



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA



Manassés Francisco do Nascimento Filho

**Síntese de Compostos $[\text{Eu}(\text{Porphy})_x(\text{DPA})_y(\text{H}_2\text{O})_n]$ com Potencial para Produção e
Detecção de Oxigênio Singlete para Terapia Fotodinâmica**

RECIFE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

Manassés Francisco do Nascimento Filho

**Síntese de Compostos $[\text{Eu}(\text{Porphy})_x(\text{DPA})_y(\text{H}_2\text{O})_n]$ com Potencial para Produção e
Detecção de Oxigênio Singlete para Terapia Fotodinâmica**

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado da Universidade Federal de Pernambuco, campus Recife, como requisito para a conclusão da disciplina obrigatória QF558 - Trabalhos Dirigidos em Química 2.

Orientador: Leonis Lourenço da Luz

Coorientadora: Diane Correia de Araújo Lima

Recife

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do
SIB/UFPE

Nascimento Filho, Manassés Francisco do.

Síntese de Compostos $[Eu(\text{Porphy})_x(\text{DPA})_y(\text{H}_2\text{O})_n]$ com Potencial para
Produção e Detecção de Oxigênio Singlete para Terapia Fotodinâmica / Manassés
Francisco do Nascimento Filho. - Recife, 2022.

80p : il., tab.

Orientador(a): Leonis Lourenço da Luz

Coorientador(a): Diane Correia de Araújo Lima

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Química - Bacharelado,
2022.

Inclui referências, apêndices.

1. Terapia Fotodinâmica (TFD). 2. Espécies Reativas de Oxigênio (EROs).
3. Porfirina. 4. Európio. 5. Ácido dipicolínico (DPA). I. Luz, Leonis Lourenço da.
(Orientação). II. Lima, Diane Correia de Araújo. (Coorientação). III. Título.

540 CDD (22.ed.)

MANASSÉS FRANCISCO DO NASCIMENTO FILHO

**Síntese de Compostos [Eu(Porphy)_x(DPA)_y(H₂O)_n] com Potencial para Produção e
Detecção de Oxigênio Singleto para Terapia Fotodinâmica**

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado da Universidade Federal de Pernambuco, campus Recife, como requisito para a conclusão da disciplina obrigatória QF558 - Trabalhos Dirigidos em Química 2.

Aprovado em: 28/10/2022.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Leonis Lourenço da Luz (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Giovannia Araujo de Lima Pereira
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Marcella Auxiliadora de Melo Lucena
Universidade Federal de Pernambuco

Dedicatória: Dedico essa monografia a minha família especialmente a minha mãe (*in memoriam*), que me ensinou a amar, sonhar e lutar por meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente de agradecer a todos os colaboradores diretos e indiretos do BSTR-UFPE, especialmente ao Prof. Dr. Severino Alves Júnior pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa, assim como fornecer todo o suporte necessário para desenvolvimento do trabalho, seja pelos reagentes, infraestrutura, e disposição para ouvir e orientar sempre que necessário. Também gostaria de agradecer a minha coorientadora Diane pela idealização inicial do projeto, pelas longas conversas e doações de vidrarias usadas durante as sínteses. Gostaria de agradecer calorosamente ao orientador Leonis, por simplificar e idealizar todo o processo de síntese, por transmitir um pouco de sua vasta experiência experimental e me ensinar a operar todos os equipamentos utilizados nesse trabalho, assim como interpretar todos os resultados e sempre buscar extrair o máximo de informações quando possível, esse olhar transmitido que do pouco, com sagacidade, pode-se extrair muito é uma das heranças que levarei sempre comigo. Gostaria também de fazer um agradecimento especial ao Prof. Dr. Alfredo Mayall Simas e também ao Prof. Dr. Ricardo Longo, por avaliarem inúmeras vezes o trabalho e serem sempre muito solícitos e não medirem esforços para sanar dúvidas e fornecer sugestões preciosas. Também gostaria de além de agradecer a todos os professores e colegas que me acompanharam ao longo de minha graduação, agradecer especialmente a PROAES da UFPE, sobretudo a política assistencialista da Casa do Estudante, na qual me forneceu moradia, alimentação e um canto de estudos confortável para me desenvolver, sem esse suporte que combate a desigualdade e evasão universitária, acredito que eu não teria chegado nessa etapa final da graduação, sou o primeiro da minha família a ingressar e concluir uma graduação em uma instituição federal, sou muito grato pelas oportunidades.

RESUMO

No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) informa que o câncer da pele é o mais recorrente correspondendo por 33% de todos os diagnósticos desta doença. Este trabalho visa o desenvolvimento de uma sonda com potencial bimodal, podendo ser aplicada para tratamento e detecção de câncer de pele via terapia fotodinâmica (TFD). Nesse trabalho, variou-se inicialmente as proporções molares de Eu(III) e ácido dipicolínico (DPA) para obter os complexos que foram posteriormente coordenados com a porfirina de interesse. Foram sintetizados 9 complexos contendo Eu(III), DPA e porfirina, dentre estes, constatou-se que os complexos Eu(DPA)₂-Porph e Eu(DPA)₃-Porph formaram os sistemas mais estáveis, e que ao variar a proporção molar do complexo e porfirina nas respectivas razões 1:1, 2:1 e 4:1, a proporção molar 4:1 complexo/porfirina conduziu aos melhores resultados, como aumento na intensidade das bandas da porfirina no espectro de absorção em relação a porfirina sem a presença do complexo.

As amostras foram sintetizadas por três metodologias diferentes, sendo denominadas C, D e E. Dentre essas três metodologias, a metodologia C, que é favorecida por fatores cinéticos, mostrou-se mais promissora, uma vez que a coordenação foi evidenciada na amostra C12|41 (Eu(DPA)₂-Porph 4:1) através do aumento de 207% no tempo de vida de emissão do íon Eu(III) em relação ao complexo Eu(DPA)₂(H₂O)₃. Além disso, também se verificou um aumento na produção de EROs (espécies reativas de oxigênio) das amostras em relação a porfirina, sendo que a amostra C13|41 (Eu(DPA)₃-Porfirina 4:1) apresentou os melhores resultados na produção de EROs, degradando 89% de DPBF (difenilbenzofurano) em apenas 5 minutos, enquanto a amostra C12|41 precisou de 20 minutos para alcançar o mesmo resultado. Dentre esses dois sistemas, apenas o C12|41 apresentou potencial como sonda específica de EROs, havendo a supressão de luminescência do íon Eu(III) em função do tempo de irradiação com laser de 660 nm. Entretanto, é necessário aumentar o contraste através de modificações na sonda para que seja possível a detecção por aparelhos com menor precisão, uma vez que a alteração no sinal chegou a aproximadamente 10% após 50 minutos de incidência do laser. Os materiais foram obtidos com um solvente não tóxico (água), e tiveram suas propriedades espectroscópicas conservadas mesmo após meses de síntese.

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica (TFD); Espécies Reativas de Oxigênio (EROs); Porphirina; Európio; Ácido dipicolínico (DPA)

ABSTRACT

In Brazil, the National Institute of Cancer (INCA) reports that skin cancer is the most recurrent, accounting for 33% of all diagnoses of this disease. The main goal of this work is to develop a probe with bimodal potential, which can be applied to the treatment and detection of skin cancer via photodynamic therapy (PDT). The molar proportions of Eu(III) and dipicolinic acid (DPA) were initially varied to obtain the Eu-DPA complexes that were later coordinated with the porphyrin of interest. Nine complexes containing Eu(III), DPA and porphyrin were synthesized, among these, it was found that the complexes Eu(DPA)₂-Porphyrin and Eu(DPA)₃-Porphyrin formed the most stable systems. Upon varying the molar ratio proportion of the complex to porphyrin in the respective ratios 1:1, 2:1 and 4:1, that with the 4:1 complex to porphyrin molar ratio led to the best results, such as an increase in the intensity of the porphyrin bands in the absorption spectrum in relation to porphyrin without the presence of the complex.

The samples were synthesized by three different methodologies, being called C, D and E. Among these three methodologies, the C methodology, which is favored by kinetic factors, showed to be the most promising, since it led to a 207% increase in the emission lifetime of the Eu(III) ion in C12|41 (Eu(DPA)₂-Porphyrin 4:1) in relation to Eu(DPA)₂(H₂O)₃. In addition, there was observed an increase in the production of ROS (reactive oxygen species) in these samples compared to the porphyrin. The sample C13|41 (Eu(DPA)₃-Porphyrin (4:1)) showed the best results in the production of ROS, degrading 89% of DPBF (diphenylbenzofuran) in just 5 minutes, while the C12|41 needed 20 minutes to achieve the same result. Among these systems, only C12|41 showed potential as a specific probe for ROS, with the suppression of luminescence of the Eu(III) ion as a function of the 660 nm laser irradiation time. However, it is necessary to increase the contrast through modifications in the probe so that detection by simpler devices with lower sensitivity becomes feasible, because the change in the signal reached approximately 10% after 50 minutes of laser incidence. The materials were obtained with a non-toxic solvent (water), and their spectroscopic properties were preserved after months of synthesis.

Keywords: Photodynamic Therapy (PDT); Oxygen-reactive species (ROS); Porphyrin; europium; dipicolinic acid (DPA)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura 1- Produção de EROs a partir da excitação da porfirina.....	17
Figura 2 - Representação da penetração na pele da radiação eletromagnética em diferentes comprimentos de onda.....	18
Figura 3 – Estrutura molecular da porfirina de partida	19
Figura 4 - Estrutura molecular do ácido dipicolínico	21
Figura 5 - Diagrama de Jablonski simplificado.....	23
Figura 6 - Representação da estrutura da porfirina.....	25
Figura 7 - Espectros de absorção eletrônica de metaloporfirinas e porfirinas base-livre com as suas respectivas transições.....	26
Figura 8 - Espectro de emissão característico das porfirinas.....	27
Figura 9 - Estrutura da porfirina em a) e suas variações sendo: b) “chlorin”; c) heteroporfirina e d) “N-confused porphyrin”	27
Figura 10 - Representação das estruturas do tipo “sanduíche” de 2 e 3 andares sendo $M(P)_2$ análogo a estrutura $Ln(Porfirina)_2$ e $M_2(P)_3$ análogo a estrutura $Ln_2(Porfirina)_3$	28
Figura 11 - Representação de estruturas de complexos Eu(III) e do ligante e (ftalocianato) ₂ coordenado a metaloporfirinas, sendo: 1) Eu-(ftalocianato) ₂ -Metaloporfirina; e 2) Eu-(ftalocianato) ₂ -(Metaloporfirina) ₂	29

Gráficos

Gráfico 1 - Sistema idealizado a partir da coordenação da porfirina com o complexo contendo Eu(III) e DPA.	30
Gráfico 2 - Fotografias do aparato usado nos experimentos com incidência de laser. a) Montagem do aparato com o laser desligado e b) com o laser ligado.....	35
Gráfico 3 – Espectros de emissão com excitação em 285 nm das soluções com Eu(III) e DPA nas proporções de 1:1 (painel superior), 1:2 (painel do meio) e 1:3 (painel inferior).....	36
Gráfico 4 – Espectros de emissão da porfirina isolada em água com excitação em 396, 413 e 435 nm.....	39
Gráfico 5 – Espectros de excitação da porfirina monitorando-se as emissões em: a) 685 nm; b) 647 e 703 nm	40

Gráfico 6 – Espectro de excitação monitorando-se a emissão em 650 nm da porfirina em solução com pH superior a 9.	40
Gráfico 7 – Fotografias das amostras obtidas pela reação da porfirina com complexo de Eu(DPA) _{1,2} e ₃ , sendo a) o conjunto de todas as amostras, b) e c) são destaques para a amostra Eu(DPA)-Porphy	42
Gráfico 8 – Espectros de absorção das soluções 0,5 mmol/L dos complexos Eu(III) e DPA nas proporções 1:1, 1:2 e 1:3 (linhas tracejadas) e das soluções com os sistemas Eu(DPA) _{1,2} e ₃ -Porphy e suas respectivas proporções molares (linhas contínuas roxo, bege e verde, concentrações 0,5 mmol/L) e da porfirina em água (linha pontilhada marrom, concentração 0,125 mmol/L) e em etanol (linha contínua azul, concentração 0,125 mmol/L).	44
Gráfico 9 – Representação da hipótese sobre a coordenação do C13 41	47
Gráfico 10 – Espectros de emissão excitando-se em 285 nm das amostras: a) Eu(DPA) ₂ e Eu(DPA) ₂ -Porphy (C12 41); b)Eu(DPA) ₃ e Eu(DPA) ₃ -Porphy (C13 41).....	48
Gráfico 11 – Fotografia das amostras obtidas pelo método de diluição a partir de soluções estoque de porfirina 10 mmol/L e Eu(DPA) ₁ ou ₂ 10 mmol/L.....	49
Gráfico 12 – Representação da nova banda no espectro de excitação monitorando-se a emissão em 615 nm, sendo em: a) Espectro da referência Eu(DPA) ₂ ; b) Eu(DPA) ₂ -Porphy (2:1) (D12 21).	52
Gráfico 13 – Espectro de excitação monitorado a emissão em 615 nm (⁵ D ₀ → ⁷ F ₂) de: a) amostra D12 41; b) amostra Eu(DPA) ₂	53
Gráfico 14 – Espectros de emissão excitando-se as amostras em 422 nm, sendo: a) Amostra Eu(DPA) ₂ -Porphy (4:1) (D12 41); b) Porphirina dissolvida em água	54
Gráfico 15 – Imagens das soluções resultantes da “síntese de ordem trocada”, sendo: I) sistemas E12 11SA e E12 11A após 24 horas e sem adição do DPA; II) sistemas E12 11SA e E12 11A ao final da síntese.	56
Gráfico 16 – Espectro de excitação do sistema E12 11SA da síntese de “ordem invertida”, monitorando-se a emissão em 650 nm.	58
Gráfico 17 – Espectro de emissão da metodologia E, síntese de “ordem invertida”, da amostra E12 11SA, excitando-se a amostra em 394 nm.	59
Gráfico 18 – Espectros de absorção das soluções com concentração molar 0,5 mmol/L em relação ao íon Eu(III) sendo as amostras: E12 11SA linha preta (concentração da porfirina 0,5 mmol/L), E12 11A linha vermelha (concentração da porfirina 0,5 mmol/L), porfirina em água a linha azul (concentração da porfirina 0,125 mmol/L), C12 41 linha verde (concentração da	

porfirina 0,125 mmol/L) e C13 41 linha amarela (concentração da porfirina 0,125 mmol/L), onde: a) o espectro completo entre 250 e 600 nm; b) 250 a 290 nm; c) 370 a 480 nm.....	60
Gráfico 19 – Degradação do DPBF pela produção de EROs monitorando-se a absorbância em 259 nm : a) Pela ação do complexo Eu(DPA) ₂ -Porfirina (4:1) (C12 41) ; e b) pela ação da porfirina	64
Gráfico 20 – Espectro de absorbância da porfirina desprotonada com pH 7 dissolvida em H ₂ O	79
Gráfico 21 – Espectro de excitação com emissão em 615 nm para a amostra Eu(DPA) ₂	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - As amostras sintetizadas via diluições e suas respectivas proporções molares	33
Tabela 2 – Tempo de vida de emissão, τ (ms), monitorando em 615 nm para as amostras de Eu(III) e DPA nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:3, valor calculado, $q(\text{H}_2\text{O})$, do número de ligantes água coordenado ao Eu(III) usando $q(\text{H}_2\text{O}) = 1,07/\tau - 0,62$ (KIMURA; CHOPPIN, 1994) e o valor predito de x com a fórmula molecular $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{H}_2\text{O})_{x-3n}]^{(3-2n)}$, com $n = 1, 2$ e 3 e $x = 8$ a 9	36
Tabela 3 – Tempo de vida de emissão do nível $^5\text{D}_0$ do Eu(III) , obtido em cada amostra das sínteses $\text{Eu}(\text{DPA})_{1,2}$ e 3 e pelo “Método C”.	46
Tabela 4 – Comparação relativa entre as integrais referentes as bandas de emissão do íon Eu(III) para as amostras $\text{Eu}(\text{DPA})_2$, C12 41, $\text{Eu}(\text{DPA})_3$ e C13 41	48
Tabela 5 – Resumo das alterações observadas pelas amostras produzidas pelas metodologias C e D.....	55
Tabela 6 – Absorbância das amostras obtidas no Gráfico 18 em 272 e 415 nm.	62
Tabela 7 – Degradação do DPBF em função do tempo de irradiação com laser em 660 nm, monitorando-se a absorbância em 259 nm no espectro UV-Vis das amostras C12 41, porfirina isolada e E12 11SA obtido pela metodologia E.	63
Tabela 8 – Degradação do DPBF em função do tempo, monitorando-se as intensidades em 411 nm do espectro de absorbância das amostras D12 41, C12 41 e C13 41.....	65
Tabela 9 – Intensidades integradas do espectro de emissão ($\lambda_{\text{Ex}} = 285$ nm) da amostra C12 41 referente a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ antes e após a incidência do laser em função do tempo.	66
Tabela 10 - Área da banda referente à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ no espectro de emissão ($\lambda_{\text{Ex}} = 285$ nm) da $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ -Porph (1:1) (D11 11) antes e após a incidência do laser em função do tempo. A amostra não foi submetida a borbulhamento com ar.	68
Tabela 11 - Área da banda referente à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ no espectro de emissão ($\lambda_{\text{Ex}} = 285$ nm) da amostra $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ -Porph (1:1) (D11 11), antes e após a incidência do laser em função do tempo. A amostra foi submetida a borbulhamento de ar por 1,5 minutos.....	68

LISTA DE ABREVIACES

DPA	cido dipicolínico (cido 2,6-piridinodicarboxlico)
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Porphy	Porfirina (cido meso-Tetrafenilporphine-4,4',4,"4"-tetracarboxílico)
HOMO	Orbital molecular ocupado mais alto (highest occupied molecular orbital)
LUMO orbital)	Orbital molecular não ocupado mais baixo (lowest unoccupied molecular orbital)
TFD	Terapia fotodinâmica
DPBF	1,3-difenilisobenzofurano
DBB	Dibenzoilbenzeno

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. HIPÓTESES, TESTES E TESE	22
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA (EM DESENVOLVIMENTO)	22
3.1 Európio	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 REAGENTES	30
4.2 SÍNTESE	31
4.2.1 Síntese do sal de európio	31
4.2.2 Síntese dos complexos Eu(III) e DPA	31
4.2.3 Síntese dos complexos Eu(DPA) _{1,2} ou 3-Porphy	32
4.2.4 Método E	33
4.3 INSTRUMENTAÇÃO E MEDIÇÕES	33
4.3.1 Espectroscopia de Luminescência	33
4.3.2 Espectroscopia de absorção UV-Visível	34
4.3.3 Experimento para verificar a produção de EROs	34
4.4 Experimento para verificação do Eu(DPA) ₂ -Porphy como sonda de oxigênio singleto.	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 COMPLEXOS EU(III) E (DPA)	35
5.2 AVALIAÇÃO ESPECTRAL DA PORFIRINA	38
5.3 INVESTIGAÇÃO DO SISTEMA EU(DPA) _x E PORFIRINA	42
5.3.1 – Investigação com base nas sínteses produzidas pelo “Método C”.	42
5.3.2 – Investigação com base nas sínteses produzidas pelo “Método D”.	49
5.3.3 Investigação da síntese pela Metodologia E para Eu-Porphy-(DPA) ₂	56
5.4 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE EROs	62

5.5	VERIFICAÇÃO DA ATUAÇÃO DO $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ -PORFIRINA COMO SONDA DE OXIGÊNIO SINGLETO	65
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	69
7	REFERÊNCIAS	72
8	APÊNDICE	79

1. INTRODUÇÃO

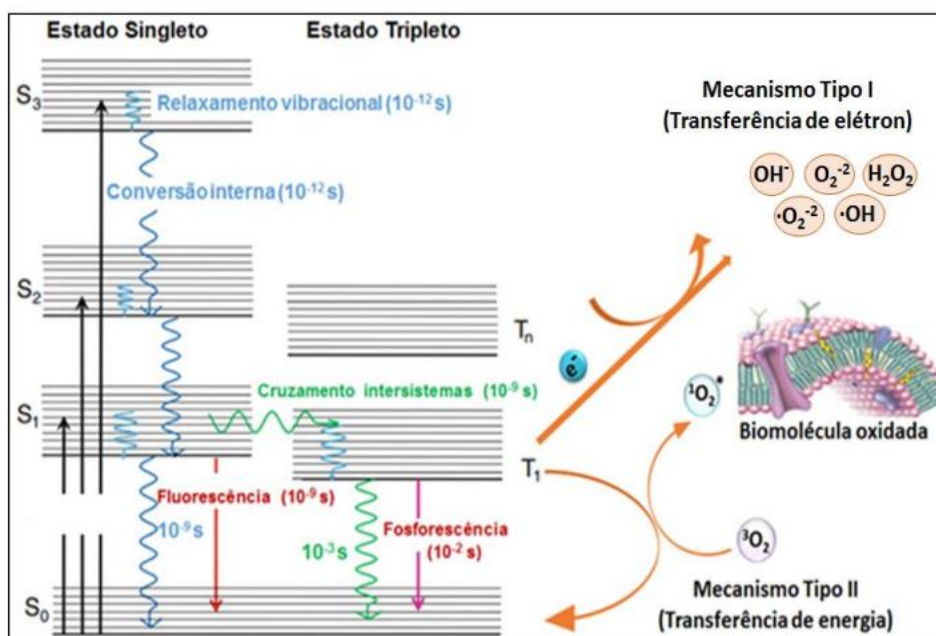
No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) informa que o câncer da pele é o mais recorrente correspondendo por 33% de todos os diagnósticos desta doença. Estima-se que seja diagnosticado cerca de 180 mil novos casos ao ano (“Tipos de câncer | INCA - Instituto Nacional de Câncer”, 2021). O câncer é um termo genérico para muitas doenças que pode afetar qualquer parte do corpo sendo definido pela OMS como “crescimento e disseminação descontrolados de células anormais que ultrapassam seus limites usuais e que podem invadir células adjacentes por um mecanismo conhecido como metástase” (“World Health Organization”, 2022). Em casos mais graves, o desenvolvimento do tumor pela ação da angiogênese pode desencadear outras complicações, levando até mesmo a óbito. Uma das maneiras de impedir o desenvolvimento da célula cancerígena é induzir sua apoptose pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), assim como o uso da radioterapia, criocirurgia, entre outros.

O termo espécies reativas de oxigênio (EROs) é uma expressão abrangente que envolve espécies radicalares e não radicalares contendo átomo(s) oxigênio. Como espécies radicalares podemos citar o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o radical hidroxila ($\bullet OH$) o radical alcóxila ($RO\bullet$), o radical peróxila ($ROO\bullet$) e o ozônio (O_3). Já como espécies não radicalares podemos citar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (ACUNHA, 2017; SCALFO, 2014). O oxigênio molecular no estado fundamental tem caráter paramagnético caracterizado pelo estado tripleto, em que dois elétrons com mesmos números quânticos de spin (“spins paralelos”) ocupam dois orbitais π degenerados. O oxigênio singleto, $O_2(^1\Delta_g)$, é uma espécie excitada por fotossensibilização e mais reativa em relação ao tripleto, tendo papel importante em sistemas químicos e biológicos pois é um poderoso eletrófilo de capacidade oxidante que reage com moléculas ricas em elétrons através de cicloadições nas insaturações (RONSEIN et al., 2006). Como exemplo de espécies vulneráveis ao ataque de oxigênio singleto, podemos citar as estruturas presentes nas células como ácidos graxos poli-insaturados, proteínas e DNA. Portanto, o conhecimento desse mecanismo é de interesse para o desenvolvimento de tratamentos.

A terapia fotodinâmica como uma técnica de tratamento para pacientes oncológicos tem sido frequentemente explorada (DOUGHERTY et al., 1998). Nesta técnica, as EROs são produzidas a através de um fotossensibilizador, como por exemplo uma porfirina, que é ativado por um comprimento de onda específico levando seus elétrons do estado fundamental S_0 para os estados de maior energia (S_1 , S_2 ou S_3 , vide Figura 1), posteriormente, no decaimento de energia por processos radiativos e não radiativos, uma parcela do nível emissor S_1 tem sua

multiplicidade do spin alterada através do processo de cruzamento intersistemas que muda a orientação do spin de singleto para tripleto, dessa forma o fotossensibilizador no estado excitado possui tempo de vida longo o suficiente para interagir com o oxigênio molecular levando a produção de EROs a partir de dois mecanismos, o mecanismo tipo I ocorre a partir da transferência de elétrons do fotossensibilizador para o oxigênio presente no substrato celular induzindo a formação espécies radicalares como o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila. Já o mecanismo tipo II que é de maior interesse para TFD, envolve a transferência direta de energia do fotossensibilizador para o oxigênio molecular que, passa do estado fundamental tripleto para o singleto que é altamente reativa (DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003; DOUGHERTY et al., 1998), cabe lembrar que a transição do estado fundamental tripleto do oxigênio para o estado excitado singleto é proibida pela regra de seleção de spin, daí a necessidade de um fotossensibilizador. As EROs produzidas por ambos os mecanismos induzem a apoptose celular a partir de cicloadições nas insaturações. A representação completa do processo descrito usando a porfirina como fotossensibilizador está ilustrado na Figura 1.

Figura 1- Produção de EROs a partir da excitação da porfirina

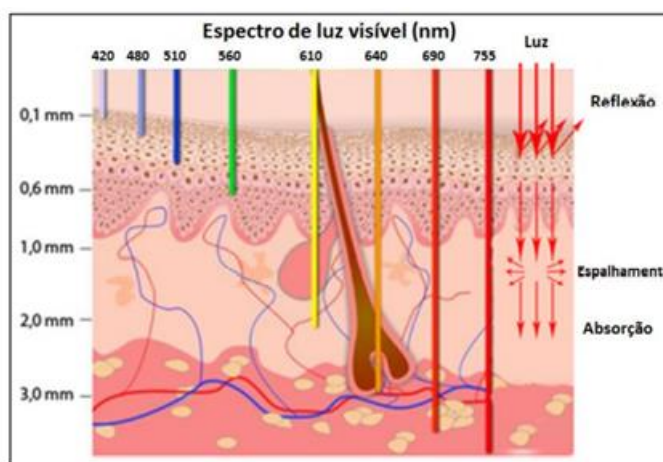


Fonte: Adaptado de Silva e colaboradores, 2015, p. 2, e Abdel-Kader, 2014, p. 36.

É importante que, o comprimento de onda da radiação incidente para excitação do fotossensibilizador durante o tratamento esteja dentro da janela biológica, ou seja, entre o visível e o infravermelho próximo pois a radiação em pequenos comprimentos de onda pode desencadear danos à saúde do paciente como danificar ácido desoxirribonucleico (DNA)

presente nas células. Outro fator importante é que a radiação incidente deve ter longa-penetração na pele para que o fotossensibilizador possa ser ativado nas camadas mais internas do tecido da pele, a radiação em pequenos comprimentos de onda não tem forte poder de penetração em função da sua forte absorção nas camadas mais externas da derme, característica não observada em radiações com maiores comprimentos de onda conforme consta na Figura 2.

Figura 2 - Representação da penetração na pele da radiação eletromagnética em diferentes comprimentos de onda.



Fonte: Adaptado de Agostinis e colaboradores, 2011, p. 255.

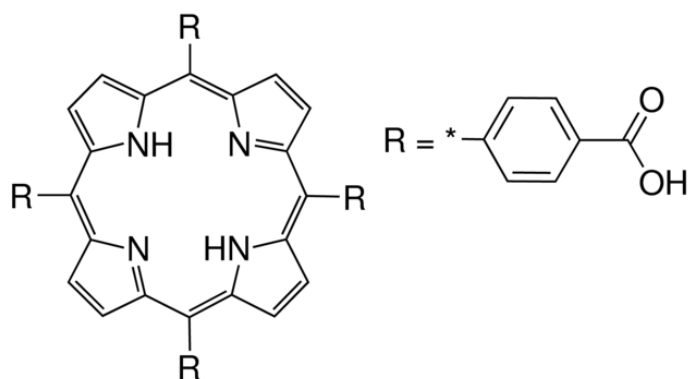
Porfirinas (vide Figura 3) são moléculas compostas por quatro anéis pirrólicos conjugados e conectados entre si por pontes do tipo metino (CH) (WÖHRLE, 1997), os 4 nitrogênios presentes no anel central podem coordenar-se com facilidade com alguns metais de transição como magnésio, ferro, prata entre outros, formando quelatos estáveis. Tais estruturas podem ser sintetizadas ou encontradas de forma natural em animais, plantas e até bactérias desempenhando diversas funções diferentes, dessa forma, inúmeras linhas de organismos têm usado e modificado porfirinas para atender às suas necessidades, por exemplo, a hemoglobina que é uma porfirina contendo o íon Fe(II) na cavidade central atua como uma molécula de transporte de oxigênio na corrente sanguínea (AFONSO; ENRÍQUEZ DE SALAMANCA; DEL, 1999). Porfirinas são bons fotossensibilizadores para produção de EROs por absorverem e emitirem com grande intensidade na região do visível e infravermelho, entretanto, tais estruturas tem seu espectro de absorção fortemente alterado por alterações nos anéis pirrólicos centrais (LASH, 2022), como a coordenação com metais que pode ou não favorecer para TFD a depender do metal coordenado (PAVANI et al., 2009; VIDAL et al., 2019; WÖHRLE, 1997). A coordenação com o íon Eu(III) na região central não é desejada a priori, pois é desejado que

a porfirina conserve suas propriedades espectroscópicas, sendo que não há relatos em literatura que validem a coordenação do íon Eu(III) com a porfirina ácido tetrafenilporphine-4,4',4,"4"-tetracarboxílico (vide Figura 3), usada nesse trabalho para aplicação em TFD. As pesquisas recentes sobre porfirinas, mostram que a porfirina ácido meso-Tetrafenilporphine-4,4',4,"4"-tetracarboxílico, atua muitas vezes como um reagente de partida, pois a tendência nos estudos recentes visa alterar a estrutura do anel central da porfirina para facilitar sua coordenação com outros metais de transição, ou até mesmo para deslocar o espectro de absorção da porfirina da região do visível para a região do infravermelho sem a inserção de um metal (LASH, 2022).

Há muitas classes de porfirinas para a produção de EROs, a classe de protoporfirinas apresenta diversas vantagens em sistemas biológicos, sua estrutura lipofílica permite sua acumulação em organelas intracelulares como mitocôndrias e lisossomos, tendo boa permeabilidade em membranas biológicas (AFONSO; ENRÍQUEZ DE SALAMANCA; DEL, 1999). Embora espécies capazes de produzir EROs não sejam encontradas no núcleo, este é muito sensível atuando como um alvo das EROs produzidas, sendo um processo eficiente para induzir a apoptose celular (KOLAROVA et al., 2008).

Na terapia fotodinâmica, um parâmetro que pode limitar a destruição de células tumorais é a disponibilidade de oxigênio presente na célula ou tecido em que se deseja realizar a TFD (DOLMANS; FUKUMURA; JAIN, 2003). A escassez tem consequências diretas da atividade TFD (POGUE et al., 2001; TROMBERG et al., 1990). Para contornar essa problemática, uma alternativa é fracionar a incidência de luz de tal forma que seja possível ocorrer a reoxigenação no tecido (MESSMANN et al., 1995; POGUE; HASAN, 1997), ou incidir radiação em baixa intensidade para não exaurir imediatamente o oxigênio presente na célula. Embora a protoporfirina seja um ótimo fotossensibilizador para a produção de EROs, há algumas limitações relacionadas à sua aplicabilidade. Uma delas ocorre em função da baixa seletividade ao tecido tumoral. Outra ocorre em função da fotossensibilidade cutânea de longa duração, por ser uma estrutura muito lipofílica, esta fica retida na pele por um longo período (KINSELLA et al., 2001). Por esta razão, um paciente que se submete a este procedimento deve evitar a luz solar por cerca de 4 a 6 semanas.

Figura 3 – Estrutura molecular da porfirina de partida



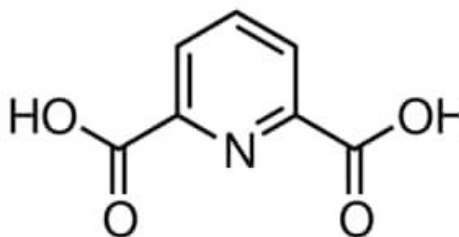
Fonte: Imagem retirada do site da fabricante Sigma Aldrich - www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/aldrich/379077 - acesso em 26/09/22

EROs também são fundamentais para o funcionamento do nosso organismo, sendo essas espécies naturalmente produzidas no processo de respiração celular (VERBON; POST; BOONSTRA, 2012). A morte celular está associada à elevação das concentrações dessas espécies nas células do organismo. Para este projeto, é de interesse que a elevação dos níveis de oxigênio singlete ocorra de maneira localizada e apenas nas células potencialmente carcinogênicas. Desta forma, é de interesse que haja detecção baseada na produção de imagens da célula (bioimageamento). Esse processo tem sido frequentemente estudado e se baseia na utilização de propriedades luminescentes dos materiais fotossensibilizadores (CELLI et al., 2010). O íon trivalente Eu(III) pode ser fotoexcitado por ligantes cromóforos e possui excelentes propriedades fotofísicas como: longo tempo de vida de luminescência, fotoestabilidade e linhas de emissão estreitas e facilmente identificáveis (BINNEMANS, 2015). Devido às suas propriedades fotofísicas peculiares, as transições no íon Eu(III) podem ser utilizadas como sonda, por exemplo, a supressão de luminescência na presença de oxigênio singlete pode ser utilizada como sonda (quantitativa) dessa espécie de oxigênio (SONG et al., 2006). Desta forma, é possível obter uma maneira de diferenciar células em função da intensidade de luminescência entre células com mais e menos EROs naturalmente disponíveis.

O íon Eu(III) em função de suas propriedades luminescentes tem sido amplamente estudado como sonda para diversas aplicações como TFD, química forense, entre outros (DAI et al., 2013; DESTEFANI et al., 2016; KURATA; NAGAI, 2003; SONG et al., 2006). Entretanto, pouco é documentado sobre a toxicidade dos complexos produzidos a partir desse íon e suas consequências devido a um uso contínuo em humanos. Um estudo realizado com ratos (DESTEFANI et al., 2016), no qual foram administradas doses sob via oral de um complexo contendo o íon Eu(III), relatou que não há alteração de qualquer atividade fisiológica ou cumulativa no organismo desde que a quantidade do composto em relação ao európio seja

inferior a 58,5 mmol/kg , sendo a massa em quilogramas referente à massa corporal do organismo. Este resultado auxilia como um parâmetro na produção de complexos com o íon európio, como o ácido dipicolínico que foi utilizado nesse trabalho e está representado na Figura 4.

Figura 4 - Estrutura molecular do ácido dipicolínico



Fonte: Imagem retirada do site da fabricante Sigma Aldrich -

<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/aldrich/p63808> - acesso em 05/11/22

O ácido dipicolínico (DPA) complexado ao európio possui picos de absorção distintos em relação à porfirina utilizada (tetraquis(4-carboxifenil)porfirina), o primeiro de maior intensidade ocorre entre 215-225 nm e o segundo de menor intensidade entre 270-280 nm. A escolha deste como ligante para complexar o európio às extremidades da porfirina onde contém os grupos carboxilatos possui algumas vantagens. Há diversos trabalhos que relatam que estruturas que formam o ânion complexo $[Ln(DPA)_3]^{3-}$ ($Ln = Eu, Tb$) apresentam estabilidade em água para aplicações espectroscópicas, além de aumentar a intensidade da luminescência dos íons lantanídeos através da transferência da energia absorvida pelo DPA para o lantanídeo via sensibilização (GEORGE et al., 2006; LESSMANN; HORROCKS, 2000). Esta é uma particularidade dessa estrutura pois é esperado que transições não radiativas induzidas por osciladores com alta energia (e.g., C-H e O-H) produzam supressão da luminescência, especialmente do íon európio. Outro fator que justifica a escolha do DPA é a estabilidade à pequenas variações de pH para aplicações fisiológicas (LIU, 2019). Logo, é esperado a possibilidade de detecção pela supressão de luminescência causado pela oxidação do ligante (DPA) complexado ao íon Eu(III) com as EROs produzidas a partir da incidência de radiação, ou interação do íon Eu(III) com as EROs produzidas, e posteriormente, tratamento localizado via TFD.

2. HIPÓTESES, TESTES E TESE

A hipótese consiste na coordenação dos complexos $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{H}_2\text{O})_{x-3n}]^{(3-2n)}$ ($n = 1, 2, 3$ e $x = 8$ a 9) com os carboxilatos da porfirina, o que deverá manter as propriedades fotofísicas da porfirina praticamente inalteradas. A verificação desta hipótese será realizada por medições espectroscópicas e fotofísicas para inferir sobre a coordenação do complexo $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{H}_2\text{O})_{x-3n}]^{(3-2n)}$ com a porfirina e por comparações das propriedades (perfil espectral e produção de EROs) dos sistemas $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{porfirina})_m(\text{H}_2\text{O})_{x-3n-m}]$, sendo “m” um número natural desconhecido que corresponde ao total de porfirinas coordenadas.

A segunda hipótese refere-se à sensibilidade do íon Eu(III) como sonda de EROs, pois é esperado que a coordenação do metal ou oxidação do ligante DPA com as EROs produzidas durante a TFD ocasionem supressão no espectro de luminescência do metal em função do aumento de osciladores de alta frequência que favorecera a emissão de energia por processos não radiativos. Sabendo-se que há uma menor quantidade de oxigênio presente nas células adjacentes as células tumorais pelo mecanismo de hipóxia tumoral, acredita-se que ao realizar uma comparação relativa entre as células presentes na pele de uma região do corpo, essa diferença de oxigênio seja evidenciada a partir da intensidade de emissão luminescente do metal no local, conferindo um potencial bimodal para a sonda, atuando na detecção e tratamento na TFD.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

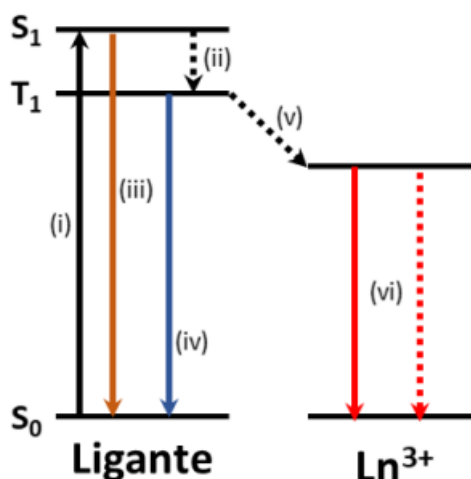
3.1 Európio

O elemento európio pertence à série dos lantanídeos (Ln), que possuem os elétrons da subcamada 4f blindados pelos elétrons nos orbitais 5s e 5p mais externos e totalmente preenchidos. Essa blindagem faz com que os elétrons 4f dos íons lantanídeos sofram pouca influência do ambiente externo, assim, a presença de um campo ligante exerce pouca influência sobre os estados eletrônicos dos íons metálicos (MOURA et al., 2016). O estado de oxidação mais comum dos lantanídeos é +3, Ln(III) , e apresentam configuração eletrônica $[\text{Xe}] 5s^2 5p^6 4f^N$ em que $N = 0$ a 14 na série do La(III) ao Lu(III) , sendo Eu(III) $4f^6$. Esta configuração eletrônica $4f^6$ fornece o termo 7F para o estado fundamental e 5D para o primeiro estado excitado. Estes termos originam os níveis 7F_J com $J = 0, 1, 2, \dots, 6$, sendo 7F_0 o nível fundamental e os níveis $^5D_{J'}$ em que $J' = 0, 1, 2, 3$ e 4 , sendo 5D_0 o nível excitado do conjunto $^5D_{J'}$ aquele com menor energia. As transições 4f-4f no íon Eu(III) ocorrem então os níveis $^7F_J \rightarrow ^7F_{J'}$ (infravermelho médio e próximo) e $^7F_J \rightarrow ^5D_{J'}$ (visível), além de outras transições no ultravioleta e transições intensas, por exemplo, $^7F_0 \rightarrow ^5L_6$ (em 395 nm).

As transições $4f-4f$ podem ocorrer através de três mecanismos: dipolo magnético (DM), dipolo elétrico forçado (DE) e quadrupolo elétrico (QE). Segundo as regras de seleção de Laporte, transições de dipolo elétrico não são permitidas entre níveis de mesma paridade e, portanto, dentro de uma mesma configuração eletrônica $4f^N$. O relaxamento dessa regra pode ocorrer através do mecanismo proposto por Judd-Ofelt (JUDD, 1962; OFELT, 1962), em que o campo ligante permite a mistura de estados com paridades opostas, justificando a denominação como dipolo elétrico forçado. Algumas transições que ocorrem por dipolo elétrico forçado têm intensidades que são muito sensíveis a mudanças no ambiente químico, sendo denominadas hipersensíveis (BINNEMANS, 2015). As transições permitidas puramente por dipolo magnético não estão sujeitas a regra de Laporte e suas intensidades são praticamente independentes do ambiente químico ao redor do íon Ln(III) . Estas transições podem ser, portanto, utilizadas como um padrão interno para as demais intensidades de emissão. Enquanto as transições QE são permitidas, entretanto com pouca intensidade frente aos outros mecanismos (BINNEMANS, 2015; BÜNZLI, 2015). Como consequência das regras de seleção, os íons lantanídeos possuem coeficientes de extinção (ou absortividade molar) muito baixos, sendo assim, a intensidade da luminescência será muito baixa quando o íon Ln(III) for excitado diretamente (BINNEMANS, 2015).

O problema de baixa absortividade molar pode ser contornado através da coordenação do metal com ligantes cromóforos, que podem absorver os fótons de fontes de excitação, transferindo essa energia para os estados excitados do metal, que sofrem decaimentos não-radiativos até o estado excitado emissor, o qual decai radiativamente emitindo luz (luminescência). Esse processo é chamado de efeito antena, ou sensibilização da luminescência no qual o ligante atua como sensibilizador (WEISSMAN, 1942). Os principais processos envolvidos na transferência de energia do ligante para o íon podem ser observados na Figura 5.

Figura 5 - Diagrama de Jablonski simplificado



Fonte: (PEREIRA FARIAS, 2019)

Em que:

- i) O ligante absorve energia em seu estado fundamental (S_0) e vai para o nível eletrônico excitado (S_1);
- ii) Decaimento não radiativo do estado singlete S_1 para o estado tripleto T_1 (conversão intersistema);
- iii) Pode ocorrer decaimentos radiativo (fluorescência) e não radiativo do estado S_1 para o estado fundamental S_0 ;
- iv) Decaimento radiativo do estado tripleto do ligante (fosforescência) através da transição proibida por spin $T_1 \rightarrow S_0$;
- v) Transferência de energia do estado tripleto do ligante, T_1 , para o nível emissor do íon Ln(III) ;
- vi) Decaimento não radiativo (seta tracejada) e radiativo (seta sólida) dentro da configuração 4f do íon Ln(III) .

Os íons lantanídeos são denominados como ácidos duros, e estabelecem ligação, preferencialmente, de caráter iônico com ligantes que contenham átomos eletronegativos (bases duras) como oxigênio e nitrogênio em carboxilatos (UTOCHNIKOVA; KUZMINA, 2016), fosfinatos (BRITO et al., 2002), β -dicetonatos (ADATI et al., 2006; SCAPOLAN et al., 2021), aminas, (poli)piridinas etc. O ácido dipicolínico (DPA) é uma piridina com duas carboxilas nas posições 2 e 6, sendo eficiente na fotossensibilização de íons lantanídeos trivalentes, devido à posição energética do seu estado tripleto (24.272 cm^{-1}) (LIMA; MALTA; ALVES JÚNIOR, 2005). A coordenação do íon do metal com sua estrutura pode ocorrer pelos oxigênios das carboxilas e pelo nitrogênio, podendo atuar como um ligante tridentado. A coordenação do

DPA com o íon Eu(III) produz uma estrutura com estabilidade espectroscópica em meio aquoso (LIS; CHOPPIN, 1995), despertando o interesse para aplicações em sistemas biológicos.

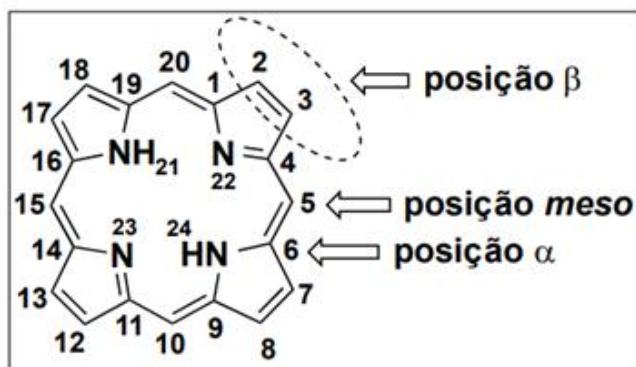
A intensidade de luminescência e o tempo de vida do íon Eu(III) em solução aquosa diminui linearmente à medida que o número de moléculas de água na esfera interna de coordenação aumenta (HORROCKS; SUDNICK, 1979), este resultado ocorre em função da transferência de energia do estado excitado 5D_0 do Eu(III) para os estados energéticos associados a vibração O-H das moléculas de água coordenadas, mecanismo de decaimento não-radiativo amplamente estudado (XIAO et al., 2011), e que também valida o íon Eu(III) como sonda eficiente de oxigênio singleto a partir da oxidação dos ligantes orgânicos coordenados ao metal (DAI et al., 2013). É importante destacar que a oxidação pode gerar grupos O-H que podem suprimir a luminescência, mas também pode gerar óxidos (sem OH), epóxidos, entre outros que alteram a posição do nível tripleto do ligante e pode causar a supressão da luminescência.

O íon Eu(III) forma estruturas estáveis com coordenação de 7 a 10, sendo mais comuns os números de coordenação 8 e 9, e a estabilidade depende da repulsão entre os ligantes e, principalmente, do efeito quelato. O íon Eu(III) forma estruturas de coordenação estáveis com DPA em água do tipo $[Eu(DPA)_n(H_2O)_{x-3n}]^{3-2n}$ com $n = 1, 2$ e 3 . Para $n = 3$, o número de coordenação é igual a 9 (considerando a coordenação do DPA tridentada), cuja formação é justificada a partir do desaparecimento da banda associada à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$, cuja intensidade no espectro de emissão diminui com o aumento da simetria ao redor do íon Eu(III) (BINNEMANS, 2015).

3.2 Porfirina

Porfirinas são moléculas compostas por quatro anéis pirrólicos conjugados e conectados entre si por pontes do tipo metino (CH) (WÖHRLE, 1997), existem diversos tipos de classes de porfirinas, sua estrutura base está ilustrada na Figura 6. A diferença entre as estruturas consiste nos diversos tipos de substituintes como carboxila, amina entre muitos outros tipos de estruturas que podem ser inseridas nas posições *meso*, α e β .

Figura 6 - Representação da estrutura da porfirina

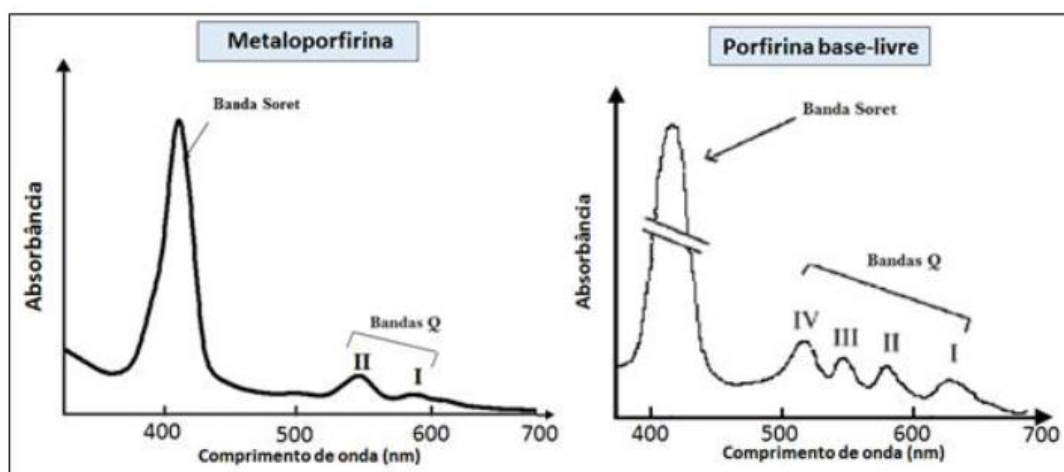


Fonte: Adaptado de Milgrom, 1997, p. 9.

As porfirinas são altamente conjugadas e sua aromaticidade ocorre a partir dos 18 elétrons π deslocalizados segundo a Regra de Hückel ($4n + 2$ elétrons π). Tais características conferem estabilidade a porfirimina que também são estruturas relativamente planas (MACDONALD; DOUGHERTY, 2001; WÖHRLE, 1997).

O espectro de absorção de porfirinas e metaloporfirinas (porfirinas complexadas a um metal nos anéis centrais) é geralmente caracterizado por uma transição de alta intensidade conhecida como banda Soret, entre 400 e 430 nm, e entre duas e quatro transições com menores intensidades denominadas bandas Q, entre 500 e 700 nm (GOUTERMAN, 1961). A representação do espectro de absorção pode ser visualizada na Figura 7.

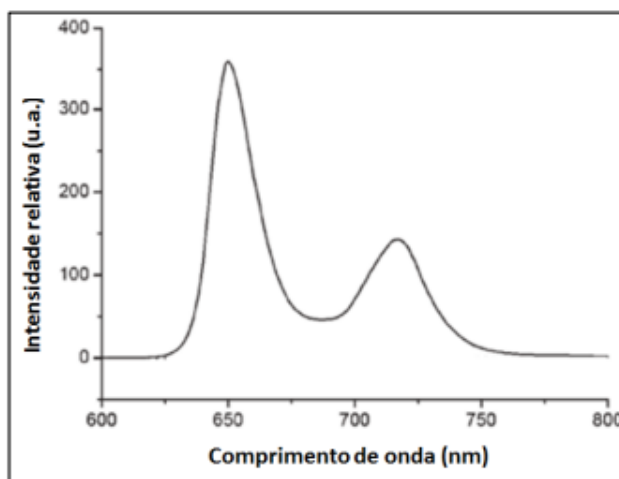
Figura 7 - Espectros de absorção eletrônica de metaloporfirinas e porfirinas base-livre com as suas respectivas transições



Fonte: Fonte: Adaptado de Faria de Sales e Mansur, 2009, p. 689. e Manton e colaboradores, 2014, p.

A transição da banda de Soret é permitida por spin, porém as bandas Q não, e estas são explicadas a partir dos níveis vibracionais da molécula (IGLESIAS, 2012). No espectro de emissão, de modo geral, porfirinas ao serem excitadas nas bandas Q ou Soret emitem intensamente na região do vermelho, apresentando duas emissões fluorescentes características entre 600 e 750 nm (IGLESIAS, 2012), conforme pode ser observado na Figura 8.

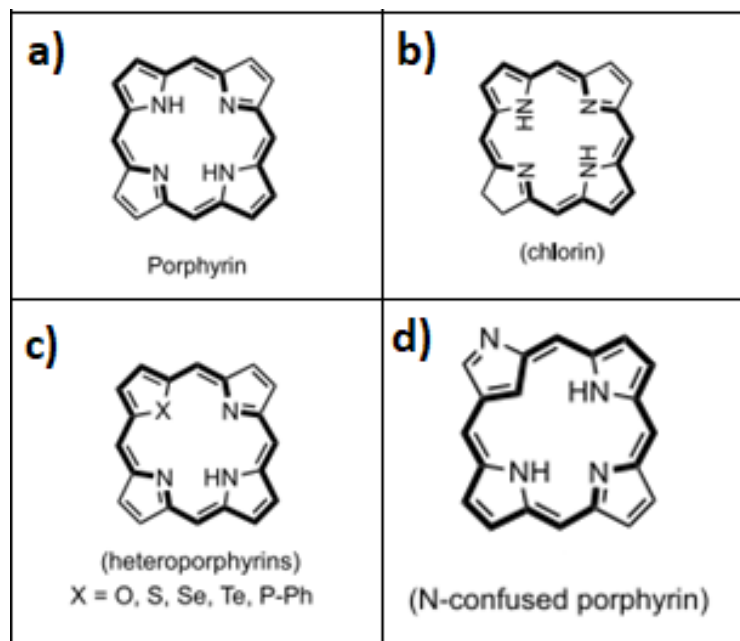
Figura 8 - Espectro de emissão característico das porfirinas



Fonte: Adaptado de Maestrin e colaboradores, 2004, p. 712.

Na perspectiva de TFD na qual a porfirina atua como um fotossensibilizador de produção de EROs, pesquisas recentes buscam deslocar as bandas de maior intensidade da porfirina no espectro de absorção para a região do vermelho ou infravermelho, pois a radiação nesses comprimentos de onda possui maior poder de penetração na pele (ACUNHA, 2017; LASH, 2022) (Figura 2). Esse deslocamento pode ocorrer pela quebra de uma insaturação na estrutura da porfirina gerando a estrutura “chlorin”, rotação de um dos anéis pirrólicos centrais gerando a estrutura “N-confused porphyrin” ou inserção de um heteroátomo (oxigênio, enxofre, selênio, telúrio ou fosfina) no lugar de um dos nitrogênios centrais dos anéis pirrólicos (heteroporfirina). As ilustrações dessas estruturas podem ser visualizadas na Figura 9

Figura 9 - Estrutura da porfirina em a) e suas variações sendo: b) “chlorin”; c) heteroporfirina e d) “N-confused porphyrin”

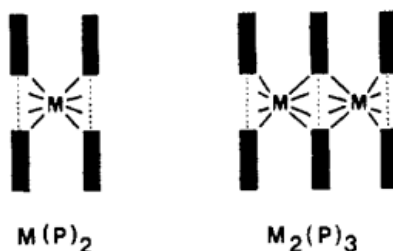


Fonte: Adaptado de Lash, 2022

Outra maneira de promover alterações espectrais na porfirina é a coordenação com metais na região central. É relatado na literatura que a coordenação com íons lantanídeos Ln(III) na região central da porfirina promove deslocamento do espectro para a região do vermelho (BULACH; SGUERRA; HOSSEINI, 2012). Entretanto, é relatado que a coordenação em solução do íon Eu(III) com a região central da porfirina promove supressão parcial na intensidade do espectro de emissão da porfirina em relação a porfirina sem a presença do metal (SHENG et al., 2009), em outros casos, a supressão em solução é total (DARGIEWICZ-NOWICKA et al., 2004; GOUTERMAN et al., 1976).

Os complexos de íons Ln(III) coordenados com a porfirina na região central são instáveis em solução, pois Ln(III) possui grande raio iônico. Esses complexos se decompõem rapidamente para gerar base livre da porfirina, ou em condições específicas, complexos em estrutura “sanduíche” de 2 a 3 andares como Ln(Porfirina)₂ ou Ln₂(Porfirina)₃ (BULACH; SGUERRA; HOSSEINI, 2012), o exemplo de tais estruturas podem ser visualizadas na Figura 10.

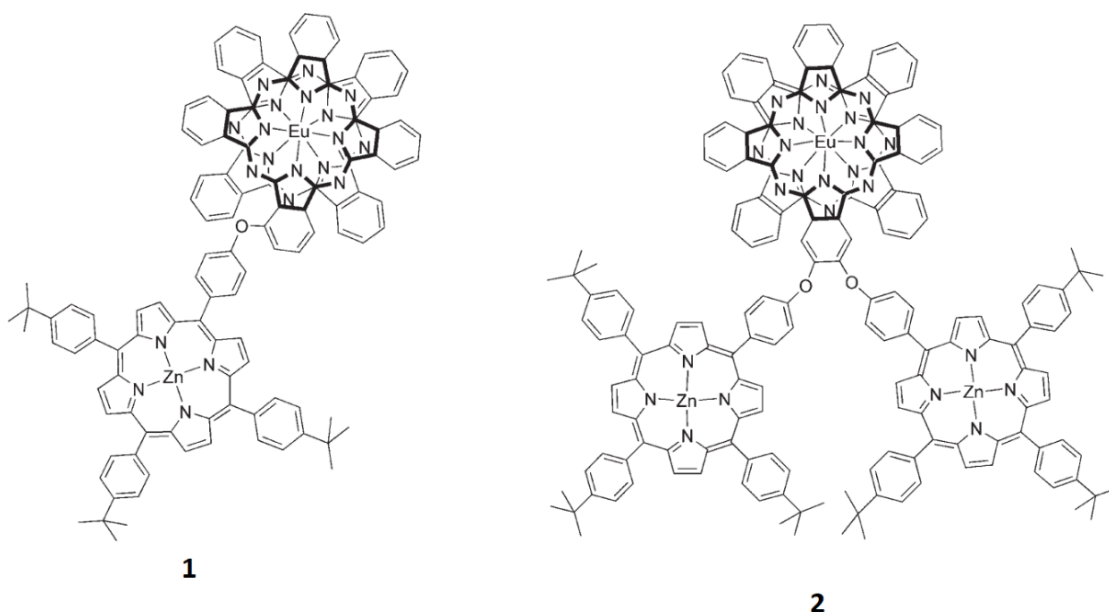
Figura 10 - Representação das estruturas do tipo “sanduíche” de 2 e 3 andares sendo M(P)₂ análogo a estrutura Ln(Porfirina)₂ e M₂(P)₃ análogo a estrutura Ln₂(Porfirina)₃



Fonte: Adaptado de Buchler et. Al., 1987.

A coordenação com a extremidade da porfirina oferece vantagens por preservar as propriedades luminescentes dos materiais, assim como ser possível regular a distância do metal com a região central da porfirina, permitindo regular a transferência de energia via efeito antena. Todavia, a síntese de estruturas estáveis desses materiais é um desafio (BULACH; SGUERRA; HOSSEINI, 2012). Não há relatos na literatura sobre a existência de uma estrutura estável contendo o íon Eu(III) coordenado a extremidade de uma porfirina sem a presença de um metal na cavidade central. Entretanto, sabe-se da existência de estruturas em que ocorre a coordenação pelas extremidades de uma metaloporfirina (porfirina contendo um metal geralmente do bloco d) a partir do complexo formado por Eu(III) e (ftalocianato)₂, que possui estrutura estável do tipo “sanduíche” (BIAN et al., 2007; CHEN et al., 2013). Exemplos dessas estruturas podem ser observados na Figura 11.

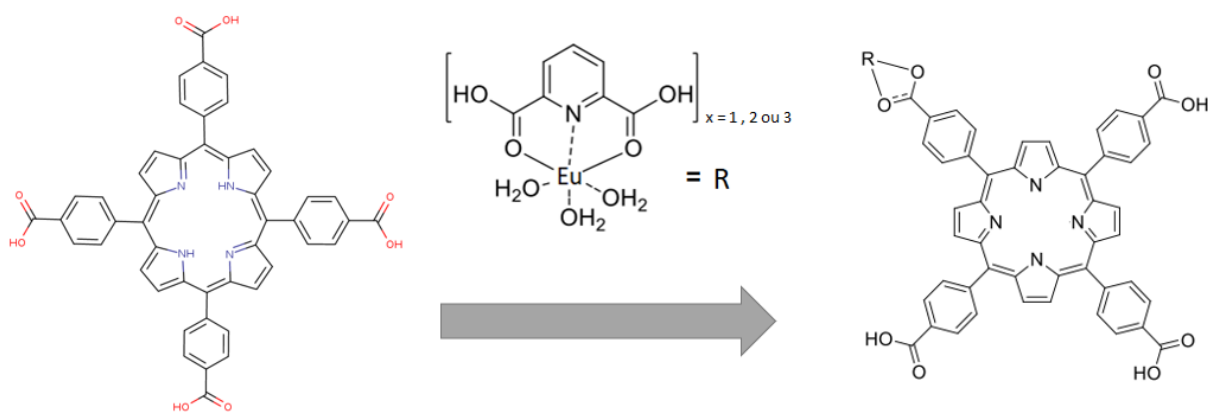
Figura 11 - Representação de estruturas de complexos Eu(III) e do ligante e (ftalocianato)₂ coordenado a metaloporfirinas, sendo: 1) Eu-(ftalocianato)₂-Metaloporfirina; e 2) Eu-(ftalocianato)₂-(Metaloporfirina)₂



Fonte: Adaptado de Bian et al., 2007

A partir do que foi exposto, foi idealizado a síntese de uma sonda contendo o complexo Eu(III) com o DPA nas respectivas proporções molares 1:1, 1:2 ou 1:3, para posteriormente este complexo coordenar com as extremidades da porfirina e assim ser possível a detecção e tratamento via TFD, a estrutura idealizada pode ser observada do Gráfico 1. Toda a avaliação dos espectros de absorção e emissão obtidos nesse trabalho foi limitado a região do UV-Vis.

Gráfico 1 - Sistema idealizado a partir da coordenação da porfirina com o complexo contendo Eu(III) e DPA.



Fonte: O autor (2022)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES

- Eu_2O_3 (trióxido de dieurópio(III)), sólido (pó), pureza 99,99%, fabricante: Sigma-Aldrich;
- DPA (ácido dipicolínico), pó, 99% de pureza, fabricante: Sigma-Aldrich;
- Porfirina (ácido meso-Tetrafenilporphine-4,4',4'',4'''-tetracarboxílico), pó, 75% de pureza, fabricante: Sigma-Aldrich;
- HCl (ácido clorídrico), solução 37%, fabricante : Química Moderna;
- NaOH (hidróxido de sódio), micropérolas, fabricante: Dinâmica;
- Água destilada

4.2 SÍNTESE

4.2.1 Síntese do sal de európio

Sintetizou-se o sal através da técnica de cristalização aberta. Pesou-se ($1,0058 \pm 0,0001$) g de Eu_2O_3 . Esta massa foi transferida para um béquer de 50 mL e adicionando-se 20,00 mL de água destilada. O sistema foi aquecido a aproximadamente 60 °C e posto sob agitação magnética constante. A esta suspensão turva, gotejou-se gradativamente ácido clorídrico P.A. (37%) até se obter uma solução transparente. Em seguida, aumentou-se a temperatura para aproximadamente 90 °C, para a evaporação do solvente até ~3 mL. O aquecimento e este volume foram mantidos, pela adição de pequenos volumes de água, até que o pH da solução chegasse a 5. O pH foi acompanhado por fita de papel indicador de pH, coletando-se uma pequena quantidade de amostra e diluindo-se em um eppendorf para então realizar a aferição. Uma vez alcançado o pH, o volume da solução foi reduzido, por evaporação do solvente com aquecimento, até se obter uma solução saturada o suficiente para que todo o volume líquido se solidifique na temperatura ambiente. Um sal muito higroscópico e de coloração branca foi então obtido.

4.2.2 Síntese dos complexos Eu(III) e DPA

A síntese ocorreu conforme descrito na literatura, (NA; BERRY; VAN VEGGEL, 2000), a partir de uma solução estoque de $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,20 mol/L), e Na_2DPA (0,08 mol/L). Está última, teve o pH corrigido para aproximadamente 6, com uma solução de NaOH (0,01 mol/L). Posteriormente, retirou-se 3 alíquotas de 0,750 mL (0,15mmol) da solução estoque $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e adicionando-se em 3 béqueres diferentes (A, B e C). Da solução de $\text{Na}_2(\text{DPA})$ também foram retiradas três alíquotas e adicionadas aos béqueres A (0,15mmol), B (0,30 mmol) e C (0,45 mmol), obtendo-se, respectivamente, as soluções de $[\text{Eu}(\text{DPA})]^+$, $[\text{Eu}(\text{DPA})_2]^-$ e $[\text{Eu}(\text{DPA})_3]^{3-}$. Os volumes das soluções A, B e C foram completados com água destilada até se obter 15 mL de solução. As soluções preparadas possuíam concentração 10 mmol/L do íon Eu(III). A adição do ligante na solução contendo o metal ocorreu lentamente (uma gota a cada 10 s). Durante o experimento, o sistema foi submetido a uma agitação constante e em temperatura ambiente. Ao final do experimento, foi aferido o pH e constatou-se que não houve alteração após a adição do ligante

4.2.3 Síntese dos complexos $\text{Eu(DPA)}_{1,2 \text{ ou } 3}$ -Porphyrina

Por ser uma síntese de materiais não relatados em literatura, foram desenvolvidas 3 metodologias para investigar se há interação entre os sistemas contendo o complexo $\text{Eu(DPA)}_{1,2 \text{ ou } 3}$ e porfirina, conforme serão destacadas a seguir.

4.2.3.1 Método C (Concentrado)

Retirou-se uma alíquota de 4,5 mL (0,045mmol) da solução $[\text{Eu(DPA)(H}_2\text{O)}_6]^+ 10 \text{ mmol/L}$, sendo adicionado a um “tubo Falcon” de capacidade de 10 mL, contendo uma barra magnética. Posteriormente, pesou-se a massa da porfirina sólida ($4,5 \pm 0,1$) mg (0,01125 mmol), correspondente à respectiva proporção molar 4:1 de complexo e porfirina, e transferiu-se para um béquer de 10 mL contendo uma barra magnética. Neste béquer, foram adicionados 2 mL de água destilada e uma solução de NaOH 0,01 mol/L suficiente para alcançar um pH entre 5 e 9, pois na porfirina a maior acidez dos ácidos carboxílicos resulta na desprotonação em pH maior que 5 (PASTERNAK et al., 1972), comparada à desprotonação dos grupos NH do anel da porfirina, cujos pK_a 's associados à estas desprotonações são 6 e 6,6 (SOBCZYŃSKI; TØNNESEN; KRISTENSEN, 2013). O pH foi acompanhado com o auxílio de um PHmetro de bancada. Esta solução de porfirina foi adicionada, lentamente (1 gota a cada 30 s) e com agitação, ao sistema contendo o complexo e o volume foi completado com água destilada até obter-se 9 mL de solução final. Após a adição, o sistema foi mantido fechado e sob agitação constante, na temperatura ambiente, por aproximadamente 48 horas. O material resultante, com concentração 5 mmol/L em relação ao íon Eu(III), foi denominado Eu(DPA)-Porfirina, na qual pode ser referenciada pelo código C11|41, onde “C” referência a metodologia, os dois algarismos antes da barra “|” representam a proporção molar de Eu(III) e DPA, e por fim os dois algarismos após a barra representam a proporção molar entre o complexo e a porfirina respectivamente. O mesmo procedimento foi realizado para obtenção dos sistemas Eu(DPA)_2 -(porfirina) (C12|41) e Eu(DPA)_3 -(porfirina) (C13|41), tomando como reagente de partida soluções de Eu(DPA)_2 e Eu(DPA)_3 , respectivamente.

4.2.3.2 Método D (Diluído)

Preparou-se uma solução estoque de porfirina 10 mmol/L em água, ajustando-se o pH entre 5 e 9 a partir de uma solução NaOH(aq) 0,01 mol/L. Posteriormente, com as soluções estoque de porfirina e dos complexos de Eu(III) e DPA sintetizados em “4.2.2”, retirou-se alíquotas nas proporções molares presentes na Tabela 1. As soluções finais contendo os

complexos e a porfirina possuíam concentração igual a 5 mmol/L em relação ao íon Eu(III). Em seguida, cada sistema foi transferido para um “tubo Falcon” de 10 mL contendo uma barra de agitação magnética. Os sistemas foram fechados e deixados sob agitação constante na temperatura ambiente, por aproximadamente 48 horas. As denominações das amostras estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - As amostras sintetizadas via diluições e suas respectivas proporções molares

Amostra (proporção molar)	Código
Eu(DPA) ₂ -Porphy (1:1)	D12 11
Eu(DPA)-Porphy (1:1)	D11 11
Eu(DPA) ₂ -Porphy (4:1)	D12 41
Eu(DPA) ₂ -Porphy (2:1)	D12 21

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

4.2.4 Método E

Nesta metodologia, obteve-se os complexos Eu-Porphy-(DPA)₂ invertendo-se a ordem de adição dos reagentes, podendo ser denominada como síntese “ordem trocada”. A partir de soluções de EuCl₃·6H₂O 0,20 mol/L (pH 7) e de Porphirina 10 mmol/L (pH 7) em água, retirou-se duas alíquotas de cada, para preparar duas soluções com concentração 2 mmol/L em relação ao íon Eu(III), na proporção molar de 1:1 Eu(III)/porfirina. A adição da solução do ligante (Porphirina) à solução do metal foi feita lentamente, com uma gota a cada 30s. Ambos os sistemas foram deixados sob agitação por 24 horas, estando um sem aquecimento (sistema A) e o outro com aquecimento em 60 °C (sistema B). Após esse período, caracterizou-se o material por espectroscopia de luminescência. Posteriormente, a partir de uma solução estoque de Na₂DPA 0,08 mol/L (pH 7), retirou-se duas alíquotas iguais com proporção molar 2:1 DPA/Eu(III) e adicionou-se cada uma, gota a gota, aos sistemas A e B. Em seguida, os sistemas foram deixados sob agitação por mais 24 horas, estando o sistema A sem aquecimento referenciado como E12|11SA e o sistema B sob aquecimento (60 °C) referenciado por E12|11A.

4.3 INSTRUMENTAÇÃO E MEDIÇÕES

4.3.1 Espectroscopia de Luminescência

Os espectros de excitação e emissão, e as curvas de diminuição da intensidade de emissão em função do tempo foram adquiridos em um espectrofluorímetro Horiba Jobin-Yvon

Fluorolog-3 com fontes de excitação de lâmpadas de xenônio contínua (450 W) e pulsada (150 W), com fotomultiplicadora Hamamatsu R928P. Os dados foram coletados em um ângulo de 90° em relação ao feixe de excitação, em temperatura ambiente e incrementos de 1 nm. Para obter os espectros de emissão e excitação do íon európio, utilizou-se a fenda de excitação equivalente a 3 nm e a de monitoramento a 1 nm. Para os espectros de emissão e excitação da porfirina, utilizou-se tanto a fenda de excitação quanto a de monitoramento equivalente a 3 nm. O tempo de vida de emissão do íon Eu(III) foi determinado monitorando a intensidade da emissão em 615 nm em função do tempo, após a excitação em 285 nm, correspondente ao máximo da banda de excitação do complexo Eu-DPA. Para a medição do tempo de vida as fendas de excitação e emissão foram equivalentes a 3 nm. As análises foram realizadas no Laboratório de Terras Raras (dQF/UFPE).

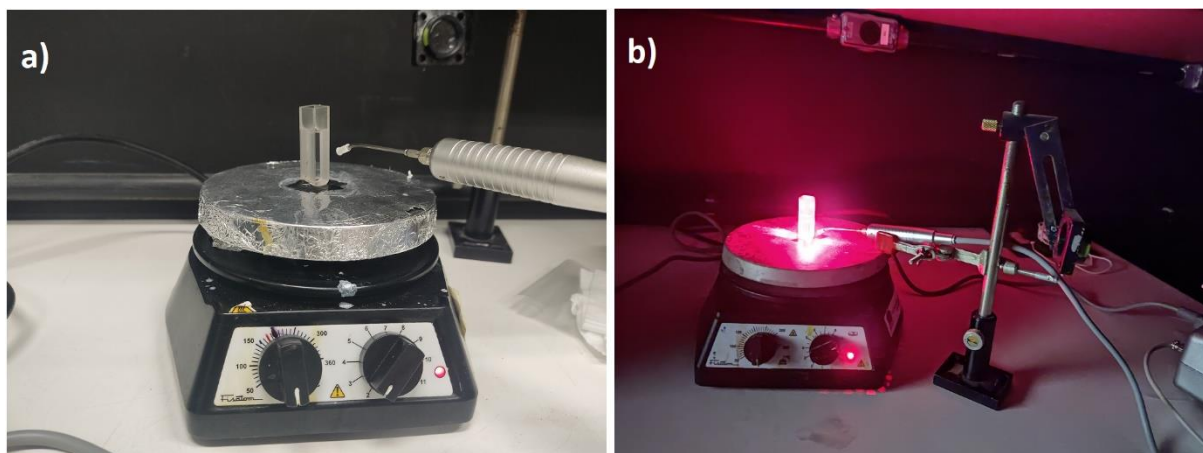
4.3.2 Espectroscopia de absorção UV-Visível

Os espectros de absorção UV-visível foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent modelo Cary 60, utilizando uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,00 cm. As análises foram realizadas na Central Multiusuário de Espectroscopia do Nordeste (CEMENE), localizada no Laboratório de Terras Raras (dQF/UFPE)

4.3.3 Experimento para verificar a produção de EROs

Para preparação das amostras foi seguido o protocolo conforme consta em literatura, (CHADWICK et al., 2016; ENTRADAS; WALDRON; VOLK, 2020), em que se preparou uma solução estoque de 50 mL em etanol (absoluto 99,9%) de DPBF (1,3-difenilisobenzofurano, massa $(1,6 \pm 0,1)$ mg para obter uma solução com concentração 0,115 mmol/L. Retirou-se uma alíquota de 1,00 mL desta solução e adicionou a 1,5 mL de solução aquosa de um dos sistemas sintetizados, como por exemplo a amostra C12|41, cuja concentração encontrava-se em 0,43 mmol/L. Após a adição, o sistema foi transferido para uma cubeta de quartzo e submetido a agitação constante em temperatura ambiente. As soluções preparadas foram expostas a um laser 660 nm por intervalos de tempo de 2 a 5 minutos, até um tempo de exposição final de 30 minutos. Espectros de absorção UV-Vis foram coletados antes e após a incidência do laser nos intervalos mencionados. O sistema foi mantido sob agitação constante em temperatura ambiente durante todo o período de exposição ao laser. Utilizou-se o laser “Photon Lase III” da fabricante DMC Equipamentos, com densidade de energia igual a 64 J/cm². Montou-se o aparato conforme consta no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Fotografias do aparato usado nos experimentos com incidência de laser. a) Montagem do aparato com o laser desligado e b) com o laser ligado.



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

4.4 Experimento para verificação do Eu(DPA)₂-Porphy como sonda de EROs.

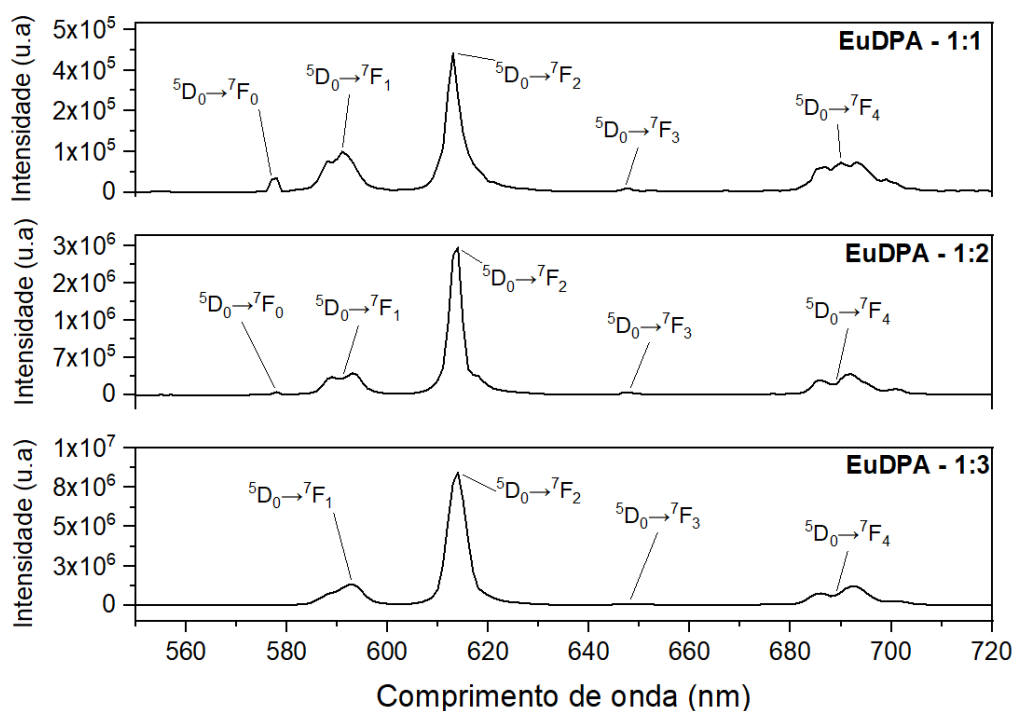
Uma alíquota de 2 mL da solução aquosa de Eu(DPA)₂-Porphy (0,5 mmol/L) foi irradiada com o laser usando o aparato ilustrado na Gráfico 1. A exposição ao laser (660 nm e 64 J/cm²) ocorreu durante intervalos de tempo que variaram de 2 a 5 minutos até o tempo final de 50 minutos, sendo coletados os espectros de emissão, com excitação em 285 nm, após cada intervalo de exposição ao laser. Os dados foram obtidos em triplicata e a significância foi calculada com base na distribuição t-Student para 95% de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPLEXOS EU(III) E (DPA)

As sínteses de complexos entre Eu(III) e DPA nas proporções 1:1, 1:2 e 1:3 resultaram em soluções homogêneas, translúcidas com leve aspecto turvo tendendo a coloração branca. Era esperado a substituição de moléculas de água coordenadas ao Eu(III) pelo ligante DPA inserido, pois este último trata-se de um ligante tridentado sendo favorecido pelo efeito quelato. A confirmação da obtenção dos complexos $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{H}_2\text{O})_{x-3n}]^{(3-2n)}$, com $n = 1, 2, 3$ e $x = 8$ a 9 (COTTON, 2005), considerando que o ligante DPA se coordena como diânion de forma tridentada, ocorreu com o monitoramento da banda referente à transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$ do íon Eu(III) no espectro de emissão, (BINNEMANS, 2015), excitando-se a amostra em 280 nm conforme ilustrado no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Espectros de emissão com excitação em 285 nm das soluções com Eu(III) e DPA nas proporções de 1:1 (painel superior), 1:2 (painel do meio) e 1:3 (painel inferior)



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

A transição em análise valida o íon Eu(III) como sonda estrutural, pois o desaparecimento da banda referente a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ pode indicar o aumento da simetria do sistema, sendo esperado que na estrutura $[\text{Eu}(\text{DPA})_3]^{3-}$ não haja moléculas de água em sua coordenação, pois o íon Eu(III) já adquiriu o número de coordenação 9. Outra possível evidência da diminuição e até ausência de moléculas de água coordenadas pode ser notada a partir do aumento significativo no tempo de vida de emissão da transição monitorada em 615 nm ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$). O tempo de vida foi obtido do ajuste da contagem de fótons em função do tempo por uma função monoexponencial, cujos valores encontrados estão reportados na Tabela 2.

Tabela 2 – Tempo de vida de emissão, τ (ms), monitorando em 615 nm para as amostras de Eu(III) e DPA nas proporções de 1:1, 1:2 e 1:3, valor calculado, $q(\text{H}_2\text{O})$, do número de ligantes água coordenado ao Eu(III) usando $q(\text{H}_2\text{O}) = 1,07/\tau - 0,62$ (KIMURA; CHOPPIN, 1994) e o valor predito de x com a fórmula molecular $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{H}_2\text{O})_{x-3n}]^{(3-2n)}$, com $n = 1, 2$ e 3 e $x = 8$ a 9 .

Eu(III):DPA	τ (ms)	$q(\text{H}_2\text{O})$	$x = [8 \text{ a } 9] - 3n$
-------------	-------------	-------------------------	-----------------------------

1:1	0,18	5,2	[5 a 6]
1:2	0,65	1,0	[2 a 3]
1:3	1,45	0,1	[-1 a 0]

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Na literatura consta que os valores do tempo de vida de emissão para amostras Eu(III)-DPA nas proporções 1:0,5; 1:1; 1:2 e 1:4 em pH 3,52; 3,63; 5,14 e 5,91 são, respectivamente, 0,13; 0,17; 0,31 e 1,35 ms (LIS; CHOPPIN, 1995), bem como para a proporção 1:3 com valores 1,30 e 1,37 ms (KIMURA; CHOPPIN, 1994), estão em boa concordância com os valores apresentados na Tabela 2. Cabe ressaltar que as distribuições (percentuais) das espécies Eu, EuDPA, EuDPA₂ e EuDPA₃ em água dependem da proporção Eu:DPA, do pH e força iônica. Por exemplo, em pH 5,14, a distribuição das espécies Eu, EuDPA, EuDPA₂ e EuDPA₃ foi estimada em 0,0%, 11,7%, 76,5% e 11,8%, respectivamente, para concentração de Eu(III) 0,010 mol/L e força iônica 0,10 mol/L (NaClO₄) em 298 K (LIS; CHOPPIN, 1995). Portanto, as diferenças nas condições das amostras utilizadas para obter os valores na Tabela 2 com aquelas da literatura podem explicar as variações dos valores de tempo de vida.

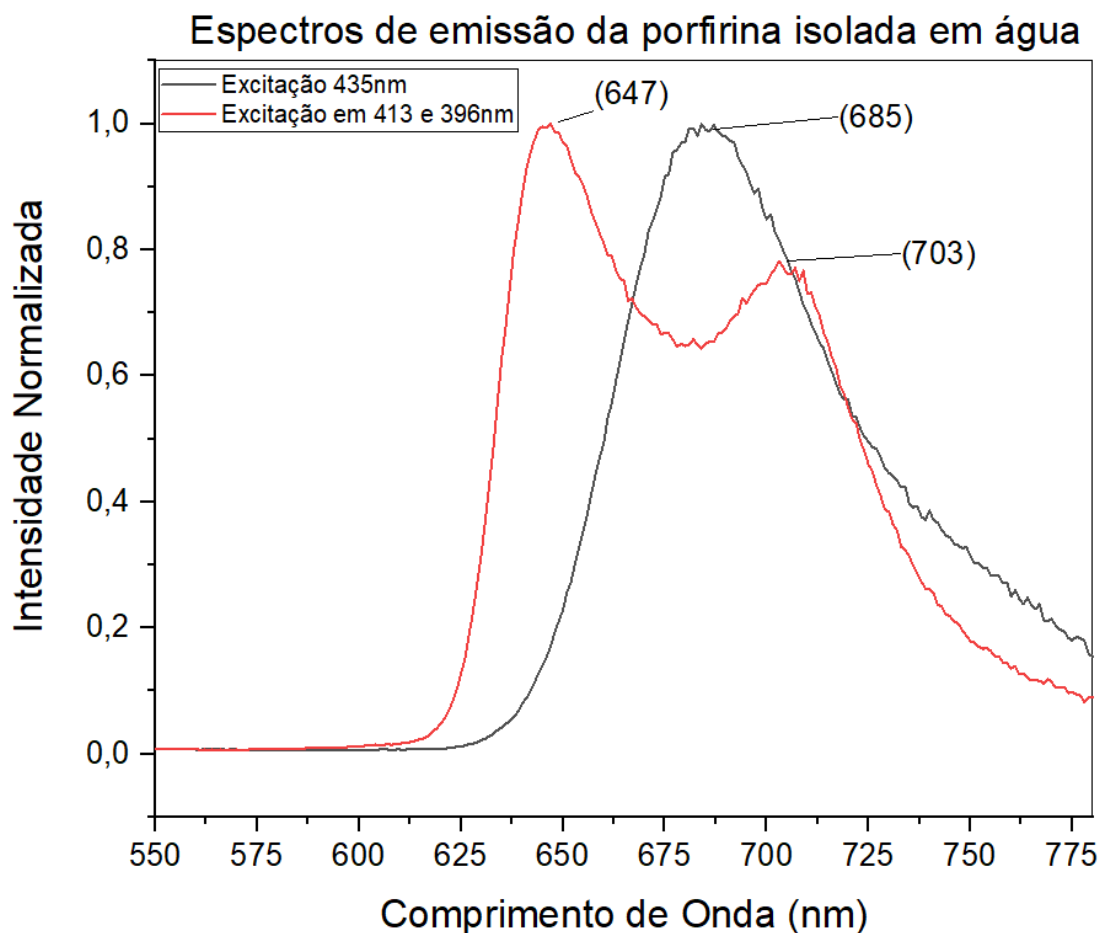
O aumento significativo do tempo de vida de emissão pode ser explicado pela substituição das moléculas de água coordenadas ao íon Eu(III) por ligantes tridentados divalentes. A diminuição do número de moléculas de água coordenadas diminui a presença de osciladores com altas frequências (Ex. estiramentos O—H) responsáveis pelo aumento das taxas de decaimentos não radiativos. Logo, a diminuição ou ausência de moléculas de água coordenadas leva à diminuição das taxas não radiativas e, portanto, da taxa de decaimento total (radiativa + não radiativa), levando ao aumento do tempo de vida que é inversamente proporcional à taxa total de decaimento. De fato, estas considerações podem ser quantificadas e utilizadas para determinar o número de moléculas coordenadas ao Eu(III) (HORROCKS; SUDNICK, 1979; KIMURA; CHOPPIN, 1994; TROPIANO et al., 2015). Por exemplo, o número de moléculas de água coordenada ao íon Eu(III) pode ser estimada por $1,07/\tau - 0,62$ (KIMURA; CHOPPIN, 1994), em que τ é o tempo de vida de emissão do nível ⁵D₀ do Eu(III) expresso em milissegundos. Os valores calculados para o número de moléculas de água coordenadas ao Eu(III) em soluções Eu-DPA, apresentados na Tabela 2, estão em boa concordância com os valores preditos por [8 a 9] – 3x pela fórmula molecular

$[\text{Eu}(\text{DPA})_x(\text{H}_2\text{O})_{[8 a 9] - 3x}]^{(3 - 2x)}$, com $x = 1, 2$ e 3 , em que o ligante DPA é tridentado (LIS; CHOPPIN, 1995).

5.2 AVALIAÇÃO ESPECTRAL DA PORFIRINA

Padronizou-se a concentração da porfirina isolada em solução aquosa em 0,5 mmol/L (a mesma concentração usada nas caracterizações das outras sínteses), assim como o seu pH (entre 5 e 9) devido a maior acidez dos ácidos carboxílicos, em que a desprotonação ocorre em pH maior que 5 (PASTERNAK et al., 1972), comparada à desprotonação dos grupos NH do anel da porfirina, cujos pK_a 's associados à estas desprotonações são 6 e 6,6 (SOBCZYŃSKI; TØNNESEN; KRISTENSEN, 2013). Com a finalidade de traçar um perfil comparativo para investigar as mudanças produzidas pela inserção do complexo, obteve-se os espectros excitação e emissão em diversos comprimentos de onda. A partir do espectro de absorção (ver Apêndice Gráfico 20), constatou-se que a porfirina, em sua forma livre, apresenta uma banda larga com máximo em 413 nm. Obteve-se o espectro de emissão com excitação em 413 nm, no qual apresentou duas bandas sobrepostas com picos em 650 e 703 nm, o mesmo comportamento foi observado ao excitar a amostra em 396 nm. Posteriormente, obteve-se os espectros de excitação monitorando a emissão em 650 e 703 nm, que apresentaram três bandas com máximos em 396, 414 e 435 nm. Entretanto, ao excitar a amostra em 435 nm, o espectro de emissão apresentou uma única banda com máximo de emissão em 685 nm. Estes espectros de emissão estão apresentados no Gráfico 4 onde normalizou-se dividindo-se o espectro pelo maior valor de emissão obtido.

Gráfico 4 – Espectros de emissão da porfirina isolada em água com excitação em 396, 413 e 435 nm

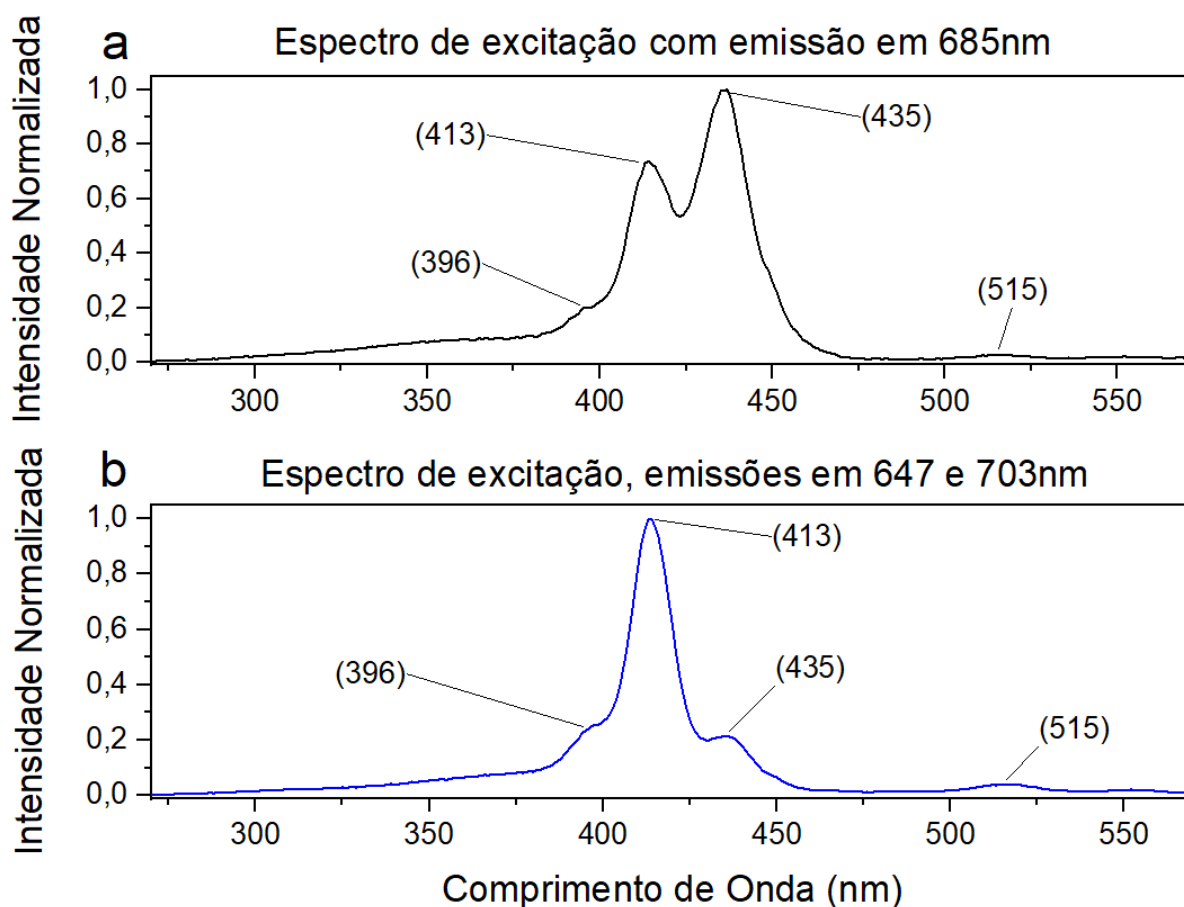


Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Os espectros de excitação da porfirina, com o monitoramento das emissões em 647, 685 e 703 nm, produziram o mesmo perfil espectral relatado previamente com 3 bandas (396, 413 e 435 nm). Todavia, há diferenças nas intensidades das bandas em 413 e 435 nm, pois ao monitorar a emissão em 647 e 703 nm, a intensidade da banda 413 nm apresenta maior intensidade, enquanto ao monitorar a emissão em 685 nm, a banda de 435 nm tem maior intensidade. Este comportamento pode ser observado no Gráfico 5.

Gráfico 5 – Espectros de excitação da porfirina monitorando-se as emissões em: a) 685 nm; b) 647 e 703 nm

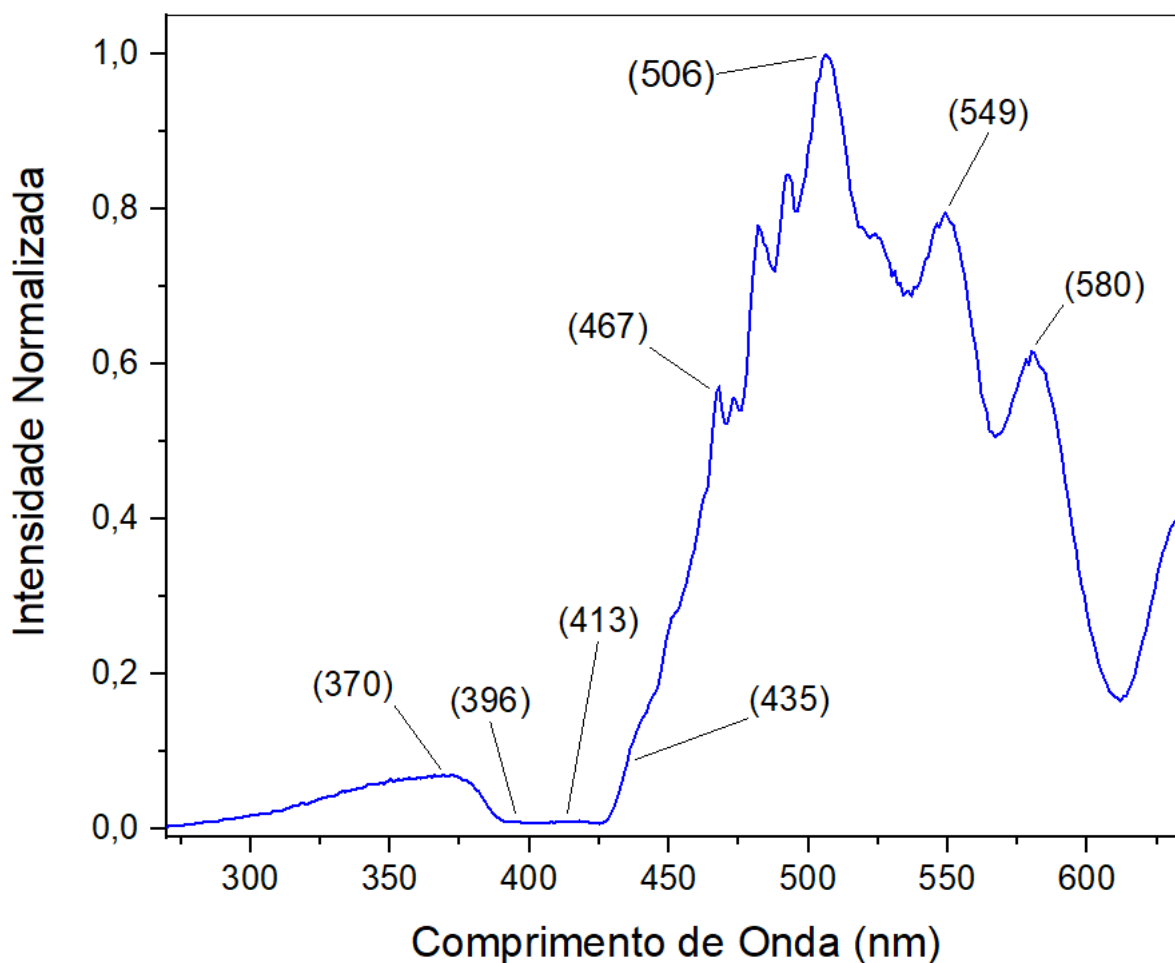


Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

A partir de experimentos, pode-se verificar também que o espectro de emissão da porfirina em água depende fortemente do pH e da concentração. Estas alterações no espectro de emissão podem ser devidas a possíveis interações entre o anel central de uma porfirina com o grupo carboxilato presente na extremidade da outra. Essa hipótese é sustentada a partir de alterações no espectro de excitação quando fixado a emissão em 650 nm, em que foi observado o aparecimento de novas bandas, assim como deslocamento de outras, conforme pode ser observado no Gráfico 6

Gráfico 6 – Espectro de excitação monitorando-se a emissão em 650 nm da porfirina em solução com pH superior a 9.



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Comparando os espectros de emissão obtidos da amostra de porfirina com o pH superior a 9 com aqueles obtidos para a porfirina em solução com pH controlado, com excitação nos comprimentos de onda 396, 413 e 435 nm, não foi observado alteração no perfil espectral. Excitando-se a amostra nos demais comprimentos de onda acima de 435 nm identificados no Gráfico 6, em todos os casos obteve-se o mesmo espectro de emissão observado no Gráfico 4 pela linha vermelha (excitação em 413 e 396 nm) com boa resolução e intensidade, algo que não ocorre com a porfirina com pH controlado que também produz o mesmo perfil espectral nesses comprimentos de onda, porém com baixa intensidade. Isto sugere que a elevação do pH promove a interação entre as porfirinas, que resulta no deslocamento e aparecimento de novas bandas do espectro de excitação com emissão monitorada em 650 nm. Outro aspecto relevante é que as alterações no espectro de excitação da porfirina com pH acima de 9 são sensíveis à concentração, pois o perfil espectral varia com a concentração da amostra.

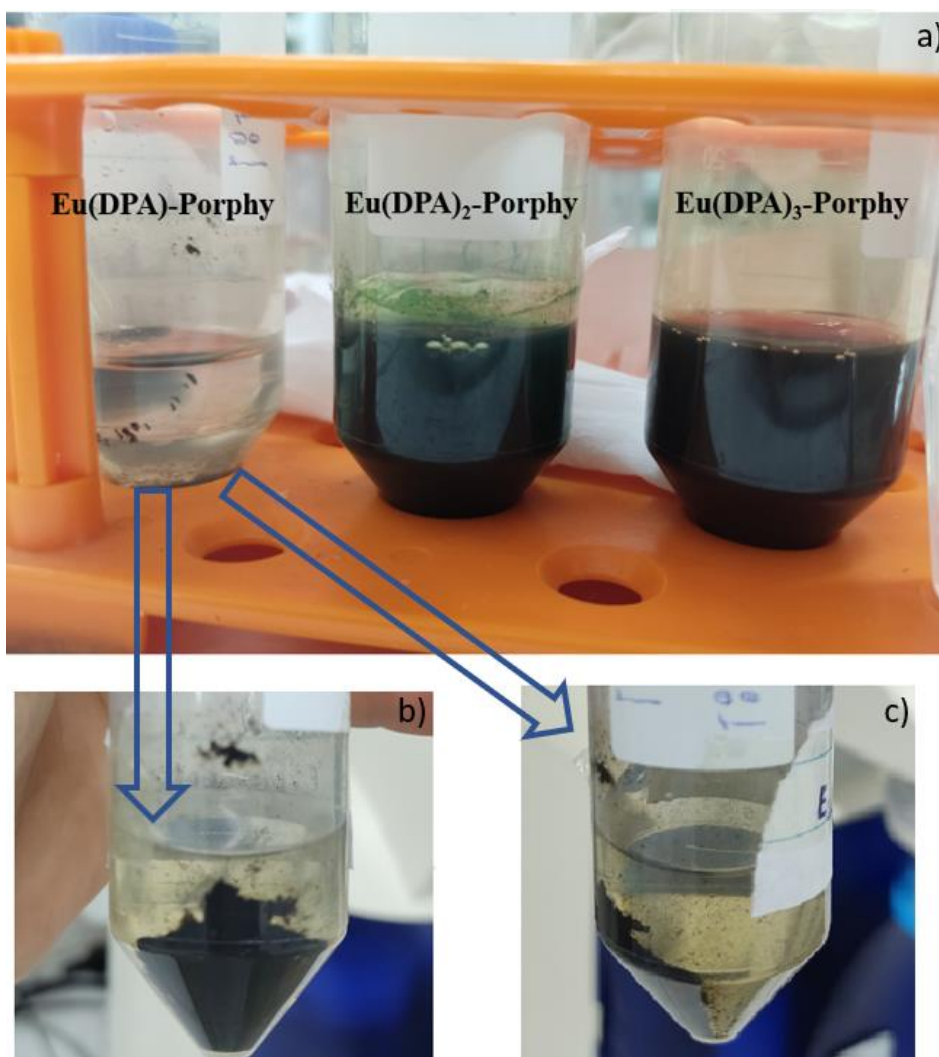
5.3 INVESTIGAÇÃO DO SISTEMA Eu(DPA)_x E PORFIRINA

Um dos objetivos do trabalho consiste na obtenção do sistema $\text{Eu(DPA)}_{1,2 \text{ e } 3}$ -porfirina (ou $\text{Eu(DPA)}_x\text{-Porphy}$), em que o traço na nomenclatura do sistema refere-se à possível coordenação da porfirina com o complexo Eu(DPA)_x . Espera-se que a coordenação da porfirina ao íon Eu(III) ocorresse pelos carboxilatos (ácidos carboxílicos da porfirina desprotonados) nas extremidades da porfirina em substituição às águas coordenadas ao lantanídeo. A coordenação com os nitrogênios do anel da porfirina deve ser dificultada pelo impedimento estérico nos complexos Eu(DPA)_x . Outro argumento da coordenação pelos carboxilatos em relação aos nitrogênios do anel da porfirina está na maior acidez dos ácidos carboxílicos, em que a desprotonação ocorre em pH maior que 5 (PASTERNAK et al., 1972), comparada à desprotonação dos grupos NH do anel da porfirina, cujos pK_a 's associados à estas desprotonações são 6 e 6,6 (SOBCZYŃSKI; TØNNESEN; KRISTENSEN, 2013). Antes da adição da porfirina aos sistemas contendo complexo, a mesma foi desprotonada com pH = 7, a escolha desse pH foi evidenciado a partir dos espectros obtidos no Gráfico 5. Outra informação relevante é que em meios biológicos a desprotonação do ácido benzoico foi identificada em pH entre 5 e 9 (NCBI, 2022), justificando dessa forma a escolha por esse intervalo de pH para realizar a coordenação da porfirina aos complexos com o íon Eu(III) . Além disso, os espectros de absorção e de emissão da porfirina são fortemente alterados pela coordenação com íons metálicos nos nitrogênios do anel central da porfirina (LASH, 2022), algo que a depender do metal, impõe restrições para a aplicação em TFD, finalidade desse trabalho.

5.3.1 – Investigação com base nas sínteses produzidas pelo “Método C”.

Os produtos da síntese obtidos por essa metodologia podem ser visualizados no Gráfico 7, em que as imagens “b)” e “c)” destacam a deposição da porfirina como corpo de fundo na síntese $\text{Eu(DPA)}\text{-Porphy}$.

Gráfico 7 – Fotografias das amostras obtidas pela reação da porfirina com complexo de $\text{Eu(DPA)}_{1,2 \text{ e } 3}$, sendo a) o conjunto de todas as amostras, b) e c) são destaques para a amostra $\text{Eu(DPA)}\text{-Porphy}$



Fonte: O autor (2022)

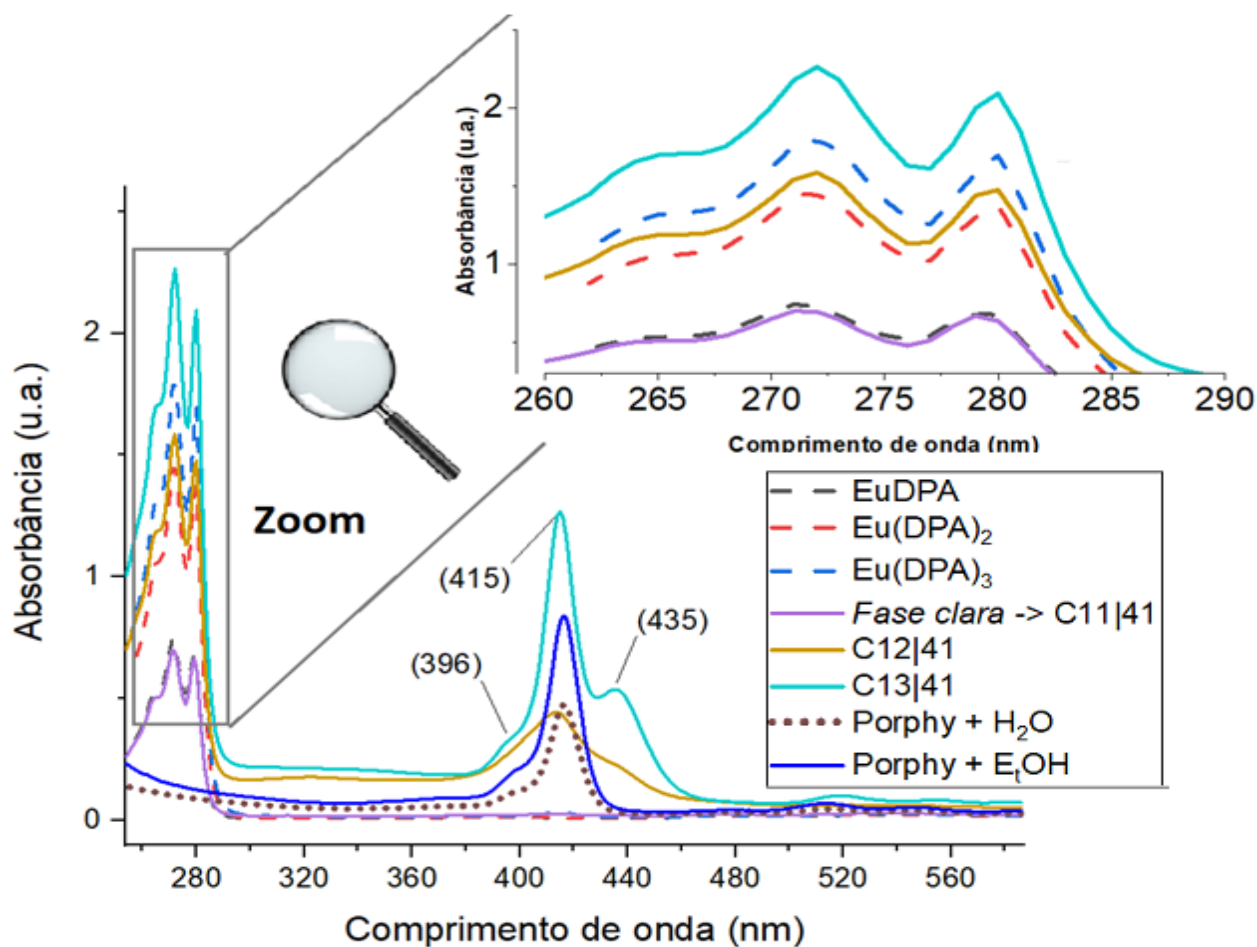
Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Nos sistemas $\text{Eu(DPA)}_2\text{-Porphyrin}$ e $\text{Eu(DPA)}_3\text{-Porphyrin}$ formou-se uma solução/dispersão visualmente homogênea, em que verificou-se uma leve diminuição do pH da solução durante a adição da porfirina, porém dentro do intervalo de interesse (pH entre 5 e 9). No caso do sistema Eu(DPA)-Porphyrin , além do aparecimento de duas fases identificáveis visualmente, houve uma queda brusca do pH de 7,6 para 4,5, e que mesmo após a correção do pH para o intervalo entre 5 e 9 com adição da base (NaOH 0,01 mol/L), e alteração da polaridade da solução pela adição de etanol (solvente que dissolve a porfirina), observou-se que não houve solubilização do precipitado, levantando-se a hipótese de que o aglomerado consiste na formação de uma ligação peptídica entre as extremidades das carboxilas de uma porfirina com o anel central de outra (DIETZEN, 2018) em que o íon Eu(III) possa estar atuando como catalisador. O aglomerado é desestabilizado quando o pH da solução fica acima de 12, ocorrendo solubilização.

5.3.1.1 - Caracterização por espectroscopia de absorção

As concentrações das amostras foram todas ajustadas para 0,5 mmol/L em relação ao íon Eu(III), sendo a concentração das soluções contendo apenas porfirina para concentração 0,125 mmol/L para corresponder a mesma quantidade de porfirina obtida nos sistemas, cuja proporção molar complexo e porfirina é 4:1 respectivamente. A amostra Eu(DPA)-Porphy foi separada em “fase-clara”, que corresponde a parte incolor, e em “fase-escura”, que corresponde ao corpo de fundo depositado, para serem realizadas as análises. A partir da solução estoque de porfirina 10 mmol/L preparada no “método D”, preparou-se duas soluções de porfirina com concentração 0,125 mmol/L, sendo uma diluída em água e outra diluída etanol para fins comparativos sobre a intensidade de absorção. Os espectros obtidos no experimento podem ser observados no Gráfico 8.

Gráfico 8 – Espectros de absorção das soluções 0,5 mmol/L dos complexos Eu(III) e DPA nas proporções 1:1, 1:2 e 1:3 (linhas tracejadas) e das soluções com os sistemas Eu(DPA)_{1,2 e 3}-Porphy e suas respectivas proporções molares (linhas contínuas roxo, bege e verde, concentrações 0,5 mmol/L) e da porfirina em água (linha pontilhada marrom, concentração 0,125 mmol/L) e em etanol (linha contínua azul, concentração 0,125 mmol/L).



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Os dados foram obtidos em triplicata e possuem diferença estatisticamente significativa em relação ao maior pico de intensidade do DPA segundo a distribuição t-Student com 95% confiança.

A partir do gráfico, observa-se que a intensidade de absorção da porfirina depende da concentração, uma vez que a porfirina é menos solúvel em água, portanto a solubilidade depende da polaridade do solvente, entretanto, a mudança do solvente não provocou alteração no perfil espectral de absorção.

Para a amostra C11|41, a partir do perfil espectral, pode-se concluir que a “fase clara” não contém porfirina, logo não há coordenação para esse sistema. Outra informação relevante referente a esse sistema é que não foi possível obter um sinal com resolução adequada para a “fase escura” em função da baixa transmitância da solução obtida.

Sobre os outros sistemas, a hipótese sobre a interação da porfirina ao íon Eu(III) é evidenciado no espectro de absorção da porfirina entre 380 e 480 nm, em que nota-se o surgimento de uma nova banda em 435 nm nos espectros das amostras C12|41 e C13|41. Entretanto, o máximo de absorção e o perfil espectral desses sistemas manteve equivalente ao da porfirina livre (413 nm), sugerindo que a coordenação ou interação ocorre pelos grupos carboxilatos. Outro ponto relevante ocorre que a amostra C13|41 apresenta intensidade de absorção superior inclusive em relação à porfirina dissolvida em álcool (linha contínua azul), algo que não era esperado, pois na estrutura $\text{Eu}(\text{DPA})_3$ o íon possui coordenação completa e, portanto, não era esperado interação com a porfirina. Outro ponto relevante é que, ao adicionar etanol aos sistemas C12|41 e C13|41, observou-se o desaparecimento da banda em 435 nm, e aumento na intensidade da banda em 413 nm, mantendo-se o mesmo perfil espectral para ambos. Este efeito solvatocrômico sugere que a interação da porfirina com o complexo ocorre parcialmente, sendo reduzida com a inserção de um solvente menos polar.

5.3.1.2 - Caracterização por espectroscopia de luminescência

As medidas que resultaram nos espectros de emissão, excitação e tempo de vida foram realizadas no mesmo dia com todas as amostras contendo a mesma concentração (0,5 mmol/L em relação ao íon európio).

a) Análise do tempo de vida

O tempo de vida é o tempo necessário para que a intensidade da emissão de uma amostra, para um dado comprimento de onda, decaia $1/e$, sendo “e” o algarismo neperiano, e o tempo dado em ms. Todas as curvas de decaimento puderam ser ajustadas por uma curva monoexponencial, o que reforça a presença de um único sítio ativo em relação ao íon Eu(III). Os estados emissores da porfirina possuem tempos de vida desprezíveis em relação ao íon Eu(III) por possuírem diversos estados eletrônicos com transições permitidas por spin, transição dipolo-dipolo, que conferem um tempo de vida na ordem de nanossegundos, algo que não é válido para íons lantanídeos, devido as transições entre os orbitais 4f serem proibidas e da blindagem que os elétrons 4f sofrem por serem mais internos espacialmente. Tais restrições reduzem a taxa de decaimento (radiativo e não radiativo) para o íon Eu(III) no estado excitado e produzem consequentemente o aumento no tempo de vida, chegando na ordem de milissegundos. Os dados podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3 – Tempo de vida de emissão do nível 5D_0 do Eu(III), obtido em cada amostra das sínteses Eu(DPA)_{1,2 e 3} e pelo “Método C”.

Amostra	Tempo de vida (ms)
Eu(DPA)	0,21
Eu(DPA) ₂	0,56
Eu(DPA) ₃	1,48
Fase clara C11 41	0,24
C12 41	1,16
C13 41	1,38

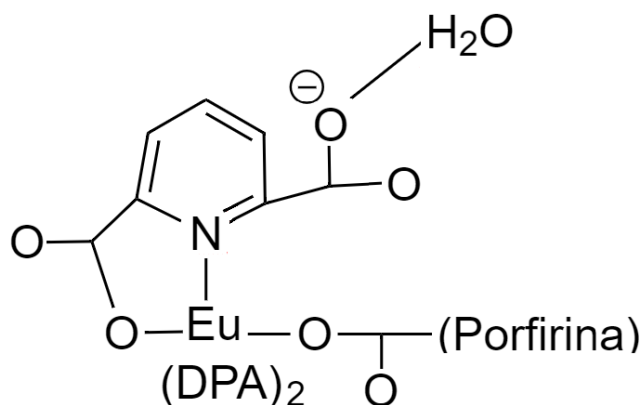
Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Ao comparar o tempo de vida das amostras Eu(DPA) e “Fase clara C11|41”, observa-se que a alteração no tempo de vida não é significativa, indicando que os complexos são equivalentes. Entretanto, ao comparar as amostras Eu(DPA)₂ e C12|41, observa-se uma elevação do tempo de vida muito significativa, aumento de 207%, corroborando a hipótese de substituição das moléculas de água pela carboxila da porfirina na esfera interna de coordenação do metal. Na comparação entre Eu(DPA)₃ e C13|41, observa-se que após a reação ocorreu uma redução percentual no tempo de vida de emissão em 6,17%, uma hipótese para explicar esse resultado consiste na reação de substituição da coordenação de uma carboxila do DPA por outra

da porfirina, dessa forma a carga em excesso do DPA iria ser estabilizada com as moléculas de água presentes no meio conforme demonstra no Gráfico 9.

Gráfico 9 – Representação da hipótese sobre a coordenação do C13|41



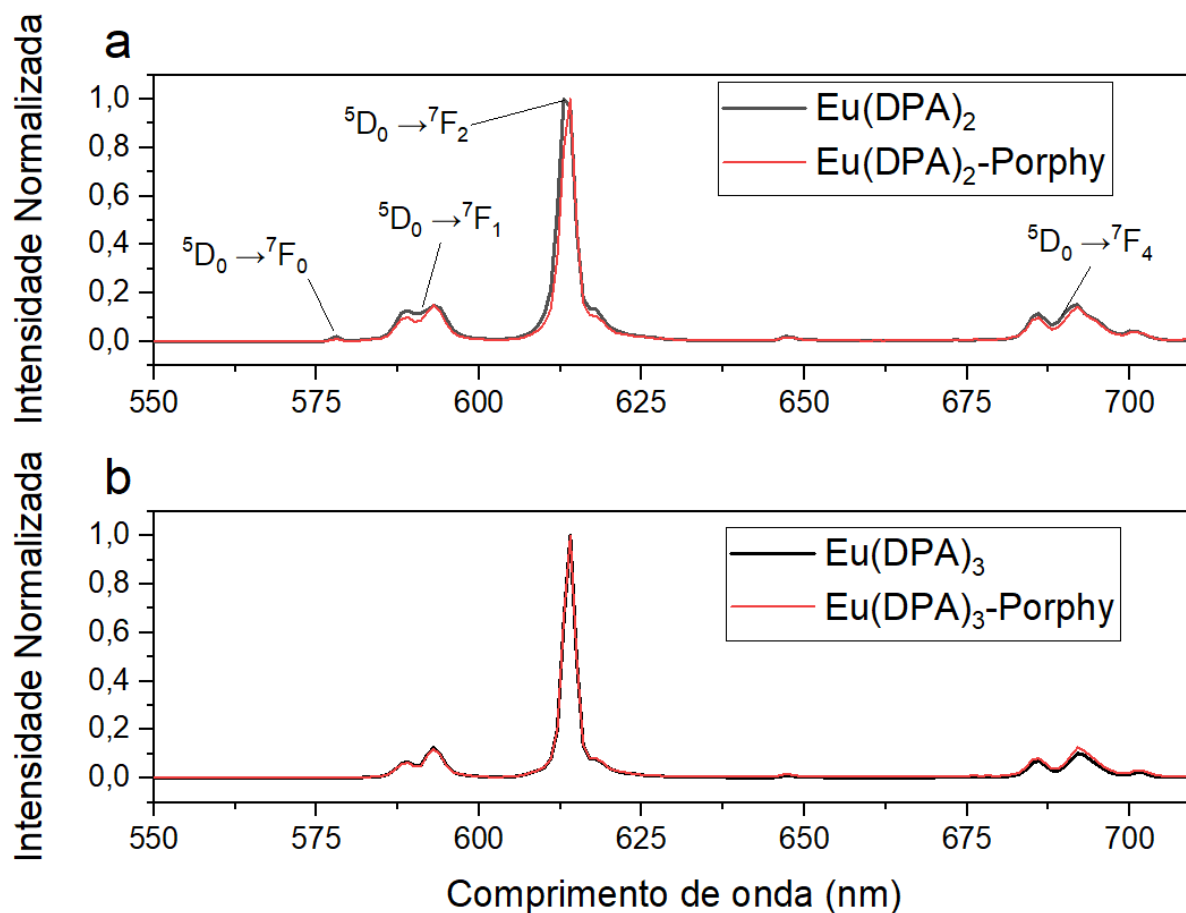
Fonte: O autor (2022)

b) Avaliação dos espectros de emissão e excitação

Durante a aquisição dos espectros de emissão excitando-se nas bandas da porfirina (413 nm) e na banda do DPA (285 nm), assim como na aquisição dos espectros de excitação monitorando-se as emissões nas bandas do íon Eu(III) (615 nm) e na banda da porfirina (650 nm), não foi constatado alteração significativa no perfil espectral das amostras C12|41 e C13|41 em relação aos espectros dos complexos Eu(DPA)₂ e Eu(DPA)₃ assim como em relação à porfirina sem a presença dos complexos. Não há evidência de transferência de energia, pois ao excitar as amostras C12|41 e C13|41 em 413 nm, não foram observadas as linhas espectrais referente ao íon Eu(III) apenas a banda estruturada da porfirina, assim como ao excitar em 285 nm, observou-se apenas as linhas espectrais do íon do metal.

Para investigar mudanças no perfil espectral do íon Eu(III) complexado ao DPA, antes e após a inserção da porfirina para essas amostras, excitou-se ambas em 285 nm. Os valores obtidos foram normalizados segundo o pico de maior emissão (⁵D₀ → ⁷F₂) no intervalo de 550 a 710 nm conforme pode ser observado no Gráfico 10.

Gráfico 10 – Espectros de emissão excitando-se em 285 nm das amostras: a) $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ e $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ -Porphy (C12|41); b) $\text{Eu}(\text{DPA})_3$ e $\text{Eu}(\text{DPA})_3$ -Porphy (C13|41)



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

A partir dos dados obtidos, avaliou-se mudanças relativas entre as razões das intensidades integradas de cada espectro referente às bandas de emissão do íon $\text{Eu}(\text{III})$. Dos resultados obtidos, destacam-se as razões entre as intensidades das transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, e também as razões entre as transições $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ e $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, das quais produziram alterações significativas conforme consta na Tabela 4.

Tabela 4 – Comparação relativa entre as integrais referentes as bandas de emissão do íon $\text{Eu}(\text{III})$ para as amostras $\text{Eu}(\text{DPA})_2$, C12|41, $\text{Eu}(\text{DPA})_3$ e C13|41

Amostra	$\frac{^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2}{^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1}$	$\frac{^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_4}{^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1}$	$\frac{^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0}{^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1}$
$\text{Eu}(\text{DPA})_2$	1,316	3,419	0,033
C12 41	1,410	3,547	0,024

Eu(DPA) ₃	1,285	4,126	0,011
C13 41	1,737	4,374	0,011

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

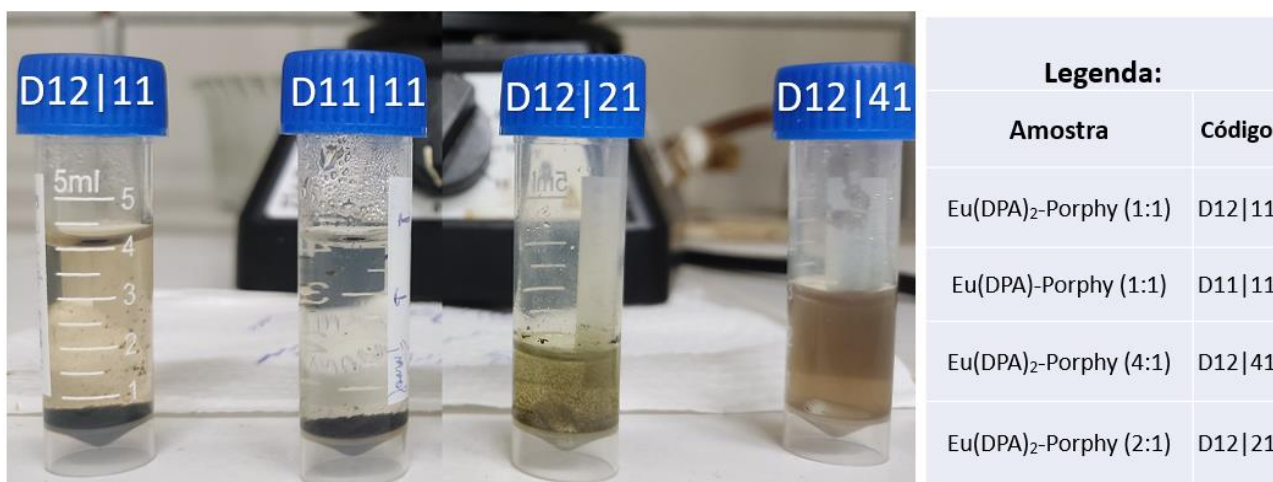
Pode-se inferir, a partir da Tabela 4, o aumento da simetria do sistema C12|41 em relação ao Eu(DPA)₂, observado principalmente pela redução da razão ($^5D_0 \rightarrow ^7F_0$)/($^5D_0 \rightarrow ^7F_1$), hipótese esperada pela substituição das moléculas de água na esfera interna de coordenação. Outro indício de interação ocorre ao comparar as integrais ($^5D_0 \rightarrow ^7F_2$)/($^5D_0 \rightarrow ^7F_1$) e ($^5D_0 \rightarrow ^7F_4$)/($^5D_0 \rightarrow ^7F_1$) entre as amostras C13|41 e Eu(DPA)₃ no qual apresentam uma diferença significativa.

Para todos os sistemas mencionados nessa seção, pode-se notar que possuem estabilidade em meio aquoso, pois as propriedades luminescentes dos materiais foram conservadas mesmo após meses da síntese.

5.3.2 – Investigação com base nas sínteses produzidas pelo “Método D”.

Os produtos obtidos das sínteses descritas na seção 5.2.3.2 podem ser observados no Gráfico 11, na qual também consta uma legenda para identificar as amostras, assim como a respectiva proporção molar sintetizada.

Gráfico 11 – Fotografia das amostras obtidas pelo método de diluição a partir de soluções estoque de porfirina 10 mmol/L e Eu(DPA)_{1 ou 2} 10 mmol/L.



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Das soluções resultantes, apenas D12|41 apresentou características visuais de uma solução homogênea, as demais apresentaram corpo de fundo e sobrenadante. As amostras que apresentaram corpo de fundo foram separadas em “fase clara” (sobrenadante incolor), e “fase escura” (corpo de fundo). As amostras sintetizadas tiveram suas concentrações ajustadas para 0,5 mmol/L em relação ao íon Eu(III) através de uma diluição com água, sendo posteriormente submetidas às análises fotofísicas, das quais extraíram-se os espectros de excitação e de emissão, assim como o tempo de vida de emissão.

5.3.2.1 – Análise por espectroscopia luminescência

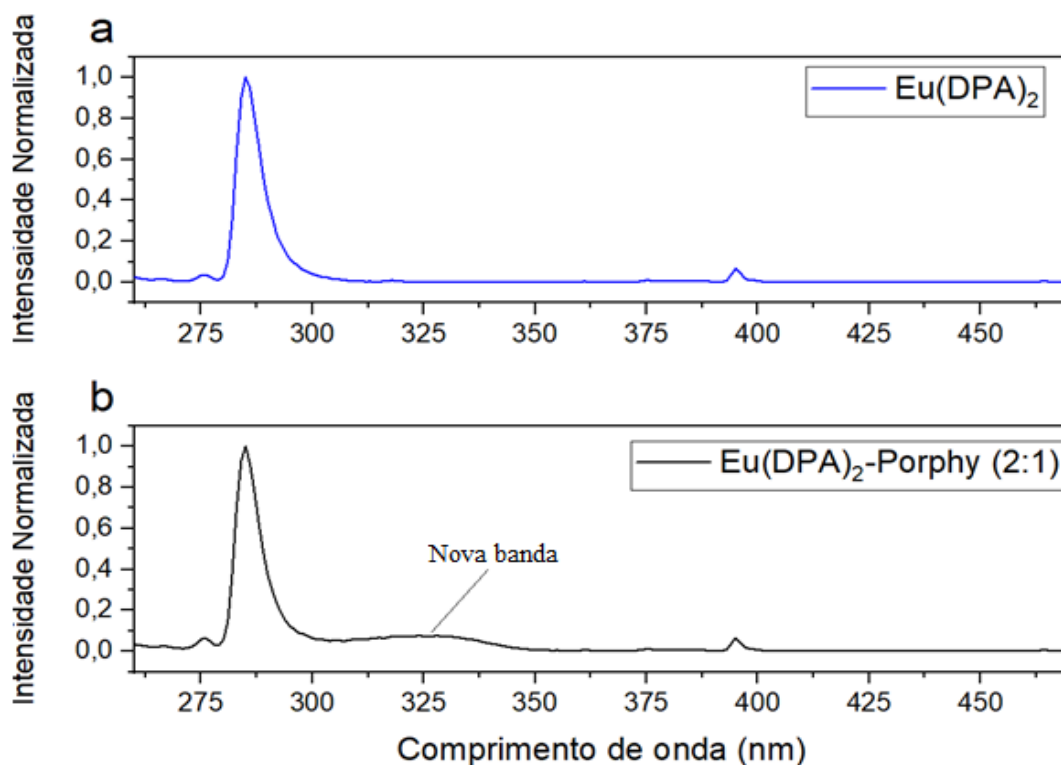
Para a amostra D12|11, houve alteração no pH após a mistura das soluções, passando para pH entre 4 e 5, e não ocorreu solubilização da amostra quando a correção do pH ficou no intervalo entre 5 e 9, apenas em pH superior a esta faixa. Ao investigar a “fase clara”, esta apresentou indícios de interação entre Eu(III) e porfirina, pois foi obtido um tempo de vida igual a 0,98 ms, valor que é superior ao obtido por Eu(DPA)₂, a saber, 0,56 ms, o que sugere a substituição de água por carboxilato. Nessa mesma amostra, observou-se que ao monitorar o espectro de emissão excitando-se a amostra em 285 nm, houve apenas emissão do íon Eu(III), assim como ao monitorar o espectro de emissão com excitação em 413 nm (banda de absorção de maior intensidade da porfirina), observou-se apenas linhas espectrais referentes a porfirina. Já ao investigar a “fase escura” para a amostra D12|11, não foi possível obter o tempo de vida de emissão devido à baixa concentração de Eu(III), também não foi possível observar espectros de emissão com boa resolução e intensidade ao excitar a amostra em 285 nm ou em 413 nm, sugerindo que um novo material foi obtido com propriedades fotofísicas distintas do complexo Eu-DPA e da porfirina, provavelmente um agregado somente de porfirina, semelhante a amostra Eu(DPA)-Porph (proporção molar 4:1) obtido pela “Método C”..

Para a amostra D11|11, após misturar as soluções, a formação de fase acompanhou a queda no pH de 7 para 4,5, e mesmo após a correção do pH para 7,5 com uma base (NaOH 0,01 mol/L), não houve solubilização da amostra, a solubilização ocorreu em pH >9, comportamento semelhante ao obtido pela amostra C11|41 pela “Metodologia C”. Tanto na “fase clara” como na “fase escura” não houve alteração significativa no tempo de vida de emissão em relação a referência Eu(DPA). Monitorando-se os espectros de emissão da “fase clara” (excitando-se em 285 e 413 nm), não foi observado a emissão da porfirina. Ao investigar a “fase escura”, não foi observado sinais nos espectros de emissão, com excitações em 285 e 413 nm com resoluções e intensidades adequadas. Tais resultados sugerem que não ocorreu coordenação ou formação de

uma interação estável entre Eu(DPA) e a porfirina independentemente da concentração, apesar do complexo possuir carga compatível (+1) com as extremidades da porfirina (-1).

Para a amostra D12|21 houve alteração no pH para aproximadamente 5, e a solubilização do aglomerado ocorreu em $\text{pH} > 9$, ao avaliar a “fase clara” observou-se uma diminuição no tempo de vida de emissão para 0,39 ms em relação ao Eu(DPA)_2 (0,56 ms), assim como ao obter o espectro de emissão com excitação em 285 nm, não foi observado emissão da porfirina. O espectro de emissão com excitação em 413 nm, apresentou baixa intensidade, porém, com um perfil espectral contendo a banda estruturada da porfirina, assim como a emissão do íon Eu(III) referente a emissão $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ com baixa intensidade dando um indicativo de transferência de energia da porfirina para o complexo; Já ao investigar a “fase escura”, a amostra apresentou comportamento semelhante da “fase clara” no tempo de vida de emissão referente ao íon Eu(III) igual a 0,43 ms, por outro lado, no espectro de emissão com excitação em 285 nm, observou-se apenas as linhas espectrais do íon Eu(III) evidenciando que não ocorre transferência de energia nessa fase. Outro ponto interessante para amostra D12|21 é que tanto na “fase clara”, como na “fase escura”, observou-se uma nova banda entre 310 e 350 nm, no espectro de excitação fixando-se a emissão em 615 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$). Esta banda com este perfil descrito não estava presente no espectro do Eu(DPA)_2 , conforme pode ser observado no Gráfico 12.

Gráfico 12 – Representação da nova banda no espectro de excitação monitorando-se a emissão em 615 nm, sendo em: a) Espectro da referência $\text{Eu}(\text{DPA})_2$; b) $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ -Porphy (2:1) (D12|21).



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

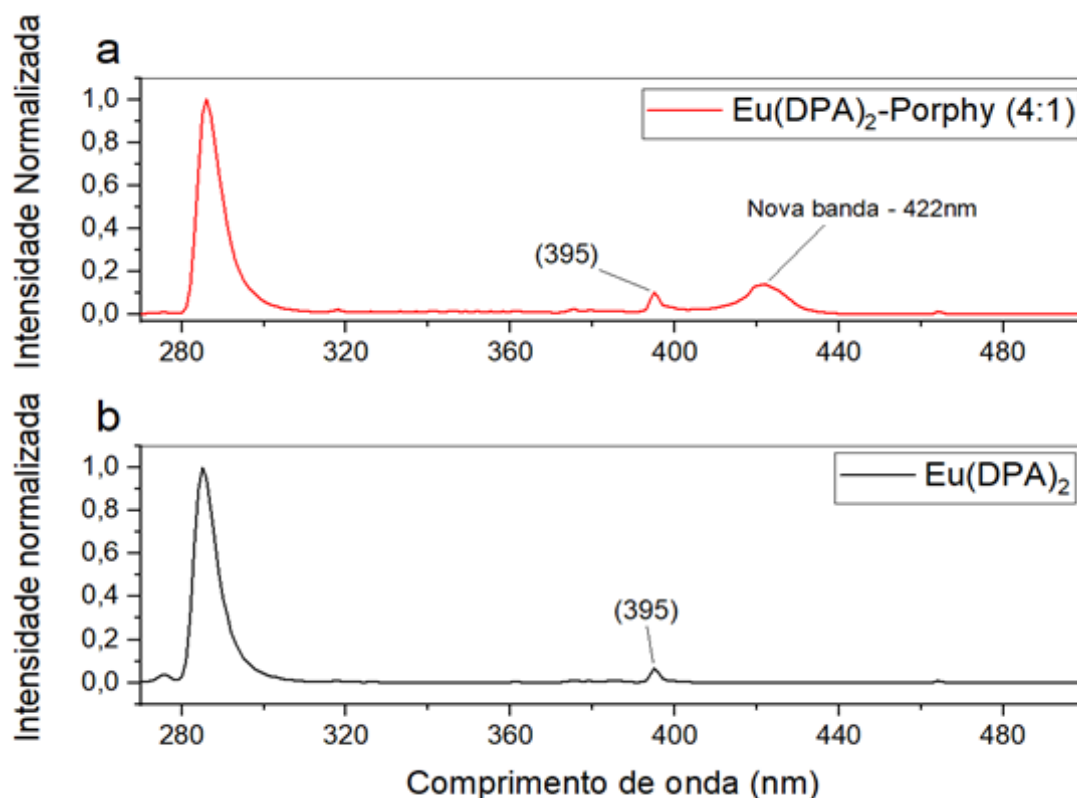
A nova banda em 325 nm, que está ausente no espectro de excitação do complexo $\text{Eu}(\text{DPA})_2$, sugere que a uma transferência de energia do complexo $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ e a porfirina.

A partir dos resultados obtidos pelas amostras D12|21 e D12|11, é possível que a interação que ocorre no sobrenadante aconteceu com uma parcela da porfirina, e que ao comparar ambas com a amostra D12|41 (que não formou corpo de fundo), pode-se notar a existência da dependência de coordenação em função da proporção molar 4:1 de complexo e porfirina respectivamente. No sistema D12|21, constatou-se que a coordenação com as moléculas de água do complexo nesse sistema pode ser superior inclusive ao da referência $\text{Eu}(\text{DPA})_2(\text{H}_2\text{O})_3$, pois ocorreu uma redução no tempo de vida, sendo igual a 0,48 ms na amostra D12|21 e 0,56 ms na referência.

Para a amostra D12|41, não houve alteração no pH após a mistura das soluções. Na solução visualmente homogênea obtida com proporção molar 4:1 de $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ e porfirina, respectivamente, o tempo de vida de emissão obtido (0,52 ms) foi muito semelhante ao do complexo $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ (0,56 ms). Entretanto, no espectro de excitação monitorando a emissão em 613 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$), observou-se o aparecimento de uma nova banda em 422 nm, assim

como um aumento na banda associada à transição ${}^7F_0 \rightarrow {}^5L_6$ do íon Eu(III), em 395 nm, conforme pode ser observado no Gráfico 13 e comparado ao espectro do complexo Eu(DPA)₂ no Gráfico 12.a.

Gráfico 13 – Espectro de excitação monitorado a emissão em 615 nm (${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$) de: a) amostra D12|41; b) amostra Eu(DPA)₂

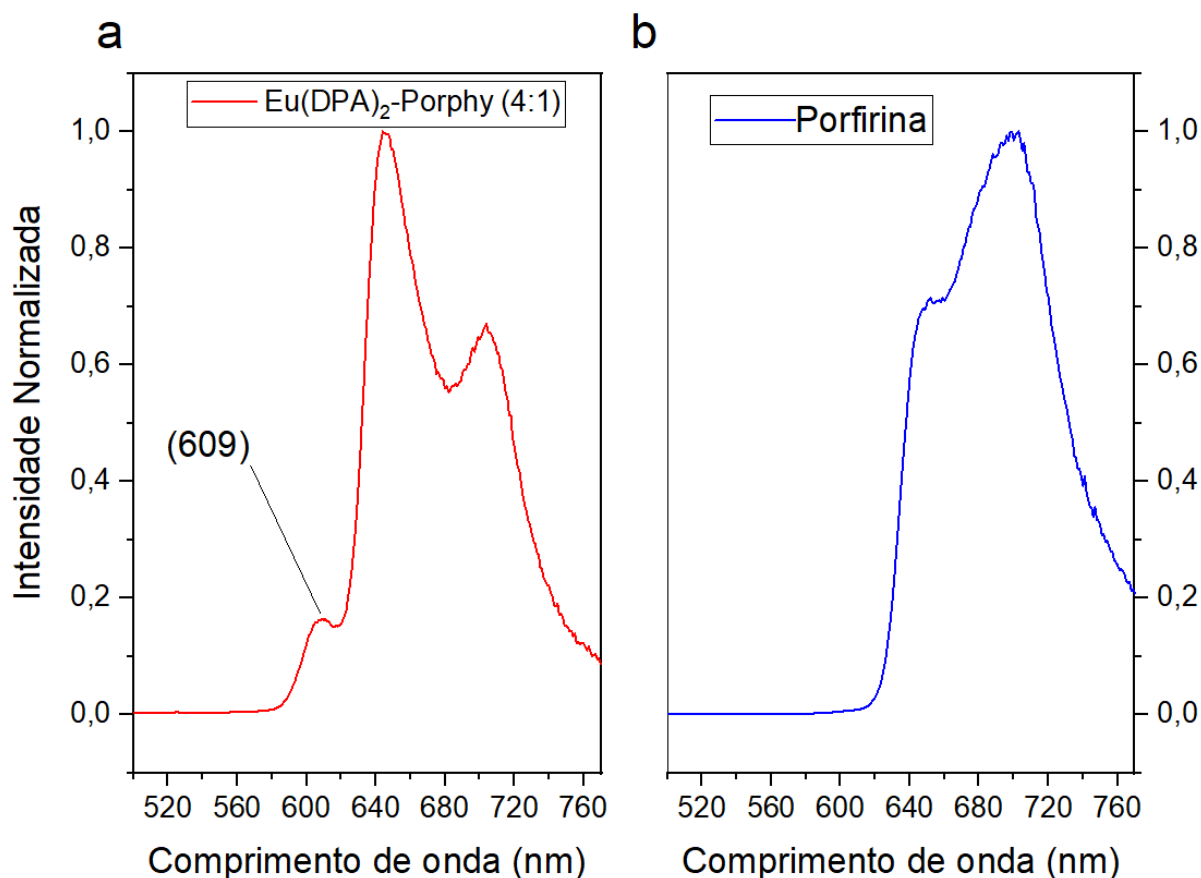


Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Para esse sistema, há indícios de interação do metal com o(s) carboxilato(s) da porfirina, e que ocorre a transferência de energia do metal para a porfirina. Este comportamento é semelhante ao observado em D12|21 porém a nova banda ocorreu em 325 nm, na qual tem maior proximidade com as bandas de excitação do DPA. Para investigar a nova banda, obteve-se o espectro de emissão com excitação em 422 nm. Nele, observou-se o surgimento de uma nova banda em 609 nm que é próxima da transição do metal ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$, e esta banda não está presente no espectro de emissão da porfirina dissolvida em água com esta mesma excitação, podendo inferir a partir do espectro que também há transferência de energia da porfirina para o metal. Os espectros de emissão da porfirina e da amostra D12|41 com excitação em 422 nm, estão apresentados no Gráfico 14.

Gráfico 14 – Espectros de emissão excitando-se as amostras em 422 nm, sendo: a) Amostra Eu(DPA)₂-Porphy (4:1) (D12|41); b) Porfirina dissolvida em água



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

O mesmo perfil espectral observado no Gráfico 14.a, também foi observado no espectro de emissão com excitação da porfirina em 413 nm, porém a nova banda em 609 nm tem menor intensidade. O espectro obtido na Gráfico 14.b, meio aquoso, é uma mistura entre as emissões produzidas excitando-se a porfirina isolada em 413 e 435 nm conforme mencionado previamente, e que este perfil de mistura pode estar associado a instabilidade da porfirina em meio aquoso, uma vez que, ao obter o espectro de emissão da porfirina dissolvida em etanol excitando-se em 422 nm e em diferentes comprimentos de onda (395, 413, 511 nm, entre outros), observou-se a ocorrência de um único perfil espectral, sendo uma banda estruturada com dois picos, o mesmo perfil identificado no Gráfico 3 excitando-se a amostra em 396 e 413 nm.

Ao caracterizar a amostra D12|41 por espectroscopia de absorção UV-VIS, a amostra não apresentou alteração em relação ao perfil espectral de C12|41 relatado no Gráfico 8 para a

metodologia C. Contudo, a banda de absorção referente ao DPA (285 nm) apresentou maior intensidade e a banda da porfirina (413 nm), uma redução acentuada na intensidade, se comparada com a amostra relatada no Gráfico 8. Os espectros de emissão e excitação obtidos para a amostra D12|41 apresentaram boa resolução e intensidade do sinal, reforçando a hipótese de que dentre as amostras produzidas pelo “Método D”, a amostra D12|41 forma a estrutura mais estável, além de ser a única com aspecto homogêneo.

Ao comparar as amostras D12|41 e C12|41, observou-se que pelo “Método C”, em que a porfirina é adicionada com maior concentração em relação a metodologia D, que o tipo de interação do complexo com a porfirina depende da concentração que a porfirina é adicionada, pois para a amostra C12|41 foi observado uma elevação significativa no tempo de vida (207%) enquanto para amostra D12|41 não houve alteração. Já ao comparar os espectros de emissão e excitação, não foi observado alterações significativas no perfil espectral para a amostra C12|41 enquanto para a amostra D12|41 as alterações que indicam transferência de energia a partir do perfil espectral foram mais evidentes.

Pode-se inferir também a partir das sínteses produzidas pela metodologia diluída (D11|11) e concentrada (C11|41), que para o complexo Eu(DPA)-Porphyrin a interação não é significativa, não sendo produzida alteração no tempo de vida nem no perfil espectral das emissões e excitações das amostras. Outra informação que pode-se inferir é que a formação de fase (aglomerado contendo porfirina) nas soluções é acompanhado pela queda no pH, e que a interação entre o complexo Eu(DPA)₂ e porfirina ocorre de maneira parcial quando a respectiva proporção molar é diferente de 4:1. O resumo das observações relatadas pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5 – Resumo das alterações observadas pelas amostras produzidas pelas metodologias C e D.

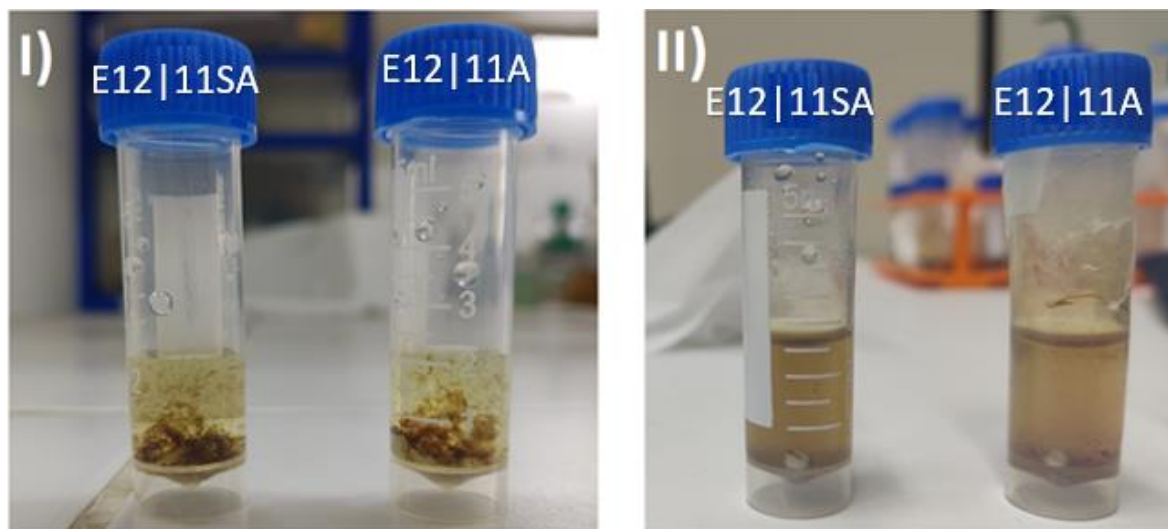
Amostra	Alteração significativa no tempo de vida de emissão	Evidencia de transferência de energia entre porfirina e o complexo a partir dos espectros de emissão e excitação
C11 41	não	não
C12 41	sim	não
C13 41	sim	não
D11 11	não	não
D12 11	sim	não
D12 21	sim	sim
D12 41	não	sim

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

5.3.3 Investigação da síntese pela Metodologia E para Eu-Porphy-(DPA)₂

As soluções em estoque possuíam pH próximo de 7, após a adição da porfirina no metal, em ambos os sistemas (com e sem aquecimento), após 24 horas constatou-se uma queda no pH para aproximadamente 5 em ambas as soluções conforme ocorreu nas sínteses C11|41 e D11|11. Após a adição do DPA, constatou-se que não houve alteração no pH, e que tanto no E12|11SA (sem aquecimento) quanto no sistema E12|11A (com aquecimento), resultaram em soluções aparentemente homogêneas como consta no Gráfico 15.II.

Gráfico 15 – Imagens das soluções resultantes da “síntese de ordem trocada”, sendo: I) sistemas E12|11SA e E12|11A após 24 horas e sem adição do DPA; II) sistemas E12|11SA e E12|11A ao final da síntese.



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Para as amostras produzidas nessa etapa, era esperado a formação do sistema Eu(DPA)₂-Porphy, com proporção molar 1:1 respectivamente. Tal sistema é equivalente ao que resultou na amostra “D12|11” pelo “método D”, porém alterando-se a ordem de inserção dos ligantes. Todavia, em D12|11 ocorreu formação de fase e nesse sistema não, sendo possível inferir que há diferenças significativas sobre as estruturas ou interação produzida entre esses sistemas.

5.3.3.1 – Espectroscopia de luminescência

As amostras foram analisadas com a mesma concentração dos experimentos anteriores: 0,5 mmol/L em relação ao íon Eu(III). Os resultados produzidos pelos sistemas E12|11SA e E12|11A foram equivalentes, mostrando que o aquecimento da amostra E12|11A em 60 °C não

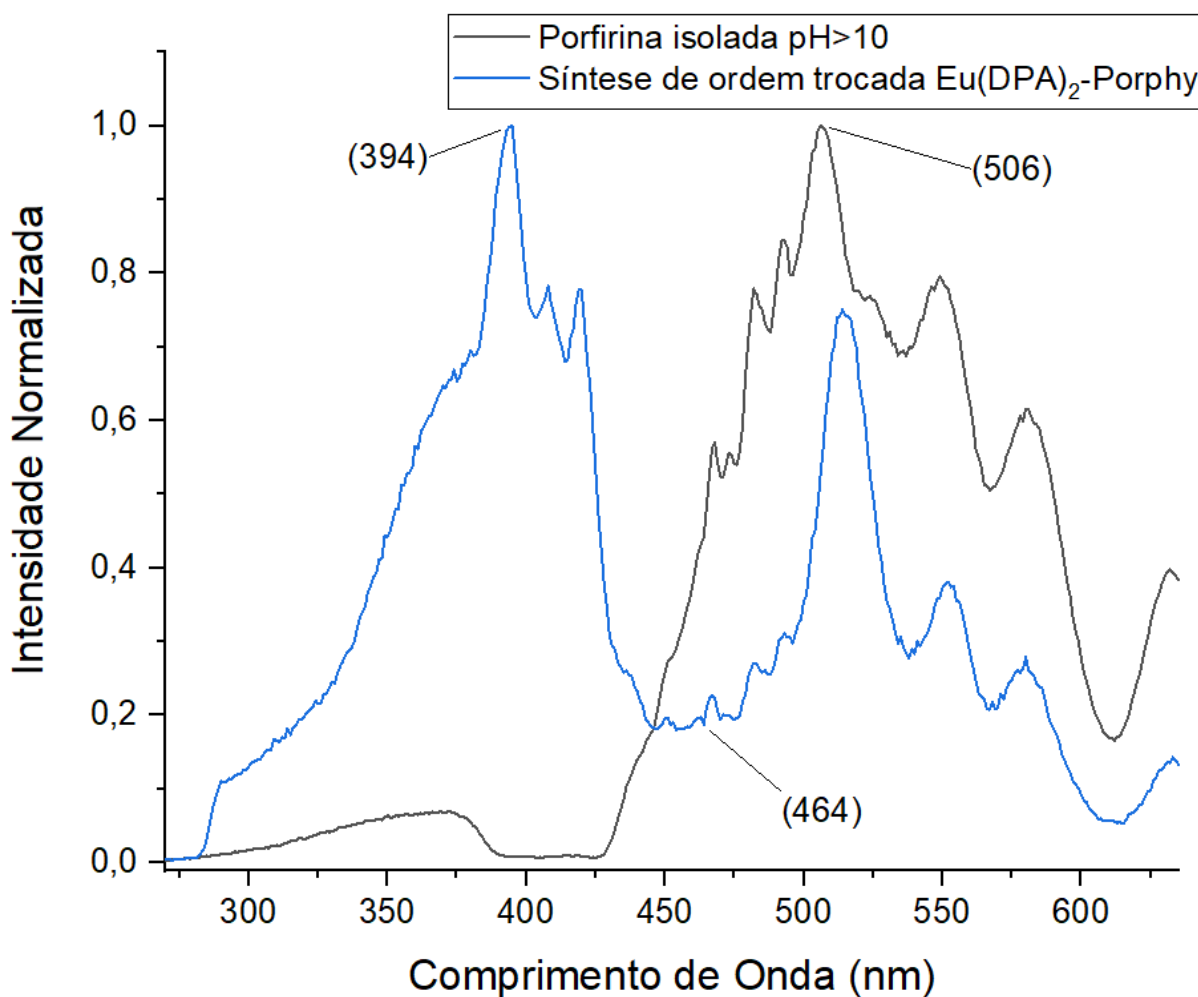
resulta em uma diferença significativa na propriedade luminescente do material final. Antes da adição do DPA, ambos os sistemas contendo porfirina e o metal eram instáveis pois apresentaram sinais ruidosos e de baixa intensidade, considerando que os parâmetros de operação (largura das fendas, tempo de integração do sinal, entre outros) foram mantidos fixos neste trabalho e além das amostras apresentarem duas fases. Como não foi possível identificar as linhas de emissão do íon Eu(III) ao excitar a amostra em 395 nm (banda de absorção do metal), não foi possível coletar o tempo de vida da amostra, uma vez que os estados excitados do íon Eu(III) não estavam sendo populados. Após a adição do DPA, notou-se uma estabilização do sistema refletindo em espectros com boa resolução e intensidade para os mesmos parâmetros de operação, assim como mudanças significativas no perfil espectral. Os tempos de vida obtidos para os sistemas E12|11SA e E12|11A foram 1,14 e 1,15 ms, respectivamente, para um ajuste monoexponencial, indicando uma coordenação do metal com a porfirina, pois o complexo $[\text{Eu}(\text{DPA})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ apresenta tempo de vida igual à 0,56 ms para a mesma concentração. Entretanto, não é possível inferir a partir desses dados se a coordenação ocorreu a partir das extremidades ou na região central do íon porfirinato.

Nos espectros de emissão dos sistemas excitando-se as amostras em 289 nm, observou-se linhas espectrais do íon Eu(III), porém sem a presença da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$, identificando que os sistemas formados possuem elevada simetria (BINNEMANS, 2015). O espectro de excitação, fixando-se a emissão em 615 nm ($^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, do íon Eu(III)), apresentou perfil espectral equivalente ao obtido para amostra D12|21 ($\text{Eu}(\text{DPA})_2\text{-Porphy}$, proporção molar 2:1) no Gráfico 12.b, em que se observa a nova banda em 325 nm, sugerindo a transferência de energia da porfirina para o complexo, porém a proximidade com as bandas de excitação do DPA em 285 nm inferem sobre a hipótese que a transferência de energia ocorre da porfirina para o DPA, e posteriormente para o metal.

O espectro de excitação monitorado a banda em 650 nm da porfirina (Gráfico 16), apresentou mudanças significativas em relação à porfirina em água. Uma vez que, houve desprotonação dos hidrogênios centrais evidenciados pela queda no pH, este comportamento possibilita a interação entre as extremidades de uma porfirina com o anel central de outra, dessa forma era esperado a aquisição de um espectro semelhante ao apresentado no Gráfico 6 (solução aquosa de porfirina com $\text{pH} > 10$). Entretanto, o espectro obtido apresentou diferenças, pois notou-se o surgimento de uma nova banda estruturada com boa intensidade entre 290 e 430 nm. Observou-se ainda o deslocamento da banda de excitação da porfirina de 506 para 514 nm, além da diferença no comprimento de onda máximo de excitação, pois na porfirina isolada com

pH > 10, isto ocorre em 506 nm e passou a ser em 394 nm nesse novo sistema. Essas observações podem ser visualizadas no Gráfico 16.

Gráfico 16 – Espectro de excitação do sistema E12|11SA da síntese de “ordem invertida”, monitorando-se a emissão em 650 nm.



Fonte: O autor (2022)

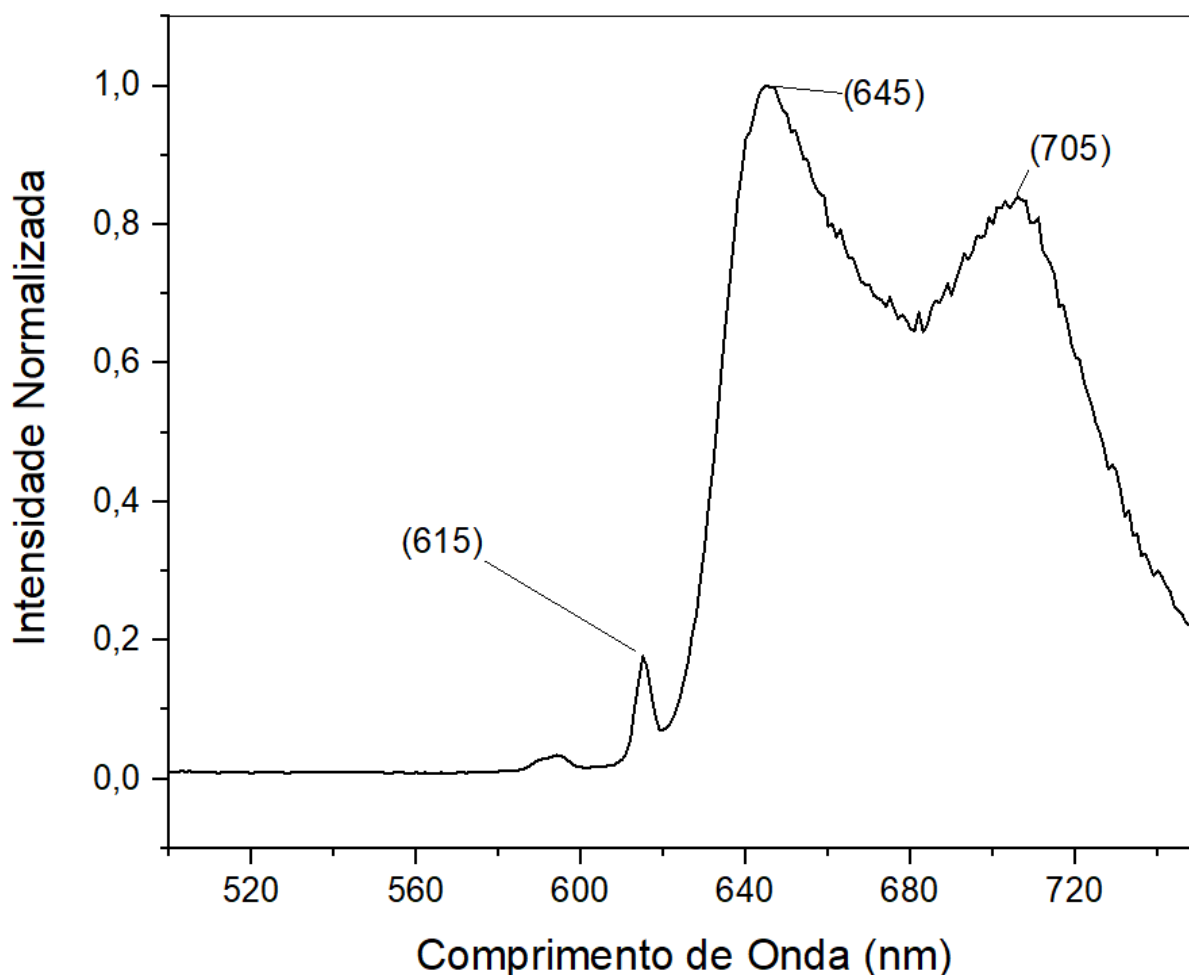
Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

O espectro acima no qual aparecem as bandas do complexo com grande intensidade, evidencia um fluxo de energia do complexo Eu-DPA para a porfirina, reforçando a hipótese de coordenação. O máximo de excitação para o novo sistema em 394 nm dá indícios de interação, entretanto, tanto a porfirina como o íon Eu(III) possuem bandas de absorção nesse comprimento de onda, restringindo essa análise para parâmetros qualitativos.

No espectro de emissão, excitando-se a amostra entre 320 e 464 nm, foi observada a ocorrência simultânea da emissão de estados da porfirina (650 e 703 nm) e do metal (590 e 609

nm) com boa intensidade e resolução espectral, algo que não foi observado em nenhuma das sínteses anteriormente mencionadas. Sob excitação em 340, 394 e 464 nm, as bandas referentes às transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ (609 nm) e $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ (590 nm) além das bandas da porfirina foram observadas, conforme pode ser visualizado no Gráfico 17. Por sua vez, as bandas de excitação em 464 e 394 nm do Gráfico 16 são pouco conclusivas no que tange a coordenação, pois também estão presentes nos espectro de excitação monitorando-se a emissão em 615 nm da amostra $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ (Apêndice Gráfico 21).

Gráfico 17 – Espectro de emissão da metodologia E, síntese de “ordem invertida”, da amostra E12|11SA, excitando-se a amostra em 394 nm.



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

As bandas de excitação entre 400 e 430 nm apresentaram o mesmo perfil espectral do Gráfico 14.a, com o surgimento de uma nova banda em 609 nm. No Gráfico 16, pode-se notar as semelhanças entre o perfil espectral da porfirina com $\text{pH} > 10$ e do sistema obtido pela

metodologia E a partir de 450 nm, que pode indicar a desprotonação dos hidrogênios presentes no anel central. Posteriormente, ao excitar a amostra em comprimentos de onda superiores a 464 nm, os espectros de emissão obtidos não apresentaram nenhum sinal referente ao íon Eu(III).

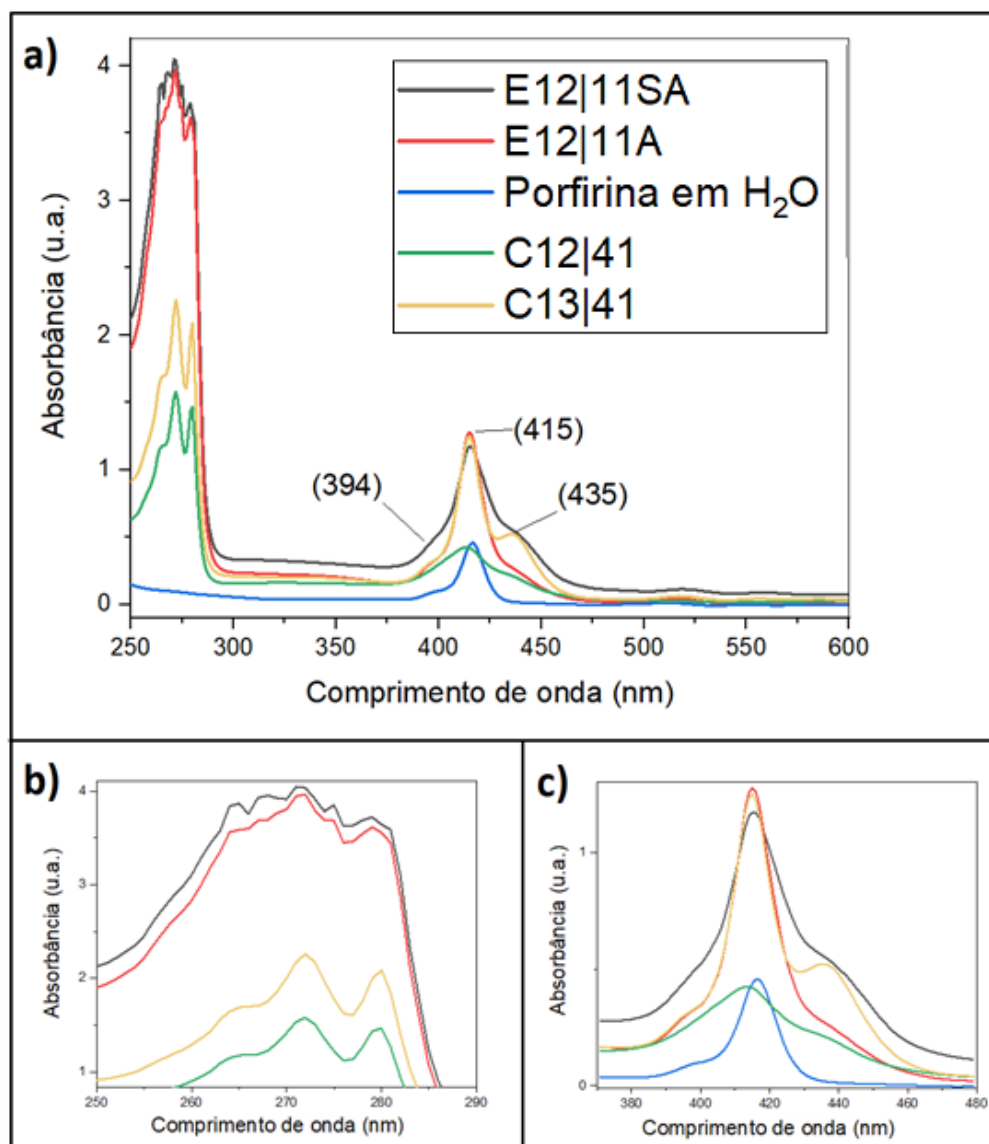
A partir dos resultados observados nessa seção, há evidências relevantes que sustentam a hipótese de coordenação da porfirina com o metal, entretanto, todos resultados apresentados nessa seção são insuficientes para determinar a estrutura do complexo produzido, assim como o local onde está ocorrendo a coordenação entre a porfirina e o metal (extremidades ou no anel central da porfirina). Contudo, é evidente a transferência de energia entre a porfirina e o metal, e do complexo Eu-DPA para a porfirina.

5.3.3.2 – Espectroscopia de Absorção

Ajustou-se a concentração das amostras com e sem aquecimento para 0,5 mmol/L, em relação ao íon Eu(III), sendo a concentração molar da porfirina nesse caso também 0,5 mmol/L pois a proporção molar Eu(III) e porfirina é 1:1 para as amostras E12|11SA e E12|11A. A padronização da concentração em relação ao íon Eu(III) permitiu comparar os resultados apresentados no Gráfico 8 com os resultados das amostras de porfirina dissolvida em água, C12|41 e também C13|41, na qual a porfirina possui concentração molar quatro vezes inferior (0,125 mmol/L) em relação ao íon Eu(III) (0,5 mmol/L). Os resultados dessa comparação podem ser visualizados no Gráfico 18.

Gráfico 18 – Espectros de absorção das soluções com concentração molar 0,5 mmol/L em relação ao íon Eu(III) sendo as amostras: E12|11SA linha preta (concentração da porfirina 0,5 mmol/L), E12|11A linha vermelha (concentração da porfirina 0,5 mmol/L), porfirina em água a linha azul (concentração da porfirina 0,125 mmol/L), C12|41 linha verde (concentração da porfirina 0,125 mmol/L) e C13|41

linha amarela (concentração da porfirina 0,125 mmol/L), onde: a) o espectro completo entre 250 e 600 nm; b) 250 a 290 nm; c) 370 a 480 nm.



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Ao comparar as amostras E12|11SA e E12|11A, ambas apresentaram o mesmo perfil espectral, com a diferença que a banda em 435 nm tem maior intensidade na amostra aquecida, do que a não aquecida, evidenciando uma diferença significativa em relação ao aquecimento. Outro ponto relevante é que as amostras obtidas pelo método E possuem concentração molar de porfirina quatro vezes superior às demais amostras produzidas pelas metodologias C e D. Essa concentração superior não foi proporcionalmente refletida no aumento de intensidade das bandas de absorção da porfirina como consta no Gráfico 18.c, ou uma alteração no espectro que promovesse o surgimento de novas bandas na região do visível, sendo assim, é esperado que

este material não se mostre promissor para aplicação em TFD. A Tabela 6 apresenta as absorbâncias obtidas em 415 e 272 nm do Gráfico 18.

Tabela 6 – Absorbância das amostras obtidas no Gráfico 18 em 272 e 415 nm.

Amostra	Absorbância	
	272 nm	415 nm
E12 11SA	4,04	1,17
E12 11A	3,96	1,28
Porfirina em H ₂ O	-	0,44
C12 41	1,58	0,42
C13 41	2,26	1,25

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Pode-se notar a partir do Gráfico 18.b e da Tabela 6 que em 272 nm houve uma elevação significativa na absorbância da banda do DPA para as amostras sintetizadas pela metodologia E, em relação às demais, produzindo um sinal intenso, porém sendo conservado o mesmo perfil espectral. Esse resultado corrobora a hipótese de que a porfirina está interagindo diretamente com o DPA, formando uma interação de natureza ligante-ligante para esse sistema (KITAGAWA et al., 2020; VOGLER; KUNKELY, 2007).

5.4 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE EROs

O teste consiste na degradação do DPBF (1,3-difenilisobenzofurano) pela ação das EROs produzidas pela porfirina, metodologia já validada por diversos trabalhos em literatura (CHADWICK et al., 2016; ENTRADAS; WALDRON; VOLK, 2020). Foram submetidas a análise, as amostras C12|41 produzida pelo “método C”, a porfirina isolada em água e a amostra E12|11SA produzido pela metodologia E. As amostras foram submetidas ao laser com comprimento de onda de 660 nm no intervalo de 0 a 30 minutos, coletando-se os espectros de absorbância no UV-Vis logo em seguida, pois o DPBF possui degradação quando armazenado por semanas. As concentrações das amostras foram iguais em relação a porfirina e equivalentes a 0,2 mmol/L, pois a produção das EROs ocorre pela emissão da porfirina após esta absorver a energia. O DPBF apresenta duas bandas de absorção intensas em 409 e 259 nm, em que se optou por monitorar a degradação em 259 nm, pois a porfirina apresenta máximo de absorção em 413 nm. Os dados produzidos nesse experimento podem ser visualizados na Tabela 7.

Tabela 7 – Degradação do DPBF em função do tempo de irradiação com laser em 660 nm, monitorando-se a absorbância em 259 nm no espectro UV-Vis das amostras C12|41, porfirina isolada e E12|11SA obtido pela metodologia E.

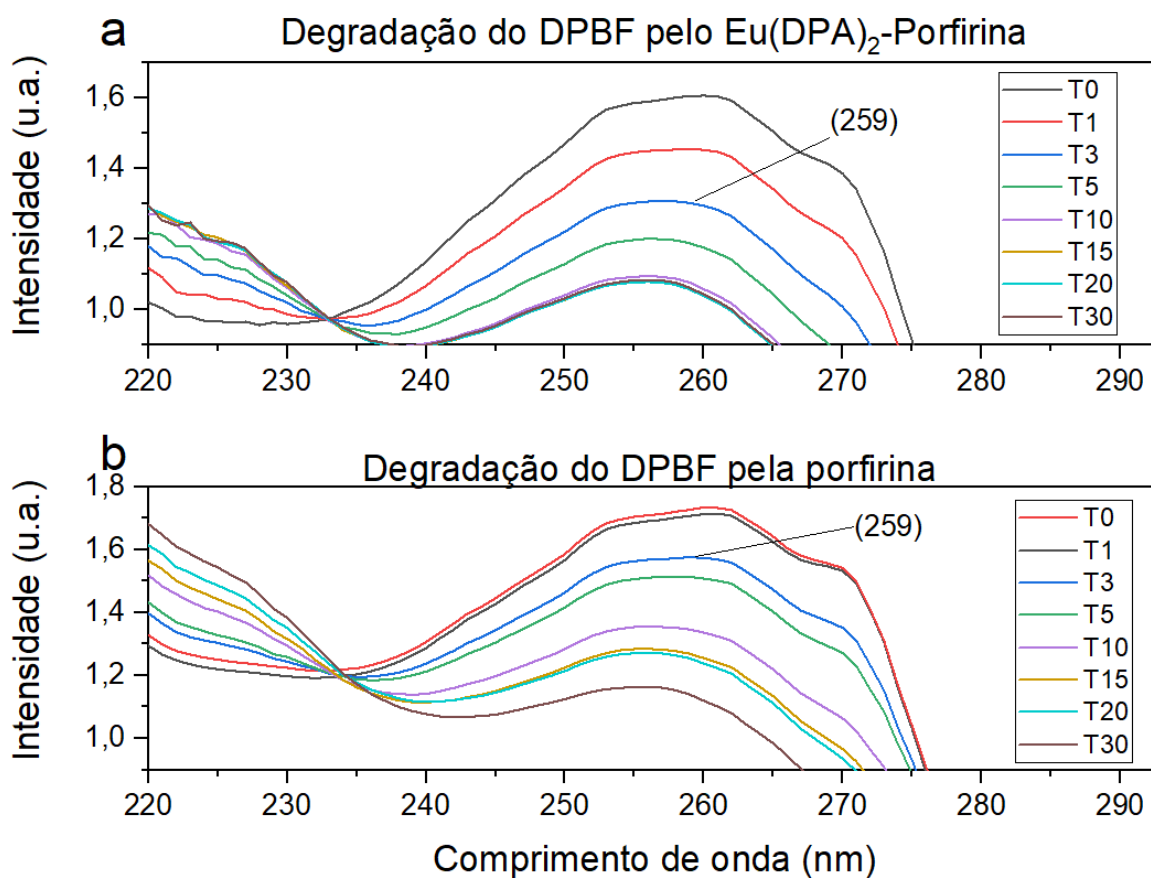
Tempo (min)	C12 41		Porfirina isolada		E12 11SA	
	Abs.	Degradação relativa (%)	Abs.	Degradação relativa (%)	Abs.	Degradação relativa (%)
0	1,6043	0,00%	1,7267	0,00%	1,7	0,00%
1	1,4546	9,33%	1,7072	1,13%	1,65	2,94%
3	1,302	18,84%	1,5758	8,74%	1,55	8,82%
5	1,1884	25,92%	1,5143	12,30%	1,49	12,35%
10	1,0773	32,85%	1,3463	22,03%	1,41	17,06%
15	1,059	33,99%	1,2697	26,47%	1,32	22,35%
20	1,058	34,05%	1,255	27,32%	1,26	25,88%
30	1,063	33,74%	1,1395	34,01%	1,2	29,41%

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

A partir dos resultados evidenciados na Tabela 7, pode-se notar que a amostra E12|11SA produziu uma degradação percentual do DPBF menor que a porfirina isolada, desta forma, essa amostra não apresentou potencial para aplicação em TFD. Entretanto, a amostra C12|41, exibiu um aumento na produção de EROs em relação a porfirina isolada para os parâmetros analisados. Esse resultado é notado a partir da maior degradação percentual do DPBF em menor tempo nessa amostra em relação a porfirina isolada, pois no tempo igual 10 minutos, a amostra havia degradado 33,85% do DPBF enquanto a porfirina havia degradado apenas 22,03% no mesmo período. A partir do tempo igual a 15 minutos, nota-se uma redução acentuada na velocidade de degradação do material, indicando que o limite das EROs produzidas ocorre quando a intensidade da absorbância em 259 nm é degradada em aproximadamente 34%, acredita-se que tal limitação ocorre em função da quantidade de oxigênio molecular disponível em solução. No Gráfico 19, é apresentado um comparativo entre a porfirina dissolvida em água e da amostra C12|41, onde destaca-se o comprimento de onda 259 nm no qual teve sua intensidade monitorada durante a degradação pelas EROs produzidas após a incidência do laser.

Gráfico 19 – Degradação do DPBF pela produção de EROs monitorando-se a absorbância em 259 nm : a) Pela ação do complexo Eu(DPA)₂-Porfirina (4:1) (C12|41) ; e b) pela ação da porfirina



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

No gráfico 19 é possível notar em 235 nm a presença do ponto isosbético, que evidencia a existência de duas espécies em equilíbrio, sendo caracterizado pela conversão pela degradação do DPBF em 1,2-dibenzoilbenzeno (DBB) pelas EROs produzidas, sendo esta espécie não fluorescente (SETO et al., 2016; ŽAMOJĆ et al., 2017).

Os resultados validam a amostra C12|41 como o material mais promissor para aplicação em TFD entre as amostras analisadas, entretanto, para confirmação dessa hipótese seria necessário a reprodução do experimento em comprimentos de ondas distintos de 660 nm, algo que não foi possível em função da disponibilidade de lasers presente no laboratório BSTR-UFPE, assim como a repetição do experimento com borbulhamento de O₂ nas soluções sistemas. Seria interessante repetir o experimento com lasers com excitação na banda de Soret, assim como na região do infravermelho para serem tomadas melhores conclusões.

Sendo a amostra C12|41 mais promissora até o momento, optou-se por avaliar se o material produzido pelo método concentrado ou diluído (amostra D12|41) favorece a produção

de oxigênio singlete. Também se optou por avaliar a amostra C13|41 em função do aumento da intensidade nas bandas de absorção da porfirina relatado no Gráfico 8. As amostras tiveram concentração ajustada para 0,16 mmol/L em relação ao íon Eu(III), sendo os resultados coletados em triplicata pelo mesmo procedimento realizado anteriormente. Optou-se por monitorar a degradação do DPBF para as 3 amostras em 411 nm (Tabela 8), subtraindo-se a linha de base referente a cada amostra sem a presença do DPBF, pois a porfirina também possui banda de absorção intensa em 413 nm.

Tabela 8 – Degradação do DPBF em função do tempo, monitorando-se as intensidades em 411 nm do espectro de absorbância das amostras D12|41, C12|41 e C13|41.

Tempo (min)	D12 41		C12 41		C13 41	
	Abs.	Degradação relativa (%)	Abs.	Degradação relativa (%)	Abs.	Degradação relativa (%)
0	0,9	0,00%	0,75	0,00%	0,56	0,00%
2	0,83	7,78%	0,53	29,33%	0,13	76,79%
5	0,82	8,89%	0,3	60,00%	0,06	89,29%
10	0,77	14,44%	0,13	82,67%	0,06	89,29%
15	0,73	18,89%	0,09	88,00%	-	-
20	0,69	23,33%	0,08	89,33%	0,06	89,29%

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa

Nota-se que a amostra D12|41 produziu uma quantidade de EROs inferior em relação ao método concentrado, validando a metodologia concentrada como mais promissora para aplicação desejada. Nas análises entre as amostras C12|41 e C13|41, nota-se que a segunda possui uma produção de EROs muito superior em relação a primeira, uma vez que, no tempo igual a 5 minutos, a amostra C13|41 havia degradado acima de 89% de DPBF, enquanto a primeira demorou 20 minutos para realizar a mesma degradação percentual. Este resultado é consistente com o que foi observado no espectro de absorção no Gráfico 8. Dessa forma, pode-se correlacionar o aumento da intensidade nas bandas da porfirina com aumento na produção de EROs quando utilizado um laser de excitação em 660 nm.

5.5 VERIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS C12|41 e C13|41 COMO SONDA DE EROs.

Os estados excitados do íon európio populados por sensibilização sofrem decaimentos para estados com menores energias via processos radiativos e não-radiativos. O favorecimento de um ou outro depende dos estados eletrônicos e do ambiente químico ao redor do íon. A

hipótese de utilizar a luminescência do complexo Eu(III)-DPA como sonda de EROs era sustentada por dois motivos, o primeiro pela oxidação do anel aromático do ligante DPA pelas EROs, e o segundo pela substituição da coordenação do ligante DPA pelas EROs produzidas durante o processo de terapia fotodinâmica (irradiação com laser). Em ambos os casos, era esperado o favorecimento do decaimento de energia por processos não-radiativos em função da mudança do ambiente de coordenação do Eu(III), por exemplo, menor rigidez em relação ao DPA desses novos ligantes, substituição do DPA modificado por água, o que causaria a supressão da luminescência por fenômenos de relaxação não radiativa, devido a presença de osciladores com altas frequências, entre outros. Esta supressão da luminescência deveria causar uma redução na intensidade de emissão do sistema após a irradiação com laser e consequente produção de EROs.

Para a amostra C12|41, o teste foi realizado sem o borbulhamento de ar e mantendo-se todos os parâmetros conforme consta na seção experimental. Excitou-se a amostra em 285 nm (máximo de excitação do DPA), monitorando-se o espectro de emissão no intervalo de 500 a 720 nm. Posteriormente, calculou-se, a partir do espectro, a intensidade integrada total, e das transições $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ e $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ antes e após a exposição ao laser, a saber, no intervalo de 0 a 55 min. A transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ foi monitorada pois sua intensidade está relacionada à simetria do campo ligante (BINNEMANS, 2015), que deve ser alterada pela interação do complexo com as EROs produzidas. Os dados obtidos foram aproximados a uma distribuição de t-Student para 95% de confiança com espaço amostral “N” igual 3.

Verificou-se que não houve alteração no perfil espectral obtido, não produzindo evidências em relação ao deslocamento das bandas espectrais originais ou surgimento de novas bandas no espectro de emissão. Ao avaliar-se as intensidades integradas referentes ao espectro total e a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$, não houve alteração estatisticamente significativa. Entretanto, a área referente à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$, observou-se que, a partir de 15 minutos (Tabela 9) houve diferença estatisticamente significativa em relação ao espectro inicial ($t = 0$ minutos). Este comportamento foi mantido nas medidas posteriores. A porcentagem relativa entre as médias “%_{or}”, foi calculada tendo a área em $t = 0$ minutos (antes da irradiação) como referência, Tabela 9.

Tabela 9 – Intensidades integradas do espectro de emissão ($\lambda_{ex} = 285$ nm) da amostra C12|41 referente a transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ antes e após a incidência do laser em função do tempo.

Tempo (min)	Média das áreas	Desvio Padrão	Valor Mínimo I.C.	Valor máximo I.C.	Redução relativa (%)
----------------	--------------------	------------------	----------------------	----------------------	-------------------------

0	2,33E+06	6,56E+03	2,32E+06	2,34E+06	0,00%
1	2,33E+06	1,41E+04	2,31E+06	2,35E+06	0,00%
2	2,30E+06	3,27E+03	2,30E+06	2,31E+06	1,00%
4	2,32E+06	5,10E+03	2,31E+06	2,33E+06	0,22%
6	2,30E+06	1,22E+04	2,28E+06	2,32E+06	1,06%
8	2,27E+06	1,41E+04	2,25E+06	2,30E+06	2,38%
10	2,32E+06	7,40E+03	2,30E+06	2,33E+06	0,50%
15	2,24E+06	2,25E+04	2,21E+06	2,28E+06	3,56%
20	2,20E+06	6,11E+03	2,19E+06	2,21E+06	5,51%
25	2,20E+06	1,06E+04	2,18E+06	2,22E+06	5,50%
35	2,19E+06	5,46E+03	2,19E+06	2,20E+06	5,70%
45	2,22E+06	5,51E+03	2,21E+06	2,23E+06	4,63%
55	2,17E+06	1,35E+04	2,15E+06	2,19E+06	6,83%

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

O “Valor Mínimo I.C.” é o menor valor obtido dentro do intervalo de confiança, e o “Valor Máximo I.C.” é o maior valor dentro do intervalo de confiança.

A partir dos resultados obtidos, levantou-se uma nova hipótese sobre o efeito da proporção $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ e porfirina utilizada. A hipótese relacionava a redução da proporção molar entre a porfirina e o complexo e uma maior sensibilidade da supressão da luminescência. Dessa forma, repetiu-se o experimento nas proporções molares 1:1 de complexo e de porfirina, visando verificar se haveria um maior contraste nos dados, uma vez que as EROs produzidas poderiam alterar o complexo de $\text{Eu}(\text{III})$ presente em somente uma extremidade da porfirina, e não nas outras três. A solução que apresentava corpo de fundo foi posta sob agitação, coletando-se logo em seguida duas alíquotas que foram diluídas para 0,5 mmol/L. Uma alíquota “a” foi submetida ao mesmo procedimento relatado na parte experimental, e a segunda alíquota, “b”, submetida ao mesmo procedimento com a diferença que antes de iniciar a coleta no tempo $t = 0$ minutos, borbulhou-se com ar com o auxílio de uma pipeta de Pasteur por aproximadamente 1,5 minutos, com a finalidade de verificar o efeito da saturação de O_2 na solução.

Ao avaliar os resultados obtidos, considerando-se mesmos parâmetros da amostra anterior, constatou-se que não houve diferenças significativas nas intensidades integradas referentes ao espectro total, e para a transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_0$. Entretanto, ao avaliar a área da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, verificou-se que tanto a espécie sem borbulhar, como a que realizou o

borbulhamento, apresentaram diferenças significativas após a incidência do laser a partir do tempo igual a 2 minutos (ver Tabelas 10 e 11). Este comportamento foi mantido para períodos de tempo superiores. Os dados obtidos podem ser observados nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 - Área da banda referente à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ no espectro de emissão ($\lambda_{\text{Ex}} = 285 \text{ nm}$) da $\text{Eu}(\text{DPA})_2\text{-Porphyr}$ (1:1) (D11|11) antes e após a incidência do laser em função do tempo. A amostra não foi submetida a borbulhamento com ar.

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Redução relativa (%)
0	5,55E+06	1,05E+04	0,00%
1	5,44E+06	2,23E+04	1,89%
2	5,42E+06	9,36E+03	2,34%
30	5,36E+06	3,09E+04	3,32%
50	5,42E+06	2,61E+04	2,35%

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Tabela 11 - Área da banda referente à transição $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ no espectro de emissão ($\lambda_{\text{Ex}} = 285 \text{ nm}$) da amostra $\text{Eu}(\text{DPA})_2\text{-Porphyr}$ (1:1) (D11|11), antes e após a incidência do laser em função do tempo. A amostra foi submetida a borbulhamento de ar por 1,5 minutos.

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Redução relativa (%)
0	5,83E+06	1,81E+04	0,00%
1	5,82E+06	5,16E+03	0,16%
2	5,74E+06	1,01E+04	1,61%
30	5,51E+06	8,98E+03	5,48%
50	5,23E+06	8,30E+03	10,29%

Fonte: O autor (2022)

Nota: Tabela elaborada pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Observou-se que após o borbulhamento as diferenças foram mais significativas, redução relativa de até 10,29% na intensidade integrada da emissão após 50 minutos de irradiação. Para explicar esse comportamento, acredita-se que ao inserir ar na solução, há uma maior concentração de O_2 (oxigênio tripleto) que torna o processo de terapia fotodinâmica (produção

de oxigênio singleto e de EROs) mais intenso e, portanto, deve-se levar a uma maior degradação (e supressão da luminescência) do complexo Eu-DPA.

Outro ponto interessante a se destacar nesse experimento diz respeito à possível seletividade do complexo $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ como sensor específico de EROs na presença de oxigênio tripleto, pois sendo considerado que Recife fica no nível do mar, e que a temperatura do local no dia do experimento era de aproximadamente 20 °C, e a partir da literatura sabe-se que a solubilidade do oxigênio tripleto em água é de 1,39 mmol/L (XING et al., 2014), portanto, para essas condições, a concentração de oxigênio tripleto era 2,78 vezes superior a concentração do complexo Eu-DPA (0,5 mmol/L), corroborando a hipótese dessa seletividade.

A partir dos resultados observados, repetiu-se o mesmo procedimento para a amostra C13|41, entretanto, não houve convergência no comportamento das amostras com e sem borbulhamento, não apresentando potencial como sonda de EROs.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram obtidos complexos de $\text{Eu}(\text{III})$ com $(\text{DPA})_{1,2}$ ou 3, e $[\text{Eu}(\text{DPA})_n(\text{H}_2\text{O})_{x-3n}]$, com n entre 1 e 3 e $x = 8$ ou 9, com porfirina em diferentes proporções e por três metodologias diferentes visando o tratamento e detecção de câncer de pele via TFD. Dentre os sistemas produzidos, constatou-se que o complexo $\text{Eu}(\text{DPA})$ -Porphyr não é estável, pois a solução apresentou um aglomerado como corpo de fundo composto por porfirina, e sobrenadante contendo o complexo $\text{Eu}(\text{DPA})$ para as metodologias sintetizadas.

Os complexos produzidos com $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ e porfirina, estes apresentaram dependência em relação a proporção molar 4:1 de complexo e porfirina respectivamente para as metodologias concentrada (método C) e diluída (método D). Dentre as três metodologias utilizadas na síntese do $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ -Porphyr, a metodologia concentrada foi a mais promissora, pois além de apresentar uma elevação na intensidade das bandas da porfirina no espectro de absorção, produziu uma maior quantidade de EROs em relação à porfirina pura quando submetida ao laser de 660 nm. Além disso, houve uma elevação no tempo de vida de emissão do íon $\text{Eu}(\text{III})$ em 207% na amostra C12|41 em relação a referência $\text{Eu}(\text{DPA})_2$, embora não tenha apresentado nenhuma alteração significativa nos espectros de emissão e excitação para as bandas do complexo e da porfirina. Todavia, para as amostras produzidas pelas outras duas metodologias denominadas D e E, estas apresentaram alterações significativas nos espectros de emissão e excitação nas bandas da porfirina e do complexo. Contudo, esses fatores não se mostraram adequados para a aplicação desejada, pois as amostras apresentaram redução na

intensidade da banda de absorção da porfirina (413 nm) resultando na redução de produção de EROs em relação a porfirina sem a presença do complexo.

Contrariamente ao esperado, pois a amostra $\text{Eu}(\text{DPA})_3$ já apresenta número de coordenação 9, o sistema C13|41, apresentou evidências de interação do complexo com a porfirina através do aumento na intensidade das bandas de absorção da porfirina em relação aos demais sistemas e em relação a porfirina sem a presença do complexo. Outro indicativo de interação foi observado na alteração do tempo de vida, sendo de 1,38 ms da amostra C13|41 contra 1,48 ms da referência $\text{Eu}(\text{DPA})_3$, que pode ser atribuída pela substituição parcial de um DPA pelo carboxilato da porfirina e inserção de moléculas de água na coordenação para estabilizar a estrutura final. Esses resultados conduziram a uma maior produção EROs ao excitar a amostra com laser de 660 nm, sendo superior ao da amostra C12|41, pois para degradar 89% de DPBF, o sistema C13|41 levou 5 minutos, enquanto o sistema C12|41 levou 20 minutos.

No experimento para validar as amostras como sonda específica de EROs, não houve perspectivas para o complexo C13|41, pois não houve convergência entre os resultados quando a amostra foi submetida a saturação de oxigênio (borbulhamento de ar) e quando não submetida. Entretanto, o complexo C12|41 mostrou-se promissor para essa aplicação, uma vez que houve convergência tanto ao variar as proporções molares entre o complexo e a porfirina (4:1 e 1:1, respectivamente) como ao submeter este sistema em condições de saturação pelo borbulhamento com ar e sem borbulhamento. Esta amostra se mostrou mais promissora no desenvolvimento de uma sonda com potencial bimodal, podendo atuar na detecção e tratamento de câncer de pele via TFD. Entretanto, é necessário aumentar o contraste do sinal luminescente para ser possível a detecção por equipamentos de menor sensibilidade ou até visualmente, pois a constatação baseou-se em monitorar a intensidade integrada da transição $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ com excitação em 285 nm, sendo esta variação inferior a 10%. Uma hipótese que será testada no futuro e que corrobora essa possibilidade de acentuar o contraste é a modificação na estrutura pela inserção de um grupo nitro no anel aromático do DPA, pois é conhecido em literatura que células sob o mecanismo de hipóxia tumoral (falta de oxigênio na célula saudável em função do crescimento desproporcional das células tumorais que "esmagam" as células adjacentes), possuem a capacidade de reduzir grupos nitro de estruturas orgânicas em amina, e que esta redução promove a retenção localizada da estrutura orgânica (ABRANTES, 2013). Esta retenção possibilitaria a aquisição de um sinal com maior intensidade de forma localizada após a incidência do laser. A nitração de hidrocarbonetos acontece via substituição eletrofílica aromática geralmente composta por ácido sulfúrico concentrado e ácido nítrico, sendo um procedimento conhecido na literatura (COSTA, 2019; ONO, 2003; SMITH; MARCH, 2007).

Entretanto, não há relatos na literatura sobre a existência da estrutura contendo ácido dipicolínico e o grupo nitro. Nesse ponto, existe a possibilidade da inserção do grupo nitro na estrutura da porfirina, porém deve-se ter cautela para que a inserção do grupo ocorra em uma posição que não gere redução na atividade TFD, e que também haja interação com o metal, pois o mecanismo idealizado baseia-se na detecção em função das propriedades luminescentes do íon lantanídeo. A hipótese sobre a inserção do grupo nitro e posteriormente redução em amina dentro da célula também é favorecida pela teoria do campo ligante, pois a alteração do ligante nitro pela amina provocaria mudança na energia de desdobramento dos orbitais de fronteira (HOMO-LUMO), devido a respectiva mudança de um ligante de campo forte para um de campo fraco, sendo esperado que esta mudança produza alterações significativas na transferência de energia para o íon do metal. Outra hipótese a ser testada no futuro e que também baseia-se no mecanismo de hipóxia tumoral citado seria a alteração na estrutura do DPA pela inserção do grupo amina, a metodologia de síntese dessa estrutura é conhecida na literatura, (LAMTURE et al., 1995). Porém, deve-se investigar se a retenção da sonda de forma localizada citada na literatura (ABRANTES, 2013) ocorreria como um mecanismo da reação de redução (do grupo nitro em amina), ou da interação do grupo amina com as células com menor quantidade de oxigênio.

Fora do mecanismo de hipóxia tumoral, outra possibilidade a ser investigada no futuro para acentuar o contraste no espectro de emissão e validar a sonda para detecção de oxigênio singlete consiste na modificação do DPA pela inserção de anéis aromáticos, pois é conhecido na literatura que betadiketonas contendo a estrutura do antraceno e coordenadas ao íon Eu(III) são sensíveis à presença de oxigênio singlete, sofrendo oxidação e promovendo uma eficiente supressão de luminescência do íon lantanídeo por EROs (SUN et al., 2015), uma outra possibilidade a ser investigada também seria a redução na proporção molar do DPA e inserção de uma betadiketona. Como perspectiva futura, também é desejado calcular o rendimento quântico de oxigênio singlete para mensurar a fração de energia incidente que é efetivamente usado para produção de EROs.

A inserção de metais no anel central da porfirina também produz atividades interessantes e tem sido frequentemente explorada, uma vez que a porfirina tem seu espectro de absorção fortemente alterado por qualquer mudança nos anéis pirrólicos. A depender do metal coordenado, a produção de EROs pode ser favorecida ou não pela interação com o metal (BULACH; SGUERRA; HOSSEINI, 2012). É importante destacar que a porfirina usada nesse trabalho atua muitas vezes como reagente de partida, pois as pesquisas recentes visam alterar um dos anéis pirrólicos para facilitar a coordenação com outro metal e para deslocar o

comprimento de onda de absorção para a região do infravermelho próximo (LASH, 2022), pois a radiação nesta região espectral tem maior penetração na pele, assim como é a maior região do espectro de absorção dentro da janela biológica.

A síntese apresentada nesse trabalho possui baixa complexidade e boa estabilidade em meios aquosos, podendo ser escalável para processos industriais. Como etapas posteriores, era desejado inserir o material com melhor comportamento em uma matriz polimérica do tipo alginato, para testar sua aplicação *in vitro* e *in vivo* para promover a validação do produto, entretanto, não houve tempo hábil para testar essa hipótese.

7 REFERÊNCIAS

- ABDEL-KADER, M. H. Photodynamic Therapy: From Theory to Application. Primeira Ed., 2014, 312.
- ABRANTES, A. M. C. Hipoxia tumoral, metabonômica e imagem : estudo experimental. Universidade de Coimbra, 2013.
- ACUNHA, T. V. Caracterização e avaliação da atividade fotodinâmica de tetra-meso-[(piridil)porfirina]platina (II) frente à microorganismos. n. li, p. 1–75, 2017.
- ADATI, R. D. et al. A new β -diketone complex with high color purity. Journal of Alloys and Compounds, v. 418, n. 1–2, p. 222–225, 2006.
- AFONSO, S. C.; ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, R.; DEL, A. M. The photodynamic and non-photodynamic actions of porphyrins. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 32, n. 3, p. 255–266, 1999.
- AGOSTINIS P.; et al. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2011, 61, 250 –281.
- AN, Y.; BERRY, M. T.; VAN VEGGEL, F. C. J. M. Aqueous Solutions of Europium(III) Dipicolinate Complexes: Estimates of Water Coordination Based on Molecular Dynamics Simulations and Excited State Decay Rate Constants. The Journal of Physical Chemistry A, v. 104, n. 47, p. 11243–11247, 2000.
- BIAN, Y. et al. Porphyrin-Appended Europium(III) Bis(phthalocyaninato) Complexes: Synthesis, Characterization, and Photophysical Properties. Chemistry - A European Journal, v. 13, n. 15, p. 4169–4177, 2007.

BINNEMANS, K. Interpretation of europium(III) spectra. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 295, p. 1–45, 2015.

BINNEMANS, K.; LODEWYCKX, K. Coordinatively Unsaturated Metal Centers as Building Blocks for High Coordination Number Metallomesogens. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 40, n. 1, p. 242–244, 2001.

BRITO, H. F. et al. Luminescence investigation of the Sm(III)- β -diketonates with sulfoxides, phosphine oxides and amides ligands. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 344, n. 1–2, p. 293–297, 2002.

BULACH, V.; SGUERRA, F.; HOSSEINI, M. W. Porphyrin lanthanide complexes for NIR emission. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 256, n. 15–16, p. 1468–1478, 2012.

BULACH, V.; SGUERRA, F.; HOSSEINI, M. W. Porphyrin lanthanide complexes for NIR emission. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 256, n. 15–16, p. 1468–1478, 2012.

BÜNZLI, J.-C. G. On the design of highly luminescent lanthanide complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 293–294, p. 19–47, 2015.

CHADWICK, S. J. et al. Singlet Oxygen Generation by Laser Irradiation of Gold Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 120, n. 19, p. 10647–10657, 2016.

CHEN, L. et al. Third-order nonlinear optical properties of a series of porphyrin-appended europium(III) bis(phthalocyaninato) complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 105, p. 577–581, 2013.

COSTA, M. DE Á. DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FLUORÓFOROS EMISSORES NO INFRAVERMELHO BASEADOS EM SISTEMAS HÍBRIDOS MOLECULARES DOADOR-ACEPTOR (D-A). Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2019.

COTTON, S. A. Establishing coordination numbers for the lanthanides in simple complexes. *Comptes Rendus Chimie*, v. 8, n. 2, p. 129–145, 2005.

DAI, Z. et al. A cell-membrane-permeable europium complex as an efficient luminescent probe for singlet oxygen. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 1, n. 7, p. 924, 2013.

DARGIEWICZ-NOWICKA, J. et al. Photophysics of the porphyrins; unusual fluorescence of europium porphyrin complex entrapped in sol–gel silica matrix. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 380, n. 1–2, p. 380–388, 2004.

- DESTEFANI, C. A. et al. Evaluation of acute toxicity of europium–organic complex applied as a luminescent marker for the visual identification of gunshot residue. *Microchemical Journal*, v. 124, p. 195–200, 2016.
- DIETZEN, D. J. *Amino Acids, Peptides, and Proteins. Em: Principles and Applications of Molecular Diagnostics*. Elsevier, 2018. p. 345–380.
- DOLMANS, D. E. J. G. J.; FUKUMURA, D.; JAIN, R. K. Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer*, v. 3, n. 5, p. 380–387, 2003.
- ENTRADAS, T.; WALDRON, S.; VOLK, M. The detection sensitivity of commonly used singlet oxygen probes in aqueous environments. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 204, p. 111787, 2020.
- FARIA de Sales, N.; MANSUR, H. S. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2009, 9, 688 –691.
- GOUTERMAN, M. Spectra of porphyrins. *Journal of Molecular Spectroscopy*, v. 6, p. 138–163, 1961.
- GOUTERMAN, M. et al. Absorption and luminescence of yttrium and lanthanide octaethylporphyrin complexes. *Chemical Physics Letters*, v. 40, n. 3, p. 456–461, 1976.
- HORROCKS, W. DEW.; SUDNICK, D. R. Lanthanide ion probes of structure in biology. Laser-induced luminescence decay constants provide a direct measure of the number of metal-coordinated water molecules. *Journal of the American Chemical Society*, v. 101, n. 2, p. 334–340, 1979.
- IGLESIAS, B. A. *Síntese e propriedades espectroscópicas e eletroquímicas de uma triazeno-porfirina*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2012.
- JUDD, B. R. Optical Absorption Intensities of Rare-Earth Ions. *Physical Review*, v. 127, n. 3, p. 750–761, 1962.
- KIMURA, T.; CHOPPIN, G. R. Luminescence study on determination of the hydration number of Cm(III). *Journal of Alloys and Compounds*, v. 213–214, p. 313–317, 1994.
- KINSELLA, T. J. et al. Photodynamic therapy in oncology. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, v. 2, n. 6, p. 917–927, 24 2001.

KITAGAWA, Y. et al. Aggregation-induced emission of a Eu(III) complex via ligand-to-metal charge transfer. *Chemical Physics Letters*, v. 749, p. 137437, 2020.

KOLAROVA, H. et al. Production of reactive oxygen species after photodynamic therapy by porphyrin sensitizers. *General Physiology and Biophysics*, v. 27, n. 2, p. 101–105, 2008.

KURATA, S.; NAGAI, M. Highly Resolved Luminescence Measurements for Traces of 1,3-Dibetanato Europium(III) and Terbium(III) Complexes Using a Microscope Laser Raman Spectrometer toward the Forensic Discrimination. *Analytical Sciences*, v. 19, n. 3, p. 451–454, 2003.

LAMTURE, J. B. et al. Luminescence Properties of Terbium(III) Complexes with 4-Substituted Dipicolinic Acid Analogs. *Inorganic Chemistry*, v. 34, n. 4, p. 864–869, 1995.

LASH, T. D. Coordination Chemistry of Modified Porphyrinoid Systems. *Chemical Reviews*, v. 122, n. 9, p. 7987–7989, 2022.

LIMA, P. P.; MALTA, O. L.; ALVES JÚNIOR, S. Estudo espectroscópico de complexos de Eu^{3+} , Tb^{3+} e Gd^{3+} com ligantes derivados de ácidos dicarboxílicos. *Química Nova*, v. 28, n. 5, p. 805–808, 2005.

LIS, S.; CHOPPIN, G. R. Luminescence study of europium(III) complexes with several dicarboxylic acids in aqueous solution. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 225, n. 1–2, p. 257–260, 1995.

MACDONALD, I. J.; DOUGHERTY, T. J. Basic principles of photodynamic therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, v. 05, n. 02, p. 105–129, 17 fev. 2001.

MAESTRIN, A. J.; TEDESCO, A.; NERI, C. R.; GANDINI, M. F.; SERRA, O. A.; IAMAMOTO, Y. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2004, 15, 708–713.

MANTON, J. C.; LONG, C.; VOS, L. G.; PRYCE, M. T. *Dalton Transactions*, 2014, 43, 3576–3583.

MESSMANN, H. et al. Enhancement of photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid-induced porphyrin photosensitisation in normal rat colon by threshold and light fractionation studies. *British Journal of Cancer*, v. 72, n. 3, p. 589–594, 1995.

MOURA, R. T. et al. On the calculation and interpretation of covalency in the intensity parameters of 4f–4f transitions in Eu 3+ complexes based on the chemical bond overlap polarizability. *Journal of Luminescence*, v. 170, p. 420–430, 2016.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 243, Benzoic acid.

OFELT, G. S. Intensities of Crystal Spectra of Rare-Earth Ions. *The Journal of Chemical Physics*, v. 37, n. 3, p. 511–520, 1962.

ONO, N. *The Nitro Group in Organic Synthesis*. 2003.

PASTERNAK, R. F. et al. Aggregation of meso-substituted water-soluble porphyrins. *Journal of the American Chemical Society*, v. 94, n. 13, p. 4511–4517, 1972.

PAVANI, C. et al. Effect of zinc insertion and hydrophobicity on the membrane interactions and PDT activity of porphyrin photosensitizers. *Photochem. Photobiol. Sci.*, v. 8, n. 2, p. 233–240, 2009.

PEREIRA FARIAS, S. C. *Melhoramento das Propriedades Luminescentes e Reológicas do Hidrogel G- Ln pela Incorporação de Complexos Ln (DPA) 3 Melhoramento das Propriedades Luminescentes e Reológicas do Hidrogel G- Ln ' pela Incorporação de Complexos Ln (DPA) 3*. Universidade Federal de Pernambuco, 2019.

POGUE, B. W. et al. Analysis of the Heterogeneity of pO₂ Dynamics During Photodynamic Therapy with Verteporfin. *Photochemistry and Photobiology*, v. 74, n. 5, p. 700, 2001.

POGUE, B. W.; HASAN, T. A Theoretical Study of Light Fractionation and Dose-Rate Effects in Photodynamic Therapy. *Radiation Research*, v. 147, n. 5, p. 551, 1997.

SCAPOLAN, M. et al. SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DOS PARÂMETROS DE JUDD-OFELT DE COMPOSTOS β-DICETONATOS DE Eu(III) OU Sm(III). *Química Nova*, 2021.

SETO, Y. et al. Development of fluorometric reactive oxygen species assay for photosafety evaluation. *Toxicology in Vitro*, v. 34, p. 113–119, 2016.

SHENG, N. et al. The synthesis, spectroscopy, electrochemistry and photophysical properties of novel, sandwich europium(III) complexes with a porphyrin ligand bearing four pyrenyl groups in meso-positions. *Dyes and Pigments*, v. 81, n. 2, p. 91–96, 2009.

SILVA, J. Z. S.; BUSSADORI, S. K.; FERNANDES, K. P. S.; HUANG, Y.; HAMBLIN, M. R. Bioscience Report, 2015, 35, 1–14

SMITH, M.; MARCH, J. March's advanced organic chemistry : reactions, mechanisms, and structure. Wiley-Interscience, 2007.

SOBCZYŃSKI, J.; TØNNESEN, H. H.; KRISTENSEN, S. Influence of aqueous media properties on aggregation and solubility of four structurally related meso-porphyrin photosensitizers evaluated by spectrophotometric measurements. Pharmazie, v. 68, n. 2, p. 100–109, 2013.

SONG, B. et al. A Europium(III) Complex as an Efficient Singlet Oxygen Luminescence Probe. Journal of the American Chemical Society, v. 128, n. 41, p. 13442–13450, 2006.

SUN, J. et al. Mitochondria Targetable Time-Gated Luminescence Probe for Singlet Oxygen Based on a β -Diketonate–Europium Complex. Inorganic Chemistry, v. 54, n. 24, p. 11660–11668, 2015.

TROMBERG, B. J. et al. In vivo TUMOR OXYGEN TENSION MEASUREMENTS FOR THE EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF PHOTODYNAMIC THERAPY. Photochemistry and Photobiology, v. 52, n. 2, p. 375–385, 1990.

TROPIANO, M. et al. Exploring the effect of remote substituents and solution structure on the luminescence of three lanthanide complexes. Journal of Luminescence, v. 167, p. 296–304, 2015.

UTOCHNIKOVA, V. V.; KUZMINA, N. P. Photoluminescence of lanthanide aromatic carboxylates. Russian Journal of Coordination Chemistry, v. 42, n. 10, p. 679–694, 2016.

VIDAL, A. et al. The Insertion of Ruthenium into Porphyrins Revisited and Improved: Proof of Concept Results with a Ruthenium(II) Monocarbonyl Compound, and the Spectacular Effect of Propionic Acid. European Journal of Inorganic Chemistry, v. 2019, n. 24, p. 2883–2890, 2019.

VOGLER, A.; KUNKELY, H. Ligand-to-ligand and intraligand charge transfer and their relation to charge transfer interactions in organic zwitterions. Coordination Chemistry Reviews, v. 251, n. 3–4, p. 577–583, 2007.

WEISSMAN, S. I. Intramolecular Energy Transfer The Fluorescence of Complexes of Europium. The Journal of Chemical Physics, v. 10, n. 4, p. 214–217, 1942.

WÖHRLE, D. Book Review: The colors of life: an introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds. L. R. Milgrom. Oxford University Press, Oxford, 1997. 249 pp., paperback. Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, v. 1, n. 4, p. 395–396, 1997.

World Health Organization. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 1 out. 2022.

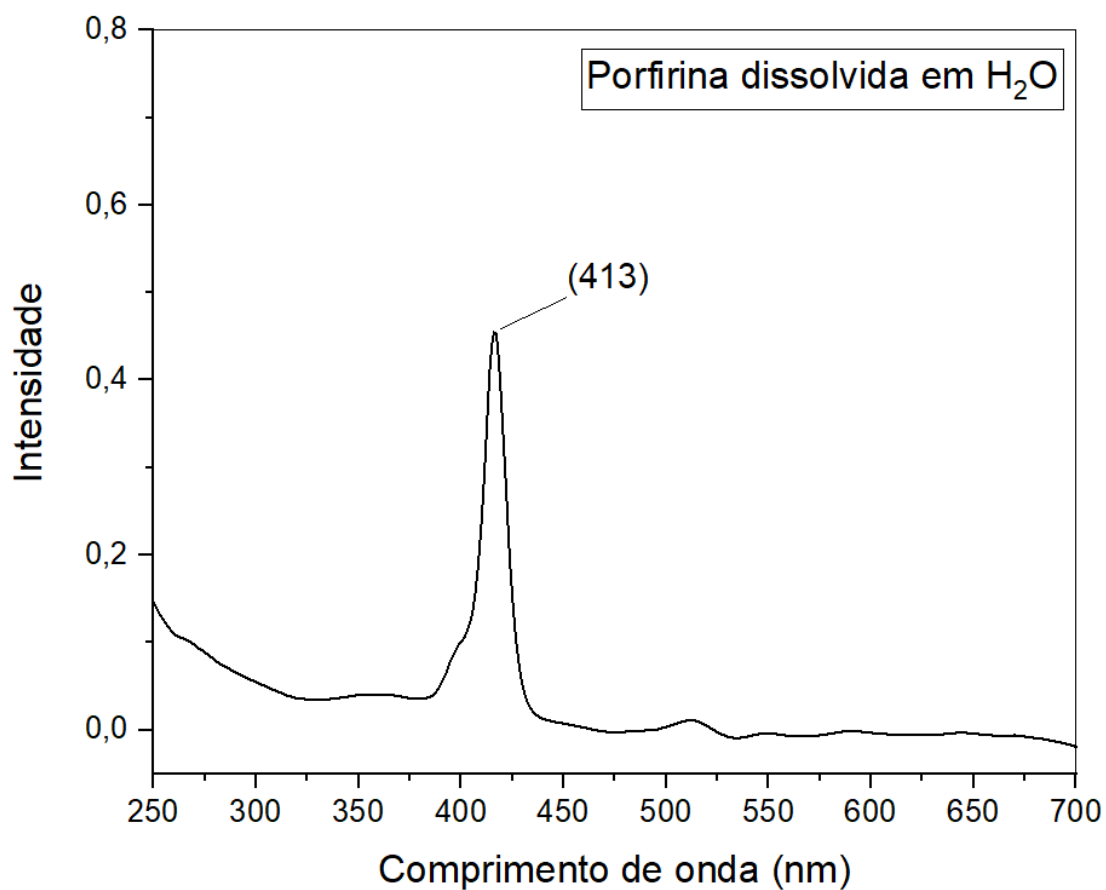
XIAO, H. et al. Eu(III), Tb(III) complexes with novel ligands containing pyridine-2,6-dicarboxylic acid unit: Synthesis, characterization, fluorescence properties and application in biological imaging. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 84, n. 1, p. 238–242, 2011.

XING, W. et al. Oxygen Solubility, Diffusion Coefficient, and Solution Viscosity. Em: Rotating Electrode Methods and Oxygen Reduction Electrocatalysts. Elsevier, 2014. p. 1–31.

ŽAMOJĆ, K. et al. The development of 1,3-diphenylisobenzofuran as a highly selective probe for the detection and quantitative determination of hydrogen peroxide. Free Radical Research, v. 51, n. 1, p. 38–46, 2017.

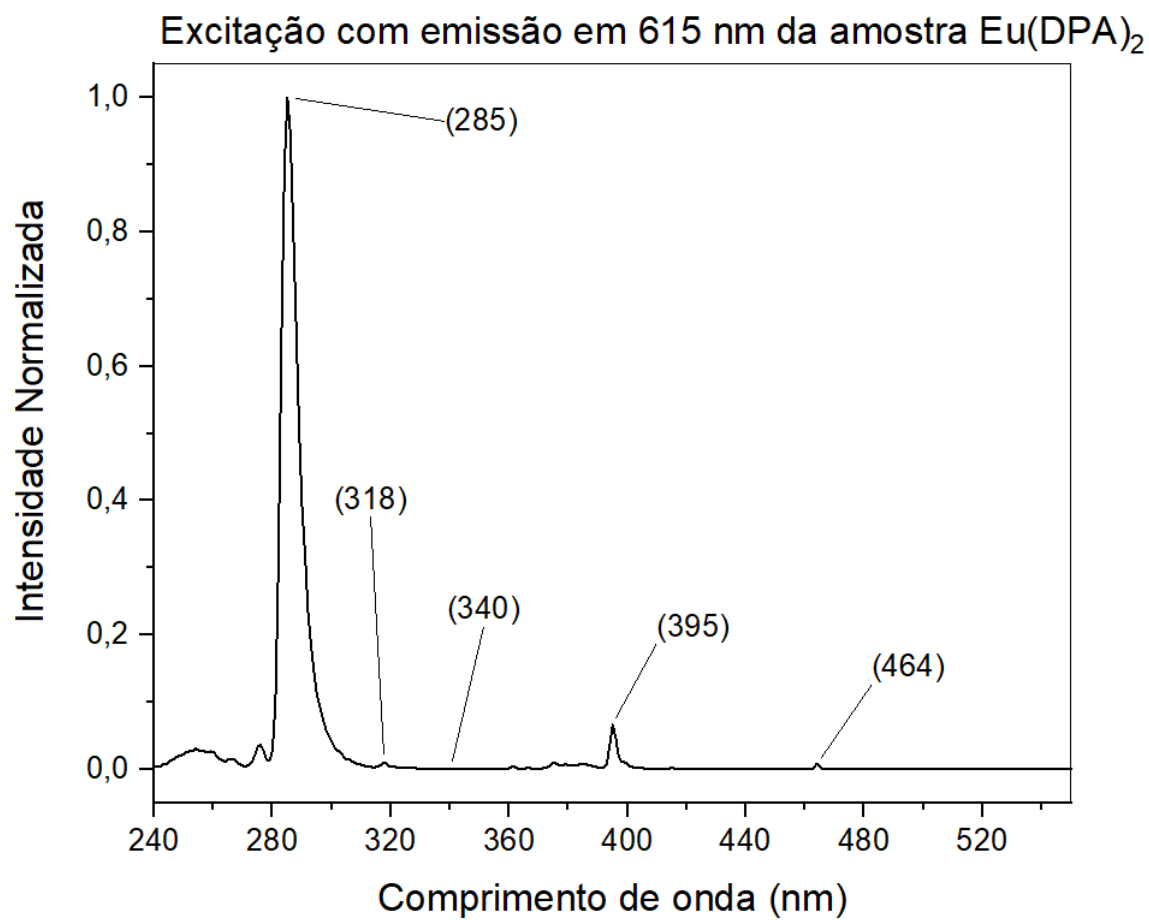
8 APÊNDICE

Gráfico 20 – Espectro de absorvância da porfirina desprotonada com pH 7 dissolvida em H₂O



Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.

Gráfico 21 – Espectro de excitação com emissão em 615 nm para a amostra $\text{Eu}(\text{DPA})_2$ 

Fonte: O autor (2022)

Nota: Gráfico elaborado pelo autor com base nos resultados obtidos na pesquisa.