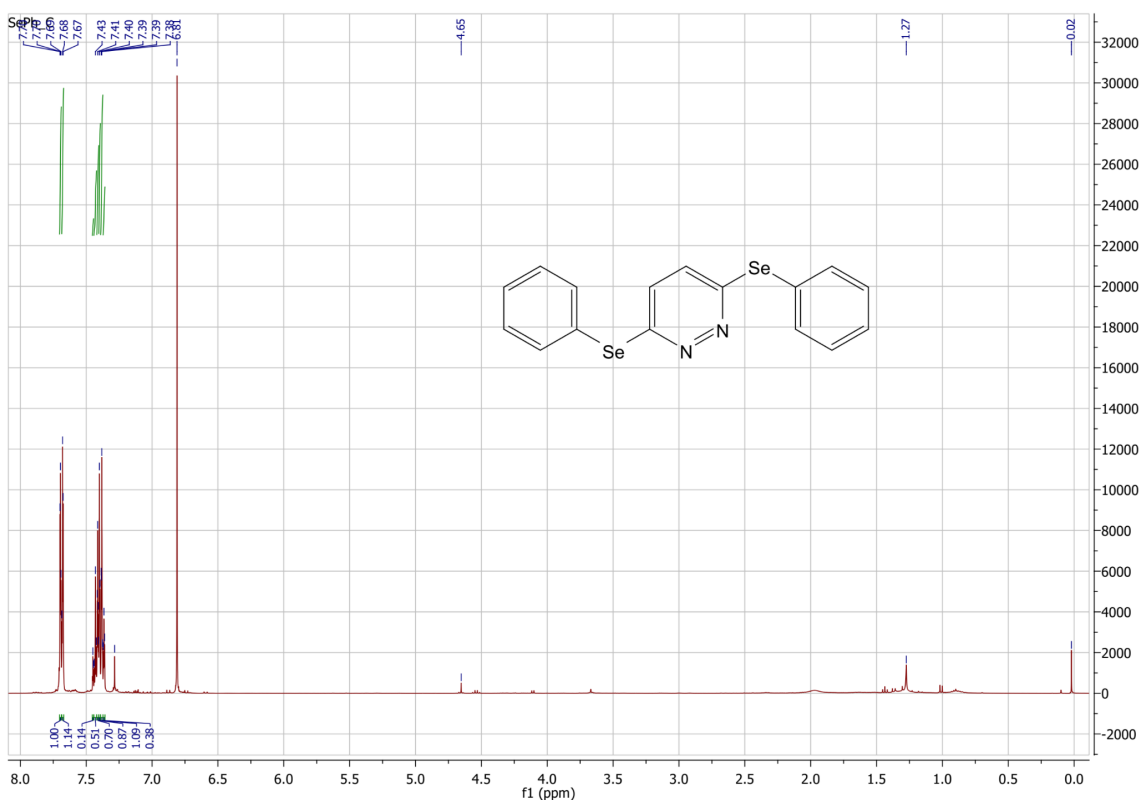


Figura 46: Espectro de RMN de ^1H do **3a**.

É possível observar uns sinais em campo mais alto. Eles são interferentes, não são hidrogênios da molécula analisada. Segundo uma tabela que indica os resíduos de solvente, estes sinais correspondem ao n-hexano, que foi utilizado na purificação do composto.⁵⁹ Há um sinal também do clorofórmio em 7,28 ppm, que é recorrente nos espectros de RMN, pois o solvente CDCl_3 utilizado para a análise muitas vezes troca seus deutérios por hidrogênios quando não armazenado direito. Para analisar melhor os sinais dos hidrogênios é necessário ampliar a imagem.

⁵⁹ Fulmer GR, Miller AJ, Sherden NH, Gottlieb HE, Nudelman A, Stoltz BM, et al. NMR chemical shifts of trace impurities: Common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. *Organometallics*. **2010**;29(9):2176–9.

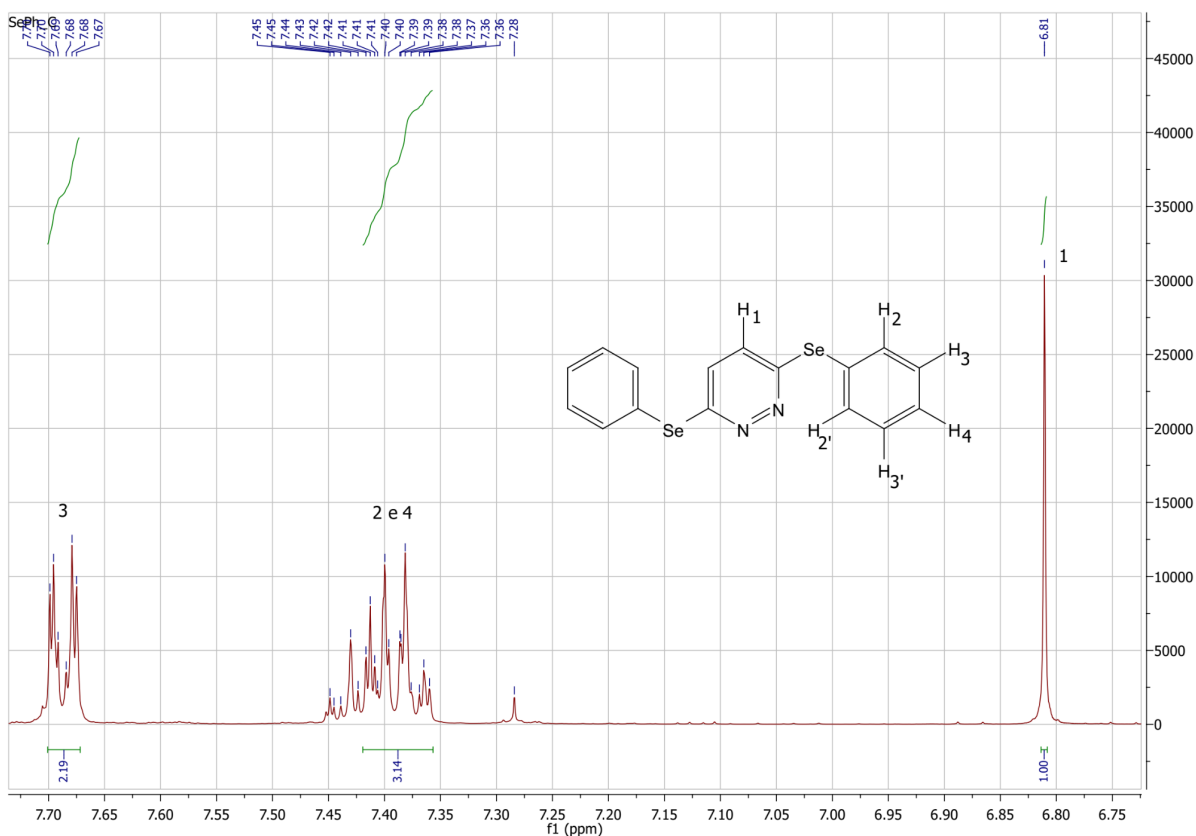


Figura 47: Espectro de RMN de ^1H do **3a** ampliado.

Começando a análise pelos sinais de campo baixo, é possível ver um multipletto entre 7,67 e 7,70 ppm. Inicialmente foi complexo determinar a quais hidrogênios pertenciam estes sinais, pois devido a presença de vários sinais em todo o espectro teorizou-se que a molécula apresentava alguma restrição conformacional, que faria com que cada metade da molécula experimentasse ambientes químicos diferentes. Ao integrar a área dos sinais para determinar a quantidade de hidrogênios que cada sinal corresponde, notou-se que a soma de todas as integrais dava aproximadamente 6, que é exatamente a quantidade de hidrogênios que cada metade da estrutura tem. Portanto, a molécula deve ser simétrica. Ao observar o espectro da figura 44, nota-se que o carbono com hidrogênios mais desblindado é o carbono na posição meta da fenila. Provavelmente o multipletto com maior deslocamento químico da figura 47 corresponde aos hidrogênios desse carbono. Ao esquematizar o desdobramento do sinal pelos acoplamentos dos dois hidrogênios orto e o hidrogênio meta, é possível observar que se forma um dupletto de tripletos, bem próximo com o que está aparecendo no espectro. Portanto, pode-se assumir com segurança que este sinal corresponde aos 4 hidrogênios na posição meta do anel benzênico.

Os deslocamentos entre 7,36 e 7,45 ppm pareceram ser muito confusos no começo. Entretanto, analisando com mais calma e comparando com outros compostos de selênio ligados a fenilas, é possível ver que eles são referentes aos hidrogênios H2 e H4 .

Sabendo que os carbonos ligados aos H2, H2' e H4 vão possuir maior densidade eletrônica, devido às estruturas de ressonância, sabe-se que esses hidrogênios vão estar mais blindados quando comparados ao H3. Como ambos estão sujeitos ao mesmo efeito, eles experienciam um ambiente químico muito similar, gerando um multipletto na região de 7,45 até 3,35. Nos RMNs do difenilseleneto e seus derivados, realizados por Redon et al. (2022), nota-se que normalmente os sinais dos hidrogênios em posição orto e para geralmente aparecem juntos no espectro, caindo em uma faixa próxima a obtida no presente trabalho.⁶⁰

O sinal dos hidrogênios da piridazina é o que fica mais à direita no espectro. Ao olhar pela primeira vez pode parecer estranho, já que a piridazina é π -deficiente. Entretanto, ela atua como um grupo aceptor de elétrons, puxando densidade eletrônica dos substituintes, que por sua vez são doadores de elétrons por efeito mesomérico. Esta deve ser a causa da maior blindagem dos hidrogênios piridazínicos, responsável pelo seu menor deslocamento químico, localizado em 6,81 ppm.

Ao integrar o sinal do H1, ele se torna a referência para as próximas integrais. Portanto, os próximos valores obtidos vão ser proporcionais à integral do H1, que representa 2 hidrogênios. A integral dos sinais em campo mais baixo, dos H3, vai dar um valor próximo a 2, sinalizando que representa 4 hidrogênios, como o esperado. Por fim, a integral dos sinais dos H2 e H4 vai resultar em aproximadamente 3, representando 6 hidrogênios. Isto comprova que a análise estava no caminho certo.

Ao oxidar a molécula utilizando 4 equivalentes de mCPBA, o esperado é que ambos selênios se transformem em selenóxidos. Observou-se uma mudança nos espectros de RMN, mostrando que o composto reagiu com o oxidante. Entretanto, os resultados obtidos das espectroscopias não são suficientes sozinhas para determinar a estrutura dos produtos.

⁶⁰ Redon S, Vanelle P, Remusat V. Green synthesis of diaryl selenides from arylboronic acids and Arylseleninic acids. *Synlett*. **2022**;33(05):483–7.

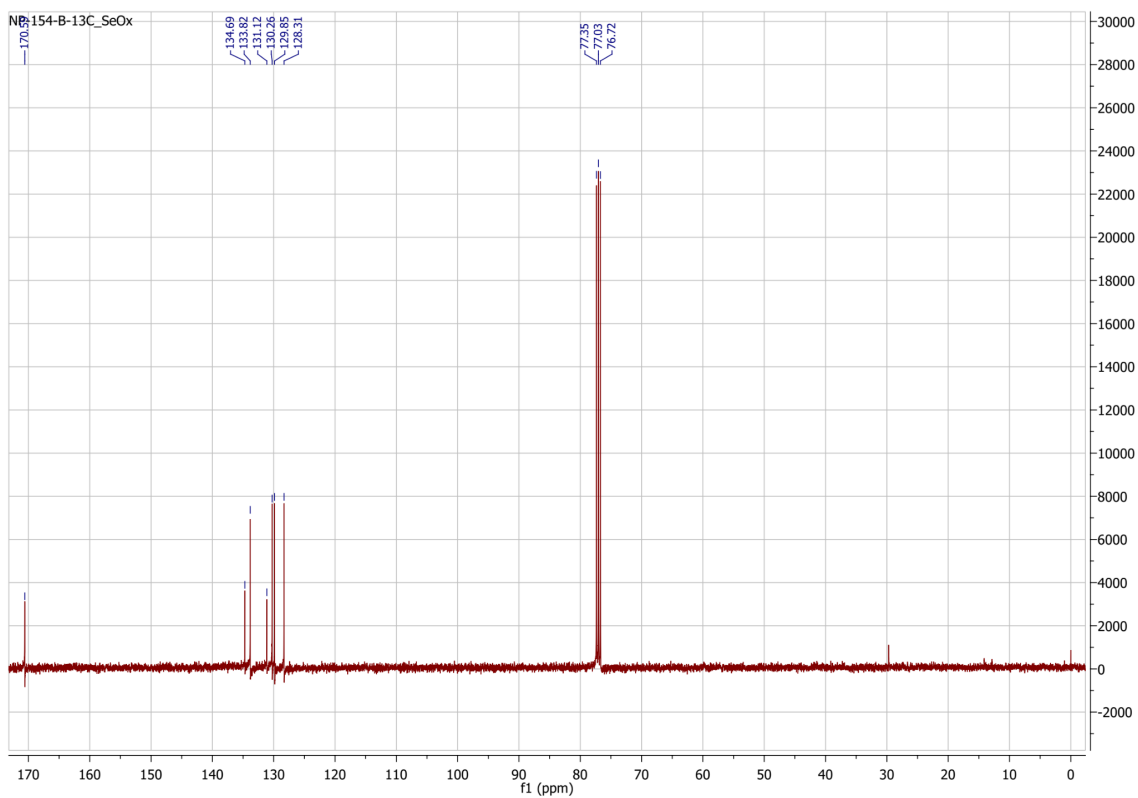


Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C do composto **4a**.

Como pode ser visto na figura 48, o espectro de RMN de ^{13}C apresentou o sinal característico do CDCl_3 , como esperado. Ao analisar os sinais de campo mais baixo, nota-se que tem um sinal a mais do que o esperado, devido ao número de carbonos com ambientes químicos diferentes (figura 49).

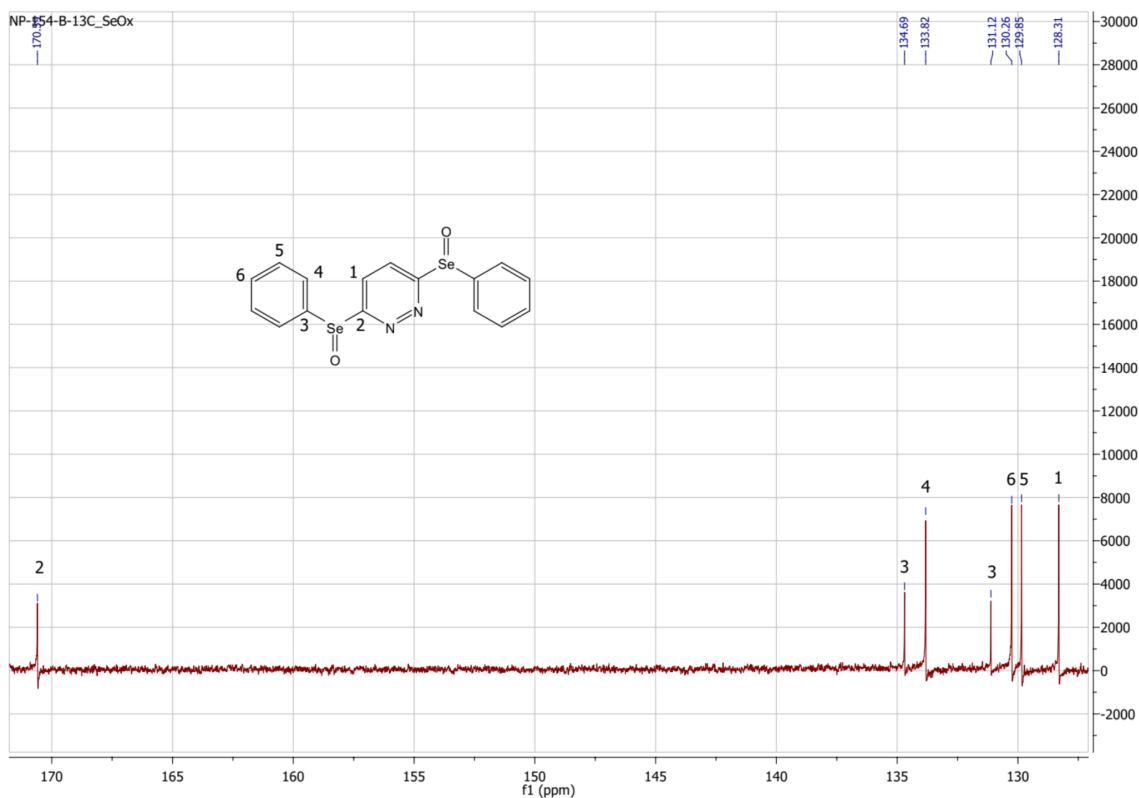


Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C do composto **4a** ampliado.

Observa-se que o sinal do carbono 2 agora vai ser mais à esquerda devido ao caráter retirador de elétrons da ligação $\text{Se}=\text{O}$. O carbono 5 vai ser mais blindado em relação aos outros carbonos aromáticos, pois devido à ressonância, os carbonos 4 e 6 vão possuir uma carga parcial positiva. O carbono 2 vai ser mais desblindado quando comparado ao composto **3a** não oxidado, localizado agora em 170,59 ppm. Os dois sinais mais baixos em 134,69 e 131,12 possivelmente sejam do carbono 3. A diferença nos deslocamentos químicos pode ser causada por uma restrição conformacional. Como o selênio não deslocaliza tão bem seus elétrons, quando comparado com átomos menores, devido ao tamanho de seus orbitais, a molécula pode assumir outras conformações mais facilmente. Assumindo que as duas possíveis conformações para o selenóxido sejam coplanar e perpendicular em relação à fenila, a blindagem do carbono adjacente será diferente. Caso a ligação $\text{Se}=\text{O}$ seja coplanar ao anel da fenila, a nuvem eletrônica dessa ligação vai estar paralela à nuvem deslocalizada do sistema deslocalizado em sua volta, gerando uma área de desblindagem no seu plano. Caso a ligação $\text{Se}=\text{O}$ esteja perpendicular ao anel da fenila, a nuvem eletrônica dessa ligação vai estar no plano em que normalmente o carbono estaria desblindado, levando a uma maior blindagem e por consequência, um menor deslocamento químico. Portanto, o carbono 3 em 134,69 ppm vai ser o inserido no sistema em que o selenóxido está no

mesmo plano que o anel, enquanto o sinal em 131,12 ppm vai ser referente ao carbono adjacente ao selenóxido perpendicular ao anel. O sinal do carbono 1 vai ser o de campo mais alto, que é comprovado ao observar o espectro de RMN de ^1H , em que o sinal do hidrogênio piridazínico tem o menor deslocamento químico.

O espectro de RMN de ^1H obtido do composto oxidado mostrou alterações quando comparado com o da molécula **3a** (figura 50). Isto mostra que a selenopiridazina reagiu com o mCPBA.

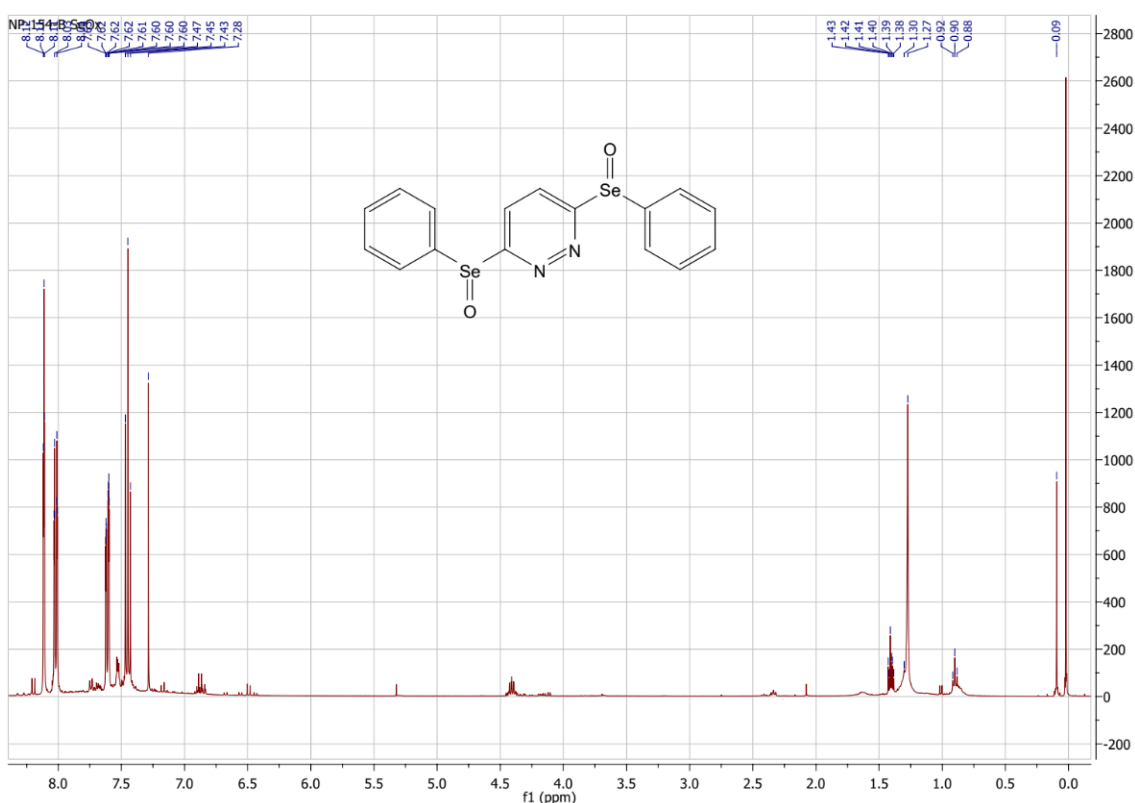


Figura 50: Espectro de RMN de ^1H do **4a**.

Ao analisar o espectro nota-se que há sinais que possivelmente são de interferentes. Ao consultar a tabela de impurezas foi possível estabelecer que os sinais de campo alto em 0,93, 1,27, 1,41 e 4,41 são referentes ao acetato de etila ou n-hexano, solventes utilizados na purificação do composto que podem ter ficado alguns resquícios.⁵⁹ Além desses sinais, também há um sinal em 7,28 ppm que corresponde ao sinal do CHCl_3 .

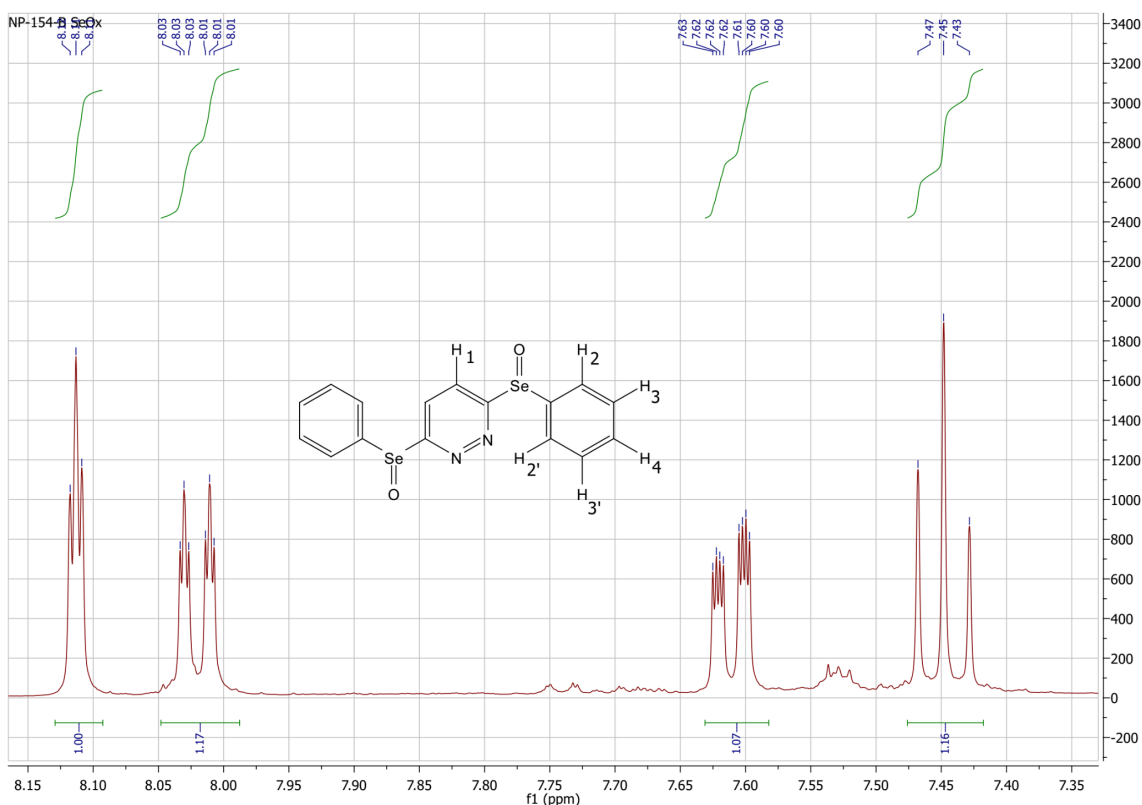


Figura 51: Espectro de RMN de ^1H do **4a** ampliado nos sinais dos hidrogênios da molécula.

O selenóxido retira elétrons do sistema aromático, que leva aos hidrogênios dos carbonos em posição orto e para a ficarem mais desblindados, e por consequência apresentarem maior deslocamento químico. Como pode ser observado na figura 51, o tripleto localizado em 8,11 ppm deve ser do H2 e H2', enquanto do multipletto em 8,02 ppm deve ser do H4. O primeiro indicativo disso é o desdobramento dos sinais. O H2 vai sofrer influência do H3 e H4, que leva à formação do tripleto. O H4 vai sofrer influência de todos os outros hidrogênios da fenila, portanto, seu sinal vai se desdobrar em um multipletto. Estes sinais vão se localizar em um campo mais baixo, quando comparados aos hidrogênios dessas posições no composto **3a**. Isto ocorre porque nas estruturas de ressonância, estes hidrogênios vão estar ligados a carbonos com carga parcial positiva, devido ao efeito retirador de elétrons do selenóxido.

Os sinais em 7,61 ppm possivelmente pertencem aos hidrogênios H3 e H3', pois também sofrem influência de vários hidrogênios da fenila e está bem próximo do seu sinal na molécula **3a**, que fica em 7,69 ppm. Como esses hidrogênios não vão sofrer o

efeito mesomérico, seu deslocamento não vai ser tão afetado. Muitos selenóxidos ligados a fenilas apresentam sinais referentes a esses hidrogênios próximo a esse valor.⁶¹

O sinal que sobrou é referente ao H1, o hidrogênio da piridazina. No espectro de RMN de ¹H da 3,6-dicloropiridazina, uma piridazina com grupo retirador de elétrons também o sinal do hidrogênio se localiza em 7,57 ppm, próximo do sinal encontrado no espectro da figura 51 em 7,45 ppm.⁶² Entretanto, o sinal é um tripleto, que não deveria ocorrer, pois ele tem apenas um hidrogênio vizinho que pode influenciá-lo. Há uma possibilidade deste “tripleto” serem dois dupletos, um para cada hidrogênio da piridazina. Experimentando um ambiente químico levemente diferente, os sinais podem estar tão próximos que um dos picos do duplete de cada hidrogênio se sobreponham no espectro, dando aquele pico central mais alto. Outro problema que apareceu é que a integral de todos estes sinais equivalem à mesma quantidade de hidrogênios. Sabendo que há 12 hidrogênios na molécula, não importa a forma com que eles sejam divididos, não é possível que os hidrogênios sejam agrupados de maneira em que todos os grupos tenham a mesma quantidade de hidrogênios e o mesmo sinal. Mesmo considerando a presença de uma restrição conformacional, oxidação de apenas um selênio ou oxidação do nitrogênio da piridazina, a divisão dos hidrogênios não pode gerar 4 sinais de mesmo valor de integral.

Para poder confirmar a oxidação dos dois selênios da molécula, ou a oxidação completa de algumas das moléculas e parcial de outras, seria necessário realizar o RMN de ⁷⁷Se. Os sinais do seleneto e do selenóxido são bem característicos e fáceis de reconhecer. Outra análise importante de realizar é o RMN de ¹⁵N, pois piridazina reage com mCPBA para formar um N-óxido. Para confirmar que isso não tenha ocorrido será necessário realizar a análise. Além destes RMN, é necessário no futuro realizar outras caracterizações, como espectroscopia de massas, espectroscopia de infravermelho

5.5 FOTOFÍSICA DAS SELENOPIRIDAZINAS

Foram preparadas duas soluções em dois tubos diferentes com tampas, em que em um foram pesados 4 mg da selenopiridazina e no outro 4 mg de mCPBA. Ambos sólidos foram solubilizados em CH₂Cl₂, com o auxílio de uma micropipeta de 1000 µL.

⁶¹ Guo Y, Bao H, Chen L, Shi J, Li Y. Diverse synthesis of triarylselenonium salts and *o*-(alkoxy)aryl aryl selanes via insertion of benzyne into the Se=O bond. *Organic Letters*. 2022;24(38):6999–7003.

⁶² 3,6-dichloropyridazine(141-30-0) 1H NMR [Internet]. 3,6-Dichloropyridazine(141-30-0) 1H NMR spectrum. Available from: https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_141-30-0_1HNMR.htm

Para realizar as espectroscopias de absorção UV-visível foram preparadas soluções das selenopiridazinas e de mCPBA de concentrações na faixa dos 10^{-6} usando micropipetas de 1000 μL para diluir com CH_2Cl_2 . A espectroscopia de absorção foi realizada em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2450. A análise foi feita em uma faixa de comprimento de onda entre 220 e 600 nm de comprimento de onda. As amostras foram colocadas em cubetas específicas do equipamento e foram analisadas frente a um branco, que consiste apenas do solvente utilizado. A espectroscopia de fluorescência foi realizada usando as mesmas soluções utilizadas na absorção de UV-visível. Foi utilizado o espectrofluorímetro Shimadzu, modelo RF-5301PC. Os comprimentos de onda utilizados para excitar os analitos foram os picos de absorção máxima (λ_{max}) registrados na espectroscopia de absorção. Após finalizar estas análises, as selenopiridazinas foram oxidadas usando a solução de mCPBA utilizando uma proporção de 4:1 do oxidante para a selenopiridazina. Os mesmos procedimentos foram realizados para determinar o comportamento fotofísico do composto oxidado.

Para a análise da velocidade de reação acompanhou-se a absorção e a fluorescência da reação de oxidação das selenopiridazinas. Ela foi realizada com 2 equivalentes de mCPBA. A absorção e fluorescência foram medidas a cada 5 minutos por 60 minutos.

Foi possível realizar apenas as análises de absorção e de fluorescência dos compostos **3a** e **4a**, devido ao tempo limitado. Entretanto, os resultados foram promissores. Na figura 52 pode-se observar a absorção dos compostos **3a** e **4a** puros.

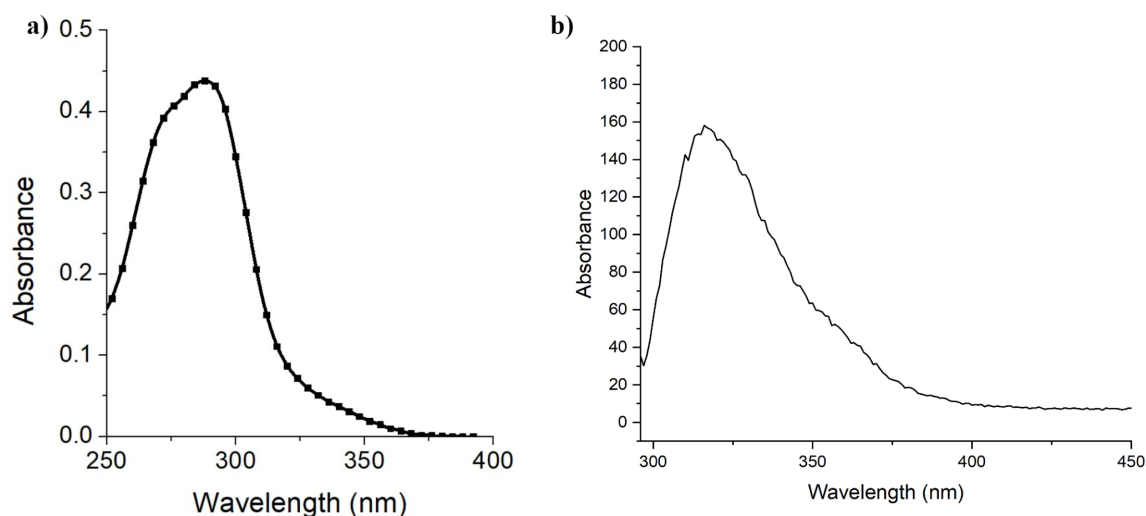


Figura 52: (a) Espectro de absorção do composto **3a**. (b) Espectro de absorção do composto **4a**.

O selênio foi oxidado facilmente pelo oxidante mCPBA, mostrando uma alteração em seu espectro de absorção. Pode-se observar que a banda de absorção do composto oxidado tem maior comprimento de onda, com máximo de absorção em 316 nm, portanto a diferença de energia entre os estados eletrônicos é menor. Além da absorção, uma banda de emissão mais forte apareceu no espectro de fluorescência, com comprimento de onda máximo de emissão em 319 nm.

As análises foram todas realizadas em CH_2Cl_2 . Portanto, há necessidade de verificar no futuro o comportamento das moléculas em outros solventes, visto que o solvente pode ter uma grande influência na fluorescência de uma molécula. Os solventes podem deslocar as bandas de emissão no espectro, podem favorecer algum mecanismo de *quenching*, ou até aumentar a emissão.

Foi realizada uma análise para verificar a velocidade da reação de oxidação das selenopiridazinas. Nela foi analisada a absorção e fluorescência da amostra a cada 5 minutos a partir da adição do oxidante mCPBA.

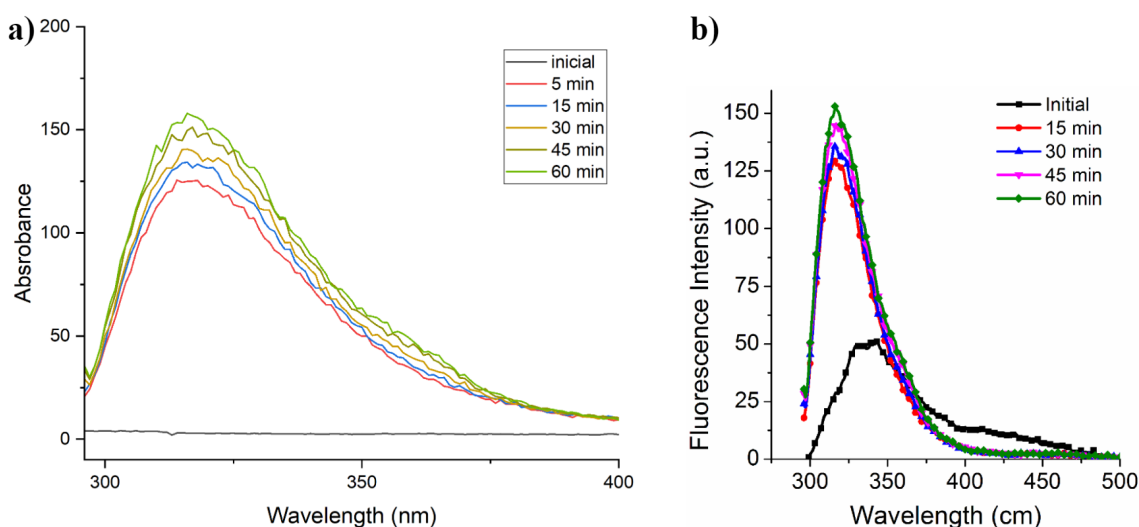


Figura 53: Espectro de (a) absorção UV-visível e de (b) fluorescência medido a cada 5 minutos da reação entre o composto **3a** com 2 equivalentes do oxidante mCPBA.

Já nos primeiros 5 minutos foi observado que praticamente toda a amostra tinha sido oxidada. Esta rápida oxidação do composto é uma propriedade muito interessante para o desenvolvimento de detectores de peróxidos, pois garante que ele reaja rapidamente com o analito, impedindo com que ele forme outras ROS ou interaja com outras estruturas, podendo assim determinar sua concentração nos locais específicos em que o sensor vai se acumular. No futuro será necessário verificar a velocidade de reação

das selenopiridazinas frente a diferentes tipos de oxidantes, especialmente os que podem ser encontrados em um meio biológico, a fim de verificar sua especificidade.

Outra característica importante das moléculas sintetizadas é que o selenóxido não é facilmente reduzido. Portanto, é bem possível que ele fique estável nessa forma. Como esta é sua forma fluorescente, não há um grande risco de *quenching* por um equilíbrio entre seleneto e selenóxido.

6. CONCLUSÕES

No presente trabalho foram sintetizados novos derivados piridazínicos contendo selênio com evidente potencial para aplicação como sensores de peróxido dadas as importantes características fotofísicas apresentadas pelos compostos, na sua forma reduzida e oxidada. A rota desenvolvida permite a obtenção de amplo escopo de moléculas, com os mais diferentes substituintes, e com isso, proporciona uma vasta gama de protótipos para estudo fotofísico.

Concluiu-se que foi possível sintetizar derivados piridazínicos contendo selênio através de substituições nucleofílicas aromáticas. Provavelmente a causa dos baixos rendimentos venha a ser a necessidade de melhor otimização dos processos de reação e de purificação, que estavam em andamento momentos antes de finalizar o prazo de entrega do documento escrito. Estas novas entidades moleculares oxidam-se rapidamente frente ao oxidante mCPBA, formando selenóxidos. Estas novas formas apresentaram maior atividade fotofísica. A fluorescência destes compostos permite com que sejam detectados ao serem formados. A combinação destas últimas duas propriedades das moléculas são essenciais para um sensor de peróxidos, pois a rápida oxidação do sensor permite com que ele detecte o analito antes que ele se degrade ou reaja com outra substância no meio.

Como futuras perspectivas, o trabalho evidencia o potencial destas moléculas propostas e obtidas. As reações desenvolvidas, apesar de terem apresentado baixo rendimento em um primeiro momento, são perfeitamente factíveis de otimização, o que abre oportunidades para obtenção de amplo escopo de derivados selenopiridazínicos, especialmente com grupos doadores de elétrons, que não foram sintetizados até o momento. Algumas análises e caracterização ficaram pendentes, como a espectroscopia de massas, que não foi possível realizar nem na UFRGS nem na UFCSPA. No entanto,

com a espectroscopia de RMN de ^{13}C e ^1H foi possível detectar o sucesso na obtenção do produto, o que não desmerece a realização das demais análises, contudo permitindo as conclusões apresentadas. Estas análises serão realizadas assim que possível, em continuidade do trabalho pelo grupo de pesquisa. Destacam-se nesse caso, as espectroscopias de RMN na elucidação das estruturas, os RMN de ^{77}Se e ^{15}N para verificar e confirmar os sítios de oxidação dos compostos. A fim de determinar se há restrição conformacional poderá ser realizada a espectroscopia de RMN de ^1H com varredura de temperatura, garantindo energia suficiente para as moléculas terem giro livre em suas ligações e que possam assumir todas a mesma conformação. Em relação à fotofísica, o projeto abre caminho para diversas análises como por exemplo, verificar o comportamento dos compostos obtidos em diferentes solventes e analisar a velocidade com que se oxidam. Além disso, é interessante verificar a especificidade dos sensores, verificando suas oxidações frente a diferentes oxidantes, incluindo o H_2O_2 . Em relação à fluorescência a determinação dos rendimentos quânticos, que é a relação entre fótons emitidos por fluorescência e fótons absorvidos pelo fluoróforo. Se espera estudar os mecanismos de *quenching* nestes compostos no futuro, também se mostra uma importante característica a ser estudada para as moléculas que poderão ser obtidas.

7. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

1. Jampilek J. Heterocycles in Medicinal Chemistry. *Molecules*. **2019**;24(21):3839.
2. Omeprazole [Internet]. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. U.S. National Library of Medicine. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Omeprazole>
3. Ritalin [Internet]. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. U.S. National Library of Medicine. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ritalin>
4. Sergeev P, Nenajdenko V. Recent advances in the chemistry of pyridazine — an important representative of six-membered nitrogen heterocycles. *Russian Chemical Reviews*. **2020**;89(4):393-429.
5. Joule J, Mills K. Heterocyclic Chemistry. 5th ed. Chinchester: Blackwell Publishing Ltd; **2010**.
6. Barreiro E, Mansur C. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. 3rd ed. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda; **2015**.

7. Katritzky A, Ramsden C, Joule J, Zhdankin V. Handbook of heterocyclic chemistry. 3rd ed. Oxford: Elsevier; **2010**.
8. Achelle S, Plé N, Turck A. Incorporation of pyridazine rings in the structure of functionalized π -conjugated materials. *RSC Advances*. **2011**;1(3):364.
9. Achelle S, Rodríguez-López J, Bureš F, Robin-le Guen F. Tuning the Photophysical Properties of Push-Pull Azaheterocyclic Chromophores by Protonation: A Brief Overview of a French-Spanish-Czech Project. *The Chemical Record*. **2019**;20(5):440-451.
10. Li M, Yuan Y, Chen Y. Acid-Induced Multicolor Fluorescence of Pyridazine Derivative. *ACS Applied Materials & Interfaces*. **2017**;10(1):1237-1243.
11. Tang R, Wang X, Zhang W, Zhuang X, Bi S, Zhang W, et al. Aromatic azaheterocycle-cored luminogens with tunable physical properties via nitrogen atoms for sensing strong acids. *Journal of Materials Chemistry C*. **2016**;4(32):7640-7648.
12. Achelle S, Barsella A, Caro B, Robin-le Guen F. Donor–linker–acceptor (D– π –A) diazine chromophores with extended π -conjugated cores: synthesis, photophysical and second order nonlinear optical properties. *RSC Advances*. **2015**;5(49):39218-39227.
13. Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G. and Vyvyan, J., **2014**. *Introduction to Spectroscopy*. 5th ed. Stamford: Cengage Learning.
14. Rauk A. *Orbital Interaction Theory of Organic Chemistry*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; **2001**.
15. Clayden J, Greeves N, Warren S. *Organic chemistry*. 2nd ed. New York: Oxford University Press Inc.; **2017**.
16. Lakowicz J. Principles of fluorescence spectroscopy. 3rd ed. Baltimore: Springer Science+Business Media; **2006**.
17. Schwartz Radatz, Catia. *Novas metodologias para a síntese de benzosselenazóis* Gonçalves, Pierre. *Síntese e caracterização de novas iminas fluorescentes e suas aplicações como sensores ópticos*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, *fotoluminescentes*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2013**.
18. **2008**.
19. Arenhart Soares, Franciela. *Síntese e Estudo da Interação de Novos Ésteres Benzotiazepínicos com a Proteína BSA via Espectroscopia de Fluorescência*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2016**

20. Zhang X-F, Zhang J, Lu X. The fluorescence properties of three rhodamine dye analogues: Acridine red, pyronin Y and Pyronin B. *Journal of Fluorescence*. **2015**;25(4):1151–8.
21. Eftink M, Ghiron C. Fluorescence quenching studies with proteins. *Analytical Biochemistry*. **1981**;114(2):199-227.
22. Griffiths H. Biomarkers, Lennart Møller, Grzegorz Bartosz, Aalt Bast, Carlo Bertoni-Freddari, Andrew Collins, Marcus Cooke, Stefan Coolen, Guido Haenen, Anne-Mette Hoberg, Steffen Loft, Joe Lunec, Ryszard Olinski, James Parry, Alfonso Pompella, Henrik Poulsen, Hans Verhagen, Siân B. Astley. *Molecular Aspects of Medicine*. **2002**;23(1-3):101-208.
23. Vo-Dinh T, Cullum B. Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. **2000**;366(6-7):540-551.
24. Schäferling M. The Art of Fluorescence Imaging with Chemical Sensors. *Angewandte Chemie International Edition*. **2012**;51(15):3532-3554.
25. Basabe-Desmots L, Reinhoudt DN, Crego-Calama M. Design of fluorescent materials for chemical sensing. *Chemical Society Reviews*. **2007**;36(6):993.
26. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*. **2017**;86(1):715–48.
27. Sies H. Oxidative stress: Impact in redox biology and medicine. *Archives of Medical and Biomedical Research*. **2016**;2(4):146.
28. Černý M, Habánová H, Berka M, Luklová M, Brzobohatý B. Hydrogen peroxide: Its role in plant biology and crosstalk with Signalling Networks. *International Journal of Molecular Sciences*. **2018**;19(9):2812.
29. Winterbourn CC. The Biological Chemistry of Hydrogen Peroxide. Hydrogen Peroxide and Cell Signaling, Part C. **2013**;:3–25.
30. Antunes F, Brito PM. Quantitative biology of hydrogen peroxide signaling. *Redox Biology*. **2017**;13:1–7.
31. Rhee SG, Chang T-S, Jeong W, Kang D. Methods for detection and measurement of hydrogen peroxide inside and outside of cells. *Molecules and Cells*. **2010**;29(6):539–49.
32. Meier J, M Hofferber E, A Stapleton J, M Iverson N. Hydrogen peroxide sensors for biomedical applications. *Chemosensors*. **2019**;7(4):64.

33. Miller EW, Albers AE, Pralle A, Isacoff EY, Chang CJ. Boronate-based fluorescent probes for imaging cellular hydrogen peroxide. *Journal of the American Chemical Society*. **2005**;127(47):16652–9.
34. Fordyce FM. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *Essentials of Medical Geology*. **2012**;:375–416.
35. Coelho FL. Desenvolvimento de Metodologias de Ciclização de Selenoacetilenos e Selenetos Vinílicos para Formação de Heterociclos Indólicos [thesis]. **2018**.
36. Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*. **2014**;6(1):25–54.
37. Stadtman TC. Selenium biochemistry. *Annual Review of Biochemistry*. **1990**;59(1):111–27.
38. Azad GK, Tomar RS. Ebselen, a promising antioxidant drug: Mechanisms of action and targets of biological pathways. *Molecular Biology Reports*. **2014**;41(8):4865–79.
39. Antony S, Bayse CA. Modeling the mechanism of the glutathione peroxidase Mimic Ebselen. *Inorganic Chemistry*. **2011**;50(23):12075–84.
40. Sies H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radical Biology and Medicine*. **1993**;14(3):313–23.
41. Parrot I, Wermuth C-G, Hibert M. Resin-bound thiophenols as Snar-labile linkers: Application to the solid phase synthesis of aminopyridazines. *Tetrahedron Letters*. **1999**;40(45):7975–8.
42. Gospodinov I, Singer J, Klapötke TM, Stierstorfer J. The pyridazine scaffold as a building block for energetic materials: Synthesis, characterization, and properties. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. **2019**;645(21):1247–54.
43. Chmovzh T, Knyazeva E, Lyssenko K, Popov V, Rakitin O. Safe synthesis of 4,7-dibromo[1,2,5]thiadiazolo[3,4-d]pyridazine and its Snar reactions. *Molecules*. **2018**;23(10):2576.
44. Li J, Li P, Wu J, Gao J, Xiong W-W, Zhang G, et al. [4 + 2] cycloaddition reaction to approach diazatwistpentacenes: Synthesis, structures, physical

- properties, and self-assembly. *The Journal of Organic Chemistry*. **2014**;79(10):4438–45.
45. Cui S, Liu H, Gan L, Li Y, Zhu D. Fabrication of low-dimension nanostructures based on organic conjugated molecules. *Advanced Materials*. **2008**;20(15):2918–25.
46. Gao ZQ, Mi BX, Tam HL, Cheah KW, Chen CH, Wong MS, et al. High efficiency and small roll-off electrophosphorescence from a new iridium complex with well-matched energy levels. *Advanced Materials*. **2008**;20(4):774–8.
47. Mi BX, Wang PF, Gao ZQ, Lee CS, Lee ST, Hong HL, et al. Strong luminescent iridium complexes with C[∞]N=N structure in ligands and their potential in efficient and thermally stable phosphorescent oleds. *Advanced Materials*. **2009**;21(3):339–43.
48. Li M, Yuan Y, Chen Y. Acid-induced multicolor fluorescence of pyridazine derivative. *ACS Applied Materials & Interfaces*. **2017**;10(1):1237–43.
49. Iwaoka M, Tomoda S. Nucleophilic selenium. *Organoselenium Chemistry*. **2000**;:55–80.
50. Sharpless KB, Lauer RF. Mild procedure for the conversion of epoxides to allylic alcohols. first organoselenium reagent. *Journal of the American Chemical Society*. **1973**;95(8):2697–9.
51. Silva PC, Borges EL, Lima DB, Jacob RG, Lenardão EJ, Perin G, et al. A simple and non-conventional method for the synthesis of selected β-arylalkylchalcogeno substituted alcohols, amines and carboxylic acids. *Arkivoc*. **2016**;2016(5):376–89.
52. Tanini D, Capperucci A. Ring opening reactions of heterocycles with selenium and tellurium nucleophiles. *New Journal of Chemistry*. **2019**;43(29):11451–68.
53. Milton MD, Kumar N, Sokhi SS, Singh S, Singh JD. An efficient and facile one-pot synthesis of structurally unique 2,4,6-tris(arylchalcogeno)-1,3,5-triazine and 1,3,5-tris(arylchalcogeno)-2,4,6-trimethylbenzene. *Tetrahedron Letters*. **2004**;45(34):6453–5.
54. Annaka T, Nakata N, Ishii A. A reversible and turn-on type fluorescence behaviour of hydrogen sulfide via a redox cycle between selenoxide and selenide. *New Journal of Chemistry*. **2019**;43(29):11643–52.

55. Xiao H, Li P, Hu X, Shi X, Zhang W, Tang B. Simultaneous fluorescence imaging of hydrogen peroxide in mitochondria and endoplasmic reticulum during apoptosis. *Chemical Science*. **2016**;7(9):6153–9.
56. Zhou Z, Li Y, Su W, Gu B, Xu H, Wu C, et al. A dual-signal colorimetric and near-infrared fluorescence probe for the detection of exogenous and endogenous hydrogen peroxide in living cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2019**;280:120–8.
57. Wei Y-F, Wang X, Shi W-J, Chen R, Zheng L, Wang Z-Z, et al. A novel methylenemalononitrile-BODIPY-based fluorescent probe for highly selective detection of hydrogen peroxide in living cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2021**;226:113828.
58. Bagley MC, Davis T, Dix MC, Fusillo V, Pigeaux M, Rokicki MJ, et al. Microwave-assisted Ullmann C–S Bond Formation: Synthesis of the P38A MAPK clinical candidate VX-745. *The Journal of Organic Chemistry*. **2009**;74(21):8336–42.
59. Fulmer GR, Miller AJ, Sherden NH, Gottlieb HE, Nudelman A, Stoltz BM, et al. NMR chemical shifts of trace impurities: Common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. *Organometallics*. **2010**;29(9):2176–9.
60. Redon S, Vanelle P, Remusat V. Green synthesis of diaryl selenides from arylboronic acids and Arylseleninic acids. *Synlett*. **2022**;33(05):483–7.
61. Guo Y, Bao H, Chen L, Shi J, Li Y. Diverse synthesis of triarylselenonium salts and *o*-(alkoxy)aryl aryl selenes via insertion of benzyne into the Se=O bond. *Organic Letters*. **2022**;24(38):6999–7003.
62. 3,6-dichloropyridazine(141-30-0) ¹H NMR [Internet]. 3,6-Dichloropyridazine(141-30-0) ¹H NMR spectrum. Available from: https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_141-30-0_1HNMR.htm